

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI BOR ÇEŞİTLERİNİN İNSAN DENTAL PULPA KÖK
HÜCRESİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİSİ**

Esra DURSUN

**Pedodonti Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Fatih ŞENGÜL**

**ERZURUM
2019**

T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

“Farklı Bor Çeşitlerinin İnsan Dental Pulpa Kök Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisi”

Dt. Esra DURSUN

Tez Savunma Tarihi : 17.06.2019

Tez Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi Fatih ŞENGÜL

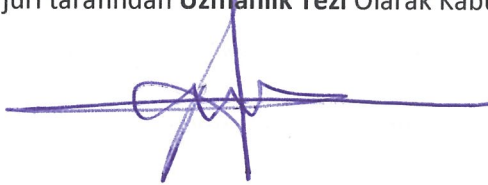
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Tamer TÜZÜNER

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Sera DERELİOĞLU

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Fatih ŞENGÜL

ONAY

Bu Çalışma Yukarıdaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** Olarak Kabul Edilmiştir.



Prof. Dr. Abdulvahit ERDEM
Fakülte Dekan

Uzmanlık Tezi
ERZURUM-2019

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	II
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pulpa- Dentin Kompleksi	3
2.2. Pulpa Dokusu	3
2.2.1. Pulpa Dokusunun Tabakaları	4
2.2.2. Merkezi Pulpa Tabakası	4
2.2.3. Hücreden Zengin Tabaka	4
2.2.4. Hücreden Fakir Tabaka	5
2.2.5. Odontoblastik Tabaka	6
2.3. Kök Hücre	6
2.3.1. İnsan Dental Pulpa Kök Hücreleri	7
2.4. Bor	8
2.4.1. Borun Sağlık Üzerine Etkileri	9
2.4.2. Boraks	12
2.4.3. Borik Asit	13
2.4.4. Disodyum oktaborat tetrahidrat	14
2.5. Biyouyumluluk	14
2.6. Sitotoksisite	16
2.6.1. İn Vitro Sitotoksisite Değerlendirmelerinde Kullanılan Test Yöntemleri	16
2.6.1.1. Hücre kültürü testleri	16

2.6.1.2. Agar Difüzyon Testi	17
2.6.1.3. Filtre Difüzyon Testi	18
2.6.1.4. Dentin Bariyer Testi	18
2.6.2. Sitotoksosite Testlerinin Değerlendirme Yöntemleri	18
2.6.2.1. Canlılık Değerlendirme Testleri	19
2.6.2.2. Yaşam Değerlendirme Testleri	19
2.6.2.3. Hücre Proliferasyon Değerlendirme Testleri.....	19
2.6.2.4. Metabolizma Değerlendirme Testleri.....	20
3. MATERYAL VE METOD.....	21
3.1. Hücre Kültürünün Hazırlanması.....	21
3.2. Örneklerin Hazırlanması.....	25
3.3. Örneklerin Uygulanması.....	26
3.4. MTT Testi.....	27
3.4.1. MTT Testi Değerlerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	28
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR	42
EKLER	56
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	56
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	57
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	58

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Dr. Öğr. Üyesi Fatih şengül'e en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tezimin ilerlemesinde desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Taşkın Gürbüz'e (İstanbul Medeniyet Üniversitesi, İstanbul) ve Prof. Dr. Fikrettin şahin'e (Yeditepe Üniversitesi, İstanbul), deneylerimizde laboratuvarlarını kullanmamıza izin veren Prof. Dr. Ahmet Hacımüftüoğlu (Atatürk Üniversitesi, ERZURUM) deneylerin gerçekleştirilmesine yardım eden Dr. Öğr. Üyesi Ali Taghizadehghalehjoughi (Atatürk Üniversitesi, ERZURUM) başta olmak üzere tüm Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı çalışanlarına, istatistiksel analizlerinin yapılması ve yorumlanmasında yardımcı olan Prof. Dr. Ömer Akbulut'a (Atatürk Üniversitesi, ERZURUM), uzmanlık eğitimim boyunca tecrübelerinden istifade ettiğim ve üstümde büyük emekleri olan değerli hocalarım Doç. Dr. Sera Derelioğlu, Dr. Öğr. Üyesi Münevver Kılıç ve desteklerini hissettiğim hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Fatma Songur ve Dr. Öğr. Üyesi Tarek Seddik'e, başta göreve beraber başladığım değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Dt. Ozan Barış Aydın, Arş. Gör. Dt. Berrin Deniz Gören, Arş. Gör. Dt. Ezgi Ersoy ve Arş. Gör. Dt. şeyma Keskin olmak üzere Pedodonti Anabilim Dalındaki tüm asistan arkadaşlarıma ve sağlık personeline, Erzurum'da ikinci ailem olarak burada geçirdiğim günlerimi güzelleştiren arkadaşlarım Arş. Gör. Dt. Selin Nacak, Arş. Gör. Dt. Buket Karalar, Arş. Gör. Dt. Kübra Cantürk ve Uzm. Dt. Latife Altınok Uygun'a, bu zor günlerimde yanımda ve kalbimde desteğini ve sevgisini hep hissettiğim Arş.Gör. Dt. Haktan elik'e;

En önemlisi bugünlere gelmemi sağlayan, destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen canım annem, babam, abim, yengem ve dünyalar tatlısı yeğenime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dt. Esra DURSUN



ÖZET

Farklı Bor Çeşitlerinin İnsan Dental Pulpa Kök Hücresi Üzerindeki Sitotoksik Etkisi

Amaç: Bu çalışmada, bor çeşitlerinden boraks (B), borik asit (BA) ve disodyum oktaborat tetrahidrat'ın (DOT) insan dental pulpa kök hücresi (DPSC) üzerindeki sitotoksik etkilerinin 24., 48. ve 72. saatlerde MTT testi ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmamızda Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu'ndan dondurulmuş DPSC kullanılmıştır. Materyaller 1µM, 10 µM, 100 µM ve 1000 µM derişimlerinde hazırlanarak hücelere direkt temas yöntemiyle uygulanmıştır. Tüm derişimlerin 24. saatteki sitotoksik etkisi MTT testi ile değerlendirildikten sonra materyallerin en yüksek ve en düşük sitotoksisite gösteren derişimleri belirlenmiştir. Daha sonra belirlenen bu derişimlerin 48. ve 72. saatlerdeki sitotoksik etkileri ölçülmüştür (n=5). Materyaller ve derişimler arasındaki farklılığın belirlenmesinde Duncan ve Dunett-t çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır.

Bulgular: 24. saatte B ve DOT'un artan derişimlerinde hücre canlılığında azalma gözlenirken, BA'da derişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcut değildi. 48. saatte DOT'un yüksek (1000 µM) ve düşük (10 µM) sitotoksisite sergileyen derişimleri arasında farklılık saptanmıştır (p<0.05). En düşük hücre canlılığı 72. saatte materyallerin seçilen yüksek dozlarında tespit edilmiştir. Materyallerin en düşük sitotoksisite sergileyen derişimleri karşılaştırıldığında ise DOT'un 24. ve 72. saatlerde B'den daha yüksek hücre canlılık değerlerine sahip olduğu görülmüştür (p<0.05).

Sonuç: BA ve DOT'un 1-1000 µM arasında artan derişimleri DPSC üzerinde sitotoksik etki sergilememiştir. Çalışılan bor çeşitleri arasında biyouyumluluğu en yüksek olan bor materyali DOT olarak tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Boraks, Borik asit, Disodyum oktaborat tetrahidrat, İnsan dental pulpa kök hücresi, MTT testi

ABSTRACT

Cytotoxic Effect of Different Boron Varieties on Human Dental Pulp Stem Cells

Aim: In this study, it was aimed to evaluate the cytotoxic effects of borax (B), boric acid (BA) and disodium octaborate tetrahydrate (DOT) on human dental pulp stem cell (DPSC) by using MTT test at 24th, 48th and 72th hours.

Material and Method: In our study American Type Culture Collection DPSC was used. The materials were prepared in 1 μ M, 10 μ M, 100 μ M and 1000 μ M concentrations and applied to the cells by direct contact method. After 24th hour cytotoxic effect of all concentrations was assessed by MTT test, the highest and lowest cytotoxicity concentrations of the materials were determined. Then, the determined cytotoxic effects of these concentrations at 48th and 72th hours were measured (n = 5). Duncan and Dunett-t multiple comparison tests were used to determine the differences between materials and concentrations.

Results: At 24th hours, there was a decrease in cell density in the increasing concentrations of B and DOT, whereas there was no statistically significant difference between the concentrations in BA. At 48th hour, there was a significant difference between the DOT's highest (1000 μ M) and the lowest (10 μ M) cytotoxicity concentrations ($p < 0.05$). The lowest cell viability was determined at selected high doses of materials at 72th hour. DOT was found to have higher cell viability values than B at 24th and 72th hours when the lowest cytotoxicity concentrations of the materials were compared ($p < 0.05$).

Conclusion: Increased concentrations of BA and DOT between 1-1000 μ M showed no cytotoxic effect on DPSC. Among the boron types studied, boron material with the highest biocompatibility was determined as DOT.

Key Words: Borax, Boric acid, Disodium octaborate tetrahydrate, Human dental pulp stem cell, MTT test

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

®	Tescilli
°C	Santigrat derece
ADA	American Dental Association; Amerikan Diş Hekimleri Birliği
B	Boraks
BA	Borik asit
BNCT	Boron Neutron Capture Therapy; Bor Nötron Yakalama Tedavisi
Ca	Kalsiyum
cm ²	Santimetrekare
cm ³	Santimetreküp
CO ₂	Karbondioksit
DFPCs	Dental follicle stem cells; Dental folikül progenitör hücrelerden izole edilen kök hücreler
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DOT	Disodyum oktaborat tetrahidrat
DPSC	Dental pulpa kök hücresi
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
FBS	Fetal sığır serumu
g	gram
IDPS	Immature dental pulp stem cells; Süt dişlerindeki olgunlaşmamış dental pulpadan izole edilen kök hücresi
ISO	International organization for Standardization; Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu

kg	Kilogram
kJ	Kilojoule
L	Litre
mg	Miligram
Mg	Magnezyum
mM	Milimolar
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür
Na	Sodyum
NaB	Sodyum pentaborat penhidrat
ng	Nanogram
nm	Nanometre
PBS	Fosfat tamponlu salin
PDLSCs	Periodontal ligament stem cells; Periodontal ligament kök hücreleri
ppm	Milyonda bir birime
PSA	Penisilin, Streptomisin, Amfoterisin B
RNA	Ribonükleik asit
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SCAPs	Stem cells from apical papilla; Apikal papilladan izole edilen kök hücreleri
SHED	Stem cells from human exfoliated deciduous teeth; Eksfoliye olmuş insan süt dişlerden izole edilen kök hücreleri
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
Vit D	Vitamin D
WST	Suda çözünebilir tetrazolyum tuzu

XTT	2,3-bis(2-methoksil-4-nitro-5-sulfofenil)-5-[(fenilamino) karbonil]-2H-tetrazolyum hidroksil
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre
μM	Mikromolar



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Periyodik tablo	9
Şekil 3.1. İnsan dental pulpa kök hücresi	21
Şekil 3.2. Isı ayarlı su banyosu	22
Şekil 3.3. Santrifüj makinesi.....	22
Şekil 3.4. İnkübatör	23
Şekil 3.5. Inverted ışık mikroskobu.....	24
Şekil 3.6. DPSC mikroskop görüntüsü.....	24
Şekil 3.7. Stok solüsyonlarından hazırlanan materyal dilüsyonları.....	26
Şekil 3.8. MTT eklenerek spektrofotometrede okutulmaya hazırlanmış well plate.....	28
Şekil 3.9. Spektrofotometre okuyucusu.....	28
Şekil 4.1. Çalışma gruplarına ait 24. saat MTT değerlerinin ortalama ve standart sapmaları.	30
Şekil 4.2. Çalışma gruplarına ait 24. saat mikroskop görüntüleri	32
Şekil 4.3. Çalışma gruplarının 24., 48. ve 72. saat MTT değerlerinin ortalama ve standart sapmaları.....	33
Şekil 4.4. Çalışma gruplarına ait 48. saat mikroskop görüntüleri	35
Şekil 4.5. Çalışma gruplarına ait 72. saat mikroskop görüntüleri	36

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Bazı besinlerin içerdđđ bor konsantrasyonları ^{52, 53}	11
Tablo 3.1. Materyallerin derişimlerine ait çalışma grupları.....	25
Tablo 4.1. Farklı derişimlerdeki bor materyallerinin 24 saat sonundaki MTT değerlerinin kontrol grubuna olan oranları (Ortalama \pm Standart Sapma) ..	30
Tablo 4.2. 24. saat sonunda bor materyalleri ve molarite arasındaki etkileşimler.....	31
Tablo 4.3. Çalışma gruplarına ait 24., 48. ve 72. saat MTT değerlerinin kontrol grubuna oranları (Ortalama \pm Standart Sapma)	33
Tablo 4.4. Çalışma grupları ve zaman arası etkileşimler	34

1. GİRİŞ

Diş hekimliğinde kullanılan restoratif materyallerin pulpanın canlılığını devam ettirebilmesi için toksik olmaması ve aynı zamanda doku üzerinde iyileştirici potansiyele sahip olması büyük önem taşımaktadır. Bu alanda yapılan araştırmalar ve teknolojik gelişmelere rağmen biyouyumlu, yüksek antibakteriyal ve fiziksel özelliklere sahip biyomateryal gereksinimi halen devam etmektedir. Bu doğrultuda öncelikle diş hekimliği alanında doku devamlılığı ve tamiri amacıyla diş pulpasında bulunan mezenkimal kök hücrelerden yararlanılmasına olanak sağlayan yeni materyallerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar da sürdürülmektedir.^{1, 2 193}

Diş hekimliği uygulamalarında kullanılan materyallerin çoğu diş dokuları ve çevre sıvılar ile temas halinde olduğundan, üretilecek olan yeni materyalin fiziksel ve mekanik özelliklerinden önce dokularla olan biyolojik uyumu değerlendirilmelidir. Bir materyalin biyouyumluluğu değerlendirilirken öncelikle hücre kültürleri üzerinde in vitro (birincil test) testler yapılmakta, değerlendirmeler hayvan testleri ile sürdürülüp, bu testlerden olumlu sonuçlar alındığında in vivo (klinik değerlendirme) çalışmalara geçilmektedir.

Yeni bir materyal geliştirme amacıyla yapılan bir çalışmada bor, yapısına katıldığı restoratif materyalin antibakteriyal özelliğini artırıp sitotoksik etkisini de azaltması sebebiyle umut vaat edici bir materyal olmuştur.³ Dünyadaki en büyük rezervi Türkiye’de bulunan borun vücudumuzdaki birçok metabolizma için de besinlerle birlikte veya takviye olarak dışarıdan vücudumuza zorunlu olarak alınması gereken bir besin ögesi olduğu belirlenmiştir.⁴⁻⁶ Ayrıca, kemik iyileşmesinde etkin bir rol oynayan bor, insan dental pulpa kök hücresinin (DPSC) osteojenik ve odontojenik hücre tiplerine farklılaşmasında da başarılı sonuçlar vermiştir.^{7, 8}

Endüstriyel alanda çok geniş kullanım alanına sahip olan borun diş hekimliği alanında da kullanılması sonucu biyoyumlu dental materyaller geliştirilebileceği düşünülmektedir. Yapılan literatür taraması sonucunda da farklı bor materyallerinin DPSC üzerine olan etkilerine ilişkin bir veriye rastlanılmamıştır.

Bu tez çalışmasının amacı DPSC üzerinde boraks, borik asit ve disodyum oktaborat tetrahidratın farklı derişimlerinin 24., 48. ve 72. saatlerdeki sitotoksik etkisinin MTT testi kullanılarak belirlenmesidir.

Bu tez çalışmasında aşağıdaki başlangıç hipotezleri için test edilecektir.

Hipotez 1: 24., 48. ve 72. saatlerde DPSC üzerinde oluşturduğu etki bakımından bor materyallerinin derişimleri arasında farklılık yoktur.

Hipotez 2: Farklı bor materyallerinin DPSC üzerinde 24., 48. ve 72. saatlerinde oluşturdukları etkiler arasında farklılık yoktur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pulpa- Dentin Kompleksi

Linde ve Goldberg⁹ pulpa ve dentin dokularının her ikisinin de dental papilladan köken almalarına rağmen, farklılıklar sebebiyle aralarında kimyasal benzerliklerin olmadığını belirtmişlerdir. Goldberg ve Lasfargues¹⁰ ise kavramsal olarak çok yararlı olmasa da "odontoblast-dentin kompleksi" ve pulpayı iki farklı doku olarak düşünmektedir. Ancak, pulpa ve dentinin fonksiyonel olarak ilişkili olduğu ve dolayısıyla bir doku olarak işlev gördüğüne dair çok fazla kanıt bulunmaktadır. Sağlıklı dişler termal olarak uyarıldığında, dentin sıvısı, içinde bulunduğu dentin tübüllerine kıyasla daha hızlı genişmekte veya daralmaktadır. Sağlam dişteki pulpa ve dentinin fonksiyonel ilişkisine bir örnek teşkil eden bu durum, intradental sinirlerin hidrodinamik aktivasyonuna neden olmaktadır. Dentin çevresini periferik olarak örten dış dokular (örneğin, mine ve sementum) herhangi bir nedenden dolayı kaybolduğunda, iki doku arasındaki normal ayrılma kaybolmakta ve fonksiyonel ilişki sürekli hale gelmektedir. Bu durum uzun vadede devam ettiğinde, pulpa-dentin kompleksinin geçirgenliğini azaltmak için pulpal dokular biyolojik bir yanıt olarak tersiyer dentin üretmektedir.¹¹

Pulpa-dentin kompleksinin canlılığı dişin fonksiyonel ömrü için temeldir ve klinik tedavilerde izlenecek hedef için bir önceliktir. Pulpa hücreleri diş gelişmesinden sonra sadece doku homeostazını korumakla kalmayıp, aynı zamanda çürük gibi yaralanmalar sonucu doku onarımına yol açan savunma reaksiyonlarını da desteklemektedir. Bu esnada hücrelerin davranışlarını ve aktivitelerini kontrol etmek için sinyal vermesi, pulpa canlılığını korumak için kritik öneme sahiptir.¹²

2.2. Pulpa Dokusu

Dişin yapısındaki tek yumuşak doku olan pulpa dokusu özel bir yapıya sahiptir. Dentin ile direkt temas halinde olan odontoblastlar, fibroblastlar, damar hücreleri,

histiositler, makrofajlar, dendritik hücreler, sinir hücreleri, perisitler, lenfositler ve mast hücreleriyle birlikte bu hücrelerin oluşturduğu hücre dışı matriksinden oluşan pulpa dokusu dental papillanın ektomezenşimal hücrelerinden köken alan bir bağ dokudur.^{13, 14} Pulpanın beslenmesi apikal bölgeden giriş yapan kan damar ağıyla, inervasyonu da sinir demetleri ile sağlanmaktadır.¹⁵

Pulpanın nutritif (beslenme), defansif (savunma), sinirsel ve formatif (yapısal) fonksiyonlar gibi görevleri bulunmaktadır.^{10, 11} Genel yapısına ve fonksiyonlarına baktığımızda pulpanın ana görevi embriyonel hayatta dentinin oluşumunu sağlamak ve yaşam boyu dentinin fizyolojik ve biyolojik canlılığını korumaktır.^{16, 17}

2.2.1. Pulpa Dokusunun Tabakaları

Pulpa merkezden dentine doğru dört tabakadan meydana gelmektedir. Sırasıyla bu tabakalar; merkezi pulpa tabakası, hücreden zengin tabaka, hücreden fakir tabaka, ve odontoblastik tabaka şeklindedir.

2.2.2. Merkezi Pulpa Tabakası

Pulpa dokusunun merkez kütleini oluşturan gevşek bağ dokusu yapısındaki bu tabakada en göze çarpan hücre fibroblasttır. Yapısında kan damarları ve sinir pleksusları (çoğunluğu myelinli A-lifi ve myelinsiz C-lifi olarak) içermektedir.^{10, 14}

2.2.3. Hücreden Zengin Tabaka

Subodontoblastik bölgede bulunup, merkezi pulpa tabakasına kıyasla yüksek oranda fibroblast içermektedir. Bu durum kron pulpasında kök pulpasından çok daha belirgindir. Pulpanın bu bölümü fibroblastlar dışında, farklı sayıda bağışıklık hücreleriyle beraber farklılaşmamış mezenkimal kök hücreleri de içermektedir.¹⁴ Diferansiye olmamış mezenkimal hücreler de pulpanın merkezinde ve hücreden zengin tabakada kan damarlarının etrafında yaygın olarak bulunmaktadır. Işık mikroskopunda bakıldığında bu hücrelerin fibroblastlardan ayırt edilmesi zordur. İhtiyaç halinde farklılaşarak

fibroblastlara ya da odontoblastlara dönüşebildikleri gibi, enflamasyon mevcudiyetinde makrofajlara ve osteoklastlara da farklılaşabilmektedirler.^{14, 18}

Gotjamanos¹⁹ sıçan azı dişlerinde yaptığı araştırmaya göre diş sürmesi aşamasından başlayarak hücreden zengin tabakanın pulpanın santral bölgelerini dolduran hücrelerin, pulpanın dış bölgelerine doğru yer değiştirmesinin bir sonucu olarak oluştuğunu düşünmektedir. Ayrıca, hücreden zengin tabakada bulunan immünokompetan hücrelerin dışarıya doğru göç etmesinde antijenik uyarımın rol oynadığı düşünülmektedir.²⁰ Sağlıklı pulpanın hücreden zengin tabakasında hücre bölünmesi nadiren görülmekle birlikte, odontoblastların zarar görmesi veya ölümü mitoz oranında artışa neden olmaktadır. Odontoblastlar post-mitotik hücre yapısına sahip olduğundan, kendini tamir edemeyecek şekilde yaralanan odontoblastlar, pulpanın hücreden zengin tabakasından dentinin pulpaya bakan yüzeyine komşu olan odontoblastik tabakaya göç eden hücrelerle yer değiştirmektedir.²¹ Hücreden zengin tabakadaki çoğalma, odontoblast tabakasının yeniden oluşmasında ilk adımı meydana getirirken, yedek odontoblast kaynağının pulpada yer alan kök hücreler olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.^{22, 23} Bu odontoblast benzeri hücreler reaksiyoner ve reparatif dentinin yapımında büyük bir rol oynamaktadır.²⁴

2.2.4. Hücreden Fakir Tabaka

Koronal pulpada odontoblast tabakasına komşu alanda Weil'in hücresiz tabakası olarak adlandırılan 40 µm genişliğinde nispeten hücresiz dar bir alan bulunmaktadır.¹⁴ Bu bölümde kılcal kan damarları, miyelinsiz sinir uçları ve fibroblastların ince uzantıları bulunmaktadır. Pulpanın fonksiyonel durumuna göre hücreden fakir tabakanın varlığı veya yokluğu değişmektedir.²⁵ Hücreden fakir tabaka dentinin hızla oluştuğu genç pulpa dokusunda ve onarıcı dentinin üretildiği yaşlı pulpa dokusunda bulunmamaktadır.¹⁴

2.2.5. Odontoblastik Tabaka

Sağlıklı pulpa dokusunun en dış tabakasını oluşturan odontoblastik tabaka preentine bitişik olarak odontoblastların hücre gövdelerinden oluşmaktadır. Odontoblast uzantıları, preentinin içinden dentinin iç kısmına doğru ilerlemektedir. Bu tabakada odontoblastların arasında kılcal damarlar, sinir ağları ve dendritik hücreler bulunmaktadır.¹⁴

Aktif olarak kolajen salgılayan odontoblastlar genç pulpanın koronal kısmında uzun sütunlu bir form almaktadır. Odontoblastlar değişken yükseklikleri ve çekirdeklerinin aynı seviyede olmaması sebebiyle bir çit görüntüsü olarak tarif edilen kademeli bir dizi halinde sıralanmaktadır. Odontoblastik tabaka sadece bir odontoblast hücre tabakası olduğu halde bu organizasyon sebebiyle kalınlık açısından üç veya beş hücre gibi gözükmektedir.²⁵

2.3. Kök Hücre

Kök hücreler hem kendini yenileme hem de çok-yönlü farklılaşabilme özelliğine ve kapasitesine sahip diferansiye olmamış hücrelerdir. Bu özelliklerinden dolayı hasarlı organ ve dokuların rejenerasyonu amacıyla doku mühendisliğinde kök hücrelerden faydalanılmaktadır.²⁶ Vücutta ve organizmanın farklı gelişim aşamalarında, birçok dokuda bulunan kök hücrelerin doku içinde bulunduğu bölge, “kök hücre alanı” olarak adlandırılmaktadır. Bu alanlar sıklıkla damar yapısına yakın, yani perivasküler bir alan içinde konumlanmaktadır ve bu anatomik lokalizasyon, hücrelerin yaralanma bölgelerine hızlı mobilizasyonunu sağlamaktadır.⁴

Kök hücreler temel farklılaşma potansiyellerine göre embriyonik kök hücreler ve somatik kök hücreler (yetişkin kök hücreler veya mezenkimal kök hücreler olarak da adlandırılır) olarak iki temel kategoride sınıflandırılmaktadır.^{27, 28} Embriyonik kök hücrelerin kullanımı etik konularla sınırlıyken, somatik kök hücreler doku

mühendisliğinde kullanılmak üzere daha uygun bir hücresel kaynak oluşturmaktadır.²⁷ Postnatal kök hücreler beyin, deri, kıl folikülleri, iskelet kası, kemik iliği ve diş dokuları dahil olmak üzere çeşitli dokulardan izole edilebilmektedir.²⁹ Diş ile ilişkili dokular, nispeten kolay erişilebilen zengin bir mezenkimal kök hücre kaynağı olup, bu dokulardan altı tip dental mezenkimal kök hücresi izole edilebilmektedir:

- a. Daimi dişlerin pulpasından izole edilen dental pulpa kök hücreleri (Dental pulp stem cells-DPSC)³⁰
- b. Eksfoliyeye olmuş insan süt dişlerden izole edilen kök hücreleri (Stem cells from human exfoliated deciduous teeth-SHED)
- c. Süt dişlerindeki olgunlaşmamış dental pulpadan izole edilen kök hücreleri (Immature dental pulp stem cells-IDPS)^{31, 32}
- d. Periodontal ligament kök hücreleri (Periodontal ligament stem cells-PDLSCs)³³
- e. Apikal papilladan izole edilen kök hücreleri (Stem cells from apical papilla-SCAPs)^{34, 35}
- f. Dental folikül progenitör hücrelerden izole edilen kök hücreler (Dental follicle stem cells-DFPCs)³⁶

2.3.1. İnsan Dental Pulpa Kök Hücreleri

Diş pulpası, son zamanlardaki çalışmalarda üzerinde önemle durulan bir kök hücre kaynağıdır. Dental pulpadaki kök hücrelerinin izole edilmesinin kolay olması, etik problemler oluşturmaması, yüksek diferansiyasyon özelliğine sahip olması, biyouyumlu materyallerle gerçekleştirilen uygulamalarda dokuların onarımında etkili bir rol oynaması ve uygun şartlarda dondurularak saklandıktan (kriyoprezervasyondan) sonra çözüldüğünde yüksek canlılık oranı sergilemesi sebebiyle kök hücre çalışmalarında kullanmak için gerekli tüm özellikleri taşımaktadır.^{37, 38}

Genellikle çekilmiş üçüncü azı dişleri, süt dişleri ve travma veya ortodontik tedavi sebebiyle çekilen dişler DPSC kaynağı olarak kullanılmaktadır.³⁸ Yirmi yaş dişleri çekim endikasyonlarının olması, gelişimlerini en son tamamlamaları, gelişimin erken evresinde zengin pulpa dokusuna sahipken elde edilebilmelerinden dolayı sıklıkla tercih edilmektedir.^{39,40} Yirmi yaş dişlerinden elde edilen DPSC odontoblastlara, osteoblastlara, iskelet ve düz kas hücrelerine, kıkırdak hücrelerine, yağ hücrelerine ve sinir hücrelerine diferansiye olabildiği gösterilmiştir.⁴¹⁻⁴³ Bu özellikleri sayesinde diş hekimliği alanındaki DPSC çalışmalarında dentin, pulpa, sement ve periodontal dokuların oluşturulması ve bu yolla hasarlı dokuların onarımı sağlanabilmektedir.³⁸

2.4. Bor

Atom ağırlığı 10.81g, atom numarası 5, yoğunluğu 2.84g/cm³, ergime noktası 2300 °C olarak bilenen Bor, metalle ametal arası yarı iletken özelliklere sahip periyodik sistemin üçüncü grubunun başında bulunan bir elementtir. Doğada serbest halde bulunmayan bor, her zaman oksijenle birlikte bulunmaktadır; bu bileşik ise borat olarak isimlendirilmiştir.^{44, 45} Boratlar suda eriyen beyaz kristal ve toz halinde bir yapıya sahiptir. Doğada çok sayıda bor materyali bulunmaktadır ve bu materyallerin en önemlileri bileşenlerinde Ca, Na ve Na-Ca' i içerenlerdir. Tinkal (boraks) bileşeninde Na bulunduran, kolemanit bileşeninde Ca bulunduran, üleksit ise bileşeninde Na-Ca bulunan bor materyallerine verilen isimlerdir.⁴⁶

H 1 (1.008)																	He 2 (4.0026)																												
Li 3 (6.941)	Be 4 (9.0122)											B 5 (10.811)	C 6 (12.011)	N 7 (14.007)	O 8 (15.999)	F 9 (18.998)	Ne 10 (20.180)																												
Na 11 (22.990)	Mg 12 (24.305)											Al 13 (26.982)	Si 14 (28.086)	P 15 (30.974)	S 16 (32.06)	Cl 17 (35.453)	Ar 18 (39.948)																												
K 19 (39.098)	Ca 20 (40.078)	Sc 21 (44.956)	Ti 22 (47.88)	V 23 (50.942)	Cr 24 (51.996)	Mn 25 (54.938)	Fe 26 (55.845)	Co 27 (58.933)	Ni 28 (58.693)	Cu 29 (63.546)	Zn 30 (65.38)	Ga 31 (69.723)	Ge 32 (72.63)	As 33 (74.922)	Se 34 (78.96)	Br 35 (79.904)	Kr 36 (83.80)																												
Rb 37 (85.468)	Sr 38 (87.62)	Y 39 (88.906)	Zr 40 (91.224)	Nb 41 (92.906)	Mo 42 (95.94)	Tc 43 (98.906)	Ru 44 (101.07)	Rh 45 (102.91)	Pd 46 (106.42)	Ag 47 (107.87)	Cd 48 (112.41)	In 49 (114.82)	Sn 50 (118.71)	Sb 51 (121.76)	Te 52 (127.6)	I 53 (126.91)	Xe 54 (131.29)																												
Cs 55 (132.91)	Ba 56 (137.33)	La 57 (138.905)	Hf 72 (178.49)	Ta 73 (180.948)	W 74 (183.84)	Re 75 (186.207)	Os 76 (190.23)	Ir 77 (192.22)	Pt 78 (195.084)	Au 79 (196.967)	Hg 80 (200.59)	Tl 81 (204.38)	Pb 82 (207.2)	Bi 83 (208.98)	Po 84 (209)	At 85 (210)	Rn 86 (222)																												
Fr 87 (223)	Ra 88 (226)	Ac 89 (227)	Rf 104 (261)	Db 105 (262)	Sg 106 (263)	Bh 107 (264)	Hs 108 (265)	Mt 109 (266)	Ds 110 (267)	Rg 111 (268)	Cn 112 (269)			Fl 114 (289)			Lv 116 (293)																												
<table border="1"> <tr> <td>Ce 58 (140.12)</td> <td>Pr 59 (140.91)</td> <td>Nd 60 (144.24)</td> <td>Pm 61 (144.91)</td> <td>Sm 62 (150.36)</td> <td>Eu 63 (151.96)</td> <td>Gd 64 (157.25)</td> <td>Tb 65 (158.93)</td> <td>Dy 66 (162.50)</td> <td>Ho 67 (164.93)</td> <td>Er 68 (167.26)</td> <td>Tm 69 (168.93)</td> <td>Yb 70 (173.05)</td> <td>Lu 71 (174.97)</td> </tr> <tr> <td>Th 90 (232.04)</td> <td>Pa 91 (231.04)</td> <td>U 92 (238.03)</td> <td>Np 93 (237.05)</td> <td>Pu 94 (244.06)</td> <td>Am 95 (243.06)</td> <td>Cm 96 (247.07)</td> <td>Bk 97 (247.07)</td> <td>Cf 98 (251.08)</td> <td>Es 99 (252.08)</td> <td>Fm 100 (257.09)</td> <td>Md 101 (258.10)</td> <td>No 102 (259.10)</td> <td>Lr 103 (260.10)</td> </tr> </table>																		Ce 58 (140.12)	Pr 59 (140.91)	Nd 60 (144.24)	Pm 61 (144.91)	Sm 62 (150.36)	Eu 63 (151.96)	Gd 64 (157.25)	Tb 65 (158.93)	Dy 66 (162.50)	Ho 67 (164.93)	Er 68 (167.26)	Tm 69 (168.93)	Yb 70 (173.05)	Lu 71 (174.97)	Th 90 (232.04)	Pa 91 (231.04)	U 92 (238.03)	Np 93 (237.05)	Pu 94 (244.06)	Am 95 (243.06)	Cm 96 (247.07)	Bk 97 (247.07)	Cf 98 (251.08)	Es 99 (252.08)	Fm 100 (257.09)	Md 101 (258.10)	No 102 (259.10)	Lr 103 (260.10)
Ce 58 (140.12)	Pr 59 (140.91)	Nd 60 (144.24)	Pm 61 (144.91)	Sm 62 (150.36)	Eu 63 (151.96)	Gd 64 (157.25)	Tb 65 (158.93)	Dy 66 (162.50)	Ho 67 (164.93)	Er 68 (167.26)	Tm 69 (168.93)	Yb 70 (173.05)	Lu 71 (174.97)																																
Th 90 (232.04)	Pa 91 (231.04)	U 92 (238.03)	Np 93 (237.05)	Pu 94 (244.06)	Am 95 (243.06)	Cm 96 (247.07)	Bk 97 (247.07)	Cf 98 (251.08)	Es 99 (252.08)	Fm 100 (257.09)	Md 101 (258.10)	No 102 (259.10)	Lr 103 (260.10)																																

Şekil 2.1. Periyodik tablo

Bor materyalleri cam, seramik, temizlik, beyazlatma, kozmetik, tarım, nükleer, sanayi, uçak, metalurji, bilgisayar, enerji sektörü ve sağlık alanında kullanılmaktadır. Bor materyalleri sağlık alanında; romatoid artrit, osteoporoz ve yanık tedavilerinde, beyin tümörlerinin Bor Nötron Yakalama Tedavisi (Boron Neutron Capture Therapy, BNCT) ile iyileştirilmesinde, yara iyileşmesinde ve antiseptik olarak lens solüsyonlarında, gargaralarda, merhemlerde ve göz damlalarında kullanılmaktadır. Ayrıca, içeriğinde bor bulunan “Bortezomib” Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi tarafından onaylı bir ilaç olarak multiple myelom tedavisinde kullanılmaktadır.⁴⁷

Türkiye sahip olduğu bor rezervleri ve cevherlerinin kalitesi ile dünyanın önde gelen ülkesi konumunda olup dünya bor cevheri rezervlerinin %72'sine sahiptir. Borun geniş bir kullanım alanına sahip olması Türkiye'nin ekonomik ve jeopolitik önemini daha da artırmaktadır.⁴⁶

2.4.1. Borun Sağlık Üzerine Etkileri

Bor minerali, 1980 yılının ortalarında insanlar için besinlerle birlikte veya takviye olarak dışarıdan vücudumuza zorunlu olarak alınması gereken besin ögesi olarak kabul edilmiştir. Sağlıklı ve dengeli beslenme için günlük en az 1,2 mg Bor'un gıdalarla alınmasının gerekli olduğu bildirilmektedir.⁴⁸ Dünya Sağlık Örgütü 70 kg ağırlığındaki bir insanın günlük alabileceği Bor miktarını başlangıçta 13 mg/gün olarak belirtmiş, fakat daha sonra bunu değiştirerek 28 mg/gün veya 0,4 mg/kg olarak belirlemiştir.⁴⁸ Demirtaş borun, enzimatik reaksiyonlarda, hücre zarının işleyişinin sağlıklı devam etmesinde, steroid hormonların salgılanmasında önemli bir yeri olduğunu bulmuştur.⁴⁹ Vücuda yetersiz bor alımında çeşitli fizyolojik ve metabolik sistemler (lipid, mineral, kemik, enerji metabolizması ve endokrin fonksiyonu) önemli ölçüde etkilenmektedir.⁵⁰

Bor bileşikleri insan vücuduna yiyecek ve içeceklerle sindirim yoluyla, gaz veya toz halinde solunum yoluyla, krem ve ilaçların cilde temas etmesiyle deri yoluyla girmektedir. Bor içeriği bakımından zengin olan gıdalar ise kabuklu yemişler, kuru baklagiller (10-45 ppm), meyve ve sebzelerdir (1-6 ppm).⁵⁰ Beslenme yoluyla alınan bor bağırsak mukozasında borik asite dönüşmekte ve pasif difüzyon yoluyla absorbe olarak kan dolaşımında da borik asit formunda bulunmaktadır.⁴⁹ Vücuda nasıl girerse girsin, borun %90-95 kadarı vücutta birikmeden ilk 24 saat içerisinde metabolize olmadan idrar ile dışarı atılmaktadır. Borik asitin metabolize olamamasının nedeni ise, bor ile oksijen arasındaki bağların koparılması için yüksek enerjiye (523 kJ/mol) ihtiyaç duyulmasıdır.⁴⁴ Bor bileşenleri insan vücudunda yalnızca kemik, tırnak ve kıllarda, karaciğer ve dalak gibi organlarda birikmektedir.⁵¹

Tablo 2.1. Bazı besinlerin içerdiği bor konsantrasyonları ^{52,53}

Besin Türü	Bor konsantrasyonu (µg/g)	
	Hunt ve arkadaşları	Anderson ve arkadaşları
Meyveler		
Armut	1.22	
Kiraz	1.47	0.92
Şeftali	1.87	1.41
Elma	2.73	2.38
Muz		3.72
Kuru Üzüm	25.00	19.00
Kuru Erik	27.00	21.50
Sebzeler		
Salatalık	0.02	
Taze Fasülye	0.46	1.56
Havuç	0.75	
Brokoli	1.85	
Kuru Yemişler		
Fındık	16.00	
Fıstık	18.00	13.80

Borik asidin insanlar için en düşük öldürücü dozu vücuda sindirim yolu ile alındığında 640 mg/kg, deri yolu ile alındığında 8600 mg/kg, enjeksiyon yolu ile alındığında 29 mg/kg'dır. Öldürücü doz yetişkinlerde 15-20 g/gün, çocuklarda 3-6 g/gün olarak belirtilmiş olsa da literatürde kesin bir öldürücü doz bulunmamaktadır.⁴⁸ Bir günde 500 mg'dan daha fazla miktarda bor bileşeni alındığında insanlarda toksisite belirtileri olarak baş ağrısı, bulantı, kusma, karın ağrısı, ishal, halsizlik, kas kasılması, cilt lezyonları, salgı bezlerinin çalışmasının bozulması, sindirim sistemi / merkezi sinir sistemi düzensizlikleri ve şok görülmektedir.⁶ Bor zehirlenmesinin karakteristik görünüşü parmak uçlarında pembe renk mevcudiyetidir.⁵⁴

Bor özellikle sağlıklı bir kemik yapısının oluşmasında son derece önemli rol oynayan magnezyum, vitamin D, fosfor, kalsiyum minerallerinin metabolizmasını olumlu yönde etkilemektedir.⁵⁵⁻⁵⁷ Nielsen⁵⁸ de bor içeren gıdaların kemik erimesini önleyerek arthiritis, osteorhritis ve osteoporosis'in engellenmesinde etkili olduğunu

ortaya koymuştur. Borun kemik sağlığı üzerine olumlu etkileri, bor içeren biyoaktif camların geliştirilmesine öncülük ederek kemik rejenerasyonunda stronsiyum borat camının kullanılmasını sağlamıştır.⁵⁹

Bor hücrelerde indirgenmiş glutasyon miktarını arttırarak oksidatif stresi ve buna bağlı olarak oluşabilecek oksidatif hasarı azaltmaktadır.^{5, 50} Yara iyileşmesindeki olumlu etkilerinin yanı sıra borun özellikle prostat kanseri, akciğer kanseri ve anormal servikal sitopatoloji riski gibi bazı kanser türlerine karşı koruyucu etki gösterdiği yönünde bulgular da mevcuttur.^{6, 60} Doğan ve arkadařları⁶¹ borun sıçan adipoz kaynaklı kök hücreleri üzerinde çoğalma, adezyon ve farklılaşmayı arttırdığını tespit etmişlerdir. Demirci ve arkadařları⁶² da bazı aktif biyolojik polimerler ile sodyum pentaborat penhidratı (NaB) birleştirerek hazırladıkları jelin sıçanlarda ikinci derece yanık yaralarının iyileşmesini sağlarken bakteri, maya ve mantarlara karşı da antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

2.4.2. Boraks

Boraks ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), beyaz granül ve toz halinde olup suda kolayca çözünen kokusuz bir maddedir. Bor içeriği %36.5, mol ağırlığı 381.38 gr ve özgül ağırlığı 1.72 gr/cm³ olan boraks, ölkemizde Eskişehir-Kırka yataklarında üretilmektedir. Boraksın birçok kullanım alanı (ziraat, endüstri, tıp vb.) bulunmakta olup, bazı ölkelerde antifungal etkisinden dolayı gıdalara koruyucu olarak da eklenmektedir.^{46, 63}

Boraks birçok enzimin serbest radikallerinde ve mineral (Ca, Mg, Vit D), hormon ve lipid metabolizmasında önemli bir role sahiptir.^{64, 65} Etki mekanizması halen belirlenmemiş olmasına rağmen, boraksın ratlarda oksidatif stres parametrelerini değiştirerek karaciğer yetmezliğinde gözlenen zararlı etkileri dengelemesi sonucu karaciğeri normalleştirdiği ve organizmadaki hasarı kontrol altında tuttuğu düşünölmektedir.⁶⁶

Danimarka'da 1912-1948 yılları arasında, epilepsi teşhisi konmuş 586 hasta üzerinde 3 hafta ila birkaç yıl süresince günde 3 - 6 g boraks (hidratlı sodyum tetraborat) verilerek tedavi edilmeye çalışılmıştır. Fakat, toplam nöbet sayısında % 50'den fazla azalmanın hastaların sadece %5'inden daha azında gözlenmesi boraksın etkinliğinin şüpheli olduğunu göstermektedir. Ayrıca, döküntü, saç dökülmesi veya ishal gibi olumsuz etkilerin gözlenmesi hastalarda boraks kullanımının kesilmesine yol açmıştır. Boraks şüpheli etkisi ve diğer olumsuz yan etkileri sebebiyle epilepsi tedavisindeki popülerliğini kaybetmiştir.⁶⁷

2.4.3. Borik Asit

Ortoborik asit olarak da adlandırılan kokusuz, beyaz, kristal yapıya sahip olan borik asidin molekül ağırlığı 61.83 g/mol olup, özgül ağırlığı ise 1.44 g/cm³'tür. Borun çözümler formları arasında en çok karşılaşılan borik asit (H₃BO₃); borakstan, kolemanitten, kernitten ve üleksitten elde edilmektedir.⁶⁸ Borik asidin bilinen üç formu; orto (H₃BO₃), tetra (H₂B₄O₇) ve meta (HBO₂) borik asit olup en yaygın görülen formu ortoborik asittir. Bu formlar ısının etkisiyle oluşmaktadır. Örneğin ortoborik asit 100°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda metaborik asit yapısına, 160°C'nin üzerinde ise meta borik asit yapısından tetraborik asit yapısına dönüşmektedir.⁶⁹

Son dönemde borik asitin tıp ve diş hekimliği alanında kullanımı üzerine hem hayvanlarda hem de insanlarda tıbbi amaçlı kullanımını irdeleyen çalışmalar yapılmaktadır. Borik asidin antioksidan özelliğe sahip olduğunu göstermek adına Türkez ve arkadaşları⁷⁰ borik asidin düşük konsantrasyonda (15 mg/L) eritrositlerde süperoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin aktivitesini arttırdığını, yüksek konsantrasyonda (500 mg/L) ise süperoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin aktivitesini azalttığını belirtmişlerdir. Ayrıca, kolay elde edilmesi, düşük toksisite düzeyi, kısa süre içerisinde idrar ile metabolize edilmeden atılması gibi önemli özelliklere sahip olması nedeniyle

borik asidin özellikle tıp alanında kemoterapotik amaçlı kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur.⁷¹⁻⁷³

Diş hekimliği alanında ise Demirer ve arkadaşları⁷⁴ deneysel periodontitis oluşturulan sıçanlara, oral yoldan günlük 3 mg borik asidi 11 gün boyunca sistemik olarak verip, klinik olarak alveoler kemikteki değişiklikleri, histopatolojik olarak da doku örneklerini incelemiştir. Borik asit verilen sıçanlarda borik asit verilmeyen kontrol grubuna göre enflamatuvar hücre infiltrasyonu, osteoklast sayısı ve alveoler kemik kaybının daha az olduğunu tespit ederek, sistemik borik asit uygulamasının, periodontal hastalıklı sıçanlarda periodontal enflamasyonu ve alveoler kemik kaybını azalttığını rapor etmişlerdir.

2.4.4. Disodyum oktaborat tetrahidrat

Disodyum oktaborat tetrahidratın [$\text{Na}_2\text{B}_8\text{O}_{13}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (minerolojik olarak $\text{Na}_2\text{O}\cdot 4\text{B}_2\text{O}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$)] borlu gübre olarak kullanılan Solubor, ahşap korunmasında insektisid ve fungusit olarak kullanılan Timbor ve alev önleyici malzeme olarak Polybor ticari isimleri altında farklı uygulama alanları mevcuttur.⁷⁵

Disodyum oktaborat tetrahidrat bitki örtüsünün gelişmesini arttırmak veya zararlı bitki oluşumunu önlemenin yanı sıra ahşap malzeme koruma uygulamalarında da oldukça yaygın kullanılan bir bileşiktir. Diğer koruyucu maddelere göre daha ucuz olmaları, kolay bulunabilmeleri, çevreye uyumlu olmaları, zararlı mantar ve böceklerle karşı öldürücü (fungisit, insektisid) olmaları, yangın geciktirme özellikleri, insan ve hayvanlar için zehirli olmamaları, renksiz ve kokusuz olmaları sebebiyle tercih edilmektedirler.^{76,77}

2.5. Biyouyumluluk

Biyouyumluluk bir materyalin, doku ya da organizma yaşamını veya sağlığını kötü yönde etkilemeden kullanım amacına uygun fonksiyon göstermesidir. Başka bir deyişle materyalin uygun doku ve konakçı cevabı oluşturması olarak tanımlanabilir.

Herhangi bir materyalin diş hekimliğinde kullanıma sunulmasından önce biyoyuymulluk yönünden dokular üzerindeki zararlı etkilerinin ve sitotoksisitesinin değerlendirilmesi gerekmektedir.^{1, 78, 79}

Diş hekimliğinde kullanılan malzemelerin biyoyuymulluk kriterleri řu şekilde sıralandırılmaktadır.¹

- Yumuşak dokulara veya pulpaya zararlı etkisinin olmaması,
- Dolařım sistemine salınarak veya difüzyon yoluyla absorbe edilerek sistemik dolařımda toksik cevaba yol ačan zararlı maddeler içermemesi,
- Alerjik cevap oluşturma riski taşıyan ajanlar bulundurmaması,
- Karsinojenik potansiyeli olmaması.

Bir materyalin biyoyuymulluluğunun değerlendirilmesinde en önemli basamak uygun test yönteminin belirlenmesidir. 1982 yılında Uluslararası Diş Hekimliği Birliği (FDI), Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu “*International organization for Standardization*” (ISO) ve Amerikan Diş Hekimleri Birliği’nin “*American Dental Association*” (ADA) ortak görüşü doğrultusunda yayınlanan kılavuzda biyoyuymulluk testleri üç grupta sınıflandırılmıştır.⁸⁰

- İn vitro deneyler (birincil ya da eleme testleri),
- İn vivo hayvan deneyleri (ikincil testler),
- İnsanlarda klinik çalışmalar (kullanım testleri)

Materyallerin biyolojik özelliklerinin değerlendirilmesine hücre kültürlerinin kullanıldığı in vitro test yöntemleri ile başlanılmaktadır. Bu değerlendirmeleri daha pahalı ve uzun zaman gerektiren hayvan testleri takip etmektedir. Bu testlerden de istenilen sonuçlar elde edildikten sonra kullanım testleri gibi daha kapsamlı klinik çalışmalar yapılmaktadır.⁸¹

2.6. Sitotoksosite

Biyouyumluluğun belirleyici etkeni olan sitotoksosite, uygulanan materyalin hücre yapı ve fonksiyonlarında belirgin hasarlar meydana getirmesi sonucu hücre canlılığına olan etkisinin değerlendirilmesi olarak ifade edilmektedir.^{82, 83} Sitotoksosite testlerinde hücrenin morfolojisi, canlılığı, gelişimi, sayısı ve metabolizması, hücre membran hasarı ve geçirgenliği, çeşitli enzim aktivitelerinin, RNA, DNA ve protein sentezinin durması değerlendirilmektedir.⁸⁴

2.6.1. İn Vitro Sitotoksosite Değerlendirmelerinde Kullanılan Test Yöntemleri

ISO standartlarına göre in vitro sitotoksosite değerlendirmelerinde kullanılan test yöntemleri şunlardır.⁸⁵

- 1) Hücre kültürü testleri
 - a) Direkt hücre kültür metodu
 - i) Direkt temas testi
 - ii) Ekstrakt testi
 - b) Bariyer test metodu
- 2) Agar difüzyon testi
- 3) Filtre difüzyon testi
- 4) Dentin bariyer testi

2.6.1.1. Hücre kültürü testleri

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin sitotoksitesinin in vitro olarak belirlenmesinde en yaygın kullanılan sistem olan hücre kültür testlerinin temel kuralı, canlı dokulardan elde edilen hücrelerin in vitro koşullarda yaşamalarını ve çoğalmalarını sağlamaktır.⁸⁶ Canlı dokulardan elde edilen hücrelerin fizyolojik durumu taklit eden vücut ısısı ve besiyerlerinde çoğaltılması sonucu hücre kültürleri elde edilmektedir.⁸⁷ Bu

hücre kültürleri için kullanılan besi yerinde de aminoasitler, vitaminler, tuzlar, antibiyotikler, glikoz, serum ve gerekli proteinler bulunmaktadır.⁸⁸

Hücre kültürleri; bireysel faktörlerden etkilenmemesi, deney aşamalarının kontrol edilebilmesi, parametrik kıyaslamalara izin vermesi, canlılara zarar verilmemesi ve tekrarlanabilme imkanı sunması gibi nedenlerden dolayı materyallerin sitotoksitesinin belirlenmesinde tercih edilmektedir.^{2, 81, 88} Hücre kültür testleri her ne kadar 1-14 gün arasındaki sitotoksitenin değerlendirilmesine olanak sağlasa da materyalin dokuyla uzun süreli teması hakkında yeterli bilgi vermemektedir.^{2, 89}

Hücreler ile temas yöntemi ve uygulanacak materyalin fiziksel özelliği in vitro sitotoksite testinin seçilmesinde önemli bir unsurdur. Hücre ile materyalin teması direkt, indirekt veya ekstrakt yolu ile gerçekleşebilmektedir.⁸³

Direkt hücre kültür metodunda materyal veya bileşenleri hücre kültürüne doğrudan ve kısa sürede uygulanmaktadır. Suda çözünebilen materyaller hücre kültüründe kullanılan besi yeri içerisinde de çözünebildiğinden dolayı daha iyi materyal-hücre teması elde edilmektedir. Suda veya medyumda çözünmeyen materyallerin direkt teması ise direkt hücre üzerine uygulanması veya hücre kültürünün direkt olarak materyal üzerine uygulanması sonucu sağlanmaktadır.⁹⁰

Bariyer metodunda in vivo benzeri koşullar sağlanması amaçlandığı için hücreler ile uygulanacak materyal arasında materyalin veya bileşenlerinin difüzyonuna izin veren bir bariyer bulunmaktadır.^{81, 85, 91}

2.6.1.2. Agar Difüzyon Testi

Agar difüzyon testinde, kültürdeki hücrelerin üzerini %1,5'lik agar besiyeri örterken, bu besiyerinden difüze olan materyal bileşenlerinin toksisitesi incelenmektedir. 24 saatin sonunda nötral kırmızı boyanın hücre membranından difüzyonu sonucu lizozomlarda birikme miktarıyla doğru orantılı olarak hücre aktivitesinin, toksik bileşen

difüzyon bölgesindeki hücrelerde gözlenen boya kaybıyla ilişkili olarak da materyal sitotoksitesinin incelendiği bir test yöntemidir. Kolay ve ucuz bir yöntem olmasına rağmen agarda çözünemeyen veya difüze olamayan test materyali veya bileşenleri hücreler üzerinde herhangi bir etki gösterememektedir. Dolayısıyla, bu yöntemde materyallerin ve bileşenlerinin hücreleri kaplayan agar besiyeri boyunca geçme zorunluluğu gibi bir dezavantaj bulunmaktadır.^{83, 87, 88}

2.6.1.3. Filtre Difüzyon Testi

Filtre difüzyon testinde, 0.45 µm genişliğinde porlara sahip selüloz asetat filtreden geçen materyallerin sitotoksik etkileri incelenmektedir. Filtrenin bir tarafına uygulanan materyal karşı tarafına ise hücreler yerleştirilmektedir. Uygulanan materyalin hücrelerde meydana getirdiği hasarlar boyanma yoğunluğunun incelenmesiyle veya dekolorizasyon alanının ölçülmesiyle tespit edilmektedir.^{83, 88} Boyanan alanın boyutuna, koyuluk derecesine ve etkilen alana bağlı olarak skorlama değişim göstermektedir.⁹²

2.6.1.4. Dentin Bariyer Testi

1974 yılında, Outhwaite ve ark.⁹³ tarafından bölümlü oda (split chamber) aleti ile dentinin geçirgenlik özelliği taklit edilerek materyallerin biyolojik uyumluluklarının değerlendirilebileceği fikri ortaya atılmıştır. Bu yöntemde insan veya sığır dişleri kesilerek farklı kalınlıklarda dentin diskleri oluşturulmaktadır. Dentin disklerinin asitle dağlanan tarafında hücreler üretilmekte ve bu kısım pulpa bölümü olarak tanımlanmaktadır. Uygulanacak materyal silikon bir tüpün içerisinde dentin diskinin diğer kısmına uygulanmakta ve dişin yapısı taklit edebilmek materyallerin sitotoksitesinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.^{83, 93}

2.6.2. Sitotoksite Testlerinin Değerlendirme Yöntemleri

Bir materyalin sitotoksik değerlendirmesi yapılırken; canlı hücrelerin sayımı, boya tutulumu, enzim aktivitesi, protein sentezi, enflamatuar mediatör sentezi gibi birçok

yöntem kullanılmaktadır.⁸³ Bu testler genel olarak dört başlık altında toplanmıştır.

Bunlar:⁸⁶

- Canlılık (*viability*) değerlendirme testleri
- Yaşam (*survival*) değerlendirme testleri
- Hücre proliferasyonu değerlendirme testleri
- Metabolik sitotoksosite değerlendirme testleri

2.6.2.1. Canlılık Değerlendirme Testleri

Canlılık değerlendirme testleri, materyalin hücreler üzerinde meydana getirdiği toksik etki sonucu hücre kültüründe hayatta kalan hücre oranının belirlenmesidir. Bu testler, hücre zarı bütünlüğünü yitirdiğinde hücrelerin içerisine giren tripan mavisi, naftalin siyahı, eritrosin gibi boyalar kullanılarak veya hücre zarının bütünlüğünün korunduğu canlı hücrelerin içerisine alınan nötral kırmızı ve diasetil floresan gibi boyaların kullanılmasıyla gerçekleştirilmektedir.⁸⁶ Değerlendirmelerin hücre zarı geçirgenliği ölçümü ile sınırlı olması ve hücrelerin ölümünden önceki son evrelerinden olan sub-letal hücre değişikliklerinin ölçülememesi, bu testlerin dezavantajlarıdır.⁹⁴

2.6.2.2. Yaşam Değerlendirme Testleri

Yaşam değerlendirilmesinde kısa dönem testleri hızlı ve kolay uygulanabilir yöntemler olmakla birlikte sadece değerlendirme esnasındaki cansız hücreleri göstermektedirler. Toksik etkilere maruz kalan hücrelerdeki etkilerin uzun vadede ortaya çıkabilmesi ve kısa dönemde görülen toksisite reaksiyonlarının geri dönebilmesinden dolayı canlılık oranının belirlenmesinde uzun dönem testleri daha çok tercih edilmektedir.

^{86, 87}

2.6.2.3. Hücre Proliferasyon Değerlendirme Testleri

Hücre proliferasyon değerlendirme testlerinde; materyalin hücre proliferasyonu üzerine olan etkisinin belirlenmesinde birkaç gün sonraki hücre sayımı sonucuyla elde

edilen büyüme eğrisinden faydalanılmaktadır. ³H-timidin ve bromodeoksiuridin immuno-histokimyasal teknik bu yöntemde en çok kullanılan testlerdir.^{86, 95}

2.6.2.4. Metabolizma Değerlendirme Testleri

Hücre kültüründeki canlı hücrelerin miktarının belirlenmesinde mitokondrial aktivite önemli bir belirteç olduğu için metabolizma testlerinde hücrelerin proliferatif ve metabolik aktivitelerine bakılarak genellikle hücrelerde uzun dönemde oluşan toksisite değerlendirilmektedir. Bu yöntemde materyalin hücrelerde meydana getirdiği toksisite sonucu hücrelerin enzim aktivitelerinde meydana gelen değişim incelenmektedir. Testin uygulanması ile hücre kültür plaklarında meydana gelen renk değişimleri mikropilaka okuyuculu spektrofotometre ile ölçülmektedir. Canlı hücre miktarının belirlenmesinde en sık kullanılan metabolik test yöntemi olan MTT testinin yanı sıra MST, WST ve XTT testleri de geliştirilmiştir. MTT testinde suda çözünmeyen formazon bileşiği oluşurken, MST, WST ve XTT testlerinde ise suda çözünen formazon bileşiği oluşmaktadır.^{81, 83, 87}

MTT Testi

MTT testi kullanılarak hücre kültüründeki canlı hücrelerin oranı, kültüre uygulanan tetrazolium halkasının canlı hücrelerin mitokondrial dehidrojenaz enziminin aktivitesiyle parçalanması sonucu, suda çözünemeyen mavi-mor formazana dönüşmesi ve kültürdeki formazonun yoğunluğunun spektrofotometrede kolorimetrik yöntemle belirlenmesi ile ölçülmektedir.^{83, 87} Biyouyumluluk testlerinden MTT testi, çabuk sonuç vermesi ve diğerlerine göre daha hassas olmasıyla birlikte düşük dozdaki toksisitelerin bile değerlendirilmesine imkan sağlaması nedeniyle diş hekimliğinde materyallerin sitotoksitesinin belirlenmesinde oldukça sık kullanılmaktadır.⁹⁵

3. MATERYAL VE METOT

Üç farklı yapıdaki bor materyaline ait farklı derişimlerin DPSC üzerindeki sitotoksitesinin MTT testi uygulanarak değerlendirildiği bu araştırma, Sağlık Bakanlığı tarafından yayımlanan 19 Ağustos 2011 tarih ve 28030 sayılı ‘‘Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik’’ hükümlerine bağlı kalınarak 13.02.2019 tarihinde Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Etik kurulunun 1. toplantısında 60 karar numarası ile etik kurul onayı alınarak Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yürütölmüştür.

3.1. Hücre Kültürünün Hazırlanması

Çalışmamızda Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu dondurulmuş DPSC kullanılmıştır (Şekil 3.1.).

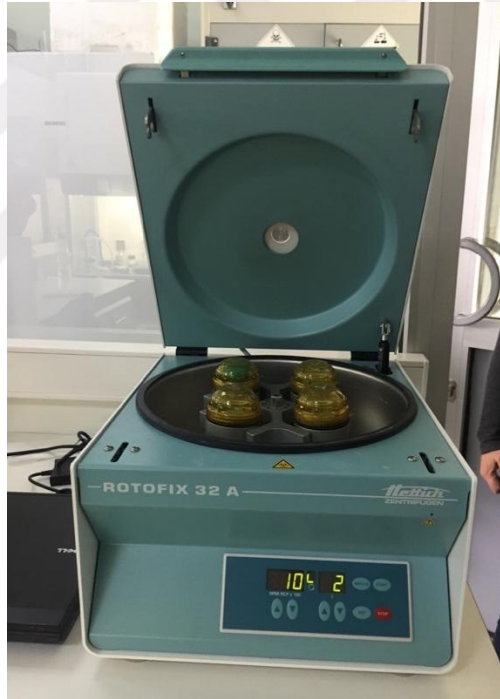


Şekil 3.1. İnsan dental pulpa kök hücresi

Dondurulmuş hücreler çalkalayıcı su banyosu (Memmert, Germany) (Şekil 3.2.) kullanılarak çözülmüş ve yeni besi yeri eklendikten sonra 5 dakika süre ve 800 rpm devirde santrifüj işlemleri (Rotofix 32, Hettich Zentrifugen, Germany) (Şekil 3.3.) gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Isı ayarlı su banyosu



Şekil 3.3. Santrifüj makinesi

Santrifüjasyon sonrası üstte kalan sıvı (süpernatant bölüm) atılarak geriye kalan kısım (pellet) içerisindeki hücreler, DPSC hücrelerine özel olarak hazırlanan besi yeri (DPSC DMEM (Lonza, MD USA), %10 fetal sığır serumu (FBS (Biowest, South America)) ve %1 PSA (Penisilin,streptomisin, amfotericin (BioWhittaker, Lonza, MD USA)) ile karıştırılarak 75 cm² alanındaki hücre kültürü üretme kabına ekilmiştir. Hücre

kültür flaskı daha sonra 37 °C'de %5 CO₂ ve %95 nemli inkübatörde (Esco CelCulture CO₂ Incubator, Singapore) (Şekil 3.4.) hücrelerin çoğalması için bekletilmiştir.

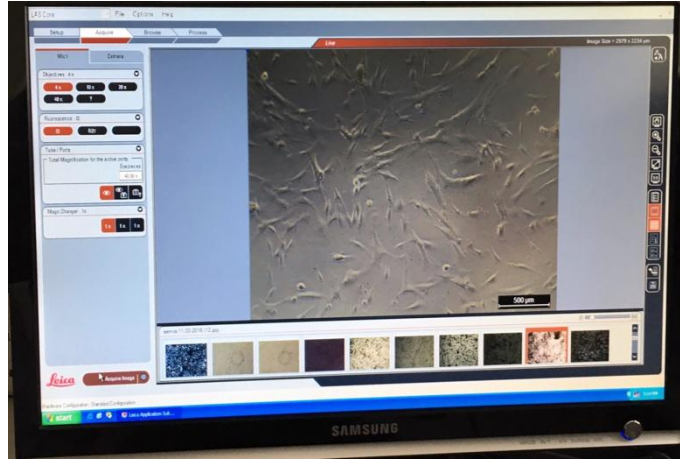


Şekil 3.4. İnkübatör

Hücreler kültür kabının tabanında tek tabaka olarak yeterli miktarda çoğaldıktan sonra (%80-85 yoğunluk) kültür kabındaki besi yeri aspire edilmiştir. Kültür ortamındaki hücresel atıkların ve serum artıklarının uzaklaştırılması amacıyla pipet değdirilmeden hücre yüzeyleri fosfat tamponlu salin solüsyonu (PBS (Biowest, South America)) ile yıkanmış ve PBS yavaşça çekilmiştir. Yeni bir pipet ile ortama %0.05 tripsin-etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) (Gibco®, Paisley, UK) eklenmiş ve hücre kültür flaskı 3 dakika inkübatörde tutulmuştur. Bu işlem sonrasında flask mikroskopik (Leica, Germany) (Şekil 3.4.) olarak incelendiğinde hücrelerin üretim kabı tabanından serbestleştiği gözlemlenmiştir.



Şekil 3.5. Inverted ışık mikroskobu



Şekil 3.6. DPSC mikroskop görüntüsü

Trypsin - EDTA'nın proteolitik etkisinin ortadan kaldırılması amacıyla kültür kabına FBS ilave edilmiştir. Hücreler serolojik pipet yardımıyla kültür kaplarından konik tabanlı 15 ml'lik eppendorf tüpüne aktarılmış ve devamında tekrar 800-1000 rpm devirde

5 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Supernatan 15 ml'lik falkon tüpünün tabanında bulunan hücrelere zarar gelmeyecek şekilde uzaklaştırılmıştır. Tüpe DPSC için hazırlanan özel besi yeri (DMEM) eklenerek hücreler süspansiyon haline getirilmiştir. Daha sonrasında well plate olarak adlandırılan Poli-D-Lysin kaplı 96 kuyucuklu plakaların her birine 100 µl hücre ekilerek mikroskopta incelenmiştir. Well plate daha sonrasında hücre tutulumu için 24 saat inkübatörde bekletilmiştir.

Etüve bırakılan 96'lık well platelerin konfluens oranı %90 ve üzeri olduğunda deneyin yapılmaya hazır olduğu anlaşılabilir olarak örneklerin hazırlanması aşamasına geçilmiştir.

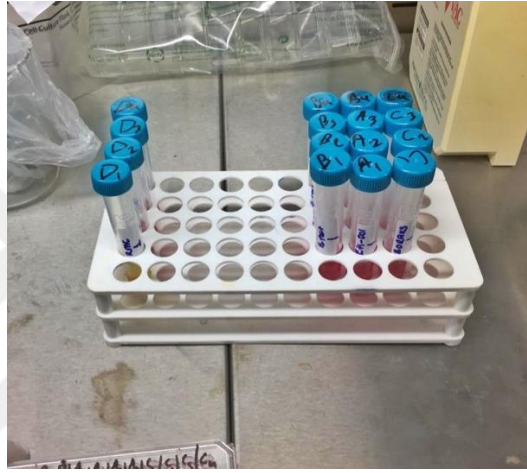
3.2. Örneklerin Hazırlanması

Çalışmamızda borik asit, boraks dekahidrat ve disodyum oktaborat tetrahidrat materyalleri kullanılarak ilk 24 saate kullanılacak olan farklı derişimlerdeki çalışma grupları Tablo 3.1.'de belirtildiği gibi oluşturulmuştur. Sadece kök hücrelerden oluşan grup ise kontrol grubunu oluşturmaktadır. 48. ve 72. saatlerde kullanılacak olan çalışma grupları ise ilk 24 saatlik MTT analizi sonucu en düşük ve en yüksek toksisiteyi gösteren gruplardan seçilmiştir.

Tablo 3.1. Materyallerin derişimlerine ait çalışma grupları

Materyaller	Derişimler			
	1 µM	10 µM	100 µM	1000µM
B	B1	B10	B100	B1000
BA	BA1	BA10	BA100	BA1000
DOT	DOT1	DOT10	DOT100	DOT1000

Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü-BOREN (Ankara, Türkiye) tarafından sağlanan borik asit, boraks dekahidrat, disodyum oktaborat tetrahidrat çözeltileri kültür ortamında 0.1 g/ml stok çözeltisi içinde çözülmüş ve 0.2 µm'lik bir filtreden (Sartorius AG, Göttingen, Almanya) süzülerek hazırlanmıştır. Daha sonra düşük glukozlu DMEM solüsyonu kullanılarak ana stoklardan 1µM, 10 µM, 100 µM ve 1000 µM'lık konsantrasyonlarda hazırlanmıştır (Şekil 3.4.).



Şekil 3.7. Stok solüsyonlarından hazırlanan materyal dilüsyonları

3.3. Örneklerin Uygulanması

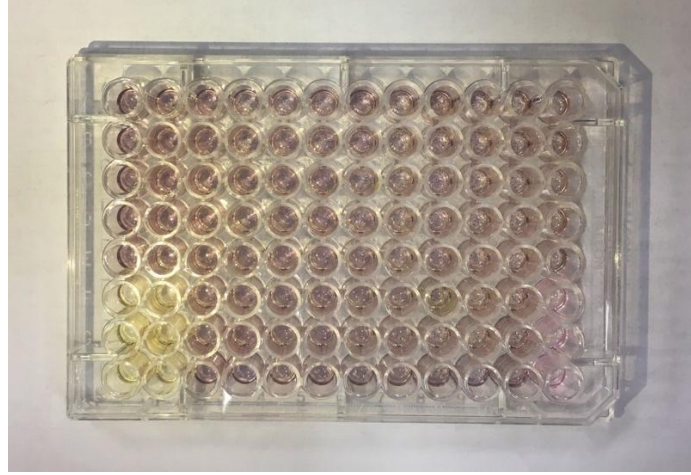
Hücre tutulumu inverted doku mikroskopunda gözlemlendikten sonra 96'lık well platete her bir çalışma grubu için beşer kuyucağa hazırlanan dilüsyonlar eklenmiş ve well plate 24 saat inkübatörde bekletilmiştir. Çalışma gruplarının ilk 24. saate ait sitotoksiteleri MTT testi uygulanarak değerlendirilmiştir.

24. saat sonuçlarına göre her bir bor materyalinin en düşük ve en yüksek toksisite gösteren derişimleri belirlenmiştir. Daha sonra 96'lık well platete altışar kuyucuk ayrılarak belirlenen 6 çalışma ve 1 kontrol grubu için 48. ve 72. saat MTT testleri yapılmıştır.

3.4. MTT Testi

Borik asit, boraks ve disodyum oktaborat tetrahidratın DPSC üzerine toksik etkisi 24., 48. ve 72. saatte MTT testi (Sigma, St. Louis, USA) ile değerlendirilmiştir. Yöntem, sadece canlı hücrelerin mitokondriyal enzimleriyle tetrazolyum tuzu olan sarı renkli MTT boyasını indirgeyerek mor renkli formazan ürününe dönüştürme kapasitesini ölçme esasına dayanmaktadır. Hücre içerisinde biriken formazan kristalleri dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözündürüldüğünde oluşan koyu menekşe renk yoğunluğu 550 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Test sonucu elde edilen renk yoğunluğu ortamdaki canlı hücre sayısı ile doğru orantılıdır.

Bor materyallerin DPSC hücreleri üzerine olan toksik etkisinin MTT testi yapılarak değerlendirilmesinde iki adet 96-kuyucuklu well plate'in birisi 24. saat diğeri de 48. ve 72. saat değerlendirmelerinde kullanılmıştır. Deney saati gelen kuyucuklardaki besiyeri uzaklaştırılmış ve kuyucuklara 110 µl MTT solüsyonu (her 1 ml DMEM üzerine 100 µl MTT) eklenmiştir. MTT'ye maruz bırakılan hücreler 4 saat inkübasyona bırakılmış, inkübasyon sonrasında hücre canlılığı 550 nm'de otomatik petri okuyucu (Biotek Instruments, Inc., Vermont, USA) kullanılarak ölçülmüş ve çıkan değerler kontrol gözleri ile karşılaştırılmıştır. Bu aşamada kuyucukların spektrofotometre okuması 3 kez tekrarlanmıştır.



Şekil 3.8. MTT eklenecek spektrofotometrede okutulmaya hazırlanmış well plate



Şekil 3.9. Spektrofotometre okuyucusu

3.4.1. MTT Testi Değerlerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Her bir zaman dilimine ait kontrol grubu baz alınarak bu grubun ortalamasına göre her bir gözlemin yüzdesi belirlenmiş ve analizler bu yüzdelik değerler üzerinden gerçekleştirilmiştir. MTT değerlerinin normallik analizinde histogram ve Q-Q grafikleri değerlendirilerek verilerin normal dağılım sergiledikleri belirlenmiştir. İlk aşamada, 24. saat sonunda elde edilen verilere materyal ve derişimin birlikte ele alındığı iki faktörlü ve intraksiyonlu modelle varyans analizi uygulanmıştır. Materyaller ve derişimlerde farklı alt gruplar Duncan ve Dunnett t çoklu karşılaştırma testleri ile belirlenmiştir.

İkinci aşamada, 24. saatte elde edilen en yüksek ve en düşük MTT değerlerinin bulunduğu çalışma gruplarına ait 24., 48. ve 72. saat ölçümleri de iki faktörlü intraksiyonlu modelle analiz edilmiştir. Çalışma grupları ve zamana ait farklı alt gruplar Duncan ve Dunett t çoklu karşılaştırma testleri ile belirlenmiştir.

Bu çalışmalar kullanılan istatistiksel değerlendirmeler SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chiago IL, ABD) istatistik programında %5 önem seviyesinde gerçekleştirilmiştir.



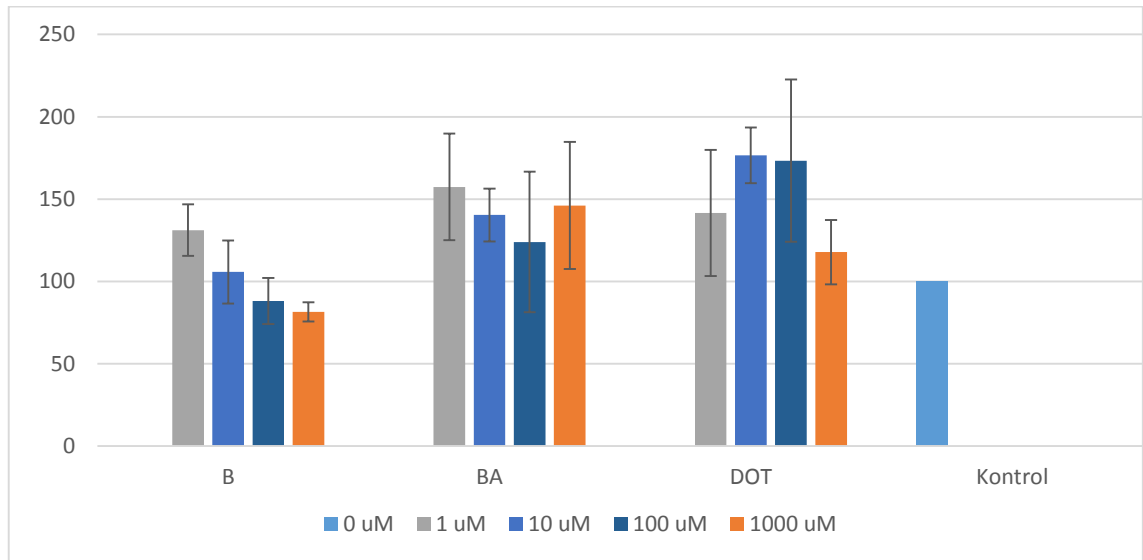
4. BULGULAR

Farklı derişimlerde hazırlanan bor çözeltilerinin DPSC üzerine direkt temas yöntemiyle uygulanmasını takiben 24. saat sonunda elde edilen MTT testi sonuçlarının kontrol grubuna göre ortalama değerleri ve standart sapmaları Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Farklı derişimlerdeki bor materyallerinin 24 saat sonundaki MTT değerlerinin kontrol grubuna olan oranları (Ortalama \pm Standart Sapma)

	0 μ M	1 μ M	10 μ M	100 μ M	1000 μ M	p
B		131,2 \pm 15,6 ^c	105,8 \pm 19,2 ^{b,x}	88,2 \pm 14 ^{a,b,x}	81,5 \pm 5,9 ^{a,x}	<0,001
BA		157,4 \pm 32,4	140,4 \pm 16 ^y	124 \pm 42,7 ^{x,y}	146,2 \pm 38,7 ^y	0,492
DOT		141,5 \pm 38,3 ^{a,b}	176,6 \pm 16,9 ^{b,z}	173,4 \pm 49,2 ^{b,y}	117,9 \pm 19,6 ^{a,y}	0,043
Kontrol	100 \pm 28,3					
p		0,415	<0,001	0,014	0,006	

a,b,c,...: Aynı satırdaki farklı harfler grup içi farklılıkları göstermektedir
x,y,z,...: Aynı sütundaki farklı harfler gruplar arası farklılıkları göstermektedir



Şekil 4.1. Çalışma gruplarına ait 24. saat MTT değerlerinin ortalama ve standart sapmaları.

24. saat MTT testi sonucu farklı bor materyalleri ve molariteleri arasındaki etkileşim istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.016$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. 24. saat sonunda bor materyalleri ve molarite arasındaki etkileşimler

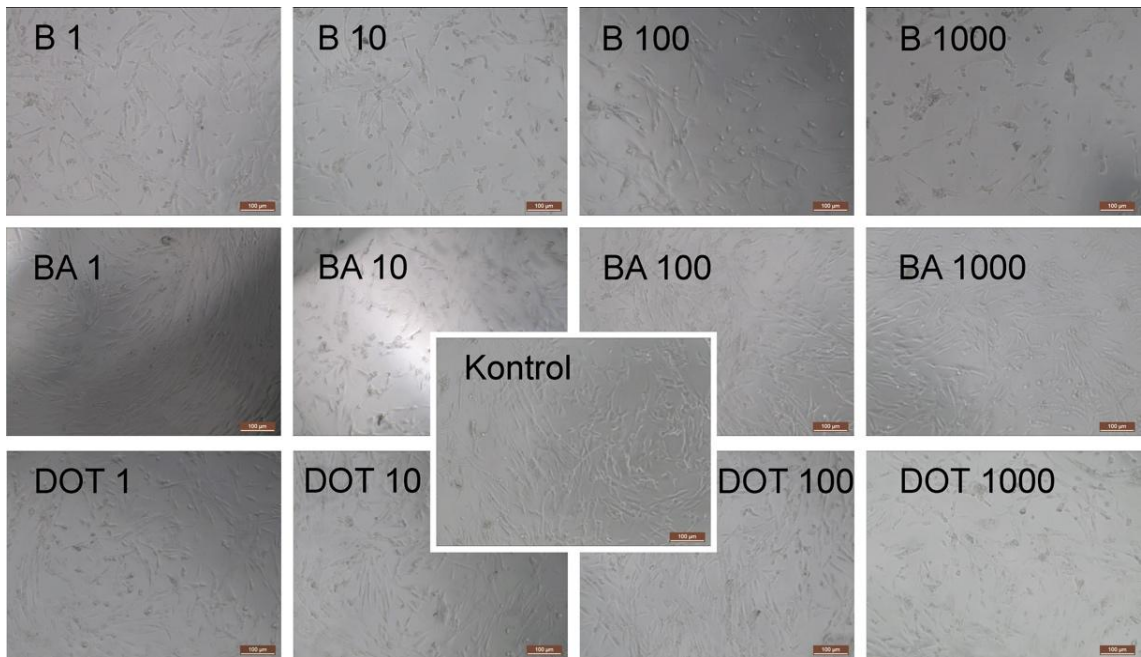
Etkileşim	p değeri
Materyal	<0.001
Molarite	0.037
Materyal * Molarite	0.016

24. saat MTT ölçümlerinde B'nin artan derişimi ile birlikte hücre canlılığında bir azalma gözlenmektedir. B1 en yüksek canlılık oranına sahip olup diğer derişimlerden anlamlı derecede farklıdır ($p<0.001$). BA için hücre canlılığı en düşük BA100'de en yüksek BA1'de tespit edilmiş olmakla birlikte, BA'nın bütün derişimleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.492$). DOT ait derişimler değerlendirildiğinde en yüksek hücre canlılığına sahip DOT10 ile en düşük hücre canlılığına sahip DOT1000 arasında farklılığın anlamlı olduğu gözlenmiştir ($p=0.043$).

Aynı derişimlerdeki bor materyalleri karşılaştırıldığında 1 μM derişimindeki bor materyalleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0.415$). 10 μM 'lık derişimde hücre canlılığı en yüksek DOT10'da bulunmuş olup bunu sırasıyla BA10 ve B10 takip etmiştir ve her üç materyal arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). 100 μM 'lık derişimde en yüksek hücre canlılığına sahip DOT100 ile kontrol grubundan daha düşük değere sahip B100 arasında anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p=0.014$). BA100 aynı derişimdeki diğer iki materyalle istatistiksel olarak benzerlik sergilemektedir.

1000 μM 'lık derişimde ise sitotoksik etki sergileyen B1000 ve diğer materyaller arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($p=0.006$).

24. saat MTT testi uygulanmadan önce inverted mikroskop kullanılarak kuyucuklardan elde edilen görüntüler değerlendirildiğinde BA1, BA100 ve DOT100 gruplarının hücre yoğunluğunun kontrol grubundan fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2). Bor türevlerinin en düşük hücre yoğunluğu ise B1000, BA10 ve DOT1000 gruplarında tespit edilmiştir.



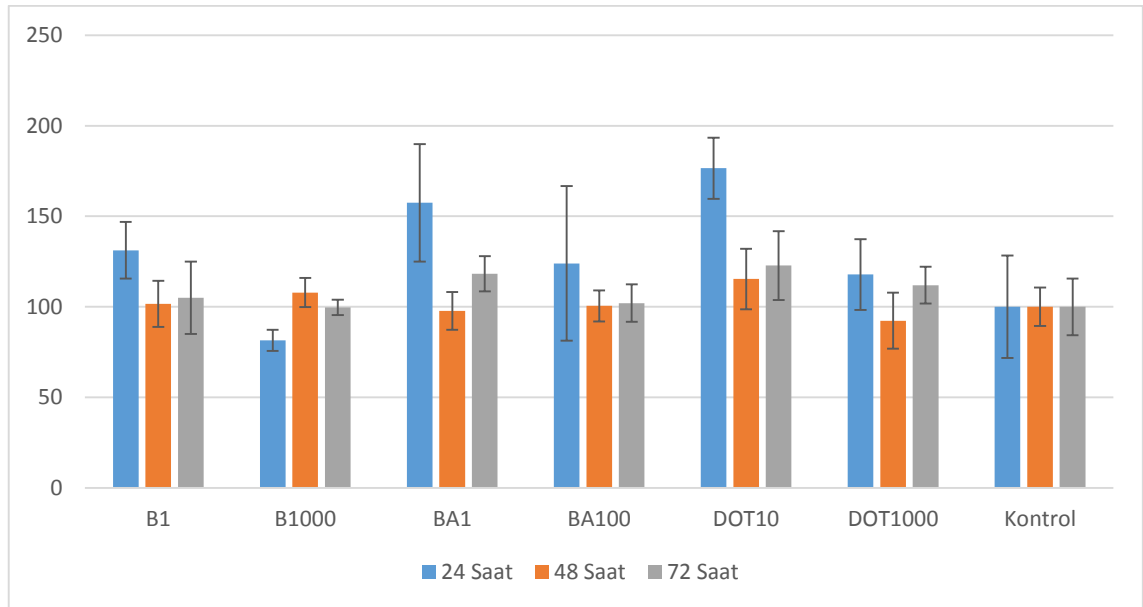
Şekil 4.2. Çalışma gruplarına ait 24. saat mikroskop görüntüleri

24. saat MTT analizi sonucu bor materyallerine ait en yüksek ve en düşük hücre canlılığının gözlemlendiği derişimler belirlenmiştir. Yüksek derişimli materyallere ait grupta B1000, BA100 ve DOT1000 bulunurken, düşük derişimli materyalleri içeren grupta ise B1, BA1 ve DOT10 yer almıştır. Bu derişimlere ait 24., 48. ve 72. saatteki MTT değerlerinin kontrol grubuna göre ortalama değerleri ve standart sapmaları Tablo 4.3' de verilmiştir.

Tablo 4.3. Çalışma gruplarına ait 24., 48. ve 72. saat MTT değerlerinin kontrol grubuna oranları (Ortalama \pm Standart Sapma)

	24 Saat	48 Saat	72 Saat	p
B1	131,2 \pm 15,6 ^{b,y,z}	101,6 \pm 12,7 ^{a,x,y,z}	105 \pm 19,9 ^{a,x,y}	0,016
B1000	81,5 \pm 5,8 ^{a,x}	107,8 \pm 8 ^{c,y,z}	99,7 \pm 4,2 ^{b,x}	<0,001
BA1	157,4 \pm 32,4 ^{b,z,v}	97,7 \pm 10,4 ^{a,x,y}	118,2 \pm 9,7 ^{a,y,z}	<0,001
BA100	124 \pm 42,7 ^{y,z}	100,5 \pm 8,6 ^{x,y}	102 \pm 10,4 ^x	0,194
DOT10	176,6 \pm 16,9 ^{b,v}	115,4 \pm 16,7 ^{a,z}	122,8 \pm 19,1 ^{a,z}	<0,001
DOT1000	117,8 \pm 19,6 ^{b,y}	92,3 \pm 15,4 ^{a,x}	111,9 \pm 10,2 ^{b,x,y,z}	0,02
p	<0,001	0,025	0,014	

a,b,c,...: Aynı satırdaki farklı harfler grup içi farklılıkları göstermektedir
x,y,z,v,...: Aynı sütundaki farklı harfler gruplar arası farklılıkları göstermektedir



Şekil 4.3. Çalışma gruplarının 24., 48. ve 72. saat MTT değerlerinin ortalama ve standart sapmaları.

Üç farklı zamana ait MTT değerlerinin çalışma grupları ve zaman arasındaki etkileşimi istatistiksel olarak çok anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Çalışma grupları ve zaman arası etkileşimler

Etkileşim	p değeri
Grup	<0.001
Zaman	<0,001
Grup * Zaman	<0,001

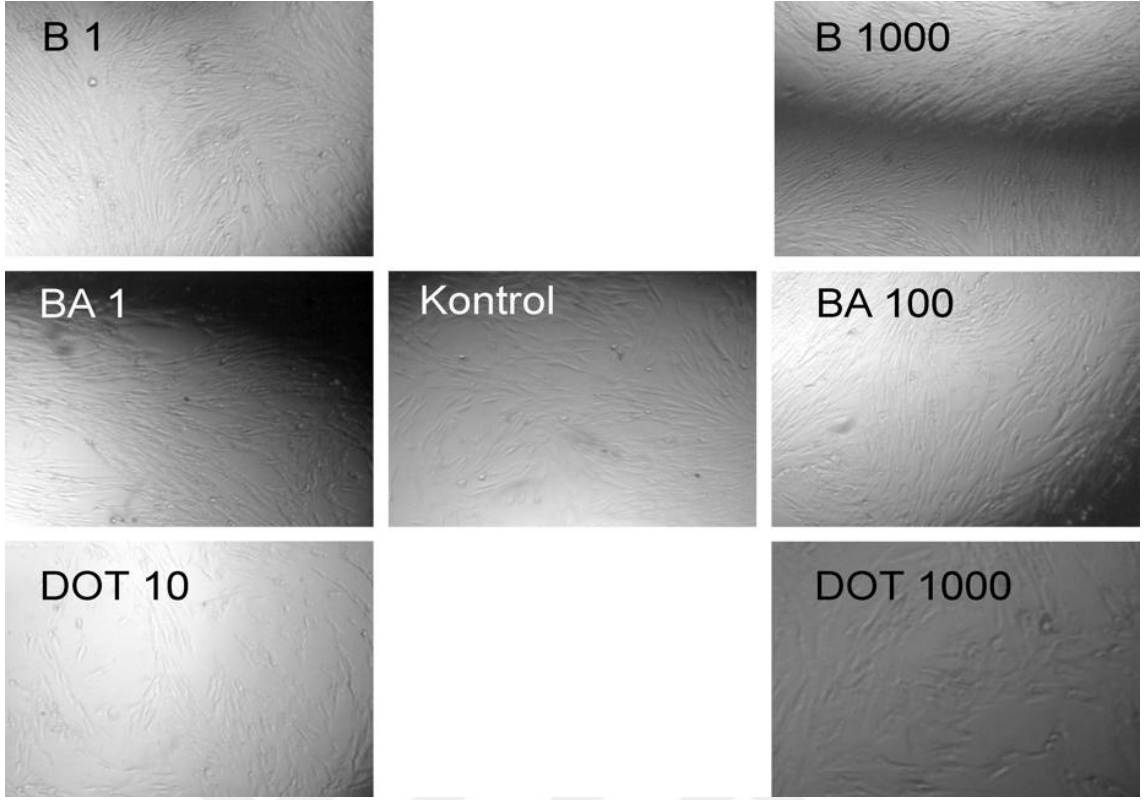
24 saat sonraki MTT ölçümlerinde kontrol grubundan düşük değere sahip olan B1000 ve diğer yüksek derişimli materyaller arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır. Ayrıca, düşük derişimli materyaller arasında da DOT10'un B1'den daha yüksek hücre canlılık değerine sahip olması istatistiksel olarak çok anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$).

48. saatte yüksek derişimli materyaller arasında DOT1000 kontrol grubundan da düşük değer göstermiş ve B1000'den istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık sergilemiştir. Ayrıca, en düşük derişimli materyaller arasında en yüksek hücre canlılık değerine sahip olan DOT10 ile BA1 arasında anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p=0.025$).

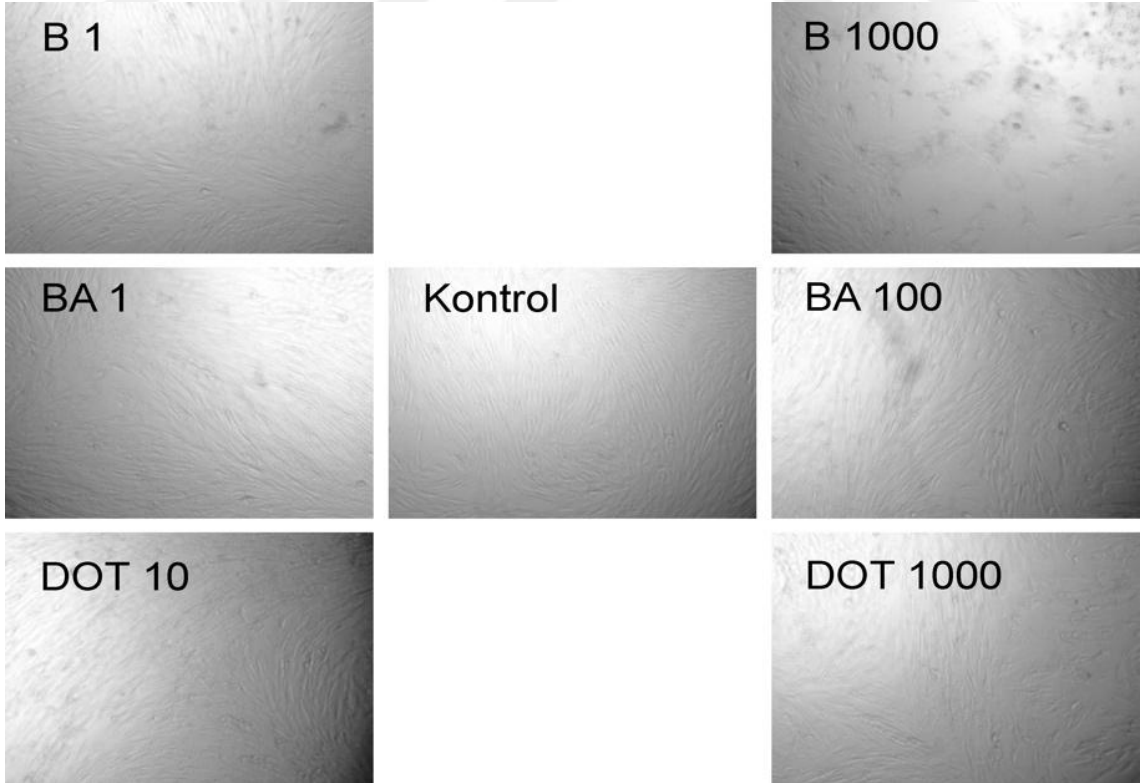
72. saatte elde edilen MTT testi sonucuna göre yüksek derişimli materyaller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. Düşük derişimli materyaller kıyaslandığında ise 24. saatteki sonuçlarına benzer şekilde DOT10'un B1'den daha yüksek hücre canlılık değerine sahip olması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.025$). Genel bir değerlendirilme yapıldığında bütün zaman dilimlerine ait B1 ve BA1'in arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

BA100 dışındaki diğer gruplarda üç farklı zamandaki hücre canlılık değerleri arasında anlamlı farklılık mevcuttur. B1000 dışındaki gruplarda 24. saatte elde edilen en yüksek hücre canlılık değerleri 48. ve 72. saatlere kıyasla anlamlı farklılık oluşturmuştur ($p<0.05$). Bir diğer istisna da DOT1000'in diğer zamanlara kıyasla 48. saatte en düşük hücre canlılık değerine sahip olması sebebiyle istatistiksel olarak anlamlı bulunmasıdır ($p=0.02$). B1000'de 24. saatte en düşük, 48. saatte de en yüksek hücre canlılık değeri elde edilmiş ve bütün zaman dilimlerindeki MTT değerleri istatistiksel olarak birbirlerinden farklı bulunmuştur ($p<0.001$).

48. saat MTT testinden önce inverted mikroskop kullanılarak kuyucuklardan elde edilen görüntüler değerlendirildiğinde DOT10 ve DOT1000 gruplarındaki hücre yoğunluğunun kontrol grubundan az olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.4). 72. saat mikroskop görüntüleri değerlendirildiğinde ise sadece B1000 ve BA1 gruplarındaki hücre yoğunluğunun kontrol grubundan az olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.4. Çalışma gruplarına ait 48. saat mikroskop görüntüleri



Şekil 4.5. Çalışma gruplarına ait 72. saat mikroskop görüntüleri

5. TARTIŞMA

Diş hekimliğindeki en önemli hedeflerden biri dental tedaviler sırasında pulpa canlılığının korunmasıdır. Bu yüzden, dokularla doğrudan veya dolaylı olarak temas halinde bulunan endodontik veya restoratif materyallerin biyouyumlu olmaları büyük önem taşımaktadır. Bu doğrultuda diş hekimliği alanında doku devamlılığı ve tamiri amacıyla diş pulpasında bulunan mezenkimal kök hücrelerden yararlanmayı sağlayan yeni materyallerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar da sürdürülmektedir.^{1,2,193} Yapısına katıldığı restoratif materyalin antibakteriyal özelliğini arttırırken sitotoksik etkisini azalttığı belirtilen borun ayrıca, kemik iyileşmesinde ve DPSC'nin odontojenik ve osteojenik farklılaşmasında etkin bir rol oynadığı da ifade edilmiştir.^{3,7,8} Bu çalışmada MTT testi kullanılarak 3 çeşit bor materyaline ait farklı derişimlerin DPSC üzerindeki sitotoksik etkisinin 24., 48. ve 72. saatlerde belirlenmesi amaçlanmıştır.

Dünyadaki en büyük rezervi Türkiye'de bulunan borun ana maddesi boraktır. Endüstriyel alanda çok geniş kullanım alanına sahip olan bor materyali üzerine yapılan çalışmalar sonucunda vücudumuzdaki birçok metabolizma için de esansiyel olabileceği belirtilmiştir.⁴⁻⁶ NaB'nin hem kemik hem de diş dokusunda başarılı sonuçlar sergilemesi rejeneratif doku mühendisliğinde bor türevleri kullanılmasının güvenli olduğunu kanıtlamıştır.⁸ Demirci ve arkadaşları³ da dental kompozitlerin yapısına bor katıldığında DPSC'lerin osteojenik ve odontojenik potansiyelinin daha yüksek olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Her ne kadar bor doğada farklı bileşikler halinde bulunsada günümüze kadar yapılan bilimsel çalışmalarda borun tek bir çeşidi üzerine yoğunlaşmıştır.^{3,8,71} Ayrıca, yapılan literatür taramasında kullandığımız bor türevlerinin DPSC üzerindeki sitotoksik etkisi hakkında yapılan bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu yüzden bu tez çalışmasında da borun B, BA ve DOT türevleri kullanılmıştır.

Biyoyumluluğun belirlenmesinde kullanacak test yöntemleri, materyalin uygulandığı yere ve beklenen toksik etkilere göre değişiklik gösterebildiği için en uygun test yönteminin seçilmesi önemlidir.^{78, 80, 85} Diş hekimliğindeki materyallerin biyoyumluluğunun değerlendirilmesi amacıyla kullanılacak in vitro sitotoksikite testleri uluslararası standartlar tarafından (ISO 10993-5) belirlenmiştir.⁸⁵ Toksikitenin belirlenmesinde en sık hücre kültür testleri kullanılmaktadır. Bu testler, kolay elde edilebilmeleri, bireysel koşullardan etkilenmemeleri, materyaller arasında karşılaştırmalara izin vermeleri, tekrarlanabilmeleri ve çalışma koşullarının standardize olmasına imkan sağlamaları nedeniyle tercih edilmektedir.^{78, 80} Bu testlerden biri olan in vitro direkt hücre materyal temas testinde materyallerin in vivo ortamda oluşturduğu temas şekilleri taklit edilmeye çalışılmaktadır.⁸⁵ Bu tez çalışmasında direkt temas yönteminin seçilmesinde de kullanılan bor materyallerinin hücre kültür besiyerinde çözünmesi etkili olmuştur.

Materyallerin hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerinin belirlendiği çeşitli metotlar bulunmaktadır. Canlı kalan hücrelerin sayılması, proliferasyon oranlarının hesaplanması, hücresel makromoleküllerin sentezi veya enzim aktivitesinin belirlenmesi bu metotlardan bazılarıdır.⁷⁸ Bu testlerden biri olan MTT'nin düşük seviyedeki toksisiteyi değerlendirebilirken, hızlı ve hassas sonuç vermesi nedeniyle güvenilir bir test olduğu belirtilmiştir.^{96, 97} Issa ve arkadaşları⁹⁸ insan fibroblastları üzerinde rezin kompomer monomerlerinin yaptığı sitotoksik etkiyi belirlemek için yaptıkları çalışmalarında LDH (Laktat Dehidrogenaz) ve MTT testleri kullanılmış ve özellikle test edilen monomerlerin daha düşük dozları değerlendirildiğinde MTT testinin daha duyarlı ve güvenilir olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca, Schmalz ve Schweikl⁹⁹ de fare fibroblastları üzerinde üç farklı dental materyalin toksisitesini MTT, nötral kırmızı ve kolorimetrik yöntemlerle değerlendirmişlerdir. MTT test yöntemi sitotoksikite çalışmalarında oldukça güvenilir,

etkili ve ekonomik olmasından dolayı bu çalışmada da sitotoksosite düzeylerinin belirlenmesinde tercih edilmiştir.

Taşlı ve arkadaşları⁸ NaB'nin DPSC üzerindeki sitotoksik etkisini 24., 48. ve 72. saatlerde değerlendirmişlerdir. Bu tez çalışmasında da farklı bor materyallerinin DPSC üzerindeki sitotoksik etkiyi değerlendirirken bu zaman aralıkları kullanılmıştır. Ancak, bu materyallerin uzun süreli sitotoksosite sonuçlarının elde edilmesi için daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

İn vitro sitotoksosite test sistemlerinde dikkate alınması gereken bir diğer konu da kullanılacak hücre tipinin seçilmesidir. Örneğin; materyalin etkileşime gireceği doku diş pulpası ise odontoblast ve fibroblast, eğer periodontal doku ve ağız mukozası ise fibroblast hücre tiplerinin kullanılmasının daha uygun olacağı belirtilmiştir.¹⁰⁰ Shafiei ve arkadaşları¹⁰¹ iki farklı kompozit materyalinin DPSC ve dental pulpa fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, kök hücrelerinin fibroblast hücrelerine kıyasla daha dirençli olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, toksisite çalışmalarında kök hücre kullanılmasının hücreSEL, embriyonik, gelişimsel, reproduktif ve fonksiyonel toksisiteyi tek bir sistemde toplayarak insan fizyolojisine benzer şekilde değerlendirmeye olanak sağladığı belirtilmiştir.¹⁰² Kök hücre kullanılarak yapılan toksisite testleri geleneksel toksisite testlerine geçerli bir alternatif olmasından dolayı bu tez çalışmasında da çalışma materyallerinin sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde DPSC kullanılmıştır.

Ying ve arkadaşları¹⁰³ BA'nın 1 ng/ml, 10 ng/ml, 100 ng/ml ve 1000 ng/ml derişimlerinin insan kemik iliği stromal hücrelerinde osteojenik farklılaşmaya etkisini inceledikleri araştırmalarında sadece 1000 ng/ml'lik derişimde sitotoksik etki tespit etmişlerdir. Aksine, çalışmamızda BA'nın daha yüksek derişimlerinde dahi DPSC'de

sitotoksik etki gözlenmemesi insan kemik iliği stromal hücrelerine kıyasla DPSC'nin BA'ya karşı daha az duyarlı olduğunu düşündürmektedir.

Hakki ve arkadaşları¹⁰⁴ 0.1 - 10.000 ng/ml aralığındaki BA derişimlerinin MC3T3-E1 hücreleri (preosteoblastik) üzerindeki etkilerini MTT testi ile değerlendirdikleri çalışmalarında 24 saat sonunda sitotoksik etki sergileyen 1000 ve 10.000 ng/ml derişimindeki BA çözeltilerinin 72. saatte herhangi bir sitotoksosite sergilemediğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise 1000 ng/ml'lik BA içeren BA1 için 24. ve 72. saatlerde sırasıyla %57 ve %18'lik bir proliferasyon artışı gözlemlenmiştir. Bu farklılığın farklı hücre tiplerinin kullanılmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Cantürk ve arkadaşları¹⁰⁵ sağlıklı lenfosit hücrelerine 1000 µM'lık BA ve NaB uygulandığında 48 saat sonunda MTT testi ile hücrelerin mitokondrial aktivitelerinde sırasıyla %20 ve %25 azalma oluştuğunu bulmuşlardır. Buna karşın bizim çalışmamızda 48 saat sonunda B1000'de %7.8 ve BA100'de %0.5'lik artış DOT1000'de ise %7.7'lik azalma gözlenmiştir. Bu farklılık sebebiyle DPSC'nin lenfosit hücrelerine kıyasla bor türevlerine karşı daha az duyarlı olduğu düşünülmektedir.

Najafabadi ve Abnosi¹⁰⁶ fare kemik iliğinden elde edilen kök hücreye 6 ng/ml BA uygulandığında kontrol grubuna göre hücre canlılığında bir farklılık gözlenmediğini belirtmişlerdir. Ancak, 6 µg/ml BA uygulamasında ilk 5 günde farklılık oluşmazken 10., 15. ve 21. günlerde ise hücre canlılığında azalma oluştuğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde bor materyalleri 24., 48. ve 72. saatlerde DPSC üzerinde toksik etki göstermemiştir. Bu sonuçlar kısa dönem sonuçlarını ifade ettiği için materyallerin uzun dönem sitotoksik etkilerinin değerlendirildiği daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Huang ve arkadaşları¹⁰⁷ stronsiyumun 0, 0.5, 2.5, 5 ve 10 mM'lık derişimlerinin DPSC üzerine etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında, ilk 24 saatin sonunda stronsiyumun çalışılan en yüksek derişiminin (10mM) toksik etki oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Bor materyallerinin değerlendirildiği bu çalışmanın ilk 24 saatlik verileri değerlendirildiğinde artan dozla beraber B'de toksik etki, BA'da benzer değerler elde edilirken DOT'da ise hücre proliferasyonu düşük dozlara kıyasla düşüş sergilemiştir. Her ne kadar bu çalışmada kullanılan derişimler arasında sitotoksik doz sadece B için gözlenmiş olsa da diğer materyallerin sitotoksik etki gösteren dozlarının belirlenmesi için daha geniş doz aralığında yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Deney gruplarının her üç zaman dilimine ait inverted mikroskop görüntülerindeki DPSC yoğunluğu ile MTT testi sonuçları arasında uyum olmaması mikroskobik görüntülerin her gruba ait beş kuyucuktan sadece birisinden elde edilmesi ve kuyucuğun çok küçük bir alanını temsil etmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Diş hekimliğinde apeksifikasyon, internal ve eksternal rezorpsiyonların tedavisi, kök perforasyonlarının tamiri, kanal içi medikament, direkt ve indirekt pulpa tedavilerinde kalsiyum hidroksit, MTA ve biyoseramikler kullanılarak başarılı sonuçlar elde edilmektedir.¹⁰⁸⁻¹¹² Yapılan alışmalar sonucunda bu materyallerin DPSC'lerin iyileşmesini, migrasyonunu, proliferasyonunu ve mineralizasyonunu arttırdıkları biyokimyasal ve fizyolojik olarak ortaya konulmuştur.^{113, 114, 115-122} Bizim çalışmamız sonucunda DPSC üzerinde bor materyallerinin genel olarak tespit edilen proliferatif etkisinin, borun diş hekimliğinde benzer alanlarda kullanım kazanabilmesi için yapılması gereken daha kapsamlı çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışılan materyallerin 24 saat sonunda DPSC üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde B100 ve B1000 gruplarında sitotoksosite, diğer gruplarda ise proliferasyon gözlenmiştir.
2. Grupların 24 saat sonunda en yüksek DPSC proliferasyonu sergileyen derişimleri; B ve BA için 1 μ M, DOT için ise 10 μ M derişimlerinde tespit edilmiştir.
3. Tüm grupların proliferasyon oranlarının 24. ve 48. saatlerde değerlendirilmesi sonucu, sadece B1000'in proliferasyonu 48. saatte artış göstermiştir.
4. Bor türevlerinin 24. saatte DPSC üzerinde en yüksek hücre canlılığı gösteren derişimlerinin zamana bağlı etkileri kıyaslandığında, B1 ve BA1 tüm zaman dilimlerinde benzer etki göstermiş fakat, 24. ve 72. saatlerde DOT10'dan daha düşük proliferasyon oranı sergilemişlerdir.
5. Bütün zaman dilimlerindeki en yüksek DPSC proliferasyon oranları DOT10'da tespit edilmiştir.
6. Bor materyallerinin diş hekimliği alanındaki klinik uygulamalarda kullanımına yönelik girişimlerin ön planda olduğu, daha uzun süreli ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Wataha JC. Biocompatibility of Dental Materials. İçinde: Anusavice KJ (editör). *Phillips' Science of Dental Materials*, Elsevier Health Sciences, 2003.
2. Brackett MG, Marshall A, Lockwood PE, Lewis JB, Messer RLW, Bouillaguet S, Wataha JC. Cytotoxicity of endodontic materials over 6-weeks ex vivo. *International Endodontic Journal*, 2008, 41: 1072-1078.
3. Demirci S, Kaya MS, Doğan A, Kalay Ş, Altın NÖ, Yarat A, Akyüz SH, Şahin F. Antibacterial and cytotoxic properties of boron-containing dental composite. *Turkish Journal of Biology*, 2015, 39: 417-426.
4. Benderdour M, Bui-Van T, Dicko A, Belleville F. In vivo and in vitro effects of boron and boronated compounds. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 1998, 12: 2-7.
5. Ince S, Kucukkurt I, Cigerci IH, Fidan AF, Eryavuz A. The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2010, 24: 161-164.
6. Kuru R, Yarat A. Bor ve Sağlığımıza Olan Etkilerine Güncel Bir Bakış/Boron and a Current Overview of its Effects on Health. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 2017, 7: 107-115.
7. Gorustovich AA, Steimetz T, Nielsen FH, Guglielmotti MB. A histomorphometric study of alveolar bone modelling and remodelling in mice fed a boron-deficient diet. *Archives of Oral Biology*, 2008, 53: 677-682.

8. Taşlı PN, Doğan A, Demirci S, Şahin F. Boron enhances odontogenic and osteogenic differentiation of human tooth germ stem cells (hTGSCs) in vitro. *Biological Trace Element Research*, 2013, 153: 419-427.
9. Linde A, Goldberg M. Dentinogenesis. . *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 1993, 45: 679-728.
10. Goldberg M, Lasfargues J-J. Pulpo-dentinal complex revisited. *Journal of Dentistry*, 1995, 23: 15-20.
11. Pashley DH. Dynamics of the pulpo-dentin complex. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 1996, 7: 104-133.
12. Smith AJ. Vitality of the dentin-pulp complex in health and disease: growth factors as key mediators. *Journal of Dental Education*, 2003, 67: 678-689.
13. Goldberg M, Smith AJ. Cells and Extracellular Matrices of Dentin and Pulp: A Biological Basis for Repair and Tissue Engineering. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 2004, 15: 13-27.
14. Luukko K, Kettunen P, Fristad I, Berggreen E. Structure and Functions of the Dentin-Pulp Complex. İçinde:Hargreaves KM, Cohen S, Berman LH (editörler). *Cohen's pathways of the pulp*, St. Louis, Mo., Mosby Elsevier, 2011: 453-501.
15. Nakashima M, Akamine A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *Journal of Endodontics*, 2005, 31: 711-718.
16. Demarco FF, Conde MCM, Cavalcanti BN, Casagrande L, Sakai VT, Nör JE. Dental pulp tissue engineering. *Brazilian Dental Journal*, 2011, 22: 3-13.

17. Erişken C, Aksel H. Pulpa Canlılığının Yeniden Kazandırılmasında (Pulpa Rejenerasyonunda) Kullanılan Doku İskeleleri. *Turkiye Klinikleri J Endod-Special Topics*, 2017, 3: 187-196.
18. Özçobanoğlu G, Durutürk L. Süt dişlerinde pulpa ve dentinin histolojik yapısal özellikleri. *Acta Odontologica Turcica*, 2013, 30: 99-109.
19. Gotjamanos T. Cellular organization in the subodontoblastic zone of the dental pulp—II: Period and mode of development of the cell-rich layer in rat molar pulps. *Archives of Oral Biology*, 1969, 14: 1011-1019.
20. Zhang J, Kawashima N, Suda H, Nakano Y, Takano Y, Azuma M. The existence of CD11c+ sentinel and F4/80+ interstitial dendritic cells in dental pulp and their dynamics and functional properties. *International Immunology*, 2006, 18: 1375-1384.
21. Fitzgerald M, Chiego DJ, Jr., Heys DR. Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. *Archives of Oral Biology*, 1990, 35: 707-715.
22. Diamond RD, Stanley HR, Swerdlow H. Reparative dentin formation resulting from cavity preparation. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 1966, 16: 1127-1134.
23. Sunakawa M, Tokita Y, Suda H. Pulsed Nd:YAG laser irradiation of the tooth pulp in the cat: II. Effect of scanning lasing. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2000, 26: 477-484.
24. Smith AJ, Cassidy N, Perry H, Begue-Kirn C, Ruch J-V, Lesot H. Reactionary dentinogenesis. *International Journal of Developmental Biology*, 2003, 39: 273-280.
25. Couve E. Ultrastructural changes during the life cycle of human odontoblasts. *Archives of Oral Biology*, 1986, 31: 643-651.

26. Nör J. Buonocore memorial lecture: tooth regeneration in operative dentistry. *Operative Dentistry*, 2006, 31: 633-642.
27. Morszeck C, Schmalz G, Reichert TE, Völlner F, Galler K, Driemel O. Somatic stem cells for regenerative dentistry. *Clinical Oral Investigations*, 2008, 12: 113-118.
28. Raff M. Adult stem cell plasticity: fact or artifact? *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2003, 19: 1-22.
29. Volponi AA, Pang Y, Sharpe PT. Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. *Trends in Cell Biology*, 2010, 20: 715-722.
30. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000, 97: 13625-13630.
31. Kerkis I, Kerkis A, Dozortsev D, Stukart-Parsons GC, Massironi SMG, Pereira LV, Caplan AI, Cerruti HF. Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers. *Cells Tissues Organs*, 2006, 184: 105-116.
32. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2003, 100: 5807-5812.
33. Seo B-M, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J, Young M, Robey PG, Wang CY, Shi S. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *The Lancet*, 2004, 364: 149-155.
34. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo B-M, Zhang C, Liu H, Gronthos S, Wang C-Y, Shi S. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PloS One*, 2006, 1: e79.

35. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, Huang GT-J. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *Journal of Endodontics*, 2008, 34: 166-171.
36. Morsczeck C, Götz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kühn U, Möhl C, Sippel C, Hoffmann K. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biology*, 2005, 24: 155-165.
37. Todorović V, Marković D, Milošević-Jovčić N, Petakov M, Balint B, Čolić M, Milenković A, Čolak I, Jakanović V, Nikolić N. Dental pulp stem cells: Potential significance in regenerative medicine. *Stomatoloski Glasnik Srbije*, 2008, 55: 170-179.
38. Atalaym Ç, Ergücü Z, Tezel H. Diş hekimliğinde kök hücre ve dental pulpa kök hücreleri. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2012, 29: 115-120.
39. d'Aquino R, Papaccio G, Laino G, Graziano A. Dental pulp stem cells: a promising tool for bone regeneration. *Stem cell reviews*, 2008, 4: 21-26.
40. Liu H, Gronthos S, Shi S. Dental pulp stem cells. İçinde: *Methods in Enzymology*, Elsevier, 2006: 99-113.
41. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher L, Cherman N, Boyde A, DenBesten P, Robey PG, Shi S. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *Journal of Dental Research*, 2002, 81: 531-535.
42. d'Aquino R, Graziano A, Sampaolesi M, Laino G, Pirozzi G, De Rosa A, Papaccio G. Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblasts and endotheliocytes: a pivotal synergy leading to adult bone tissue formation. *Cell Death and Differentiation*, 2007, 14: 1162.

43. Zhang W, Walboomers XF, Shi S, Fan M, Jansen JA. Multilineage differentiation potential of stem cells derived from human dental pulp after cryopreservation. *Tissue Engineering*, 2006, 12: 2813-2823.
44. Smallwood C, Lipscomb J, Swartout J, Teuschlu L. Toxicological Review of Boron and Compounds (CAS No. 7440-42-8): In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). *US Environmental Protection Agency: Washington, DC*, 2004.
45. Murray FJ, Andersen ME. Data-derived uncertainty factors: Boric acid (BA) as a case study. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 2001, 7: 125-138.
46. Boncukçuoğlu R, Kocakerim M, Yılmaz E, Yılmaz T. Bor elementinin çevresel açıdan değerlendirilmesi. *Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü*, 2003, 25240.
47. Kuru R, Yarat A. Boron and a Current Overview of its Effects on Health. *Clinical And Experimental Health Sciences*, 2017, 7: 107-114.
48. Organization WH. Boron. 1998.
49. Demirtaş A, Bor'un İnsan Beslenmesi ve Sağlığı Açısından Önemi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2010, 41: 75-80.
50. Uçkun Z. Esansiyel bir komponent: bor-borun günlük alımı ve fizyolojik etkileri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2013: 119-123.
51. Şaylı B. İnsan Sağlığı ve Bor Mineralleri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi ve AÜ Tıp Fakültesi-Eti Holding Projeleri Yürütücüsü, Ankara*, 2000.

52. Hunt C, Shuler T, Mullen L. Concentration of boron and other elements in human foods and personal-care products. *Journal of the American Dietetic Association*, 1991, 91: 558-568.
53. Anderson DL, Cunningham WC, Lindstrom TR. Concentrations and intakes of H, B, S, K, Na, Cl, and NaCl in foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1994, 7: 59-82.
54. McKee JE, Wolf HW. Water quality criteria. İçinde: *Water quality criteria*, State Water Quality Control Board, 1963.
55. Devirian TA, Volpe SL. The physiological effects of dietary boron. *Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2003, 43: 219-231.
56. Naghii M, Samman S. The role of boron in nutrition and metabolism. *Progress in Food and Nutrition Science*, 1993, 17: 331-349.
57. Kelly GS. Boron: a review of its nutritional interactions and therapeutic uses. *Alternative Medicine Review*, 1997, 2: 48-56.
58. Nielsen FH, Shuler TR. Studies of the interaction between boron and calcium, and its modification by magnesium and potassium, in rats. *Biological Trace Element Research*, 1992, 35: 225-237.
59. Pan H, Zhao X, Zhang X, Zhang K, Li L, Li Z, Lam W, Lu W, Wang D, Huang W. Strontium borate glass: potential biomaterial for bone regeneration. *Journal of the Royal Society Interface*, 2009: rsif20090504.
60. Pizzorno L. Nothing boring about boron. *Integrative Medicine: A Clinician's Journal*, 2015, 14: 35.
61. Doğan A, Demirci S, Bayir Y, Halici Z, Karakus E, Aydın A, Cadirci E, Albayrak A, Demirci E, Karaman A. Boron containing poly-(lactide-co-

glycolide)(PLGA) scaffolds for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 2014, 44: 246-253.

62. Demirci S, Doğan A, Karakuş E, Halıcı Z, Topçu A, Demirci E, Sahin F. Boron and poloxamer (F68 and F127) containing hydrogel formulation for burn wound healing. *Biological Trace Element Research*, 2015, 168: 169-180.

63. Lewis RA, Hawley GG. *Hawley's condensed chemical dictionary*. Baskı. John Wiley & Sons, 2016.

64. Hunt CD. Regulation of enzymatic activity. *Biological Trace Element Research*, 1998, 66: 205-225.

65. Meacham SL, Taper LJ, Volpe SL. Effects of boron supplementation on bone mineral density and dietary, blood, and urinary calcium, phosphorus, magnesium, and boron in female athletes. *Environmental Health Perspectives*, 1994, 102: 79-82.

66. Pawa S, Ali S. Boron ameliorates fulminant hepatic failure by counteracting the changes associated with the oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, 160: 89-98.

67. Jensen JP. The rise and fall of borax as an antiepileptic drug. *Archives of Neurology*, 2006, 63: 621-622.

68. Briggs M. Boron oxides, boric acid, and borates. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 2000.

69. Kuskay B, Bulutcu A. Design parameters of boric acid production process from colemanite ore in the presence of propionic acid. *Chemical engineering and processing: Process intensification*, 2011, 50: 377-383.

70. Türkez H, Geyikoğlu F, Tatar A, Keleş S, Özkan A. Effects of some boron compounds on peripheral human blood. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 2007, 62: 889-896.

71. Gallardo-Williams MT, Chapin RE, King PE, Moser GJ, Goldsworthy TL, Morrison JP, Maronpot RR. Boron supplementation inhibits the growth and local expression of IGF-1 in human prostate adenocarcinoma (LNCaP) tumors in nude mice. *Toxicologic Pathology*, 2004, 32: 73-78.
72. Barranco W, Eckhert C. Cellular changes in boric acid-treated DU-145 prostate cancer cells. *British Journal of Cancer*, 2006, 94: 884.
73. Dieter MP. Toxicity and carcinogenicity studies of boric acid in male and female B6C3F1 mice. *Environmental Health Perspectives*, 1994, 102: 93-97.
74. Demirer S, Kara MI, Erciyas K, Ozdemir H, Ozer H, Ay S. Effects of boric acid on experimental periodontitis and alveolar bone loss in rats. *Archives of Oral Biology*, 2012, 57: 60-65.
75. Kartal SN, Hwang W-J, Imamura Y. Water absorption of boron-treated and heat-modified wood. *Journal of Wood Science*, 2007, 53: 454-457.
76. Kelling K. Soil and applied boron (A2522). University of Wisconsin System Board of Reagents and University of Wisconsin Extension, Cooperative Extension. *US Department of Agriculture*, 1999.
77. Ertuğrul E. *Bor ve toryum madenleri sektörü*. Baskı. Türkiye Kalkınma Bankası AŞ, 2004.
78. Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clinical Oral Investigations*, 1998, 1: 154-162.
79. Standardization IOF. *Dentistry-Evaluation of Biocompatibility of Medical Devices Used in Dentistry*. Baskı. International Organization for Standardization, 2008.
80. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: a review. *Dental Materials*, 1996, 12: 186-193.

81. Schmalz G, Arenholt-Bindslev D. *Biocompatibility of dental materials*. Springer, 2009.
82. Geurtsen W. Biocompatibility of root canal filling materials. *Australian endodontic journal: the journal of the Australian Society of Endodontology Inc*, 2001, 27: 12-21.
83. Murray PE, García Godoy C, García Godoy F. How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet)*, 2007, 12: 258-266.
84. Sakaguchi RL, Powers JM. *Craig's restorative dental materials*. Elsevier Health Sciences, 2012.
85. ISO 10993-5: Biological Evaluation of Medical Devices. Part 5: Tests For In Vitro Cytotoxicity. 2009.
86. Freshney RI. *Culture of animal cells: a manual of basic technique*. 2005: 1- 216.
87. Tuncer S, Demirci M. Dental materyallerde biyouyumluluk değerlendirmeleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2011, 2011: 141-149.
88. Keleş DA, Köseoğlu M, Topçu KMÇ, Bayrak DÖF. Farklı içerikli kök kanal patlarının sitotoksitelerinin in vitro olarak incelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2009, 2009: 90-97.
89. Key JE, Rahemtulla FG, Eleazer PD. Cytotoxicity of a new root canal filling material on human gingival fibroblasts. *Journal of Endodontics*, 2006, 32: 756-758.
90. Polyzois G. In vitro evaluation of dental materials. *Clinical Materials*, 1994, 16: 21-60.

91. Standardization IOF. *Dentistry: Preclinical Evaluation of Biocompatibility of Medical Devices Used in Dentistry (test Method for Dental Materials*. Baskl. International Organization for Standardization, 1997.
92. Wennberg A, Mjör I, Hensten-Pettersen A. Biological evaluation of dental restorative materials—a comparison of different test methods. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1983, 17: 23-36.
93. Outhwaite WC, Mckenzie DM, Pashley DH. A versatile split-chamber device for studying dentin permeability. *Journal of Dental Research*, 1974, 53: 1503-1503.
94. Stanford J. Recommended standard practices for cytotoxicity testing. *FDI World Dental Federation in conjunction with International Standards Organization. Dent J*, 1980, 30: 141-173.
95. Moharamzadeh K, Brook I, Van Noort R. Biocompatibility of resin-based dental materials. *Materials*, 2009, 2: 514-548.
96. Wataha JC, Craig RG, Hanks C. Precision of and new methods for testing in vitro alloy cytotoxicity. *Dental Materials*, 1992, 8: 65-70.
97. Ferracane J, Condon J. Rate of elution of leachable components from composite. *Dental Materials*, 1990, 6: 282-287.
98. Issa Y, Watts D, Brunton P, Waters C, Duxbury A. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dental Materials*, 2004, 20: 12-20.
99. Schweikl H, Schmalz G. Toxicity parameters for cytotoxicity testing of dental materials in two different mammalian cell lines. *European Journal of Oral Sciences*, 1996, 104: 292-299.

100. Browne R. The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials—does it have a role? *International Endodontic Journal*, 1988, 21: 50-58.
101. Shafiei F, Tavangar MS, Razmkhah M, Attar A, Alavi AA. Cytotoxic effect of silorane and methacrylate based composites on the human dental pulp stem cells and fibroblasts. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 2014, 19: e350.
102. Yao X, Yin N, Faiola F. Stem cell toxicology: a powerful tool to assess pollution effects on human health. *National Science Review*, 2016, 3: 430-450.
103. Ying X, Cheng S, Wang W, Lin Z, Chen Q, Zhang W, Kou D, Shen Y, Cheng X, Rompis FA. Effect of boron on osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells. *Biological Trace Element Research*, 2011, 144: 306-315.
104. Hakki SS, Bozkurt BS, Hakki EE. Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2010, 24: 243-250.
105. Canturk Z, Tunali Y, Korkmaz S, Gulbaş Z. Cytotoxic and apoptotic effects of boron compounds on leukemia cell line. *Cytotechnology*, 2016, 68: 87-93.
106. Bent-al-hoda Movahedi Najafabadi M, Abnosi H. Boron induces early matrix mineralization via calcium deposition and elevation of alkaline phosphatase activity in differentiated rat bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Journal (Yakhteh)*, 2016, 18: 62.
107. Huang M, Hill RG, Rawlinson SC. Strontium (Sr) elicits odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells (hDPSCs): a therapeutic role for Sr in dentine repair? *Acta biomaterialia*, 2016, 38: 201-211.
108. Eymirli A, Serper A. Endodontide Kalsiyum Hidroksit Kullanımı. *Turkiye Klinikleri Journal of Dental Sciences Special Topics*, 2010, 1: 16-23.

109. Torabinejad M, Watson T, Ford TP. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *Journal of Endodontics*, 1993, 19: 591-595.
110. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*, 1999, 25: 197-205.
111. Zhang W, Li Z, Peng B. Assessment of a new root canal sealer's apical sealing ability. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 2009, 107: e79-e82.
112. Koubi G, Colon P, Franquin J-C, Hartmann A, Richard G, Faure M-O, Lambert G. Clinical evaluation of the performance and safety of a new dentine substitute, Biodentine, in the restoration of posterior teeth—a prospective study. *Clinical Oral Investigations*, 2013, 17: 243-249.
113. Ji Y-M, Jeon SH, Park J-Y, Chung J-H, Choung Y-H, Choung P-H. Dental stem cell therapy with calcium hydroxide in dental pulp capping. *Tissue Engineering Part A*, 2010, 16: 1823-1833.
114. Camilleri J, Pitt Ford T. Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. *International Endodontic Journal*, 2006, 39: 747-754.
115. Paranjpe A, Zhang H, Johnson JD. Effects of mineral trioxide aggregate on human dental pulp cells after pulp-capping procedures. *Journal of Endodontics*, 2010, 36: 1042-1047.
116. Perez A, Spears R, Gutmann J, Opperman L. Osteoblasts and MG-63 osteosarcoma cells behave differently when in contact with ProRoot™ MTA and White MTA. *International Endodontic Journal*, 2003, 36: 564-570.

117. Yan P, Yuan Z, Jiang H, Peng B, Bian Z. Effect of bioaggregate on differentiation of human periodontal ligament fibroblasts. *International Endodontic Journal*, 2010, 43: 1116-1121.
118. Dohaithem A, Al-Nasser A, Al-Badah A, Al-Nazhan S, Al-Maflehi N. An in vitro evaluation of antifungal activity of bioaggregate. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 2011, 112: e27-e30.
119. Yuan Z, Peng B, Jiang H, Bian Z, Yan P. Effect of bioaggregate on mineral-associated gene expression in osteoblast cells. *Journal of Endodontics*, 2010, 36: 1145-1148.
120. Zhang S, Yang X, Fan M. BioAggregate and iR oot BP Plus optimize the proliferation and mineralization ability of human dental pulp cells. *International Endodontic Journal*, 2013, 46: 923-929.
121. AlAnezi AZ, Jiang J, Safavi KE, Spangberg LS, Zhu Q. Cytotoxicity evaluation of endosequence root repair material. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 2010, 109: 122-125.
122. Asgary S, Eghbal MJ, Ehsani S. Periradicular regeneration after endodontic surgery with calcium-enriched mixture cement in dogs. *Journal of Endodontics*, 2010, 36: 837-841.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı : Esra DURSUN
Doğum Tarihi : 27.07.1991
Doğum Yeri : Yenimahalle/ANKARA
Medeni hali : Bekar
Uyruğu : TC
Adres : Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı 25240 / ERZURUM
Tel : 05331933605
Faks : 0442 236 09 45
E-mail : esradsn.05@gmail.com
Eğitim
Lise : Ankara Atatürk Lisesi
Lisans ve Yüksek lisans : Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (2009-2014)
Uzmanlık : Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı (2016-2019)
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce : TıpDil 78, Eylül 2015

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Uzmanlık Tezi olarak Dr. Öğr. Üyesi Fatih ŞENGÜL danışmanlığında sunulan “Melatonin ve Oksiresveratrolün Dental Pulpa Kök Hücreleri Üzerinde Oluşturduğu Sitotoksik Etkinin Değerlendirilmesi” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Ithenticate Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	2	15
Genel Bilgiler	14	30
Materyal ve Metod	2	35
Bulgular	9	10
Tartışma	1	15

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 10 / 05 / 2019

Arş.Gör.Dt. Esra DURSUN
İmza

Dr.Öğr.Üyesi Fatih ŞENGÜL
İmza

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



Bölümü : Dekanlık
Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/81
Konu : Etik Kurul Kararı

13.02.2019

Sayın: Arş.Gör.Dt.Esra DURSUN
Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz "Farklı Bor Çeşitlerinin İnsan Dental Pulpa Kök Hücresi Üzerindeki Sitotoksik Etkisi" isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Arş.Gör.Dt.Esra DURSUN	
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI	Farklı Bor Çeşitlerinin İnsan Dental Pulpa Kök Hücresi Üzerindeki Sitotoksik Etkisi	
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 01 Karar No: 60	Tarih: 13.02.2019
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin kendisi tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Prof.Dr.M.Hamidullah UYANIK
Üye

Doç.Dr.Ayşenur AKSOY
Üye

Doç.Dr.Yasemin ÇAYIR
Üye

Doç.Dr.Atilla ÇAYIR
Üye

Doç.Dr.Zeynep KARAMAN ÖZLÜ
Üye

Dr.Öğr.Üy.Sinan YILMAZ
Üye

Dr.Öğr.Üy.İbrahim KARABULUT
Üye

Dr.Öğr.Üy.Binali FIRINCI
Üye

Dr.Öğr.Üy.Murat KAYABEKİR
Üye

Emrah MELETLİOĞLU
Üye