



**NONSTEROİD ANTIENFLAMATUAR VEYA ANTİBİYOTİK İLAVELİ  
KALSİYUM HİDROKSİTİN PERİAPİKAL LEZYONLARDAN NÜKLEER  
FAKTÖR KAPPA B LİGANDI VE OSTEOPROTEGERİN SALINIMI ÜZERİNE  
ETKİSİ: PROSPEKTİF RANDOMİZE KLİNİK ÇALIŞMA**

**Esra ULUKÖYLÜ**

**Endodonti Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Ertuğrul KARATAŞ**

**Uzmanlık Tezi-2018**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NONSTEROİD ANTIENFLAMATUAR VEYA  
ANTİBİYOTİK İLAVELİ KALSİYUM HİDROKSİTİN  
PERİAPİKAL LEZYONLARDAN NÜKLEER FAKTÖR  
KAPPA B LİGANDI VE OSTEOPROTEGERİN SALINIMI  
ÜZERİNE ETKİSİ: PROSPEKTİF RANDOMİZE KLİNİK  
ÇALIŞMA**

**Esra ULUKÖYLÜ**

**Endodonti Anabilim Dalı  
Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Ertuğrul KARATAŞ**

**ERZURUM  
2018**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

NONSTEROİD ANTIENFLAMATUAR VEYA  
ANTİBİYOTİK İLAVELİ KALSİYUM HİDROKSİTİN  
PERİAPİKAL LEZYONLARDAN NÜKLEER FAKTÖR  
KAPPA B LİGANDI VE OSTEOPROTEGERİN SALINIMI  
ÜZERİNE ETKİSİ: PROSPEKTİF RANDOMİZE KLİNİK  
ÇALIŞMA

Esra ULUKÖYLÜ

Tez Savunma Tarihi:14.09.2018

Tez Danışmanı :Doç.Dr. Ertuğrul KARATAŞ  
Jüri Üyesi :Prof. Dr. Ayşe Diljin KEÇECİ  
Jüri Üyesi :Prof.Dr. Mustafa KÖSEOĞLU  
Jüri Üyesi :Prof.Dr.K.Meltem Çolak  
Jüri Üyesi :Doç.Dr.Hakan ARSLAN



ONAY

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Diş Hekimliği Fakültesi Dekan Vekili  
Prof.Dr. Ömer ÇOMAKLI



Uzmanlık Tezi  
ERZURUM-2018

# İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	IV
<b>ÖZET</b> .....	V
<b>ABSTRACT</b> .....	VI
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	VII
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	X
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	XI
<b>1.GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1.Apikal Periodontitis .....	3
2.2. Apikal Periodontitis Etiyolojisi .....	3
2.3. Apikal Periodontitis Patogenezi.....	3
2.3.1. Doğal İmmün Yanıt .....	4
2.3.2. Kazanılmış (Spesifik, Adaptif ) İmmün Yanıt.....	6
2.3.3. Nörojenik İnflamasyon (Duyusal Sinir Cevabı) .....	8
2.4.Periapikal Lezyon Oluşumunda İmmün Hücrelerin Rolü .....	9
2.5. Periapikal Lezyonların Gelişimi ve İyileşmesi .....	9
2.6. Kemik Rezorpsiyonu: Osteoklast Oluşumu ve Aktivasyonunun Düzenlenmesi.....	11
2.6.1. Nükleer Faktör Kappa B Ligandı (RANKL) .....	13
2.6.2. Nükleer Faktör Kappa B (RANK) .....	17
2.6.3. Osteoprotegerin (OPG).....	17
2.7. Cerrahi Olmayan Kök Kanal Yenileme Tedavisi .....	19

2.8. Kanal İçi İlaçlar .....	20
2.9. Kalsiyum Hidroksit.....	22
2.9.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	22
2.9.2. Biyolojik Özellikleri .....	23
2.9.3. Etki Mekanizması .....	23
2.9.4. Kök Kanallarına Uygulanışı .....	24
2.9.5. Patının Hazırlanışı.....	24
2.9.6. Taşıyıcıları, Taşıyıcı Tipleri ve Önemi.....	24
2.10. Propilen Glikol.....	26
2.11.Kalsiyum Hidroksite İlave Edilen Farklı Ajanlar .....	27
<b>3.MATERYAL VE METOT</b> .....	<b>31</b>
3.1. Hasta Seçimi .....	31
3.1.1. Dahil Edilme Kriterleri .....	31
3.1.2. Dahil Edilmeme Kriterleri .....	31
3.2. Tedavi Protokolü.....	32
3.3. RANKL ve OPG ELISA Test Analizi .....	34
3.4. İstatistiksel Analiz.....	35
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>36</b>
4.1. Biyokimyasal Bulgular .....	39
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>44</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	<b>60</b>
<b>KAYNAKÇA</b> .....	<b>61</b>

<b>EKLER</b> .....	87
<b>EK 1. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	87
<b>EK 2. ETİK KURUL ONAY RAPORU</b> .....	88
<b>EK 3. AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU</b> .....	89



## TEŞEKKÜR

Uzmanlık sürem boyunca tüm bilgisini, tecrübelerini ve önerilerini içtenlikle benimle paylaşan, tezimin planlanma aşamasından bitimine kadar yardım ve desteklerini hiç esirgemeyen, meslek hayatım boyunca da kendisini örnek alacağım değerli hocam Doç. Dr. Ertuğrul KARATAŞ'a,

Endodonti eğitimim boyunca öğrendiklerimi borçlu olduğum değerli hocalarım Prof. Dr. K. Meltem ÇOLAK'a, Prof. Dr. Mustafa KÖSEOĞLU'na, Doç. Dr. Hakan ARSLAN'a, Dr.Öğr. Ü. Aziz Şahin ERDOĞAN'a ve Dr.Öğr.Ü. Halit ALADAĞ'a,

Tez izleme komitesinde yer alan Prof.Dr. Ayşe Diljin KEÇECİ'ye,

Ayrıca tez çalışmamın biyokimyasal analizlerini gerçekleştiren, değerli bilgi ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Yasin BAYIR'a ve Dr.Öğr.Ü. Mevlüt ALBAYRAK'a,

Aynı ortamda çalışmaktan keyif aldığım her ihtiyaç duyduğumda yanımda olan asistan arkadaşlarıma, hemőirelerimize, sekreterimize ve tüm bölüm personeline,

Sevgileri ve bana duydukları güvenle beni bugünlere getiren, varlıklarıyla bana güç veren, her daim yanımda olan canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

### **Nonsteroid Antiinflamatuvar veya Antibiyotik İlaveli Kalsiyum Hidroksitin Periapikal Lezyonlardan Nükleer Faktör Kappa B Ligandı ve Osteoprotegerin Salınımı Üzerine Etkisi: Prospektif Randomize Klinik Çalışma**

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı kanal yenileme işleminde kullanılan nonsteroid antiinflamatuvar veya antibiyotik ilaveli kalsiyum hidroksit patının, periapikal lezyonlardan nükleer faktör kappa B ligandı (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) salınımı üzerine etkisini incelemektir.

**Materyal ve metot:** Çalışmaya dahil edilen 66 hasta bir internet programı yardımı ile kullanılan kanal içi ilaca göre randomize olarak üç gruba ayrıldı: Ca(OH)<sub>2</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub>+İbuprofen ve Ca(OH)<sub>2</sub>+Siprofloksasin. Guta perkalarlar kök kanallarından uzaklaştırıldıktan sonra, RANKL ve OPG örnekleri 3 adet kağıt kon kullanılarak dişlerin apikal dokularındaki interstisyel sıvılarından elde edildi. İkinci seans, medikamanlar kanaldan uzaklaştırıldı ve ikinci örnekler aynı metotla alındı. Tedavi öncesi ve sonrası RANKL ve OPG seviyeleri ELISA testi ile belirlendi ve RANKL/OPG oranı hesaplandı.

**Bulgular:** Tüm gruplardaki grup içi analizlerde tedavi öncesi ve tedavi sonrası RANKL/OPG oranlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır. Her bir gruptaki RANKL/OPG oranının yüzdelerik değişimi kullanılarak gruplar arası karşılaştırma yapılmış, gruplar arasında RANKL/OPG oranlarındaki yüzdelerik değişim açısından da istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır.

**Sonuç:** Bu çalışmanın sınırlamaları dahilinde, Ca(OH)<sub>2</sub> patına ibuprofen veya siprofloksasin ilavesinin RANKL / OPG düzeyini düşürmek için ekstra bir fayda sağlamadığı sonucuna varılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Periapikal lezyon, RANKL, OPG, Kanal içi ilaç, Kalsiyum hidroksit, İbuprofen, Siprofloksasin



## ABSTRACT

### **Effect of Calcium Hydroxide Alone or in Combination with Ibuprofen and Ciprofloxacin on Nuclear Factor Kappa B Ligand and Osteoprotegerin Level in Periapical Lesions: A Randomized Controlled Clinical Study**

**Aim:** The aim of the present study was to compare pure Ca(OH)<sub>2</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub> + ibuprofen and Ca(OH)<sub>2</sub> + ciprofloxacin in terms of Nuclear Factor Kappa B Ligand and Osteoprotegerin level in periapical lesions.

**Material and method:** Sixty-six patients were randomly divided into three groups using a web program according to the medication selected: Ca(OH)<sub>2</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub>+Ibuprofen, Ca(OH)<sub>2</sub>+Ciprofloxacin. After removing gutta-percha from the root canals, the RANKL and OPG samples were taken from the interstitial fluid of the apical tissues using three paper points. At the second appointment, medicaments were removed and second sampling was performed using the same method. The RANKL and OPG levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay and RANKL / OPG ratio were calculated.

**Results:** Intra-group analyses revealed that there was no statistically significant difference between pre-treatment and post-treatment RANKL/OPG ratios. Intergroup analyses were made using the percentage change of RANKL / OPG ratio between pre and post-treatment levels and revealed that there was no statistically significant difference among the groups.

**Conclusion:** Within the limitations of the present study, it can be concluded that addition of ibuprofen or ciprofloxacin to the Ca(OH)<sub>2</sub> paste does not provide extra benefit in terms of lowering RANKL/OPG level.

**Keywords:** Periapical lesion, RANKL, OPG, Intracanal medicament, Calcium hydroxide, Ibuprofen, Ciprofloxacin

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- APC:** Antijen Sunan Hücreler
- AMP:** Adenozin mono fosfat
- BCR :** B Hücre Antijen Reseptörü
- BMP:** Kemik Morfojenik Protein
- Ca(OH)<sub>2</sub> :** Kalsiyum Hidroksit
- CGRP :** Kalsitonin Gen İlişkili Protein
- CHX :** Klorheksidin
- DC:** Dentritik hücreler
- DNA :** Deoksiribonükleik Asit
- EDTA :** Etilen Diamin Tetra Asetikasit
- EGF:** Epitelyal Büyüme Faktörü
- ELISA :** Enzime- Linked Immunosorbent Assay
- ESM :** Ekstrasellüler Matriks
- FGF:** Fibroblast Büyüme Faktörü
- GAS:** Görsel Analog Skalası
- GMP:** Guanozin Monofosfat
- IGF:** İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
- IFN<sub>α</sub>:** İnterferon Alfa
- IFN<sub>β</sub>:** İnterferon Beta
- IFN  $\gamma$  :** İnterferon Gama
- IL :** İnterlökin
- LPS :** Lipopolisakkarit
- LTA :** Lipoteikoik Asit
- M-CSF:** Makrofaj koloni uyarıcı faktör

**MHC** : Majör Histokompatibilite Kompleksi

**ml** : Mililitre

**MMP 9** : Matriks Metalloproteinaz 9

**NaOCl** : Sodyum Hipoklorit

**NET**: Nötrofil hücre dışı tuzakları

**ng** : Nanogram

**NK hücreleri**: Doğal Öldücü Hücreler

**NPY** : Nöropeptit Y

**OCP**: Osteoklast öncülleri

**OPG** : Osteoprotegerin

**PAMP** : Patojenle İlişkili Moleküler Paterni

**PDGF**: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

**pg** : Pikogram

**PGE<sub>2</sub>**: Prostaglandin E<sub>2</sub>

**PMNL** : Polimorfonükleer Lökosit

**PRR** : Patern Tanıma Reseptörü VIII

**PTH**: Parathormon

**RANKL/OPG**: RANKL'ın OPG'ye oranı

**RANK** : Reseptör Aktivatör Nükleer Kappa B

**RANKL** : Reseptör Aktivatör Nükleer Kappa B Ligand

**SP** : Substans P

**TCR** : T Hücre Antijen Reseptörü

**T<sub>h</sub>** : Yardımcı T Hücreleri

**T<sub>reg</sub>**: Düzenleyici T Hücreleri

**T<sub>s</sub>**: Supresor T hücreleri

**T<sub>c</sub>**: Sitotoksik T hücreleri

**TGF**: Dönüştürücü Büyüme Faktörü

**TLR** : Toll Benzeri Reseptör

**TNF<sub>α</sub>** : Tümör Nekroz Faktör Alfa

**TNF<sub>β</sub>** : Tümör Nekroz Faktör Beta

**TAP** : Üçlü Antibiyotik Patı

**VIP** : Vazoaktif İntestinal Peptit



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. OPG, RANKL ve RANK'ın osteoklastojenezdeki rolleri ve hücre içi sinyal iletimi.....	17
Şekil 1.2. Öncül osteoklastın olgun osteoklasta farklılaşmasında RANKL,RANK ve OPG'nin rolü.....	18
Şekil 4. 1.Çalışmada yer alan katılımcıların çalışma sürecine dahil olma diyagramı....	37
Şekil 4.2.Ca(OH) <sub>2</sub> grubu tedavi öncesi ve sonrası RANKL/OPG ortalama değerleri. ..	41
Şekil 4.3. Ca(OH) <sub>2</sub> + İbuprofen grubu tedavi öncesi ve sonrası RANKL/OPG ortalama değerleri. ....	41
Şekil 4.4. Ca(OH) <sub>2</sub> + Siprofloksasin grubundaki RANKL/OPG ortalama değerleri. ....	42
Şekil 4. 5. Gruplara göre RANKL/OPG seviyesindeki yüzdelik değişim.....	43

## TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 4.1.</b> Gruplara göre cinsiyet dağılımı, yaş ortalaması ve diş numarasının dağılımı .....	38
<b>Tablo 4.2.</b> Lojistik regresyon modeli bulguları.....	39
<b>Tablo 4.3.</b> Tedavi önce ve sonrası RANKL/OPG seviyeleri ile RANKL/OPG'nin yüzdesel değişiminin ortalama ve standart sapma değerleri.....	40



# 1.GİRİŞ

Pulpa enfekte veya inflame olduğunda, sitokin, kemokin ve nöropeptitleri içeren çeşitli inflamatuvar mediyatörler doğal ve kazanılmış immun hücreler tarafından salınırlar. Pulpal inflamasyon yayılırken inflamatuvar mediatörler, periodontal ligament aralığının genişlemesine veya kemik rezorpsiyonuna bağlı apikal osteolitik lezyonların gelişimine neden olurlar. Kemik kaybı esas olarak aktive edilmiş osteoklastlardan kaynaklanır. İnterlökin (IL) -1, IL-11, IL-17 ve tümör nekroz faktörü  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) gibi birçok sitokin OPG/RANKL/RANK kompleksi ile osteoklast progenitör hücre farklılaşmasını ve aktivasyonunu uyarır<sup>1,2</sup>. Kemik rezorpsiyonunun altında yatan moleküler mekanizmalar, esas olarak, sırasıyla, tümör nekroz faktörü (TNF) ligandı ve reseptör süper ailelerine ait olan nükleer faktör kappa B ligandı (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) arasındaki etkileşimle kontrol edilir<sup>3</sup>.

Preosteoklastların yüzeyinde bulunan reseptör RANK'a bağlanan RANKL, olgunlaşma ve aktivasyonu yönlendirirken, doğal olarak oluşan RANKL inhibitörü OPG, RANK-RANKL birleşmesini önleyerek osteoklast aktivasyonunu ve daha sonra kemik rezorpsiyonunu inhibe eder<sup>4, 5</sup>. RANKL ve OPG'nin çeşitli hücre tipleri tarafından üretimi, hormonlar, inflamatuvar mediatörler ve bakteriyel ürünler dahil olmak üzere sistemik ve lokal uyarılar tarafından kontrol edilmektedir<sup>6</sup>. Sonuç olarak RANKL/OPG oranı, kemiğin yeniden biçimlenmesini yönlendirmede önemli bir rol oynar ve kemik oluşumu ile rezorpsiyonu arasındaki dengenin kurulmasında ana göstergedir.<sup>7</sup>

Enfekte kök kanal sisteminde, apikal periodontitisin başlıca nedenlerinden olan mikrobiyal hücreler, virülans ürünleri ve antijenler bulunur. Kök kanal sistemindeki mikrobiyal organizasyonlar sıklıkla kök kanal duvarlarına, istmuslara ve çıkıntılara yapışarak biyofilm topluluklarını meydana getirirler<sup>8</sup>. Kök kanallarının enstrümantasyonu ve irigasyonu ardından kök kanal sisteminden uzaklaştırılmayan

bakterileri yok etmek için antimikrobiyal intrakanal ilaç kullanımı desteklenmiştir<sup>9</sup>. Kalsiyum hidroksit, antimikrobiyal ve biyolojik etkileri nedeniyle endodontide yaygın olarak kullanılmaktadır<sup>10</sup>.

İnatçı enfeksiyonlardan izole edilen mikroorganizmalardan biri olan *Enterococcus faecalis*<sup>11</sup>, kalsiyum hidroksit tedavisine direnç göstermiştir<sup>12</sup>. Bu nedenle, bakteriyel eliminasyonu en üst düzeye çıkarmak için, kalsiyum hidrokside başka antiseptik ilaçların eklenmesi önerilmiştir<sup>13, 14</sup>. Siprofloksasin, hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilerde etkili olan hızlı bakterisidal etki gösteren bir ilaçtır<sup>15</sup>. Siprofloksasin endodonti alanında, inatçı periapikal lezyonların tedavisinde ve rejenerasyon tedavilerinde kullanılmaktadır<sup>16, 17</sup>. Siprofloksasinin<sup>18</sup> ve ibuprofenin<sup>19</sup> antibakteriyal etkinliğini  $\text{Ca(OH)}_2$  ile karşılaştıran birkaç çalışma bulunmaktadır fakat kalsiyum hidroksitle kombine siprofloksasin veya ibuprofenin kullanıldığı sadece bir tane in vitro çalışma bulunmaktadır<sup>10</sup>. Literatürde  $\text{Ca(OH)}_2$  patının sitokin salınımı üzerine olan etkilerinin araştırıldığı çalışmalar da mevcuttur<sup>20,21</sup>. Fakat kalsiyum hidroksitle kombine siprofloksasin veya ibuprofenin periapikal lezyonlardaki RANKL/OPG salınımı üzerine etkisini değerlendiren literatür bilgisine rastlanmamıştır. Bu tez çalışması, farklı kanal içi ilaçların RANKL/OPG seviyesinde yarattığı değişimi incelemeyi amaçlamaktadır. Bu çalışmada, “kanal içi ilaç olarak kullanılan  $\text{Ca(OH)}_2$ ,  $\text{Ca(OH)}_2$ +İbuprofen ve  $\text{Ca(OH)}_2$  +Siprofloksasin patlarının periapikal lezyonlardaki RANKL/OPG seviyesi üzerine herhangi bir etkisi yoktur.” sıfır hipotezi test edilmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Apikal Periodontitis

Apikal periodontitis, kök kanal sistemindeki mikroorganizma varlığına karşı gelişen iltihabi bir reaksiyondur<sup>22</sup>. Apikal periodontitisin histolojik sınıflandırması, periapikal dokulardaki inflamatuvar cevaplara katılan hücrelerin tiplerine dayanır. Genel olarak inflamasyon, hasar görmüş dokuların olduğu yerde bulunan hücrelerin türüne bağlı olarak akut veya kronik cevap şeklinde meydana gelir. Akut inflamatuvar yanıt nötrofilik lökositlerin, kronik inflamatuvar yanıt makrofajların ve lenfositlerin katılımıyla karakterizedir. Ancak doku hasarının ciddiyeti, spesifik etiyoloji, konakçının direnci gibi birçok faktör, hem akut hem de kronik inflamatuvar yanıtların seyrini, morfolojik varyasyonlarını ve hücre biyolojisini değiştirebilir<sup>23, 24</sup>.

### 2.2. Apikal Periodontitis Etiyolojisi

Apikal periodontitisin etiyolojisinde endojen ve ekzojen faktörler rol oynar. Ekzojen faktörler; bakteriler, toksinler ve onların zararlı metabolik yan ürünleri, kimyasal maddeler, mekanik uyarılar, yabancı cisimler ve travma olabilir. Endojen faktörler; konak kaynaklı urat ve kolesterol kristalleri gibi metabolik ürünler<sup>25</sup>, osteoklastları aktive eden sitokinler veya diğer inflamatuvar mediatörlerdir<sup>1</sup>. Pulpal hastalıklarda en önemli uyarıcı ise mikroorganizmalardır.

### 2.3. Apikal Periodontitis Patogenezi

Spesifik olarak hastalığın kaynağı ve gelişmesi sırasında organizmada meydana gelen değişiklikler bütünü patogenezi olarak ifade edilir. Apikal periodontitisin patogenezi, periapikal dokularda doğal, kazanılmış immün yanıtları ve duyuşal sinir cevabını içerir. Pulpanın ekzojen veya endojen nedenlere bağlı inflamasyonunu takiben doğal ve kazanılmış immün hücrelerden sitokin, kemokin ve nöropeptitleri içeren çeşitli

inflatuar mediyatörler salınır ve böylece periapikal dokuların fizyolojisinde değişim başlar<sup>26</sup>. Bu değişimler, periodontal ligament boşluğunun genişlemesine veya kemik rezorpsiyonuna bağlı apikal osteolitik lezyonların gelişimiyle klinik olarak radyografide gözlemlenebilir. Kemik kaybı esas olarak birçok sitokin tarafından aktiveştirilmiş osteoklastlardan kaynaklanır. Periapikal dokulardaki iltihapla indüklenen kemik rezorpsiyonu, kök kanalından yayılan mikroorganizmalara karşı savunma hattı oluşturan immün hücrelerin toplanmasına aracılık eder. İnsan periradiküler lezyonlarında bulunan immün hücreler; lenfositler, makrofajlar, plazma hücreleri, nötrofiller, dendritik hücreler ve doğal öldürücü (NK) hücrelerden oluşur<sup>27, 28</sup>.

Periapikal dokularda apikal periodontitisin patogenezi üç cevap şeklinde kendini gösterir:

1. Doğal immün yanıt
2. Kazanılmış immün yanıt
3. Duyusal sinir cevabı (Nörojenik inflamasyon)

### **2.3.1. Doğal İmmün Yanıt**

Konağı potansiyel olarak tehlikeli ajanlardan koruyan ve çoğu organizmada bulunan koruyucu mekanizmalar doğal immüniteyi oluşturmaktadır. Bunların koruyucu etkisi yabancı ajan için spesifik değildir<sup>29</sup>. Konağın savunma mekanizması özellikle mikrobiyal patojenle ilk temas sırasında önemlidir. Doğal immün yanıt, yabancı maddeler arasında ayırım gözetmeksizin fonksiyon görür ve aynı yabancı madde ile her karşılaştıklarında aynı şiddette yanıt verir<sup>29</sup>. Doğal bağışıklık sisteminin deri ve mukozal epitelyal bariyerler, komplemanlar, antimikrobiyal peptidler, kemokinler ve sitokinler gibi humoral faktörler ile monosit / makrofaj, polimorfonükleer lökositler, dendritik hücreler, doğal öldürücü (NK) hücre gibi hücresel kısımdan oluşan farklı bileşenleri

mevcuttur<sup>30</sup>. Doğal bağışıklık sisteminde önemli rol oynayan sitokinler ise şunlardır: TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-10, IL-12, interferonlar (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  ve IFN- $\gamma$ ) ve kemokinler<sup>31</sup>.

### 2.3.1.1. Doğal İmmün Sistemin Spesifik Cevabı

Bakteri toksinleri (örneğin, lipopolisakarid (LPS), lipoteikoik asit (LTA) ve kök kanal sisteminden periapikal dokulara çıkan zararlı metabolik yan ürünler) periapikal enflamatuar reaksiyonu indükleyebilmektedir<sup>32,33</sup>. Bu maddeler, bu toksinlerin yapısında bulunan streotipik patojenle ilişkili moleküler paternleri (PAMP'leri) tanıyan konakçı hücreler üzerinde farklı patern tanıma reseptörleri (PRR'ler) veya Toll benzeri reseptörler (TLR'ler) aracılığıyla doğal immün yanıtı harekete geçirir. Son yıllarda, doğal/doğuştan gelen bağışıklığın spesifik olmayan cevabı kavramı, mikroorganizmaların spesifik moleküler paternlerini tanımlayan, daha önce bahsedilen patern tanıma reseptörleri (PRR'ler) keşfedildiğinden beri değişmiştir<sup>34</sup>. PRR'ler, hücre yüzeyinde (makrofajlar, dendritik hücreler, nötrofiller, NK hücreleri, B hücreleri), hücre içi kısımlarda veya kan ve doku sıvılarında bulunabilir<sup>35</sup>.

PRR'ler bakterilerde bulunan PAMP'ları tanırlar. Doğal immüitenin spesifik cevabı da PRR'lerin PAMP'ları tanınmasıyla gerçekleşmektedir. PRR'lerin aktivasyonu; opsonizasyon, kompleman ve koagülasyon kaskadlarının aktivasyonu, fagositoz, proinflamatuar sinyal yollarının aktivasyonu ve apoptozisin indüksiyonu gibi sayısız konak cevabını tetikler. LTA aynı zamanda lökositleri, inflammatuar cevabın çeşitli safhalarında rol oynayan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 ve PGE<sub>2</sub>'yi içeren inflammatuar mediatörleri serbest bırakması için uyarır. Bu inflammatuar mediatörlerin hepsi periapikal örneklerde tespit edilmiştir ve her biri, çeşitli konak yanıtını aktive ederek dokulara zarar verme etkisine sahiptir. Bakteriyel enfeksiyona karşı gelişen doğal immün yanıt, adaptif immün yanıtı harekete geçirmek için gerekli olan proinflamatuar sitokinler, kemokinler ve kostimülatörlerin ekspresyonunu indükler<sup>34,36</sup>.

### 2.3.1.2. Doğal İmmün Sistemin Nonspesifik Yanıtı

Apikal periodontitiste primer nonspesifik immun cevap mekanizması, makrofaj ve polimorfonükleer lökositler (PMNL) gibi özelleşmiş fagositlerin bakterileri fagosite etmesine dayanır. Doku inflamasyonu PMNL'lerin kan dolaşımından alınıp periradikuler dokuya geçişine neden olur<sup>26</sup>. Aktif PMNL'ler oksijen tüketiminde ani bir artış gösterirler. Oksijenin hızlı tüketilmesi konak hücreleri ve çevresindeki mikroorganizmalara zarar verici ve kısa ömürlü etkiye sahip oksijen radikallerinin salınmasına neden olur<sup>37</sup>.

Fagositozlanmış mikroorganizmalar veya yabancı partiküller, spesifik ve azürofil granüller ve oksijen türevi serbest radikalleri içeren toksik bir ortama maruz bırakılır<sup>38</sup>. PMNL'ler ayrıca, nötrofilik granüllerden spesifik proteinler içeren kromatinden oluşan hücre dışı yapılar olan nötrofil hücre dışı tuzakları (NET) yoluyla hücre dışı öldürme mekanizmasına sahiptir. Aktivasyon üzerine (örn., IL-8, LPS, bakteri, mantarlar, aktive edilmiş trombositler) nötrofiller, apoptoz adı verilen hücresel programı başlatırlar. Bu yabancı uyaranların ölümüne ve antimikrobiyal aktiviteden sorumlu olan NET'lerin oluşumuna yol açar<sup>39, 40</sup>.

### 2.3.2. Kazanılmış (Spesifik, Adaptif) İmmün Yanıt

Doğal immün cevabın kapasitesini aşan seviyelerdeki devamlı veya ciddi enfeksiyonlara ve eksojen antijenlere daha spesifik olan adaptif immun yanıt gelişmektedir. Spesifik immünite, patojen ile karşılaşıldığında uyarılan, sadece ona özgü olarak gelişen ve o patojenle tekrar karşılaşıldığında daha güçlü olarak yanıt verilmesini sağlayan sistemdir<sup>41</sup>. Spesifik immünite, doğal immüntenin koruyucu mekanizmalarını güçlendirir, bu mekanizmaları antijenin giriş yerine yönlendirerek yabancı antijenin ortadan kaldırılmasını kolaylaştırır. Lenfositler, antikorlar ve lenfokinler kazanılmış immüntenin hücresel elemanlarıdır<sup>42</sup>. Bu sistemde önemli rol oynayan sitokinlerse IL-2, IL-4, IL-5, TGF- $\beta$ , IL-10 ve IFN- $\gamma$ 'dır<sup>31</sup>.

Kazanılmış immün sistemin spesifikliği, yabancı veya kendi antijenlerini tanıyan ve bağlayan moleküllerin oluşumunu sağlayan B ve T lenfositlerinin aracılığıyla düzenlenir<sup>43</sup>. Bu moleküller, T hücrelerinde (T-hücresi antijen reseptörleri veya TCR'leri) ve B hücrelerinde (B-hücresi antijen reseptörleri veya BCR'ler; ayrıca immünoglobülinler olarak adlandırılır) spesifik reseptörlerdir. T hücreleri üzerindeki TCR'ler, MHC molekülü içeren antijen sunan hücreler aracılığıyla antijenlerle etkileşime girerken, B hücrelerindeki BCR'ler doğrudan antijenlerle etkileşime girer. BCR'ler kan dolaşımında veya dokularda antikor olarak salgılanabilir. Saf T hücreleri, antijen sunan hücreler tarafından sunulan yabancı antijenlerle karşılaşana kadar lenfatik sistem ile kan dolaşımı arasında ileri geri dolaşım yapar. T hücrelerinin yaklaşık% 97'si apoptoza girer ve bu hücrelerin sadece küçük bir yüzdesi olgun T hücreleri olarak perifere taşınır<sup>44</sup>. TCR ve antijen peptit / MHC kompleksi ve yardımcı uyarınlar arasındaki etkileşim T hücrelerini aktive eder, bu T hücrelerinden bazıları efektör T hücrelerine ayrılır ve diğerleri hafıza hücreleri haline gelir. Fonksiyonuna göre kategorize edilmiş birçok T hücre alt popülasyonu vardır: T helper hücreleri (T<sub>h</sub>), T düzenleyici hücreler (T<sub>reg</sub>), T supresör hücreler (T<sub>s</sub>) ve T sitotoksik (sitolitik) (T<sub>C</sub>) hücreler<sup>44, 45</sup>.

T lenfositleri, apikal periodontitiste rol oynayan temel unsurlardan biridir ve sitokinlerin ana kaynağı olarak düşünülür<sup>26, 46</sup>. Bu alt-grup, Th<sub>1</sub> ve Th<sub>2</sub>'ye bölünebilir ve ürettikleri sitokinler, Th1-tipi ve Th2-tipi sitokinler olarak bilinmektedir. Th hücrelerinin her bir alt kümesi farklı fonksiyonlara ve sitokin profillerine sahiptir. Th1 hücreleri çoğunlukla makrofajları aktive eden ve B hücrelerini opsonizasyon antikoru üretmek için uyarın IL-2 ve interferon (IFN)- $\gamma$  üretirler. Th2 hücreleri, nötralize edici antikor yapmak için B hücrelerini aktive eden IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 üretirler<sup>47</sup>. Th0 ayrıca IL-6 ve TGF- $\beta$ 'nin aktivasyonu altında Th17'ye dönüşebilir ve güçlü bir proinflatuar sitokin olan IL-17 üretir<sup>44</sup>.

Barkhordar ve ark.<sup>48</sup> periapikal lezyonlarda çeşitli T-lenfosit alt popülasyonlarını tanımlamak için yaptıkları çalışmada 15 adet periapikal lezyonlu dişi cerrahi olarak rezeke etmişlerdir. Bu dokular ışık mikroskopunda incelenmiş, lezyonlarda pan T-lenfositleri (T11), T yardımcı hücreleri (T4) ve T sitotoksik hücreleri (T8) bulunduğu raporlanmıştır.

Kazanılmış immün yanıtta B hücrelerinin rolü esas olarak konakçı humoral bağışıklık tepkisini oluşturan antikorların üretilmesidir. B hücreleri, plazma hücrelerine farklılaştığında çok miktarda antikor salgılanır<sup>49</sup>. Antijenlerin, plazma hücrelerinin farklılaşmasını seçici olarak uyarabilme özelliği, periapikal lezyonlardan izole edilen plazma hücrelerinin bitişik kök kanalı sisteminde bulunan özel bakterilere spesifik antikorlar salgıladığı klinik bulguyu desteklemektedir<sup>50</sup>.

### **2.3.3. Nörojenik İnflamasyon (Duyusal Sinir Cevabı)**

Bazı afferent sinir lifleri çeşitli iritanların stimule etmesi ile vazodilatasyon, proteinlerin damar dışına çıkması ve makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri ve lenfositler gibi bağışıklık hücrelerinin göçüne neden olan nöropeptidleri serbest bırakır. Bu fenomen, nörojenik inflamasyon olarak adlandırılır<sup>51, 52</sup>.

Nöropeptidler, inflamasyonun ilk işaretine (vazodilatasyon ve artmış vasküler geçirgenlik) neden olan temel işlevlerinin yanısıra, kronik apikal periodontitis lezyonlarının gelişiminde, bağışıklık düzenlenmesi, kemik rezorpsiyonu ve yara iyileşmesinde de rol alır<sup>53</sup>.

Nörojenik inflamasyonunun indüksiyonunda esas nöropeptitler, vazodilatasyon için kalsitonin gen ilişkili protein (CGRP), proteinlerin damar dışına indüksiyonunda Substans P (SP)dir. Vazoaktif bağırsak peptidi (VIP) ve nöropeptit Y (NPY) gibi diğer nöropeptitler, inflamatuvar yanıtları inhibe eder. CGRP ve VIP, osteoklastik aktiviteyi baskılayarak kemik rezorpsiyonunun önlenmesinde rol oynayabilir<sup>54</sup>.

## 2.4. Periapikal Lezyon Oluşumunda İmmün Hücrelerin Rolü

İnsan periradiküler lezyonunda bulunan immün hücreler, lenfositlerden, makrofajlardan, plazma hücrelerinden, nötrofillerden ve NK hücrelerinden oluşmaktadır<sup>27, 55</sup>. Lenfositlerde T hücrelerinin sayısı B hücrelerinden daha fazla sayıdadır veya eşittir<sup>56</sup>.

APC'ler (antijen sunan hücreler) ve T sitotoksik hücreler hem önceden mevcut olan hem de yeni oluşan epitelyumla ilişkilidir<sup>27</sup>. Aktif kemik rezorpsiyon fazı sırasında Th hücreleri baskındır, oysa artan sayıda Ts hücresi, kronik durumla ilişkilidir. Periradiküler lezyon gelişiminde rol oynayan spesifik Th hücrelerinin alt popülasyonları belirsizliğini korumaktadır. Lenfosit subpopülasyonlarının periradiküler lezyonların oluşumundaki rolü lenfosit eksik fareler kullanılarak araştırılmış ve T hücre eksikliği olan fareler ile normal fareler karşılaştırıldığında periradiküler lezyon gelişiminin benzer olduğu görülmüştür. Benzer şekilde Wallstrom ve ark. T hücre eksikliği olan sıçanları bir grup (atimik grup) olarak değerlendirmiş, konvansiyonel ve atimik grupların periapikal doku yanıtları arasında anlamlı bir fark tespit edememiştir<sup>57</sup>. Aksine Tani ve ark.<sup>58</sup> T hücresi eksik farelerde periferik lezyon gelişiminin kinetiğinde lenfositlerin tutulumunu incelemek için immün boyama yapmış, pulpanın ekspoz edilmesinden 2 hafta sonra, atimik farelerin normal farelere göre daha büyük periradiküler lezyon geliştiğini, ancak lezyon büyüklüklerinin pulpa ekspozundan 4 ve 6 hafta sonra iki deney grubu arasında benzer olduğu raporlamışlardır.

## 2.5. Periapikal Lezyonların Gelişimi ve İyileşmesi

Kök kanal tedavisi sonrası iritanların uzaklaştırılmasıyla inflamatuvar hücrelerin azalmasına bağlı inflamatuvar mediatörlerin miktarında azalma meydana gelir. İ inflamatuvar mediatörler vücut kontrol mekanizmasında inaktif durumda bulunur. Yara iyileşmesi aşağıdaki süreç sonrasında başlar:

- İnflamatuar aktivatörlerin enzim yıkımı
- İnflamatuar mediatörlerin doğal inhibisyonu
- Döngüsel AMP ve GMP'nin intrasellüler aralıkta dengelenmesi
- Histaminin inflamasyondaki rolünün indirgenmesi
- Kompleman sisteminin inhibe edilmesi
- IL-4, IL-10, IL-13 gibi antiinflamatuvar sitokinlerin salınımı<sup>59, 60</sup>.

Yara iyileşmesindeki mekanizmada nötrofilik lökositlerin apoptozisi esas hücreyel indirgeyici faktördür. Yara iyileşmesinde esas hücreyel rol makrofajlar ve antiinflamatuvar mediatörlerin salınımına aittir<sup>24, 60</sup>.

Hücreyel ve humoral faktörler antagonistik veya sinerjik şekilde çalışmaktadır. Yara iyileşmesi planlı bir durumdur. Bağ doku iyileşmesinde, nekrotik doku ve bakterilerin makrofajlar tarafından uzaklaştırılması sonrasında fibrovasküler granülasyon dokusu oluşumu tamir ve/veya rejenerasyon sürecini başlatır. Alveolar kemikteki kemik iliği kök hücreleri, osteoblastlar ve periodontal ligamandaki multipotent kök hücreleri lokal dokudaki yapılardır<sup>61</sup>. Bu süreçte istenmeyen hiperplastik hücreler (endotelyal hücreler, fibroblastlar ve epitelyal hücreler gibi)apoptozisle yok edilir<sup>62, 63</sup>. Ekstrasellüler matriks ise matriks metalloproteinaz ile yeniden şekillendirilir. Fibrozis gibi patolojik aşamalar görülmez. Hasara uğramış periapikal dokular orijinal yapısında rejenerasyona uğrar. Kök kanal tedavisi sonrası periapikal dokularda yeni periodontal ligaman, yeni sement ve yeni alveol kemik gelişimi meydana gelir<sup>64, 65</sup>. Sementin yeniden oluşumunda kök gelişimi esnasında hertwig epitel kını sorumludur fakat gelişimini tamamlayan dişte bu yapı mevcut değildir. Dolayısıyla sementoblast benzeri hücrelerin proliferasyonu, göçü, yapışması ve periodontal hücrelerdeki multipotent kök hücrelerinden farklılaşması ekstrasellüler matriks ve büyüme faktörlerinin (IGF-1, FGF, EGF, BMP, TGF- $\beta$ , PDGF) kontrolünde olur<sup>66</sup>.



Kemik dokunun yenilenmesinde kemik matriksinin oluşturulmasında osteoblastlar veya endosteum üzerindeki mezenşim hücreleri sorumludurlar. Kortikal kemik tabakası yıkımı meydana geldiğinde osteoblast farklılaşması sayesinde yeni kemik oluşumu sağlanır<sup>67, 68</sup>. Bukkal ve lingual kemik yapının zarar gördüğü geniş periapikal lezyonlarda ise fibröz skar dokusu ile tamir görülebilir. Son olarak yeniden gelişen sement ve kemik doku içine periodontal ligamanlar girerler ve kollajen liflerle bağlantıyı sağlarlar<sup>69</sup>.

## **2.6. Kemik Rezorpsiyonu: Osteoklast Oluşumu ve Aktivasyonunun Düzenlenmesi**

Kemiğin yeniden şekillenmesi, kemik rezorpsiyonu (osteoklastların aracılık ettiği) gibi katabolik olaylardan ve kemik oluşumuna (osteoblastların aracılık ettiği) benzer anabolik olaylardan oluşur. Bunların her ikisi de farklı mekanizmalar tarafından kontrol edilir<sup>70, 71</sup>. Osteoporozda görülen genel kemik kaybıyla karşılaştırıldığında, endodontik enfeksiyondan kaynaklanan çene kemiklerinde lokal kemik kaybı, fokal inflamatuvar immün reaksiyonun ve lokalize osteoklastogenezin bir kombinasyonudur. Konak savunma hücreleri, bakteriyel bileşenler tarafından kemik rezorpsiyonunun indüksiyonunda rol oynayan sitokinler ve prostaglandinler gibi kimyasal araçları serbest bırakmak için uyarılabilir<sup>72</sup>. Birçok sitokin, doğrudan veya dolaylı inflamasyonun neden olduğu kemik rezorpsiyonunun başlatılması ve sürdürülmesinde rol oynar. Pek çok çalışmada IL-1, IL-6 ve TNF gibi kemik rezorptif sitokinlerin ekspresyonu ile aktif kemik yıkımı arasında ilişki bulunmuştur<sup>73</sup>.

Pfeilschifter ve ark.<sup>74</sup> IL-1 ve TNF'in, kısmen osteoklast oluşumunu artırarak kemik rezorpsiyonunu uyardığını ve 1.25-dihidroksivitamin D3 gibi faktörlerin aşırı derecede düşük konsantrasyonunun, osteoklast oluşumunu sinerjistik olarak artırabileceğini göstermiştir. Bu veriler, sitokinler arasındaki sinerjistik etkileşimlerin,

normal ve patolojik durumlarda kemik hücre aktivitesinin korunmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Kemik rezorptif sitokinlerden IL-1 ve TNF'in, pulpitis ve apikal periodontitis dahil olmak üzere birçok kronik inflamatuvar hastalığın patogenezinde rol oynadığını göstermek için Tani-Ishii ve ark.<sup>75</sup> enfekte pulpalarda IL-1 $\alpha$  ve TNF $\alpha$ 'yı eksprese eden hücreleri ve sıçanların pulpalarını cerrahi olarak ekspoz etmişler ve periapikal lezyon geliştirmişlerdir. Sonuç olarak, IL-1 $\alpha$  ve TNF- $\alpha$ 'yı eksprese eden hücrelerin, pulpa ekspozundan hemen sonra meydana geldiğini ve bu mediatörlerin kemik yıkımı dahil olmak üzere pulpa ve periapikal patogeneizde önemli bir rol oynadığı göstermişlerdir. Graves ve ark.<sup>76</sup> deneysel periodontitis geliştirmek için macaca fascicularis primatında interdental papile IL-1 ve TNF çözünebilir sitokin reseptörleri enjekte etmişler. Durumun gingivitisten periodontitise dönüşümüyle inflamatuvar hücre infiltratının alveolar kemiğe ilerlediğini ve osteoklast oluşumuyla sonuçlandığı raporlamışlardır.

Lenfositler ve makrofajlar dahil olmak üzere inflamatuvar hücreler, daha fazla inflamatuvar hücrenin aktive edilmesi için IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-11 ve TNF $\alpha$  gibi sitokinler ve kemokinler üretirler. Steeve ve ark.<sup>77</sup> yaptığı bir derlemede, kemik fizyolojisine IL-6, TNF- $\alpha$ / IL-1, ve RANK/RANKL/OPG şeklinde önemli üç sitokin grubunun katılımını incelemiş ve tümörle ilişkili osteoliz gibi kemik rezorpsiyon patofizyolojisinde bu üç grup arasında etkileşim olduğu raporlamışlardır. Ayrıca RANK/RANKL/OPG üçlüsünün kemik fizyolojisinde merkezi role sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Progenitör hücrelerin osteoklastlara farklılaşması için osteoblastik stromal hücreler tarafından Makrofaj koloni stimülan faktör (M-CSF) ekspresyonu gerekmektedir fakat sadece M-CSF ekspresyonu osteoklast farklılaşmasını tek başına yapmaya yetmez. Osteoklast farklılaşmasının tamamlanması için osteoblastik stromal hücrelerinden RANKL ekspresyonu, osteoklast prekürsörlerinden ise RANK ekspresyonu gerekir<sup>78</sup>.

M-CSF ve RANKL öncül osteoklastların (OCP'ler) olgun ve aktif osteoklast haline gelmesi için gerekli olan iki sitokindir<sup>78</sup>. M-CSF, kemik iliği stromal hücreleri ile osteoblastlardan kaynaklanan M-CSF osteoklast öncül hücresinde bulunan kendi reseptörüne (c-fms) bağlanır. Osteoklastın olgunlaşması, yaşaması ve kemik yüzeyine bağlanarak rezorpsiyonu için RANKL ile birlikte görev yapar<sup>79</sup>.

### **2.6.1. Nükleer Faktör Kappa B Ligandı (RANKL)**

RANKL, TNF ligand ailesinin bir üyesidir. 40-45 kDa'luk membrana bağlı hücresel ve 32 kDa'luk biyolojik olarak aktif, çözümlenir iki formu olan 317 amino asitli bir peptiddir<sup>80-82</sup>.

RANKL, osteoklast farklılaşmasının ve kemik rezorpsiyonunun uyarılmasından sorumlu hücre membranına bağlı bir ligand olarak tanımlanmıştır<sup>81</sup>. Bu molekül, osteoblastlar ve osteoklast prekürsörleri arasındaki hücre-hücre etkileşimine aracılık eden osteoklast farklılaşma faktörüdür<sup>83</sup>.

RANKL vücutta hemen hemen tüm hücre tipleri tarafından eksprese edilir. Lenf nodları, timüs, akciğer, dalak ve kemik iliği gibi dokularda ve osteoblastlarda sentezlenir. Hormonlar (1,25-dihidroksi vitamin D3 gibi), büyüme faktörleri ve peptidler (TGF-  $\beta$ 1, fibroblast büyüme faktörü-2 ve PTH ilişkili protein gibi), sitokinler (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-11, IL-17 ve TNF $\alpha$  gibi) ve glukokortikoidler gibi birçok faktör RANKL sentezi için farklı doku ve hücre tiplerini uyarır<sup>80-82, 84</sup>.

RANKL, B ve T lenfositleri, osteoblastlar, osteositler, makrofajlar, periodontal ligament fibroblastları, gingival fibroblastlar, dentritik hücreler tarafından eksprese edilir<sup>85</sup>. B ve T lenfositleri, kemik rezorpsiyonu görülen lezyonlarda RANKL ekspresyonunun başlıca hücre kaynaklarıdır. Kemik yıkım sürecindeki diğer faktörlerin potansiyel katılımına rağmen, kemik rezorpsiyonu görülen lezyonlarda B ve T hücreleri tarafından belirgin RANKL ekspresyonu meydana geldiği görülmektedir.

Ayrıca rezorpsiyon sürecinde B ve T hücrelerinin birincil rol oynadığı düşünülmektedir<sup>86</sup>. Mikroorganizmalar ile uyarılan T hücreleri, RANKL üretimini kazanılmış immün yanıtı arttırarak düzenleyebilir. Kawai ve ark. T lenfosit fonksiyonunun regülasyonunun periodontal hastalıkta periodontal kemik rezorpsiyonunu etkileyebileceğini bildirmişlerdir<sup>87,88</sup>. Diğer çalışmalar, mikroorganizmalara özgü T lenfositlerin, RANKL üretimini arttırdığından dolayı kemik rezorpsiyonunun ortaya çıktığını göstermektedir<sup>88</sup>.<sup>89</sup>. Bu sonuçlar ayrıca mikroorganizmaların, T hücrelerini uyararak RANKL'a bağlı kemik rezorpsiyonunu indükleyebileceğini de gösterebilir. Baker ve ark.<sup>90</sup> adaptif immün yanıtın, özellikle CD4 + T hücrelerinin, oral enfeksiyondan kaynaklanan kemik kaybında önemini ortaya koymuştur. Başka bir araştırmada CD4 + T hücrelerinin dişeti dokularında bulunan baskın hücre tipi olduğunu ve dendritik hücrelerden veya monositlerden daha fazla RANKL eksprese ettiğini göstermiştir<sup>91</sup>. CD4 + T yardımcı hücreleri; Th1, Th2 ve Th17 ve Treg fenotiplerine farklılaşmak için indüklenebilir. IL-6 / IL-12 sitokin ailesinin bir üyesi olan IL-27'nin, T hücre reseptörü<sup>92</sup> ile aktive CD4 + T hücrelerinin hem RANKL ekspresyonunu hem de RANKL sekresyonunu büyük ölçüde inhibe ettiği bulunmuştur. Aksine, farklılaşmış Th17 hücrelerinde, IL-27, yeniden uyarım sonrası RANKL ekspresyonunu çok daha az bir şekilde inhibe etmiştir<sup>92</sup>. Bu nedenle, farklı T hücre tipleri RANKL salınımında farklı roller oynayabilir. Th1 hücre sitokinleri, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$ , RANKL ekspresyonuyla ilgilidir. IFN- $\gamma$ , pro-veya anti-düzenleyici bir sitokin olarak işlev görebilen aktive edilmiş T yardımcı hücrelerinin ana ürünüdür. IFN- $\gamma$ , osteoklast öncüllerinin doğrudan hedeflenmesi yoluyla osteoklast oluşumunu bloke eder, ancak antijen bağımlı T hücre aktivasyonunu, RANKL ve TNF- $\alpha$  osteoklastojenik faktörlerin T hücre salgılanmasını uyararak osteoklast oluşumunu dolaylı olarak stimüle eder<sup>93</sup>.

Hastalıklı periodontal dokulardan elde edilen B hücrelerinin% 90'ından fazlası, T hücrelerinin yaklaşık% 54'ünün aksine, RANKL'ı eksprese etmektedir<sup>86</sup>. B hücreleri, T hücreleri olmadan da kemik rezorpsiyonuna neden olabilmektedir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, RANKL ekspresyonunun, mikroorganizmalara karşı doğuştan gelen immün yanıtta ziyade kazanılmış immün yanıtta B hücrelerinde indüklendiği ileri sürülmüştür<sup>94</sup>.

Atkins ve ark. RANKL ekspresyonunun insan osteoblastlarının farklılaşma durumu ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir<sup>95</sup>. RANKL, immatür osteoblastlar tarafından eksprese edilmiştir ve ekspresyon seviyesi olgunlaşma sırasında azalmıştır. Osteoblastların veya progenitörlerinin, sitokin RANKL'ı eksprese ederek osteoklast oluşumunu desteklediği düşüncesi yaygındır. Nakashima ve ark.<sup>96</sup> osteositlerin çok daha fazla miktarda RANKL salgıladığını, hem osteoblastlara hem de kemik iliği stromal hücrelerine göre in vitro osteoklastogenezi destekleme kapasitesinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

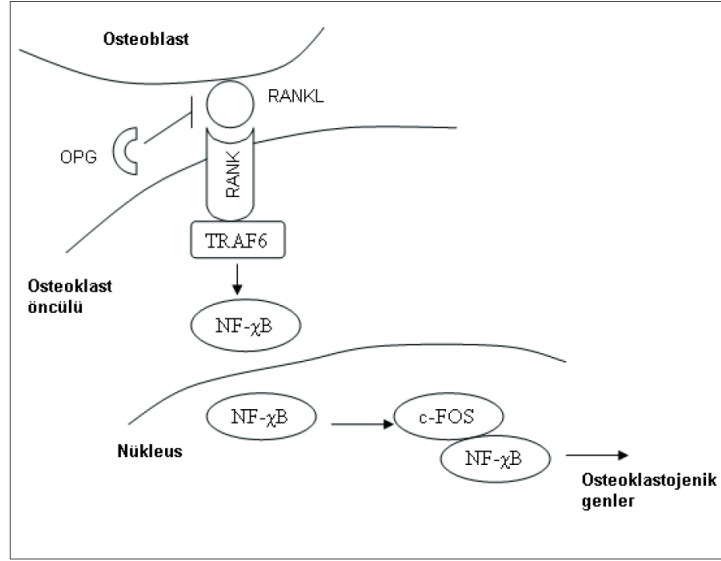
Makrofajlar, RANKL ekspresyonunun ana kaynağı olmamasına rağmen<sup>86</sup>, RANKL ekspresyonunu patern tanıma reseptörleri (PRR'ler) ve sitokinlerle<sup>97</sup> etkileyebilir. Makrofajlar, patojenleri tanımak için TLR'ler gibi birçok PPR'yi eksprese eder, daha sonra bir dizi hücre içi sinyal olaylarını ve NF- $\kappa$ B aktivasyonunu indükler bu durum inflamatuvar mediatörlerin ekspresyonuyla sonuçlanır<sup>97,98</sup>.

TNF- $\alpha$ , RANKL varlığında potansiyel olarak osteoklast proliferasyonunu / farklılaşmasını arttırmıştır. Wei ve ark. IL-1'in, RANKL'ın stromal hücre ekspresyonunu artırarak ve doğrudan osteoklast öncülerinin farklılaşmasını stimüle ederek osteoklastojenik etkiye aracılık ettiğini bildirmiştir<sup>99</sup>. Fujihara ve ark.<sup>100</sup> TNF- $\alpha$ , protein kinaz A sinyallemesi ile gingival epitelyal hücrelerde RANKL ekspresyonunu arttırdığını

bildirmiştir. IL-1 tipi sitokin ailesinin üyeleri ile prostaglandinler, RANKL ekspresyonunun en güçlü indükleyicileri arasındadır<sup>101</sup>. Daha ileri bir çalışma IL-1 ve LPS'nin iki olay aracılığıyla osteoklastogenezi indüklediğini göstermiştir: ilki RANKL ekspresyonunun doğrudan uyarılmasıyla, diğeri PGE<sub>2</sub> üretiminin aracılık ettiği OPG ekspresyonunun baskılanmasıyla<sup>102</sup>.

Diş ile ilişkili fibroblastların osteoklast benzeri hücrelerin oluşumunu tetikleyebildiği, aktif osteoklastların oluşumu için ek uyarıların gerekli olmasından dolayı kemik rezorpsiyonunu önlemede esas rol aldıkları düşünülmektedir<sup>103</sup>.

Lokal olarak üretilen en önemli pro-osteoklastojenik sitokin RANKL'dır. Fizyolojik koşullarda osteoblastlar tarafından üretilen RANKL'ın öncül osteoklastlar yüzeyinde bulunan RANK'a bağlanması TRAF6'yı uyararak NF-κB aktivasyonu sebep olur. NF-κB aktivasyonu aracılığı ile artan c-Fos sentezi NFATc1 ile etkileşerek osteoklastojenik genlerin transkripsiyonunu tetikler ve böylece uyarı çekirdeğe iletilmiş olur. RANK/RANKL kompleksinin oluşması kemik rezorpsiyonunu aktive eder böylece kemik kaybı ve rezorpsiyon artar. OPG ise RANKL'a bağlanarak onun RANK'a bağlanmasını engeller<sup>79 104-106</sup>(Şekil1.1).



**Şekil 1.1.** OPG, RANKL ve RANK'ın osteoklastojenezdeki rolleri ve hücre içi sinyal iletimi

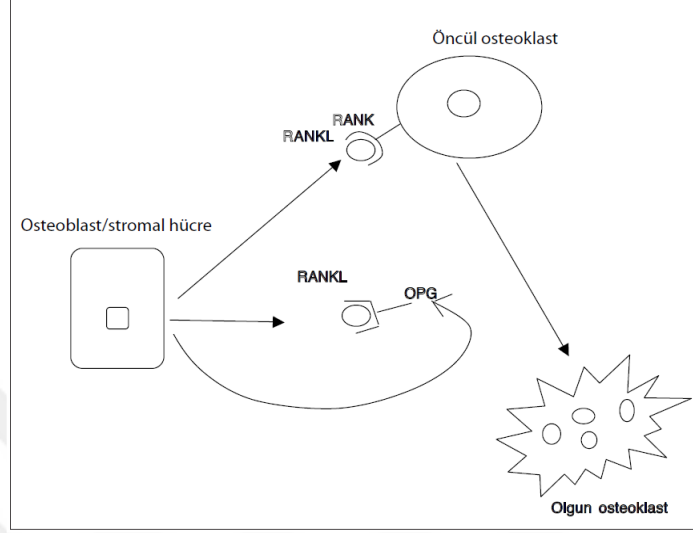
### 2.6.2. Nükleer Faktör Kappa B (RANK)

Hücre dışı kısmı 28 amino asitlik sinyal peptid olan RANK, 21 amino asitlik kısa transmembran ve geniş sitoplazmik kısımları ile toplam 616 amino asitten oluşan bir transmembran proteinidir<sup>107</sup>. Osteoklastojenez ve kalsiyum metabolizmasını kontrol eder. RANK, RANKL'ın preosteoklastlara bağlanmasını sağlayan tek reseptördür. RANKL / RANK sistemi, T lenfosit aracılı osteoklastogenezde osteoklast formasyonu için gereklidir ve proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler üretmek için OCP'leri uyarır<sup>108, 109</sup>. RANK, Makrofaj/monosit hücreleri, fibroblastlar, T ve B lenfositleri, dendritik hücreler ve öncül ile olgun osteoklastların yüzeyinde tanımlanmıştır<sup>84, 107, 110, 111</sup>. Bunlar RANKL ve OPG için başlıca hedef hücrelerdir<sup>2</sup>.

### 2.6.3. Osteoprotegerin (OPG)

OPG<sup>112, 113</sup> başlangıçta 401 aminoasit olarak sentezlenen bir polipeptiddir. OPG, tümör nekroz faktörü reseptörleri (TNFR) süper ailesinin bir üyesi olup TNFR süper ailesinin diğer reseptörlerinden farklı olarak transmembran ve sitoplazmik kısımlar içermez. OPG, RANKL'a bağlanabilen çözünebilir bir tuzak reseptörüdür ve OPG,

RANKL'ı bağlayarak RANKL'ın RANK'a bağlanmasını engeller<sup>114</sup>. Sonuç olarak osteoklast farklılaşması ve aktivasyonu inhibe olur böylece kemik rezorpsiyonu meydana gelemez<sup>104, 115-117, 105</sup> (Şekil 1.2).



**Şekil 1.2.** Öncül osteoklastın olgun osteoklasta farklılaşmasında RANKL,RANK ve OPG'nin rolü

Osteoklastlar, olgun B ve T hücrelerini oluşturmazlar ancak RANKL veya OPG üreterek dolaylı yoldan osteoklastogenezini etkilerler. RANKL ve OPG, osteoblastlar için nispeten spesifik kabul edilmiştir. RANKL ve OPG arasındaki denge osteoklast fonksiyonunu belirler. RANKL/OPG oranındaki değişiklikler, kemik hastalıklarının patogeneziinde önemlidir<sup>104,105,113</sup> ve bu oran osteoblastlar tarafından düzenlenen osteoklastogenezin başlıca belirleyicisidir<sup>118</sup>. OPG'nin kemik dokudaki biyolojik etkileri, RANK ve RANKL'ın etkisi ile terstir<sup>119</sup>.

OPG, hipokalsemik ve antiresorptif etkilidir, mezenşimal orjinli hücreler tarafından üretilir. OPG'ler, kardiyovasküler sistem, böbrek, dalak, beyin, karaciğer, akciğer ve kemik iliği gibi pek çok doku ile osteoblastlar, immün ve hematopoetik hücreler tarafından sentezlenir<sup>104, 116,111</sup>. Periodontal ligament hücreleri de OPG üretirler<sup>120, 121</sup>. Salgılanması birçok sitokin, peptid, hormon ve ilaç tarafından düzenlenir.



OPG'nin sentezini düzenleyenler; TGF- $\alpha$ (Transforme edici büyüme faktörü), TGF- $\beta$ , IL-18, kemik morfojenetik proteinleri ve 17 $\beta$ -östradiol'dir. OPG sentezini inhibe edenler ise; glukokortikoidler, siklosporin A, paratiroid hormon (PTH), prostaglandin E2 ve fibroblast büyüme faktörü-2'dir<sup>105, 115, 117, 122</sup>. İlave olarak IL-3 ve IFN- $\gamma$  gibi antiinflamatuvar mediatörler RANKL salınımını azaltarak veya OPG seviyesini arttırarak osteoklastogenezisi engellemektedir<sup>123</sup>.

OPG/RANKL oranını azaltıp kemik rezorpsiyonuna neden olan faktörler; glukokortikoidler, fibroblast büyüme faktörü-2, PTH (OPG sentezini inhibe eder ve RANKL sentezini arttırlar), IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-11, IL-17 ve TNF $\alpha$  gibi bazı sitokinler (RANKL sentezini artırır), prostaglandin E2, pek çok mezenkimal transkripsiyon faktörü (cbfa-1,PPAR-gamma) ve 1,25-dihidroksi vitamin D3'tür.

OPG/RANKL oranını arttırarak antirezorptif etki gösterenler; östrojen (osteoblastik hücrelerde OPG sentezini artırır ve RANKL sentezini inhibe eder) ve TGF- $\beta$  (OPG sentezini artırır)<sup>105, 117</sup>.

## **2.7. Cerrahi Olmayan Kök Kanal Yenileme Tedavisi**

Yetersiz yapılmış kanal tedavisi veya kanal tedavisi yapılmış dişlerin apikal veya koronal sızıntı nedeniyle yeniden enfekte olması nedeniyle dişlerin tekrar sağlıklı periapikal dokulara kavuşmalarını sağlamak için yapılan işlem, kök kanal yenileme tedavisi olarak adlandırılır<sup>124</sup>.

Endodontistlerin en iyi standartlarda yaptıkları kanal tedavilerinde bile başarısızlık tespit edilmiştir. Bu başarısız olguların büyük çoğunluğunun nedeni intra ve /veya ekstradiküler enfeksiyon varlığına bağlanırken, daha az oranda intrensek veya ekstrensek mikrobiyal olmayan faktörlere bağlı olduğu ileri sürülmüştür<sup>125</sup>. Pinheiro ve ark.<sup>126</sup> endodontik tedavinin başarısız olduğu olguların büyük çoğunluğunda %57.4 fakültatif anaerop ve %83.3 gram pozitif mikroorganizmaları izole etmişlerdir.

Enterococcus faecalis'in ise en sıklıkla izlenen mikroorganizma olduğunu belirtmişlerdir.

Kanal yenileme tedavisinin endikasyonu; ağrı, fistül oluşumu, şişlik, perküsyon duyarlılığı ve çiğneme rahatsızlığı gibi klinik bulguların dışında, büyümüş veya küçülme göstermeyen apikal lezyonlardır<sup>124</sup>. Kök kanalı tedavisi görmüş dişlerde hastalık bulguları ve/veya semptomların görülmesi, apikal periodontitis varlığı anlamına gelir. Bakteriler ve yan ürünlerinin apikal periodontitisin başlıca nedenlerinden biri olması nedeniyle optimal bir kök kanal dezenfeksiyon protokolünün araştırılmasına önem verilmektedir. Kök kanal tedavisi yapılmış apikal periodontitisli bir dişin kanal yenileme tedavisi sonrası prognozunun ilk defa tedavi yapılacak apikal periodontitisli bir diştten daha kötü olduğu ileri sürülmektedir<sup>127</sup>. Bu durum teknik komplikasyonlar, anatomik zorluklar, lokalize edilemeyen kanallar ile ilişkili olabilmektedir. Kötü prognozun diğer bir sebebi ise konvansiyonel tedavi işlemlerine daha dirençli bir mikrofloranın varlığıdır<sup>128</sup>. Kök kanal yenilemesi gerektiren dirençli apikal periodontitis vakalarında optimal bir kök kanalı dezenfeksiyon protokolünün araştırılmasına önem verilmektedir<sup>129, 130</sup>. Kemomekanik preparasyonun klinik uygulamada daha önemli olduğu düşünülse de kök kanal dezenfeksiyonunda kanal içi ilaç kullanımının gerekliliği de kanıtlanmıştır. Bu nedenle kanal içi ilaçların kullanımı önerilmiştir<sup>130, 131</sup>.

## **2.8. Kanal İçi İlaçlar**

Bakteriler, pulpa ve periapikal hastalıkların gelişiminde ve ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır<sup>132, 133</sup>. Kök kanalı sistemi içindeki enfeksiyonlar, genellikle periapikal radyolusensiler ve bazen radyografilerde radyoopasiteler olarak ortaya çıkmaktadır<sup>132, 134</sup>. Bakteriler, kanal dolumu yapılmış dişlerle ilişkili apikal periodontitis gelişiminde de önemli bir role sahiptir. Ancak çalışmalar, kanalı doldurulmuş dişlerle pulpası nekroz dişlerdeki mikrofloranın, farklı olduğunu göstermiştir<sup>128, 135</sup>.

Bakteriler; ana kanallar, aksesuar kanallar, dentin tübülleri, apikal deltalar, girintiler ve transvers anastomozlar gibi diğer bölgelerde bulunabilir<sup>136</sup>. Kanalın kendisi dışında, bu diğer tüm alanlara, mekanik enstrümantasyon prosedürleri ve tedavi sırasında kullanılan irrigasyon solüsyonları ile erişilemez. Kök kanalı sisteminin tamamından mümkün olduğu kadar çok bakterileri ortadan kaldırmak için, organik ve inorganik debris uzaklaştırmak, bakterileri yok etmek, smear tabakasını uzaklaştırmak ve dentin geçirgenliğini korumak için mekanik enstrümantasyon ve irrigasyon solüsyonlarının kombinasyonu kullanılır<sup>136</sup>. Bununla birlikte çeşitli çalışmalar göstermiştir ki, mekanik enstrümantasyonla yapılan antibakteriyel irrigasyon enfekte kök kanallarının yalnızca % 50-70'ini mikroorganizmalardan arındırabilir<sup>134, 137, 138</sup>. Bir başka çalışma da, kök kanalındaki bakterilerin tamamen ortadan kaldırılmasını sağlamak için öngörülebilir bir yol bulunmadığından, kullanılacak antimikrobiyal ajanın, kalan bakterileri yok etmek için belli bir süre kanal içinde bekletilmesi gerektiğini belirtmiştir<sup>139, 140</sup>. Bu nedenle, seans arası medikaman olarak kullanılan antimikrobiyal ajanlar, patojen bakterileri ortadan kaldırmak için dentin tübüllerine nüfuz edebilmelidir<sup>13</sup>. Medikamanlar, endodontik tedavinin öngörülebilirliğini ve prognozunu iyileştirmek için yardımcı olarak kullanılırlar.

Endodontik tedavide medikaman kullanımının amaçları<sup>136</sup>,

- Kök kanal sistemindeki kemomekanik preparasyon ile yok edilememiş bakterileri ortadan kaldırmak,
- Periradiküler iltihabı azaltmak ve böylece ağrıyı hafifletmek,
- Kanal içinde devamlı eksuda bulunan kanalı kuru hale getirmek,
- Var ise inflamatuvar kök rezorpsiyonunu durdurmak veya ilerlemesini önlemek

• Geçici restorasyon zarar görürse hem kimyasal hem de fiziksel bir bariyer gibi davranarak kök kanal sisteminin yeniden enfeksiyonunu önlemek.

Endodontide kanal içi medikamanların öneminden dolayı birçok ilacın kanal içi uygulanabilirliği araştırılmıştır. Endodontide kullanılan kanal içi ilaçlar;

- Fenolik preparatlar
- Formaldehit
- Halojenler
- Steroidler
- Kalsiyum hidroksit
- Üçlü antibiyotik patları (TAP)
- Biyoaktif camlar
- Klorheksidin

Kalsiyum hidroksit, antimikrobiyal ve biyolojik etkileri nedeniyle dişhekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır<sup>141</sup>.

## **2.9. Kalsiyum Hidroksit**

Endodontide kullanımı 1920'li yıllardan sonra yaygınlaşmıştır. Güncel endodontide kök kanallarının medikasyonunda tercih edilen bir materyaldir. Bunun sebebi, periradiküler dokularda iyileşmeyi olumlu etkilemesi ve yan etkilerinin az olmasıdır<sup>22</sup>.

### **2.9.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri**

Beyaz ve kokusuz bir tozudur. Molekül ağırlığı 74.08 'dir. Suda çözünürlüğü azdır. Klinik olarak, çözünürlüğünün düşük olması iyi bir özelliktir. Bu özelliği sayesinde canlı dokularda ve doku sıvılarında çözünmesi uzun zaman alır. pH değeri 12.5-12.8 olan bazik bir maddedir<sup>22</sup>.

### 2.9.2. Biyolojik Özellikleri

Suda çözünürlüğünün ve difüzyon özelliğinin az olması nedeni ile etkisi direkt temas ettiği alanla sınırlı kalır. Biyouyumludur, dentinojenik aktiviteyi stimüle eder. Alkalen fosfataz etkisiyle sert doku uyarıcı etkisi vardır<sup>22</sup>. Kanama durdurucudur. Kök rezorpsiyonunun onarımına yardımcı olur. Kalsiyum hidroksitin pH'ı oldukça yüksektir ve bu nedenle sitotoksitesi fazladır ve yapısındaki hidroksil iyonları sayesinde antibakteriyel etkinlik sağlar<sup>141</sup>. Antibakteriyel etkisi sınırlıdır ve endodontik mikrofloranın tümüne etkili değildir. Buna ek olarak kısa süreli kullanıldığında, kök kanal sistemindeki mikroorganizmalara etkili olmayabilir<sup>13</sup>. Kök kanallarında organik dokuları çözücü etkisi vardır. Hücre stimülasyonu ve mineralizasyonu uyarır, lipopolisakaritleri (LPS) inaktive eder ve periapikal bölgede doku onarımına yardımcı olur<sup>142</sup>.

### 2.9.3. Etki Mekanizması

Kalsiyum hidroksitin iyonlarına ayrışması kök kanal duvarlarından dentin tübülleri boyunca hidroksil ve kalsiyum iyon difüzyonunu sağlar<sup>143</sup>. Kalsiyum hidroksit, doku mineralizasyonunu<sup>144</sup> uyarak etki eder, biyolojik ve antiseptik etkileri alkalinite ve kalsiyum iyonu salınımına dayanır<sup>143</sup>. Kalsiyum hidroksitin yüksek pH'sı geri dönüşümsüz bir enzimatik reaksiyon vasıtasıyla mikrobiyal inhibisyonu uyarır<sup>13</sup>. Kalsiyum hidroksit kök kanallarındaki karbondioksiti absorbe eder böylece CO<sub>2</sub>'e bağlı bakteriler yok olur<sup>145</sup>. Kalsiyum iyonları fibronektin gen ekspresyonunu stimüle eden doku mineralizasyonu için önemli bir rol oynamaktadır<sup>145</sup>. Kalsiyum hidroksitin bir diğer önemli özelliği, gram negatif bakterilerin dış zarında bulunan bakteri lipopolisakaritlerinin inaktivasyonunu artırma kabiliyetidir<sup>146</sup>.

#### **2.9.4. Kök Kanallarına Uygulanışı**

Ca(OH)<sub>2</sub>'in kök kanalı içine çalışma boyunda, sıkı ve homojen bir şekilde uygulanması, materyalin maksimum etkinliğini sağlar. Medikamanın uygulanmasında lentülo veya kanal eğeleri kullanılabilir<sup>22</sup>.

#### **2.9.5. Patının Hazırlanışı**

Kalsiyum hidroksit intrakanal ilaç olarak kullanıldığında macun kıvamını sağlamak için bir taşıyıcı eklenir. Kalsiyum hidroksite katkı maddesi olarak farklı taşıyıcılar önerilmiştir<sup>147</sup>. Kalsiyum hidroksitin pat haline getirilme şekli maddenin fiziksel ve kimyasal özelliklerini, kök kanalına uygulanma şeklini ve antimikrobiyal özelliklerini etkiler. Karışım sıvı kıvamda hazırlanırsa, daha az kalsiyum hidroksit partikülü içerir. Bunun için tozun yeterli miktarda taşıyıcı ile karıştırılması ve uygun kıvamın elde edilmesi istenir<sup>22</sup>.

Endodontide kullanılan kalsiyum hidroksit patı; kalsiyum hidroksit tozu, radyoopasite sağlayan madde ve taşıyıcıdan oluşur. Pata ilave edilen taşıyıcı maddelerden beklenen özellikler<sup>148</sup>;

- Materyalin istenilen akıcılığını ve kıvamını sağlamalı
- Yüksek pH'ı korumalı
- Radyoopasiteyi arttırmalı
- Klinik kullanımı kolaylaştırmalı
- Kalsiyum hidroksitin özelliklerini değiştirmemeli

#### **2.9.6. Taşıyıcıları, Taşıyıcı Tipleri ve Önemi**

Kalsiyum hidroksitin biyolojik aktivitesi Ca<sup>+2</sup> ve OH<sup>-</sup> iyonlarının dağılımı ile olmaktadır. Kalsiyum hidroksit, farklı araçlarla karıştırıldığında, farklı miktarda kalsiyum ve hidroksil iyonlarını serbest bırakma potansiyeli göstermiştir<sup>149</sup>. Taşıyıcı bu süreçte

iyonik dağılımın yani çözünmenin miktarını belirler. Patın kök kanalları içinde ve periapikal dokularda farklı oranlarda çözülmesini ve rezorbe olmasını sağlar<sup>150</sup>.

İdeal bir taşıyıcıda olması gereken özellikler<sup>150</sup>:

1. Kademeli ve yavaş bir şekilde  $Ca^{+2}$  ve  $OH^{-}$  iyon salınımına izin vermelidir.
2. Dokuların ve doku sıvılarının içinde yavaş diffüze olmalıdır.
3. Sert doku oluşumu olumsuz etkilememelidir.

Taşıyıcının sağladığı iyonik serbestleşmenin miktarı, patın göstereceği antibakteriyel etki ile direkt bağlantılıdır<sup>151</sup>. Taşıyıcıların kendi viskoziteleri pattan iyon salınımına etki eder. İyonik ayrışma yoğunluk düştükçe artar. Solüsyonun akıcılığının fazla olması viskozitesinin düşük olduğunu ve partiküller arası etkileşimin az olduğunu göstermektedir<sup>152</sup>. Kısacası, hızlıca iyon salınımı istenilen vakalarda kalsiyum hidroksitin sulu bir taşıyıcı ile hazırlanması, daha yavaş iyon salınımı istenilen vakalarda ise viskoz bir taşıyıcı ile karıştırılması önerilir. Çok yavaş iyonik çözünme istenen vakalarda ise kalsiyum hidroksit yağlı bir taşıyıcı ile karıştırılır<sup>141</sup>. Patlar kullanılan taşıyıcının tipine göre sınıflandırılır. Genel olarak üç tip taşıyıcı kullanılır; Sulu, yağlı ve viskoz

#### **2.9.6.1. Sulu Taşıyıcılar (Aköz Tip Taşıyıcılar)**

Suda çözünen maddelerden oluşur. Bunlar; Su, serum fizyolojik, vazokonstriktörlü veya vazokonstriktörsüz anesteziik solüsyon, Ringer's solüsyonu, metilselülözün sulu süspansiyonu veya karboksi metilselülöz ve anyonik deterjan solüsyonudur<sup>150</sup>.

Kalsiyum hidroksit sulu bir taşıyıcıyla karıştırıldığında  $Ca^{+2}$  ve  $OH^{-}$  hızlı bir şekilde salınır. Bu tip bir taşıyıcı doku ve doku sıvıları ile direkt temas ettiğinde çözünürlüğü çok yükselir ve bu da hızlıca çözünmesini ve makrofajlar tarafından rezorbe edilmesini sağlar. Kök kanalı çok kısa bir sürede boş kalabilir ve bu yüzden iyileşme

süreci ertelenir<sup>141</sup>. Klinik açıdan istenen etkiyi sağlamak için seans sayısı arttırılarak kök kanallarına birkaç kez yeni kalsiyum hidroksit uygulanmalıdır.<sup>150</sup>

### **2.9.6.2. Yağlı Taşıyıcılar**

Yağlı taşıyıcılar suda çözünmeyen ve çözünürlükleri az olan materyallerdir. Bu tip taşıyıcıların dokulara yayılma miktarı azdır. Kök kanalında en uzun süre bu tip taşıyıcı ile karıştırılan patlar kalır. Yağlı taşıyıcılardan bazıları; zeytinyağı, silikon yağı, kafur, metilkresilasetat, oleik, linoleik ve isosteraik asit gibi bazı yağ asitleridir<sup>153</sup>.

### **2.9.6.3. Viskoz Taşıyıcılar**

Viskoz taşıyıcılar,  $Ca^{+2}$  ve  $OH^{-}$  iyonlarının daha yavaş ve uzun sürede çözünmesini sağlarlar. Moleküler ağırlıkları daha fazla olduğu için, sulu taşıyıcılar ile karşılaştırıldığında daha az çözünürler<sup>141</sup>.

Molekül ağırlıkları arttıkça kalsiyum hidroksit dokulara daha az diffüze olur ve istenen bölgede daha uzun süre kalır.  $Ca^{+2}$  ve  $OH^{-}$  iyonları düşük yoğunlukta salınır ve bu durum patın etkinliğini arttırır. Viskoz taşıyıcılı patlar kanalda 2-4 ay gibi bir süre kalabildiği için yeniden kalsiyum hidroksit uygulama seansları belirgin oranda azalır. Visköz taşıyıcıların bazıları: Gliserin, polietilenglikol ve propilen glikoldür<sup>150</sup>.

## **2.10. Propilen Glikol**

Propilen glikol berrak, renksiz, kokusuz bir sıvıdır. Az miktarda tadı vardır. Propilen glikol (1,2-propandiol), kimyasal olarak dihidrik alkoldür, hidroskopiktir ve nontoksiktir<sup>154, 155</sup>. Su, aseton ve alkolle karıştırılabilir. Molekül ağırlığı 76.09'dur. Olitzky ve ark.<sup>156</sup>, konsantre propilen glikol çözeltisinin belirgin antiseptik etkinlik gösterdiğini belirtmiştir. Bu nedenle, mikrobiyal enfeksiyonları önleme ve tedavi etme potansiyeline sahiptir. Thomas ve ark.<sup>157</sup> intrakanal ilaçlar için yaygın olarak kullanılan diğer taşıyıcılara kıyasla propilen glikolün daha az sitotoksik olduğunu ve endodontik tedavide oldukça etkin antibakteriyel özelliklere sahip olduğunu belirtmiştir. Fava ve



Saunders ve ark.<sup>141</sup> propilen glikolün su absorpsiyonuna izin veren higroskopik özelliklere sahip olduğunu belirtmiştir. Bu özelliği sayesinde kalsiyum hidroksitin uzun süreli ve sürekli olarak salınımını sağlar.

### **2.11. Kalsiyum Hidroksite İlave Edilen Farklı Ajanlar**

Antimikrobiyal ajanların farklı taşıyıcılar ile kombinasyonu, etki spektrumunu arttırmak ve inatçı enfeksiyonla mücadele etmek amacıyla önerilmiştir. Kök kanal yenilemesi gerektiren dirençli apikal periodontitis vakalarında *Enterococcus faecalis* kanal içinden izole edilmiştir<sup>128,135</sup>. *E.faecalis*'in endodontik floradaki diğer mikroorganizmalarına göre lokal olarak kullanılan dezenfeksiyon ajanlarına (örneğin kalsiyum hidroksit) daha dirençli olduğu tespit edilmiştir<sup>158</sup>. Bu nedenle, kalsiyum hidroksitin diğer antiseptik ajanlarla birleşmesi, endodontik enfeksiyona neden olan mikroorganizmaların kanal içinden uzaklaştırılması için önerilmiştir. Freitas RP ve ark.<sup>10</sup> yaptıkları bir in vitro çalışmada, NSAİ'lerin veya antibiyotiklerin kalsiyum hidroksit ile kombinasyonunun, patin pH'ını değiştirmedeği ve bu kombinasyonun *E. faecalis* biyofilmine karşı antimikrobiyal etkiyi arttırdığı sonucuna varılmıştır.

Antibiyotikler, endodontik tedaviye yardımcı olarak lokal (yani intrakanal), sistemik ve profilaktik olarak kullanılabilir<sup>159</sup>. Kök kanal sisteminde, kanal içi mekanik temizleme ve irigasyon işlemlerinde erişilemeyen alanlarda bakteri kalıntıları bulunabilir. Dolayısıyla, intrakanal ilaç içerisinde bulunan bir antibiyotik, yaşayan bakteri sayısını azaltmak için bu alanlara yayılabilir olmalıdır. Yaşayan bakteri sayısında azalma sağlanırsa periapikal alanda iyileşme yanıtı beklenebilir<sup>159</sup>.

Endodontik tedavide ilk kullanılan lokal antibiyotik, 1951'de Grossman'ın kullanıdığı poliantibiyotik patı(PBSC)'dir<sup>160</sup>. Kök kanal enfeksiyonlarının karmaşıklığı nedeniyle, tek bir antibiyotiğin tüm kanalların etkin ve öngörülebilir dezenfeksiyonuyla sonuçlanmasına imkan yoktur. Kanal içi bakteriyal florayı elimine etmek için antibiyotik

kombinasyonuna ihtiyaç duyulmaktadır. En sık kullanılan ilaç üçlü antibiyotik patı (TAP) olarak adlandırılan metronidazol, siprofloksasin, minosiklinden oluşan antibiyotik kombinasyonudur ve bu formülasyon ilk olarak Sato ve ark.<sup>161</sup> tarafından kullanılmıştır.

Antibiyotik kombinasyonlarının, dirençli bakteri suşlarının gelişme olasılığını düşürdüğüne dair çalışmalar vardır<sup>162</sup>. Hoshino ve ark<sup>17</sup> in vitro olarak yaptıkları çalışmada siprofloksasin, metronidazol ve minosiklin kombinasyonunun, her biri 25µg/mL (yüzde 0.0025) konsantrasyonda kullanıldığında enfekte kök dentinini dezenfekte edebilmiştir. Sato ve ark.<sup>161</sup> ise her antibiyotikten 50µg/mL (% 0.005) kullandığında bu kombinasyonun enfekte kök dentinini (in situ ) dezenfekte etmeye yeterli olduğunu bulmuşlardır. Madhubala ve ark.<sup>163</sup> Enterococcus faecalis ile enfekte kök kanallarında intrakanal medikaman olarak kalsiyum hidroksit, üçlü antibiyotik patı ve propolis kullanmış, grupların antimikrobiyal aktivitesi, koloni sayımındaki yüzdesel azalma miktarına bakılarak değerlendirilmiştir. TAP grubunda 1., 2. ve 3. günlerde sırasıyla % 82.5, % 92.2 ve % 98.4'lük azalma meydana gelmişken, kalsiyum hidroksit grubunda en fazla 7. günde % 59.4 oranında antibakteriyel aktivitede artış görülmüştür. Shrivastava ve ark<sup>18</sup> yaptıkları in vitro çalışmada Ca(OH)<sub>2</sub> ve Ca(OH)<sub>2</sub> ile kombine siprofloksasin ve moksifloksasinin E.faecalis üzerine etkinliği incelenmiş. Ca(OH)<sub>2</sub> ile kombine moksifloksasin ve siprofloksasinin E.faecalis'e karşı sinerjistik etki yarattığını ve biyofilmdeki canlı bakterilerin yüzdesini önemli derecede azalttığını bildirmiştir.

Siprofloksasin, hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilerde etkili olan hızlı bakterisidal etki gösteren sentetik florokinolondur. Özellikle enterobacteriaceae türleri fluorokinolonlara çok duyarlıdır. Gram negatif bakterilere karşı çok güçlü bir etki gösterir. Etki mekanizması, bakteri sitoplazmasında DNA giraz enzimini inhibe ederek bakteriyal DNA'nın replikasyonunu bozarlar. Bunun sonucunda bakteri kromozomlarında DNA'nın bakteri hücresi içine yerleşmesini sağlayan negatif süper

sarmal oluşturma işlemi engellenir. Bu yzden bakteri blnemez ve anormal Şekilde uzayarak olr<sup>15</sup>.

Siprofloksasinler, nekrotik, olgunlařmamıř daimi diřlerin rejeneratif tedavisinde dezenfeksiyon ařamasında DAP(ikili antibiyotik patı) ve TAP'ın ićerięindeki bir antibiyotik olarak yaygın Őekilde kullanılır<sup>17, 161</sup>. Albuquerque ve ark.<sup>164</sup>, siprofloksasin ićeren polimer esaslı iskelelerin (scaffold) Enterococcus faecalis biyofilmlerine karřı etkinlięini in vitro olarak deęerlendirmiř, aęırlıkća % 25 siprofloksasin ićeren iskelelerin, maksimum bakteri eliminasyonunu saęladığını gstermiřtir.

Non-steroid anti-inflamatuar ilaćlar (NSAI'ler) dnya ćapında en sık kullanılan ilaćlardır<sup>165</sup>. Bu ilaćlar travma, kırık ve osteoartrit sonrası analjezi ićin rećete edilir<sup>166, 167</sup>. Non-steroidal anti-inflamatuar ilaćlar, analjezik (aęrı kesici), antipiretik (ateř dūřrücü) ve anti-inflamatuar (inflamasyonu azaltıcı) ilaćlardır. ćoęu organik asit yapısında ve yapısal olarak genellikle heterojendirler. Bu ilać grubu benzer terapötik etki ve yan etki gsterir. Asetilsalisilik asid (Aspirin) bu grubun prototip ilacıdır. "Non-steroidal" terimi bu ilaćları benzer etkileri olan steroidlerden ayırmak ićin kullanılır<sup>168</sup>. Anti-inflamatuar etkinlięi, en gçlü anti-inflamatuar ilaćlar olan glukokortikoidlere göre zayıftır. Analjezik etkinlikleri de gçlü analjezikler olan, fakat anti-inflamatuar etkisi bulunmayan narkotik analjeziklerinkine göre genellikle zayıftır. NSAI'lerin en ćok kullanılan ilać gruplarından olmasını saęlayan özelliklerinin bařında baęımlılık, sedasyon veya solunum depresyonu yapmaması ve glukokortikoidler kadar yan etkiye sahip olmamasıdır<sup>169</sup>. NSAI'ler, endodontide řiřlik, preoperatif aęrı ve postoperatif aęrı yönetimi ićin yaygın olarak kullanılmasına raęmen<sup>170</sup>, kanal ići kullanımına yönelik ćok az ćalıřma vardır. Son birkaç ćalıřma<sup>19, 171, 172</sup>, steroidal olmayan antiinflamatuvar ilaćların antimikrobiyal aktiviteye sahip olduęunu gstermiřtir. Bařka bir ćalıřma da, bu antimikrobiyal etkinin dięer ilaćlarla kombine kullanıldığında arttığını raporlamıřtır<sup>173</sup>.

Sodyum diklofenak, ibuprofen, amoksisilin ve gentamisinin *E. faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkinliği, radyal difüzyon deneyiyle analiz edilmiş ve kalsiyum hidroksit patının sağladığı sonuçlar ile karşılaştırılmıştır. NSAI veya antibiyotiklerin kalsiyum hidroksitle birleşiminin, kalsiyum hidroksit patının pH'ında değişime sebep olmadan, *Enterococcus faecalis* biyofilm oluşumuna karşı kalsiyum hidroksit patının antimikrobiyal etkisini arttırdığını bildirmişlerdir<sup>19</sup>. *E. Faecalis*'e ek olarak *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Mycobacterium tuberculosis* gibi diğer mikroorganizmalar NSAI'lere karşı duyarlılık göstermiştir<sup>173</sup>.

İbuprofen, tedavide ilk tercih edilen propiyonik asit türevlerindedir. Nonselektif siklooksijenaz inhibitörü olarak hem COX-1 hem de COX-2 enzimini eşit güçte inhibe eder. Antiinflamatuvar etkisi aspirine eşit, analjezik etkisi ise aspirinden ve asetaminofenden fazladır. Asetaminofenden güçlü piretik etki gösterir. İbuprofen trombositlerdeki siklooksijenazı geri dönüşümlü olarak inhibe ederek trombositik etkinlik gösterir ve kanama zamanını uzatır. Ancak bu etkisi geri dönüşümsüz inhibisyona neden olan aspirinden daha kısa sürelidir<sup>15</sup>.

Kalsiyum hidroksite ilave edilmiş kanal içi ilaç kombinasyonlarının periapikal lezyonlardaki RANKL/OPG seviyesi üzerine etkisini araştıran herhangi bir çalışma mevcut değildir. Bu tez çalışması ile, kalsiyum hidroksite ilave edilen farklı ilaçların, periapikal lezyonlardaki RANKL/OPG seviyesinde yarattığı değişimi incelemeyi amaçlamaktadır. değişim üzerine etkisini araştırmaktadır. Bu çalışmada, "kanal içi ilaç olarak kullanılan  $Ca(OH)_2$ ,  $Ca(OH)_2$ +İbuprofen ve  $Ca(OH)_2$  +Siprofloksasin patlarının periapikal lezyonlardaki RANKL/OPG seviyesi üzerine herhangi bir etkisi yoktur." sıfır hipotezi test edilmiştir.

## 3.MATERYAL VE METOT

### 3.1. Hasta Seçimi

Atatürk Üniversitesi, Diş hekimliği fakültesi, Endodonti kliniğine başvuran 66 gönüllü hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmanın etik kurul belgesi Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Etik Kurulu tarafından 12.04.2018 tarihinde alındı .(Karar no:39)

#### 3.1.1. Dahil Edilme Kriterleri

1. Hastaların 16-65 yaş aralığında olması
2. Kronik apikal periodontitisli kök kanal tedavisi görmüş üst veya alt çenedeki kesici veya küçük azı dişler
3. Periapikal değerlendirme (PAI) 2 veya üzeri olması
4. ASA I olan hastalar
5. VAS değeri 50'den küçük olan hastalar

#### 3.1.2. Dahil Edilmeme Kriterleri

1. Çok köklü dişler
2. ASA II veya üzeri olan hastalar,
3. Hamile kadınlar veya hamilelik şüphesi olanlar,
4. Schilder 25°'den büyük kanal kurvatürü varlığı,
5. Generalize periodontitis varlığı olan hastalar,
6. İlgili dişte 3mm'den fazla periodontal cep varlığı bulunan hastalar,
7. Son 24 saat içinde NSAİ ilaç kullanmış hastalar
8. Son 3 ay içinde antibiyotik kullanmış hastalar
9. Şişlik ve palpasyon ağrısı görülen dişler

### 3.2. Tedavi Protokolü

Çalışmaya dahil edilen her hastaya çalışma ile ilgili bilgi verildikten sonra bilgilendirilmiş onam formu okutuldu ve hazırlanmış form imzalatıldı. Hastalar internet sitesindeki randomizasyon programı(www.randomizer.org) kullanılarak 3 gruba ayrıldı. Hasta numarası ve grup numarası kaydedildi.

Dahil edilme kriterlerine uyan hastalara, 1:100.000 epinefrin içeren 2ml artikain HCl (Ultracain DS Forte; Pharma Vision San. Ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) kullanılarak anestezi uygulandı. Dişler rubber dam ile izole edildikten sonra kuronları ve çevreleyen yapıları 30 saniye süreyle %30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile dezenfekte edildi ve aynı süre boyunca %2.5 NaOCl uygulandı ardından %5 sodyum tiyosülfat ile NaOCl inaktive edildi<sup>129</sup>. Rubber dam izolasyonu altında giriş kavitesi açıldı ve dezenfeksiyon işlemi tekrarlandı. Koronaldeki guta perka gates glidden frezleri kullanılarak uzaklaştırıldı. Daha sonra 15 K eğe (Mani Inc.;Utsunomiya, Tochigi, Japonya) kullanılarak elektronik apeks bulucu (Raypex 6, VDW GmbH, Bayerwaldstr, Münih, Almanya) ile çalışma boyu tespit edildi ve çalışma boyu radyografi alınarak doğrulandı. R25 eğesi ile kök kanalı çalışma boyunda şekillendirildi. R25, R40 ve takiben R50 (VDW, Münih, Almanya) resiproç eğeleri ile şekillendirme bitirildi. Radyografik olarak gutta perka varlığı tespit edilmişse ileri preparasyon yapıldı. Her eğe kullanımından sonra kök kanalları 2ml %1'lik NaOCl ile yıkandı. Örnek alınmadan önce sırasıyla 5'er ml %1'lik NaOCl-%0.5 Sodyum tiyosülfat –distile su ile yıkandı. Örnek alma işlemi için; 20 numaralı kağıt konlar apikal foramenden 1 mm çıkacak şekilde kök kanalına yerleştirildi ve bu alanda 1 dakika bekletildi. Daha sonra 3 adet kağıt konla işlem tekrarlandı. Kağıt konlar uç kısmından 4 mm olacak şekilde kesildi ve örnekler içinde tamponlanmış fosfat solüsyonu (PBS) bulunan eppendorf tüplerde -80 °C'de muhafaza edildi<sup>174</sup>. Ardından sırasıyla 5'er ml

%17'lik EDTA(Endo-SOLution, Cerkamed, Wojciech, Polonya) -serum fizyolojik kullanılarak kök kanallarının son yıkama işlemi yapıldı.

Kullanılan kanal içi ilaca göre 3 grup planlandı, gruplar aşağıdaki gibidir:

**1.grup; Ca(OH)<sub>2</sub>:** Tedavi protokolü uygulandıktan sonra Ca(OH)<sub>2</sub> (Kalsin, Aktuğ, Bornova, İzmir) tozu ve propilen glikol ile hazırlanan pat, kanal eğesi kullanılarak çalışma boyundan 1 mm kısa olacak şekilde kanal içine yerleştirildi.

**2.grup; Ca(OH)<sub>2</sub> + ibuprofen:** Tedavi protokolü uygulandıktan sonra kalsiyum hidroksit tozuna ağırlıkça +%5 oranında ibuprofen (Brufen tablet; Abbott, Latina, İtalya) ilave edilerek hazırlanan toz, propilen glikol ile karıştırılıp kanal eğesi yardımıyla çalışma boyundan 1 mm kısa olacak şekilde kanal içine yerleştirildi.

**3.grup; Ca(OH)<sub>2</sub> + siprofloksasin:** Tedavi protokolü uygulandıktan sonra kalsiyum hidroksit tozuna ağırlıkça +%5 oranında siprofloksasin (Cipro tablet, Sancaktepe, İstanbul) ilave edilerek hazırlanan toz, propilen glikol ile karıştırılıp kanal eğesi yardımıyla çalışma boyundan 1 mm kısa olacak şekilde kanal içine yerleştirildi.

Dişler, teflon üzerine cavit (ESPE, Seefeld, Germany) yerleştirilerek geçici olarak kapatıldı. Radyografi alınarak kanal içine yerleştirilen Ca(OH)<sub>2</sub>'in varlığı doğrulandı. Hastalara 1 hafta sonrasına ikinci seans için randevu verildi. İkinci seansta dişlerin kuronları daha önce tarif edildiği gibi dezenfeksiyon protokolü uygulanarak rubber dam izolasyonu altında aseptik olarak açıldı. Kanal içi ilaç, 5ml serum fizyolojik ile irrigate edildikten sonra master apikal eğe ile mekanik olarak uzaklaştırıldı. Ardından kök kanalları 5ml %17 EDTA ile dolduruldu ve endoaktivatör ile solüsyon aktive edildi. Son olarak kanallar 5 ml serum fizyolojik solüsyonu kullanılarak tekrar irrigate edildi. Kanalların kurutulduktan sonra ikinci örnek alımı daha önce bahsedildiği şekilde yapıldı. Örnek alımının ardından kök kanalları guta perka konlar ve kanal patı (Sealapex, Sybron

Kerr, WA) kullanılarak soğuk lateral kondensasyon tekniğiyle dolduruldu. Daimi restorasyon, akıcı kompozit rezin ve kompozit rezin dolgu materyalleri(3M Espe, Kerr, USA) kullanılarak aynı seansta bitirildi.

### **3.3. RANKL ve OPG ELISA Test Analizi**

Apikal dokuların interstisyel sıvısından alınan örneklerdeki RANKL ve OPG düzeyleri, RANKL ve OPG kitleri (Elabscience Biotechnology Co. Ltd, Wuhan, China) kullanılarak ELISA testi ile ölçüldü. Ependorf tüplerde toplanan örnekler vortekslendi. Ardından tüpler santrifüj cihazına yerleştirildi ve paper pointlerin dipte toplanması sağlandı. 100 mikrolitre RANKL içeren standartlar ve ependorf tüplerinin içindeki örnekler, RANKL monoklonal antikoru ile daha önceden kaplanmış olan plate yuvalarına eklendi. 37° C de 90 dakika inkübe edildikten sonra sıvı uzaklaştırıldı ve 100 mikrolitre biyotinle etiketlenmiş antikorlar plate yuvalarına yerleştirildi. Plate 37°C’de 60 dakika inkübe edildikten sonra aspire edilip yıkandı ve antikorların immün kompleks oluşturması için 100 mikrolitre HRP konjugat ile birleştirildi. Bu karışım 37° C de 30 dakika inkübe edildikten sonra immün kompleks oluşturmayan enzimi uzaklaştırmak için plate yuvaları 5 kez aspire edilip yıkandı. Ardından 90 mikrolitre substrate reaktifi plate yuvalarına eklendi ve 37° C de 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 50 mikrolitre durdurucu solüsyon plate yuvalarına eklendi ve mevcut mavi renk, sarıya döndükten sonra RANKL seviyesi 450 nm’de ELISA okuyucuda değerlendirildi.

OPG monoklonal antikoru daha önceden kaplanmış olan plate yuvalarına 100 mikrolitre OPG içeren standartlar ve ependorf tüplerinin içindeki örnekler eklendi. 37° C de 90 dakika inkübe edildikten sonra sıvı uzaklaştırıldı ve 100 mikrolitre biyotinle etiketlenmiş antikorlar plate yuvalarına yerleştirildi. Plate 37°C’de 60 dakika inkübe edildikten sonra aspire edilip yıkandı ve antikorların immün kompleks oluşturması için 100 mikrolitre HRP konjugat ile birleştirildi. Bu karışım 37° C de 30 dakika inkübe



edildikten sonra immün kompleks oluşturmeyen enzimi uzaklaştırmak için plate yuvaları 5 kez aspire edilip yıkandı. Ardından 90 mikrolitre substrate reaktifi plate yuvalarına eklendi ve 37° C de 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 50 mikrolitre durdurucu solüsyon plate yuvalarına eklendive mevcut mavi renk, sarıya döndükten sonra OPG seviyesi 450 nm’de ELISA okuyucuda değerlendirildi.

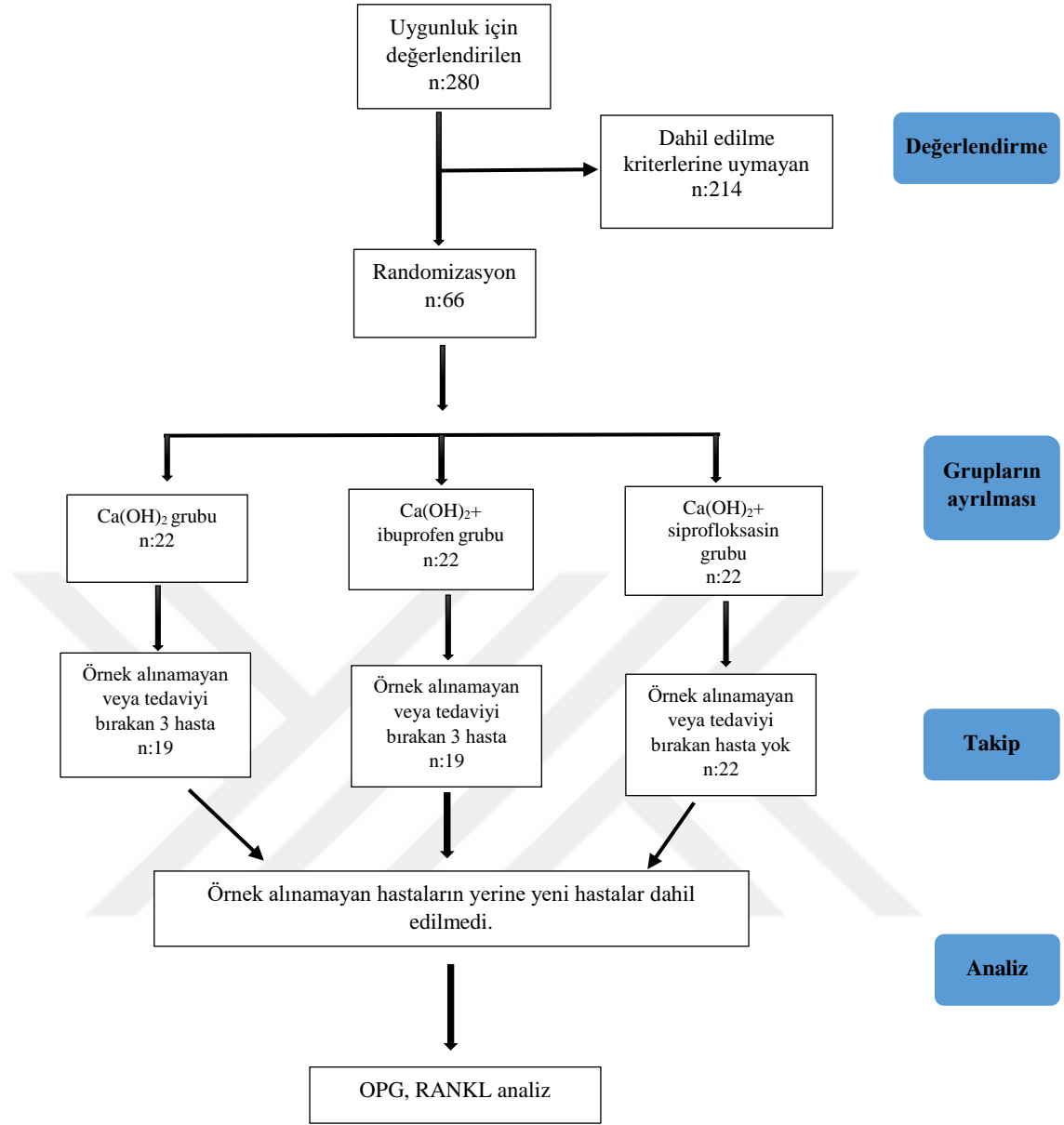
### **3.4. İstatistiksel Analiz**

Çalışmadan elde edilen verilerin analizi için, IBM SPSS Statistics 20 (USA) yazılımı kullanıldı. Tedavi öncesi ve sonrası RANKL/OPG seviyeleri arasındaki yüzdelik değişim üzerine en etkili faktörü (tedavi grubu, cinsiyet, diş numarası, yaş) belirlemek için lineer regresyon analizi uygulandı. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası RANKL/OPG seviyelerinin karşılaştırılması için, veriler normal dağılım göstermediğinden Wilcoxon testi kullanıldı. Gruplar arası RANKL/OPG seviyelerinin yüzdelik değişimlerinin karşılaştırılması için Kruskal Wallis testi kullanıldı. Yaş verilerinin istatistiksel analizi için Kruskal Wallis testi kullanılarak değerlendirildi. Diş numarası ve cinsiyetin gruplara dağılım verileri ki-kare testi kullanılarak değerlendirildi. Testler %95 güven aralığında değerlendirildi (P=0.05).

## 4. BULGULAR

Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı kliniğine başvuran 280 hasta değerlendirildi. 280 hastanın 214'ü çalışmamızın dahil edilme kriterlerine uymadığı için çalışma dışında bırakıldı. Dahil edilme kriterlerine uyan 66 hasta çalışmaya dahil edildi.

Hastalar bir bilgisayar programı yardımı ile ([www.randomizer.org](http://www.randomizer.org)) her grupta 22 hasta olacak şekilde rastgele gruplara dağıtıldı(n=22). Ancak Ca(OH)<sub>2</sub> grubunda 2 hastadan örnek alınamadı ve 1 hasta 2. seansa gelmedi. Ca(OH)<sub>2</sub>+ %5 ibuprofen grubunda 1 hastadan örnek alınamadı ve 2 hasta da tedaviyi yarım bıraktı. Ca(OH)<sub>2</sub>+%5 siprofloksasin grubunda hasta kaybı olmadı. Bu hastaların yerine çalışmaya başka hastalar dahil edilmedi. Çalışmamızda yer alan katılımcıların çalışmaya dahil olma süreci ile ilgili detaylar Şekil 4.1'de görülmektedir.



**Şekil 4. 1.** Çalışmada yer alan katılımcıların çalışma sürecine dahil olma diyagramı

Çalışmamızda değerlendirilen hastaların cinsiyet, yaş ve diş numarası bakımından gruplara dağılımı Tablo 4.1 görülmektedir. Cinsiyet, yaş ve diş numaralarının dağılımı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı belirlendi ( $P>0.05$ ).

**Tablo 4.1.** Gruplara göre cinsiyet dağılımı, yaş ortalaması ve diş numarasının dağılımı

Parametreler	RANKL/OPG			P değeri	
	Ca(OH) <sub>2</sub>	Ca(OH) <sub>2</sub> + %5 İbuprofen	Ca(OH) <sub>2</sub> + %5 Siprofloksasin		
Cinsiyet	Kadın	9	10	15	0,371
	Erkek	10	9	7	
Yaş ortalaması		27,74±2,312	25,32±2,321	28,68±1,920	0,190
Diş numarası					0,310
	11	1	3	1	
	12	2	3	3	
	13	0	1	1	
	14	0	1	1	
	15	2	2	3	
	21	3	2	2	
	22	1	0	2	
	23	0	1	0	
	24	2	2	1	
	25	3	1	0	
	31	1	1	0	
	32	1	0	0	
	33	0	0	1	
	34	2	0	0	
	35	0	0	3	
	41	0	0	1	
	42	0	0	1	
	43	0	1	1	
	44	0	0	1	
	45	1	1	0	

Yapılan regresyon analizi bulgularına göre, tedavi öncesi ve sonrası RANKL/OPG oranlarındaki yüzdelerik değişimi ile tedavi grubu, yaş, diş numarası ve cinsiyet dağılımı arasında ilişki sırasıyla Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre, tedavi öncesi ve sonrası RANKL/OPG seviyelerindeki yüzdelerik değişim tedavi gruplarından, yaş, diş numarası ve cinsiyetten etkilenmemiştir( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.2.** Lojistik regresyon modeli bulguları

	<b>B*</b>	<b>Standart hata</b>	<b>Beta</b>	<b>P değeri</b>
<b>Grup</b>	45,679	48,460	0,124	0,350
<b>Yaş</b>	5,248	48,460	0,166	0,231
<b>Cinsiyet</b>	88,485	83,580	0,145	0,294
<b>Diş no</b>	4,505	4,246	0,140	0,293

\*Katsayı her etkenin modeldeki matematiksel ağırlığını ifade etmektedir. Katsayıların başlarındaki işaretler etkinin yönünü belirlemektedir. Pozitif işaret hata riskinin arttığını; negatif işaret ise azaldığını ifade etmektedir.

#### **4.1. Biyokimyasal Bulgular**

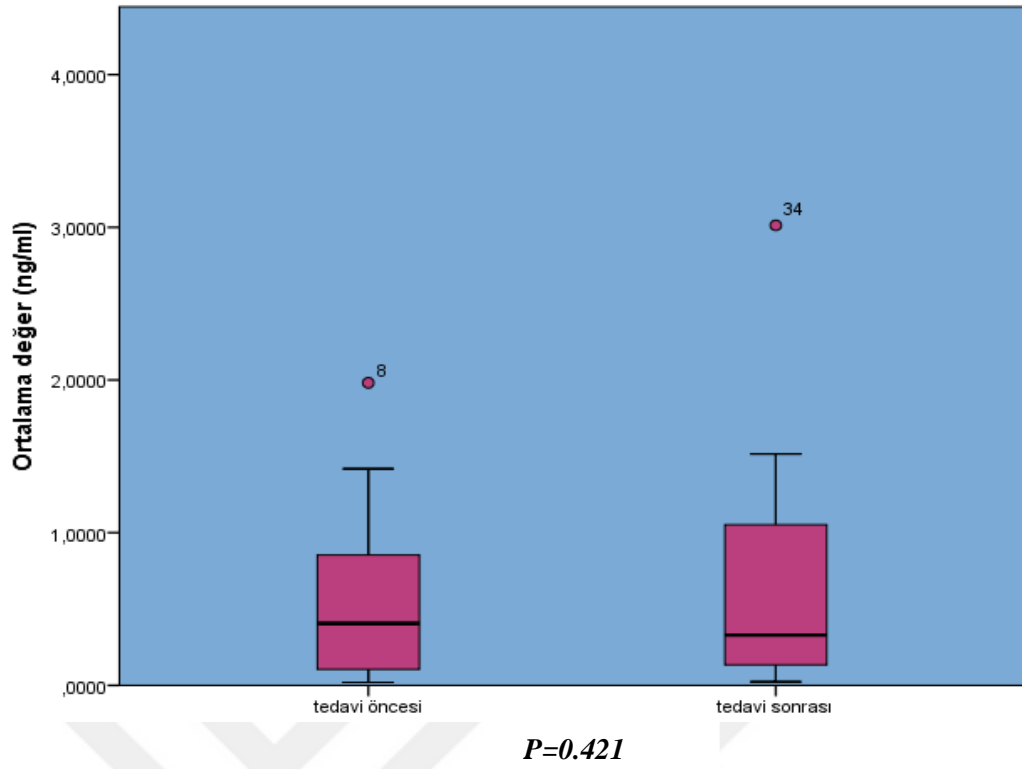
Ca(OH)<sub>2</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub>+%5 İbuprofen ve Ca(OH)<sub>2</sub>+%5 Siprofloksasin gruplarındaki tedavi öncesi ve sonrası RANKL/OPG seviyeleri ile yüzdesel değişimi Tablo 4.3’te gösterildi.

**Tablo 4.3.** Tedavi önce ve sonrası RANKL/OPG seviyeleri ile RANKL/OPG'nin yüzdesel değişiminin ortalama ve standart sapma değerleri.

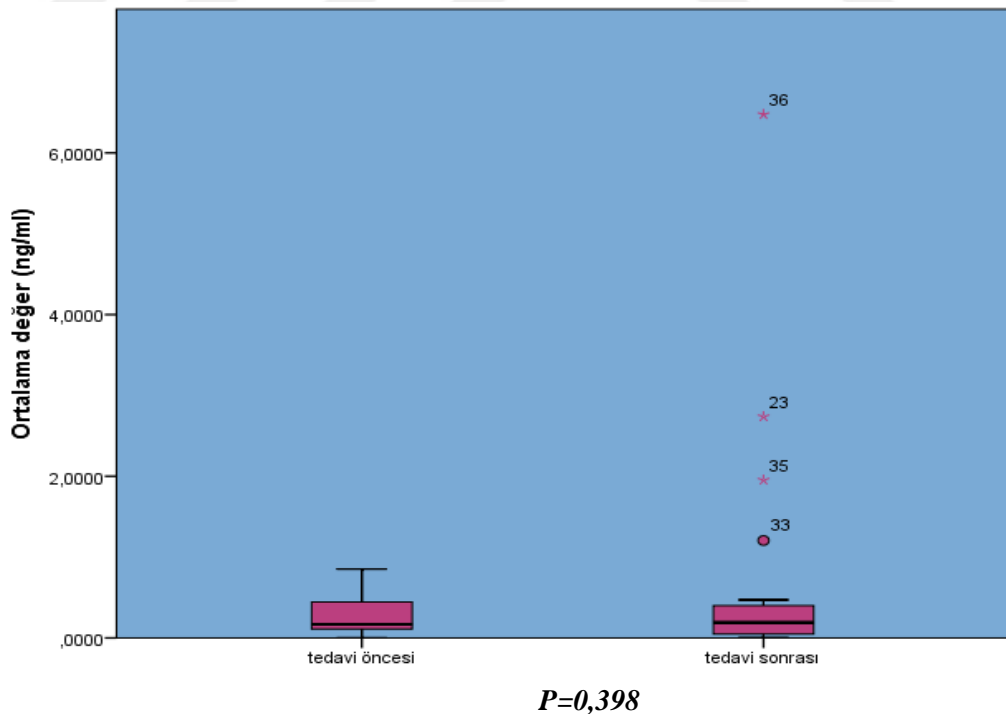
Grup	Ca(OH) <sub>2</sub>		Ca(OH) <sub>2</sub> + %5 ibuprofen		Ca(OH) <sub>2</sub> + %5 Siprofloksasin	
	Ortalama değer	Standart sapma değeri	Ortalama değer	Standart sapma değeri	Ortalama değer	Standart sapma değeri
Tedavi öncesi RANKL /OPG	0.5520 <sup>A</sup>	0.1299	0.2890 <sup>B</sup>	0.5787	0.2923 <sup>C</sup>	0.0632
Tedavi sonrası RANKL /OPG	0.6729 <sup>A</sup>	0.1765	0.7752 <sup>B</sup>	0.3585	0.3262 <sup>C</sup>	0.0778
RANKL /OPG'nin yüzde değişimi	-179.11	83.757	-185.27	76.400	-106.87	47.448

Aynı sütundaki aynı harfler istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmadığını göstermektedir (p>0.05).

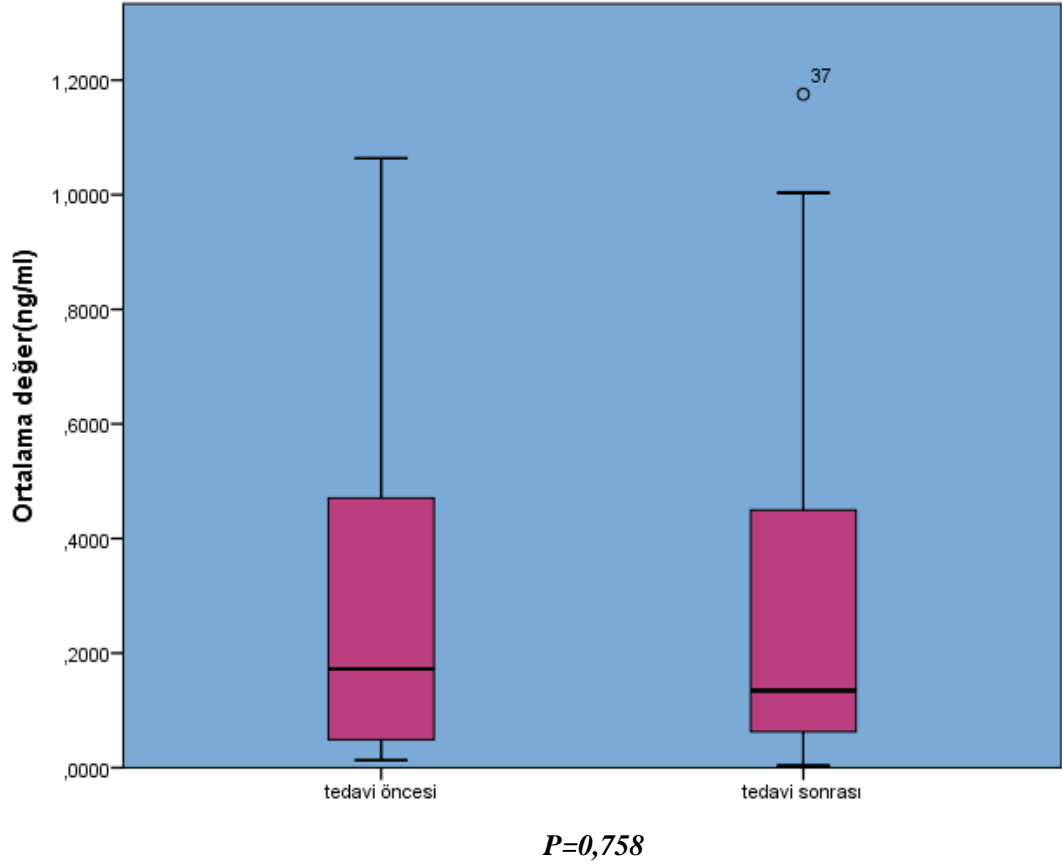
Her grup için tedavi öncesi ve sonrası RANKL/OPG oranları kendi içerisinde karşılaştırıldı. Bu sonuçlara göre hiçbir grupta tedavi öncesi ve sonrası RANKL/OPG oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu(p>0.05)(Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4)



Şekil 4.2. Ca(OH)<sub>2</sub> grubu tedavi öncesi ve sonrası RANKL/OPG ortalama değerleri.



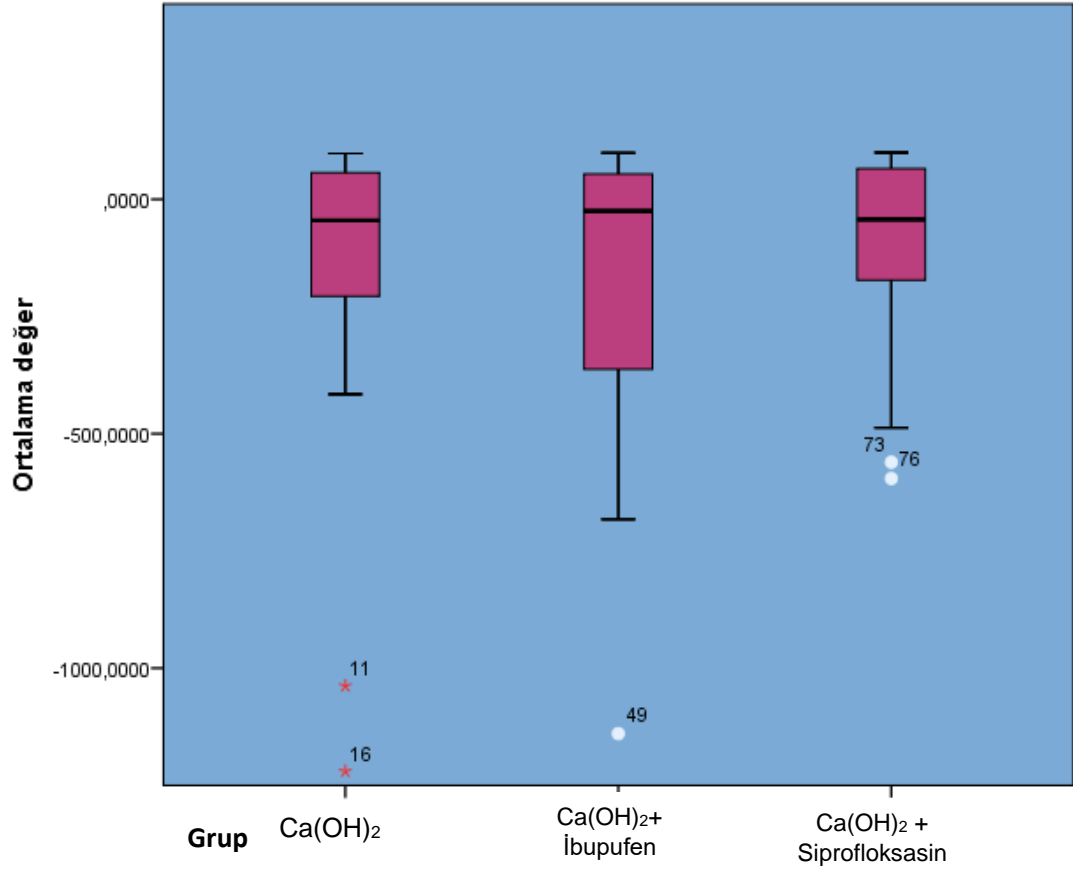
Şekil 4.3. Ca(OH)<sub>2</sub> + İbuprofen grubu tedavi öncesi ve sonrası RANKL/OPG ortalama değerleri.



Şekil 4.4. Ca(OH)<sub>2</sub> + Siprofloksasin grubundaki RANKL/OPG ortalama değerleri.

Her bir gruptaki RANKL/OPG oranının yüzdelik değişimi kullanılarak gruplar arası karşılaştırma yapıldı. Bu sonuçlara göre gruplar arasında RANKL/OPG oranlarındaki yüzdelik değişim açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu( $p>0.05$ ). (Şekil 4.5)





Şekil 4. 5. Gruplara göre RANKL/OPG seviyesindeki yüzdelik değişim.

## 5. TARTIŞMA

Pulpal ve periapikal lezyonların patogenezi, büyük ölçüde pulpa boşluğunun ve kök kanallarındaki bakteriyel enfeksiyonunun yol açtığı konağın iltihabi yanıtına bağlıdır<sup>133</sup>. Diş pulpasının çürüğe, travmaya veya iyatrojenik nedenlere bağlı iltihaplanması, periapikal inflamasyonu art arda uyarabilir. İnflamasyon süreci diş pulpasında başlar, enfeksiyonun pulpal alandaki kalıcılığı sonunda patojenler periapikal bölgeye yayılabilir<sup>26</sup>. Kök kanalındaki patojenler ortadan kaldırılmazsa, semptomatik apikal periodontitis, asemptomatik apikal periodontitise dönüşebilir. Asemptomatik apikal periodontitis, inflamatuvar uyarıların devamlılığı, konağın uyarılara cevabının adaptasyonu, adaptif immün yanıtların varlığı ve onarım sürecinin başlatılması ile karakterizedir<sup>23, 175</sup>. Endodontik lezyonlarda baskın hücre tipleri T hücreleri, B hücreleri ve monositler / makrofajlar olarak gösterilmiştir<sup>176</sup>.

İnflamatuvar kemik rezorpsiyonu, birçok sitokin ve hücre tipi arasında karmaşık ve sıkı düzenlenen bir süreçtir. Kemik rezorpsiyonunu gerçekleştiren ana hücre tipi osteoklasttır. Wang ve Stashenko<sup>176</sup> tarafından yapılan çalışma, osteoklastları aktive edebilen ve periapikal kemik rezorpsiyonunu destekleyen mediatör listesinin ana faktörleri arasında IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve TNF-1 $\beta$  olduğunu raporlamıştır. İnflamatuvar sitokinlerden İnterlökin-1 (IL-1), tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve prostaglandinler (PG), kemik rezorpsiyonuna aracılık eden osteoklastların oluşumu ve aktivasyonunda önemli bir rol oynamaktadırlar<sup>177</sup>. Ayrıca, birçok çalışmada endodontik kökenli lezyonlarda kemik rezorpsiyonunun gelişiminde kazanılmış immün yanıtın rolünden bahsedilmiştir<sup>57</sup>.

Osteoklastogenez, osteoblastlar veya kemik iliği stromal hücreleri ile osteoklast öncüleri arasındaki hücre-hücre etkileşimlerini içerir. Bu etkileşimlere, RANKL, RANK ve OPG gibi moleküller aracılık etmektedir. RANKL'ın, osteoblastlar, fibroblastlar veya

aktif T ve B hücreleri tarafından membrana bağlı veya salgılanmış bir ligand olarak üretildiği bilinmektedir<sup>2</sup>. RANKL, preosteoklastların yüzeyinde bulunan reseptör RANK'a bağlanarak olgunlaşma ve aktivasyonu yönlendirirken, doğal olarak oluşan RANKL inhibitörü OPG, RANK-RANKL bağlantısını önleyen bir tuzak reseptörüdür<sup>112</sup>.<sup>113</sup>. RANKL seviyesinin IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-11, TNF- $\alpha$  ile arttığı bilinmektedir. OPG seviyesini arttıran sitokinler ise TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-18'dir<sup>105</sup>.

Nonsteroid antiinflamatuar veya antibiyotik ilaveli kalsiyum hidroksit patının periapikal lezyonlardan nükleer faktör kappa B ligandı(RANKL) ve osteoprotegerin ilave ettiğimiz antiseptik ilaçların RANKL/OPG seviyesinde değişime neden olmadığı sonucuna ulaştık. Klinik olarak kök kanal tedavisini takiben kanal içi ilaç uygulamadan RANKL seviyesinin değişimini inceleyen bir çalışma bulunmaktadır<sup>178</sup>. Fakat kök kanal tedavisi sırasında kullanılan farklı kanal içi ilaçların RANKL ve OPG salınımına direkt etkisini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada; kanal içi ilaç olarak kullanılan Ca(OH)<sub>2</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub>+İbuprofen ve Ca(OH)<sub>2</sub> +Siprofloksasin patlarının periapikal lezyonlardaki RANKL/OPG seviyesi üzerine etkisi test edilmiştir. Çalışmanın verilerine göre, kalsiyum hidroksit patı ve kalsiyum hidroksite ilave edilmiş ibuprofen ve siprofloksasin patlarının tedavi sonrası RANKL/OPG seviyesini, tedavi öncesine göre arttırdığını fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca gruplar arasında RANKL/OPG oranındaki yüzdesel değişim karşılaştırılmış ve gruplar arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Bu sonuçlara göre sıfır hipotezi doğrulanmıştır.

RANKL/OPG seviyesinin rezorptif aktiveyi yönlendirdiğine ilişkin çalışmalar mevcuttur<sup>7, 80</sup>. Literatürde RANKL/OPG seviyesinin kalsiyum hidroksitle kombine ibuprofen ve siprofloksasin gibi kanal içi ilaçların kullanımına bağlı değişimini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmadığı için çalışmamızla geçmiş çalışmaların sonuçları

arasında direkt bir karşılaştırma yapılamamıştır. Buna rağmen kanal içi ilaç olarak kullanılan  $\text{Ca(OH)}_2$  patının periapikal alandaki sitokin seviyesi üzerine etkisini inceleyen çalışmalar mevcuttur<sup>20,179</sup>. RANKL ve OPG salınımı sitokin seviyesinden etkilendiği için sonuçlarımızı kanal içi ilaçların sitokin seviyesinde yarattığı değişimlere göre değerlendirdik.

Çalışmamızın sonuçlarına göre  $\text{Ca(OH)}_2$  pat grubunda tedavi öncesi ve sonrası RANKL/OPG oranları arasında istatistiksel olarak aralarında farklılık görülmemiştir. Her grupta kanal içine kullanılan ilaçlar farklı olsa da, bu ilaçlar yüksek oranda kalsiyum hidroksit içermektedir. Kalsiyum hidroksit, endodontide en çok kullanılan ve en fazla antibakteriyal etkiye sahip olan kanal içi ilaçtır. Kalsiyum hidroksit endotoksinleri inaktive eder, mineralizasyonu uyarır, organik dokuları çözer, kimyasal ve fiziksel bir bariyer oluşturur<sup>180</sup>.

Meng ve ark.<sup>179</sup>,  $\text{Ca(OH)}_2$  patının periapikal dokulardaki osteoblastlarda TNF- $\alpha$  ve IL-6 salınımı üzerine etkisini araştırdıkları in vitro çalışmalarında,  $\text{Ca(OH)}_2$  patının periapikal dokulardaki osteoblastlarda TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyesini azalttığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde, Khan ve ark.<sup>181</sup>  $\text{Ca(OH)}_2$ 'in IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$  ve CGRP'yi denatüre ettiği yönündeki hipotezi test etmek için IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$  ve CGRP 1 ile 7 gün boyunca  $\text{Ca(OH)}_2$  ile inkübe etmişlerdir. Sonuç olarak  $\text{Ca(OH)}_2$ 'in test periyotları boyunca % 50-100 oranında IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$  ve CGRP'yi denatüre ettiği görülmüştür. Aksine insan osteoblast hücrelerinde saf kalsiyum hidroksit tozunun OPG, RANKL ve OPG/RANKL seviyesinde yarattığı değişim incelenmiş sonuç olarak, saf  $\text{Ca(OH)}_2$  toz grubunda negatif kontrol grubuna (medikamansız grup) kıyasla 1 ve 3. Günlerde RANKL mRNA ve OPG mRNA salınımının istatistiksel olarak daha fazla olduğu, OPG / RANKL oranının saf  $\text{Ca(OH)}_2$  toz grubunda artmadığı ve bu oranın negatif kontrol grubuna (medikamansız grup) kıyasla sadece 1. Günde yarattığı azalmanın istatistiksel olarak

anlamli olduğu raporlanmıştır. Saf Ca(OH)<sub>2</sub> toz grubunda OPG/RANKL oranının artmadığı, çalışma sũresince negatif kontrole kıyasla azaldığı fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamli olmadığı gũzlenmiřtir<sup>182</sup>. Bunun nedeni, saf Ca(OH)<sub>2</sub> tozunun IL-1β ve TNF-α'yı indũkleyerek RANKL salınımını arttırmış olabileceği şeklinde açıklanmıştır<sup>183, 184</sup>. Bu çalışmada 0.gũnde saf Ca(OH)<sub>2</sub> toz grubunda RANKL ve OPG salınımı olmamıştır, bu durumun saf Ca(OH)<sub>2</sub> grubundaki kalsiyum hidroksit konsantrasyonunun yũksek olması ve hũcrelerde toksik etki yaratmasından dolayı olabileceği raporlanmıştır<sup>182</sup>. Bir başka çalışmaya gũre, Ca(OH)<sub>2</sub> konsantrasyonu 1000 mg / mL olduğunda saf Ca(OH)<sub>2</sub> toz grubunun sitotoksik etki gũsterebileceđi bildirilmiştir<sup>182</sup>. Kalsiyum hidroksitin OPG/RANKL oranında değişim yaratmaması bizim çalışmamızın sonuçları ile benzerdir. Kũltũr alışmaları ve in vitro çalışmalar araştırılan olguya dair daha sınırlı bilgi ve veri sunmaktadır ayrıca in vivo çalışmalar için ilk basamak olarak kabul edilmektedir. Sonuç olarak, bu çalışmalar in vivo çalışmalara ışık tutmakta fakat klinik ortamı tam olarak yansıtamamaktadır.

Tavares ve ark.<sup>20</sup> Ca(OH)<sub>2</sub>'i kanal içi medikaman olarak kullandıkları çalışmalarında IL-1β, TNF-α, IL-10, IL-17A ve IFN-γ seviyelerinde 0 ve 15. Gũn arasında istatistiksel olarak anlamli bir değişim olmadığını, kontrol grubunda ise (hiç kanal içi ilaç uygulanmamış) IL-1β, IL-10, IFN-γ seviyelerinin istatistiksel olarak anlamli şekilde arttığını ve TNF-α, IL-17A seviyelerinde değişim olmadığını raporlamıştır. Bu alışmada Ca(OH)<sub>2</sub> grubunda sitokin seviyelerinde bir değişim gũrũlmemesi sitokin salınımının bazal seviyede kaldığını, RANKL ve OPG seviyesinde de değişimin meydana gelmeyeceğini gũstermekte ve bizim çalışmamızı desteklemektedir. Aksine Brito ve ark.<sup>178</sup>'nin yaptıkları çalışmada kũk kanallarına kemomekanik preparasyon ve irigasyon yapıldıktan sonra periapikal alandaki interstisyel sıvıdan 0. ve 7. gũnlerde örnek alınmış ve kanal içi ilaç kullanılmadan mediatũr seviyeleri incelenmiş, IFN-γ, IL-1β ve RANKL

mRNA ekspresyon düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığını, IL-17A ve TNF- $\alpha$  seviyelerinde değişim olmadığını raporlanmıştır. Bu çalışma kök kanal preparasyonunu takiben periapikal alandaki RANKL seviyesinin incelendiği tek çalışmadır, fakat bu çalışmada sadece kemomekanik preparasyon yapıp kanal içi ilaç uygulaması yapılmadığından dolayı bizim çalışmamızla karşılaştırılmaz.

Bir başka çalışmada ise kanal içine uygulanan Ca(OH)<sub>2</sub>'in 7-14 günlük periyotlarda sitokin seviyelerinde yarattığı değişim incelenmiş, 7. gün ve 14. günde Ca(OH)<sub>2</sub>'in IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmaya sebep olduğu görülmüştür. Ayrıca 7 ile 14 günlük tedavi protokollerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır<sup>20</sup>. Benzer şekilde Marinho ve ark.<sup>185</sup> apikal periodontitisli dişlerin kök kanallarındaki endotoksin düzeylerini araştırmak ve farklı irriganlar kullandıktan sonra makrofajlar tarafından proinflamatuvar mediatörlerin (IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ ) salınımını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında kanal içi ilaç olarak Ca(OH)<sub>2</sub> kullanmıştır. Tüm gruplarda kalsiyum hidroksitle yapılan kanal içi ilaç uygulaması IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  düzeyinin anlamlı şekilde azalmasına neden olmuştur. Sonuç olarak irrigasyon protokolünün etkinliği; bakteri ve endotoksin indirgenmesi, sitokin salınımı ve daha sonraki iyileşme sürecinin başlangıcı için bir belirleyici olduğu görülmüştür. Fakat bu çalışmada farklı irrigasyon yapılmış gruplarda kalsiyum hidroksit medikasyonunda IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyesindeki azalma farklı düzeyde olmuştur. Ayrıca kalsiyum hidroksit kanallarda 30 gün süreyle bekletilmiştir. Bu çalışma ile bizim çalışmamızın irrigasyon protokolü ve kanal içine uygulanan medikamanın kanalda kalma süresi farklı olduğu için sitokin seviyelerindeki değişim, sonuçlarımız ile uyumlu olmamış olabilir.

Çalışmamızın sonuçları göz önünde bulundurulduğunda kalsiyum hidroksit grubunda kanal şekillendirilmesi ve yıkanmasını takiben alınan örnekler ile 7. Gün

sonunda alınan örnekler karşılaştırıldığında RANKL/OPG seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Yukarıda bahsettiğimiz çalışmalar incelendiğinde  $\text{Ca(OH)}_2$ 'in sitokin seviyeleri üzerine yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar vardır. Doku hasarının boyutu, spesifik etiyoloji, konağının direnci ve konakla ilgili birçok faktör, hem akut hem de kronik inflamatuvar yanıtların seyrini, morfolojik varyasyonları ve hücre biyolojisini değiştirebilir<sup>23, 175</sup>. Ayrıca yukarıdaki çalışmalar incelendiğinde hasta ile ilişkili faktörler, hekim ile ilgili faktörler, kemomekanik preparasyon protokolü, irigasyon için kullanılan solüsyonlar ve miktarı, örnek alınma zamanı, kök kanalları ve periapikal dokunun durumu (sağlıklı veya lezyonlu diş olması), medikaman kullanılıp kullanılmaması veya farklı medikamanın kullanılması sitokin seviyesine etki edebilir. Bu yüzden klinik çalışmalarda inflamatuvar süreç birçok faktörden etkilenmekte ve farklı sonuçlar ortaya çıkabilmektedir. Bizim çalışmamızda yukarıdaki çalışmalardan farklı olarak başarısız olmuş ve lezyon gelişmiş kanal tedavili dişlere kanal yenileme tedavisi uygulanmış olduğundan, bu tedavinin sitokin seviyelerine etkisinin farklı olabileceği düşünülmektedir.

Periapikal lezyonlu dişlerde görülen iyileşme sürecinde kemiğin yeniden yapılandırılmasında ilk görülen adım osteoklastların kemik yüzeyine toplanmasıdır. Reseptör aktivatör faktör kapp B (NF- $\kappa$ B) ligandı ve makrofaj koloni stimüle edici faktör osteoklastların gelişimi, fonksiyonu ve hayatta kalması için gerekli olan iki sitokindir<sup>186</sup>. Osteoklastlar kemik yüzeyini rezorbe ederler bu işlem tamamlandıktan sonra, mononükleer hücreler kemik yüzeyinde toplanırlar<sup>187</sup>. Bu hücreler yeni osteoblastların kemik oluşumuna başlaması için kemik yüzeyini hazırlarlar ve böylece kemik yapımı başlamış olur. RANKL/OPG oranı, kemiğin yeniden biçimlenmesini yönlendirmede önemli bir rol oynar ve kemik oluşumu ile rezorpsiyonu arasındaki dengenin kurulmasında ana göstergedir<sup>7</sup>. Çalışmamızda başlangıçtaki RANKL/OPG seviyesinin

yüksek olması, periapikal alanda kemik yıkımının olduğunu ve kemiğin yeniden şekillendiğini göstermektedir. Periapikal lezyon gelişimi sırasında meydana gelen immün yanıtlarda birçok sitokin ve kemokin yer alır<sup>188-190</sup>. Bu sonuçlar insanlarda<sup>188, 191-193</sup> veya hayvan modellerinde<sup>189, 194, 195</sup> yapılan çalışmalarda periapikal lezyonların incelenmesiyle tespit edilmiştir. Başka in vivo çalışmalarda da kronik apikal periodontitisli kök kanallarından alınan eksudalarda ve periapikal lezyonlarda daha yüksek seviyede TNF- $\alpha$  olduğu gösterilmiştir<sup>192, 196</sup>.

Bağışıklık yanıtının periapikal lezyonların oluşumuna katıldığı bilinse de, endodontik başarısızlıklarda sitokin yanıt profili tam olarak açıklanamamıştır. Protetik sebeplerle kanal tedavisi yapılan sağlıklı dişlerle endodontik başarısızlık görülen dişlerin karşılaştırıldığı çalışmada, TNF- $\alpha$ , IL-17A ve IFN- $\gamma$ 'nin inatçı enfeksiyonlarda istatistiksel olarak yüksek seviyelerde olduğu, IL-1 $\beta$  ve IL-10'un ise her iki grupta da benzer olduğu raporlanmıştır<sup>197</sup>. IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 ve PGE<sub>2</sub> üretimi ile gelişen immün yanıt, inflamatuvar sürecin ilerlemesinde, kemik yıkımında ve periapikal lezyonların remodelinginde rol oynar<sup>198</sup>. Bu çalışmada TNF- $\alpha$ , IL-17A ve IFN- $\gamma$  gibi sitokinlerin inatçı periapikal lezyonlarda yüksek seviyede olması, çalışmamızda tedavi öncesi RANKL/OPG seviyesinin yüksek olmasını açıklamaktadır.

Bazı klinik vakalar, endodontik tedavide kullanılan geleneksel protokole cevap vermemektedir. Bunun sebebi genellikle kök kanal sisteminin anatomik özellikleri, antimikrobiyal ajanlara direnç oluşumu veya apikal biyofilm varlığı ile ilgilidir<sup>199</sup>. Böyle vakalarda, geniş etki spektrumuna sahip ve kök kanal sistemi üzerinde derinlemesine bir etkiye sahip olan alternatif ilaçların veya antimikrobiyal ajanların kombinasyonunun bir intrakanal ilaç olarak uygulanması önerilmektedir<sup>200</sup>. Adl ve ark.<sup>199</sup> yaptıkları in vitro çalışmada, TAP ve kalsiyum hidroksit patlarının *Enterococcus faecalis* üzerine antimikrobiyal etkinliklerini değerlendirmişlerdir ve TAP'ın antimikrobiyal etkinliğinin



Ca(OH)<sub>2</sub>'den daha iyi olduğu sonucunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Ordinola-Zapata ve ark.<sup>201</sup> intraoral olarak enfekte olmuş dentin biyofilm modeli kullanılarak kalsiyum hidroksit, % 2 klorheksidin jeli ve TAP'ın antimikrobiyal aktivitesini karşılaştırmışlar ve TAP'ın, diğer gruplara göre biyofilmdeki bakterileri öldürmede daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Yine Shrivastava ve ark.<sup>18</sup> yapmış oldukları in vitro çalışmada Ca(OH)<sub>2</sub> ile Ca(OH)<sub>2</sub> ve antibiyotik kombinasyonun etkinliği karşılaştırılmış ve sonuç olarak kalsiyum hidroksitle kombine antibiyotik patının E.faecalis inhibisyonunda daha başarılı olduğu bildirilmiştir.

Bahsedildiği gibi literatürde Ca(OH)<sub>2</sub>'in antibakteriyal ilaçlarla olan kombinasyonunun bakteriyal yük üzerine etkinliğini araştıran çalışmalar mevcuttur. Fakat bu kombine kanal içi ilaçların periapikal alandaki sitokin seviyeleri üzerindeki değişimleri inceleyen çok sayıda çalışma bulunmamaktadır.

Endodontide kanal içi antibiyotik patı uygulaması genellikle rejenerasyon tedavilerinde tercih edilmektedir. Fakat bu uygulamaların dentinde renkleşme yapması ve kök hücrelerinde toksik etki yaratması gibi dezavantajları bulunur<sup>202, 203</sup>. Ruparel ve ark.<sup>202</sup> antibiyotik içerikli patların (TAP (3'lü antibiyotik patı), DAP(metronidazol ve siprofloksasin), Augmentin ve modifiye TAP(minosiklin yerine sefaklor içerikli)) kök hücreler üzerinde toksik etki yaratabileceğini ve inflamasyonu tetikleyebileceğini göstermektedir. Benzer şekilde, yapılan başka bir çalışmada apikal papilla hücreleri EDTA ve kalsiyum hidroksit ile temas ettikten sonra yaşayabilirken, yüksek konsantrasyonlarda NaOCl ve antibiyotik patı kullanımında sağ kalımın azaldığı görülmüştür<sup>204</sup>.

TAP ve Ca(OH)<sub>2</sub> içeren polietilen tüplerin fare subkutanöz dokusuna implante edildiği bir hayvan çalışmasında implantasyondan 7, 21, 63 gün sonra dokulardaki

proinflamatuar sitokin (IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-17), antiinflamatuar sitokin (TGF- $\beta$ ) ve anjiyojenik faktörlerin değişimi incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda TAP implante edilen hayvanlarda, inflamatuvar yanıtla birlikte kalın bir reaktif doku tabakası oluşmuştur. Ayrıca tıkanık kan damarı ağı ile granülasyon dokusunun varlığı ve nötrofillerden oluşan yoğun inflamatuvar infiltrasyon görülmüştür. TAP grubu, implantasyonun 7. gününde, Ca(OH)<sub>2</sub> ve boş tüp gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-17, TGF- $\beta$  ve VEGF gen ekspresyonuna neden olmuştur<sup>205</sup>.

Bu sonuçlar ilk dönemlerde inflamasyonun granülasyon dokusunun oluşumu ile anjiyojenik bir tepki oluşturduğunu ve bunun iki farklı sonuca yol açabileceğini göstermektedir<sup>205</sup>:

1. Ca(OH)<sub>2</sub>'e maruz kalan dokularda yeni kan damar oluşumunun, doku onarımını destekleyen yaralı bölgeye oksijen, besin ve lökosit getirdiğine inanılmaktadır.
2. TAP'ın sürekli tahriş edici etkisi nedeniyle lökositler aktive olmakta ve sitokinlerin sürekli salınımına neden olmaktadır<sup>206, 207</sup>.

Bizim çalışmamızda da Ca(OH)<sub>2</sub>+ %5 siprofloksasin grubunda RANKL/OPG oranında da artış vardır fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Yukarıdaki çalışmada da bahsedildiği gibi Ca(OH)<sub>2</sub> içeriğinde bulunan antibiyotik tahriş edici etkisi lökositleri aktive etmiş ve sitokin salınımını artırarak RANKL/OPG oranında artışa sebep olmuş olabilir.

Günümüze kadar olan çalışmalar incelendiğinde nonsteroidal antiinflamatuar ilaçların kanal içi medikaman olarak kullanıldığını inceleyen sadece bir çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmada postoperatif ağrı incelemesi yapılmıştır<sup>208</sup>. Literatürde nonsteroidal antiinflamatuar ilaçların kalsiyum hidroksit ile karıştırılıp kanal içine uygulandığı bir in vitro çalışma<sup>10</sup> bulunmakta fakat klinik çalışma bulunmamaktadır. Bu

yüzden çalışmamızın sonuçları ancak oral veya topikal ibuprofen kullanımının sitokin seviyelerinde meydana getirdiği değişim üzerinden karşılaştırılabilir. Ehsani ve ark. yaptıkları bir çalışmada profilaktik olarak verilen ibuprofenin periapikal eksudadaki TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-17 seviyeleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Profilaktik ibuprofen kullanan hastalarda TNF- $\alpha$ , IL-17 seviyesinin plasebo grubundaki hastalara göre daha yüksek olduğu fakat bu miktarın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, IL-6 seviyesindeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu raporlanmıştır<sup>209</sup>. Benzer şekilde, Sironi ve ark.<sup>210</sup> yaptıkları bir çalışmada, endotoksinle tedavi edilen farelerde deksametazon ve iki NSAİ' nin (ibuprofen ve indometasinin), serum IL-6 ve TNF düzeylerinin üretimi üzerindeki etkisi araştırılmış, sonuç olarak indometazin ve ibuprofenin, IL-6 seviyesini indüklediği görülmüştür. Yine benzer olarak Spinaz ve ark.<sup>211</sup> tarafından yapılan bir çalışmada, TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6'nın plazma seviyeleri, sağlıklı gönüllülere tedavi öncesi ibuprofen verilerek veya ilaç verilmeden Escherichia coli endotoksinin intravenöz uygulanmasından sonra izlenmiştir. Tedavi öncesi kullanılan ibuprofenin, sitokin seviyesinde belirgin bir artışa neden olduğu görülmüştür. Shahriari ve ark.<sup>212</sup> ibuprofenin periapikal eksüdata IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> düzeyleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. İbuprofen tablet, 3 gün 6 saatte 1 olmak üzere reçete edilmiş ve dördüncü günde ikinci örnekler alınmıştır. Her iki grup arasında ve grup içinde tedavi öncesi ve sonrası IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyesinde anlamlı bir fark bulunamamıştır. Yukarıdaki çalışmalar ışığında ibuprofenin oral kullanımı bazı çalışmalarda TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 gibi sitokinlerde artış meydana getirmiştir, bazı çalışmalarda ise değişime sebep olmamıştır. Çalışmamızda Ca(OH)<sub>2</sub>+İbuprofenin 1 haftalık kanal içi uygulaması sonunda RANKL/OPG seviyesinde artış meydana gelmiştir fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Bu durum, sitokinlerin uyarılmasına bağlı olarak veya mevcut durumların sinerjistik etkileşimleri sebebiyle meydana gelmiş olabilir.

Periapikal kist ve granülomlarda RANKL / OPG oranındaki artışın kemik yıkım süreci ile doğrudan ilişkili olduğunu raporlayan birçok çalışma bulunmaktadır<sup>213-215</sup>. Sitokinler, kemik mikroçevresindeki inflamatuvar ve immün yanıtlarda önemli rol oynarlar. Pro- ve anti-inflamatuvar mediatörler arasındaki denge, periapikal granülomlar dahil olmak üzere kemik rezorpsiyonun sonucunu belirler<sup>47</sup>. Tüm gruplar değerlendirildiğinde çalışmamızda kullanılan kanal içi ilaçların, 7 günlük takip sürecinde RANKL/OPG oranında değişime neden olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Kullanılan kanal içi medikamanların periapikal immün yanıtta ve özellikle sitokin salınımında nasıl bir etki yarattığı tam olarak bilinmese de periapikal alandaki sitokinleri uyardığı ve kemik rezorpsiyonu ile başlayan kemik remodelingini devam ettirdiği sonucuna ulaşabiliriz.

Çalışmamızda asemptomatik apikal periodontitis gelişmiş kanal tedavili dişlere kanal yenileme tedavisi uygulanmıştır. Kanal yenileme tedavisinde, kanal söküm tekniğinden bağımsız olarak kanal dolgu maddeleri, dentin talaşları, irriganlar ve mikroorganizmalar ile onların yan ürünleri gibi tahriş edici maddeler genellikle periapikal dokulara ekstrüze olur<sup>216, 217</sup>. Bu tür debrisler postoperatif inflamasyon ve alevlenmelere katkıda bulunabilir veya periapikal iyileşmenin bozulmasına neden olabilir<sup>218</sup>. Bazı araştırmalar, kanal yenileme tedavisi sırasında kanal içindeki maddelerin apikal ekstrüzyonunun miktarını araştırmış olsa da bu ekstrüzyonların biyolojik etkileri hala tam olarak anlaşılamamıştır<sup>216, 217, 219</sup>. Sitokinler inflamasyonun başlatılmasında ve amplifikasyonunda anahtar rol oynarlar ve bu sitokin düzeylerindeki değişikliklerin sitotoksik etkilerle ilişkili olabileceği beklenebilir<sup>220</sup>. Endodontide, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ , ağrı ve kemik rezorpsiyonu gibi farklı klinik özelliklerin gelişiminde rol oynayan inflamatuvar mediatör olarak tanımlanmıştır<sup>221</sup>. Debris ekstrüzyon ürünleri sitotoksik etkilere sahip olabileceğinden, hücrelerdeki inflamasyonu bir dereceye kadar uyarır. IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin upregülasyonu, büyük miktarda debris materyalinin

ekstrüze olduğunu gösterir ve bu durum da enflamatuvar yanıt, ağrı, artmış osteoklastogenez ve kemik rezorpsiyonundan sorumludur<sup>222</sup>.

Silva ve ark.<sup>222</sup> kök kanal yenileme tedavisi sırasında apikalden ekstrüze olmuş debrisin primer insan osteoblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini inceledikleri in vitro çalışmada, TNF- $\alpha$  ile IL-1 $\beta$  seviyelerindeki değişime bakmışlardır. Kanal yenileme tedavisini geleneksel el eğesi tekniği, Mtwo ve Reciproc sistem olmak üzere 3 teknikle yapmışlardır. Sonuç olarak tüm test gruplarında, IL-1 $\beta$  seviyesinin istatistiksel olarak arttığı görülmüştür. TNF-  $\alpha$  seviyesinde de artış görülmüş fakat bu artışın sadece el eğesi grubunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu raporlanmıştır. Çalışmamızda tüm gruplardaki RANKL/OPG seviyesindeki artış görülmekte fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamaktadır. Gruplarda görülen bu artışın sebebi dahil edilme kriterlerimize göre seçtiğimiz kanal dolumu yapılmış dişlerde daha fazla apikal ekstrüzyon olmasına, kanal içine uygulanan medikamanın tipine veya kök kanal şekillendirilmesinde kullanılan eğe sistemine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Kök kanal şekillendirilmesinde kullanılan tüm sistemlerde belli bir miktarda apikal ekstrüzyon meydana gelmektedir. Yukarıda bahsedildiği gibi<sup>222</sup> apikalden ekstrüze olan ürünler sitokin salınımını arttırarak sitotoksik etkilere neden olabilmekte ve inflamasyonu uyarabilmektedir. Buna bağlı olarak da artmış inflmatuvar yanıt, postoperatif ağrı ve kemik rezorpsiyonu meydana gelebilmektedir.

Önceden doldurulmuş kök kanalların cerrahi olmayan kanal yenileme tedavisi, endodontik başarısızlıkların tedavisi için tercih edilen ilk tedavidir<sup>223</sup>. Yetersiz doldurulmuş kök kanal sistemlerinden kanal patı ve gutta-perka sökmek, periapikal inflamasyon ve başarısızlıktan sorumlu olabilecek nekrotik doku veya bakterileri kalıntılarını uzaklaştırmak için kritik öneme sahiptir. Kanal preparasyonunun birincil amaçlarından biri, istenmeyen ağrı ve iltihaplanmayı önlemek için apikal ekstrüzyonun

en aza indirgenmesi ve dolayısıyla bu oluşumu azaltan tekniklerin kullanılmasının mantıklı görünmesidir<sup>224</sup>.

Biz çalışmamızda Reciproc eğeleri ile kanal şekillendirmesi yaptık. Literatürde farklı çalışmalar bulunsa da Reciproc eğelerinin daha az debris ekstrüzyonuna neden olduğu düşünülmektedir. Uzunoglu ve ark.<sup>225</sup> farklı Ni-Ti döner aletleri kullanarak yaptıkları çalışmalarında tüm eğelerin debris ekstrüzyonuna neden olduğunu fakat Reciproc eğelerinin, D-RaCe ve EdgeFile XR'ye kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede daha az debris ekstrüzyonuna neden olduğunu raporlamıştır. Benzer şekilde Dincer ve ark. ProTaper, Mtwo ve Reciproc enstrümanları ile H tipi el aletlerinin kanal yenileme tedavisi sırasında apikalden ekstrüze olan debris miktarlarını karşılaştırmış ve Reciproc sistemin, diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede daha az miktarlarda ekstrüze debrisye neden olduğunu bulmuşlardır<sup>226</sup>. Lu ve ark.<sup>227</sup> da kanal yenileme tedavisinde apikalden ekstrüze olan debris miktarlarını Reciproc, Mtwo sistem ve K tipi el aletlerini kullanarak karşılaştırmıştır. Sonuç olarak tüm gruplarda apikalden debris ekstrüzyonu olduğunu fakat her iki Ni-Ti sistemde de daha az miktarda apikalden debris ve irigan ekstrüzyonu meydana geldiğini raporlamışlardır.

İlave olarak sadece hareketin postoperatif ağrı üzerine olan etkisini inceleyen çalışmalara bakıldığında, aynı ege tipinde resiprokal hareketin rotasyonel hareketten daha az apikalden debris çıkışı ve ağrı meydana getirdiği raporlanmıştır<sup>228, 229</sup>. Bu nedenle çalışmamızda üretici firmanın talimatlarına uyularak Reciproc eğeleri, Silver Reciproc endodontik motor ile kullanılmıştır.

Freitas ve ark.<sup>10</sup> Ca(OH)<sub>2</sub> ve Ca(OH)<sub>2</sub>'e NSAI (diklofenak ve ibuprofen) ve siprofloksasin ilave ederek antibiyofilm aktivitesi ve pH'taki değişimi in vitro değerlendirmiştir. Çalışmada hazırlanan tozlar, propilen glikol ile karıştırılarak farklı zaman aralıklarında pH ve mikrobiyal analize tabi tutulmuştur. Sonuç olarak, NSAI'lerin

veya antibiyotiklerin ilavesi, kalsiyum hidroksit patının pH'ını etkilememiş ve *Enterococcus faecalis* biyofilm oluşumuna karşı kalsiyum hidroksit patının antimikrobiyal etkisini arttırmıştır. Antimikrobiyal ajanları taşıyıcı sıvılar, antimikrobiyal ajanın etki süresi ile sıkı bir ilişkiye sahiptir, ilaçların kanal içinde çözünmesine ek olarak, kök kanal sisteminde ilacın penetrasyonunu da sağlar<sup>14</sup>. Kalsiyum hidroksit, farklı araçlarla karıştırıldığında, kalsiyum ve hidroksil iyonlarını serbest bırakma potansiyeli göstermiştir<sup>149</sup>. Dentin tübülleri boyunca gerçekleşen difüzyon oranı ve iyonlara ayrışma miktarı kullanılan taşıyıcılar ile belirlenir. Böylece, araçlar iyonik ayrışmada önemli bir rol oynar<sup>230</sup>. Lage Marques ve ark.<sup>231</sup> kalsiyum hidroksitin sulu ve viskoz taşıyıcılarının yağlı taşıyıcılara kıyasla daha etkili olduğu sonucuna varmışlardır, çünkü sulu ve viskoz taşıyıcılar daha hızlı bir pH değerine ulaşmaktadır ve daha uzun bir süre dayanıklı kalmaktadırlar. Benzer şekilde, Cruz ve ark.<sup>232</sup> propilen glikol ve distile suyunun kök dentinine penetrasyonunu değerlendirmiş ve propilen glikol ile boya penetrasyon derinliğinin, distile sudan daha fazla olduğu sonucuna varmıştır. Sriniva ve ark.<sup>233</sup> kalsiyum hidroksit-propilen glikol ve kalsiyum hidroksit-salin patının dentin tübüllerinden iyon difüzyon yeteneğini karşılaştırmış, kalsiyum hidroksit-propilen glikol patının daha iyi difüzyon yeteneğine sahip olduğunu raporlamışlardır. Propilen glikol, dış kök yüzeyini alkalize etme potansiyeline sahiptir. Dolayısıyla güçlü antibakteriyel etkiye sahiptir. Aynı zamanda sürekli iyon salınım yeteneğine sahiptir ve dokuda toksik etkileri yoktur. Çalışmamızda kalsiyum hidroksit ve kalsiyum hidroksite ilave edilen ibuprofen ile siprofloksasin, Freitas ve ark.<sup>10</sup> yaptığı çalışmadaki miktarlar göz önünde bulundurularak hazırlanmış ve toz/likit oranına uygun şekilde propilen glikolle karıştırılmıştır.

Yaş, cinsiyet ve diş numarası gibi etkenlerin endodontik tedavi üzerine etkileri ile ilgili çeşitli sonuçlar bulunmaktadır<sup>234</sup>. Çalışmamızda ikinci seansa gelme gereksinimi

açısından 16-65 yaş aralığındaki hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Yapılan kikare test analizine göre cinsiyet ve diş numaraları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Yaş dağılımının incelenmesi için Kruskal Wallis testi yapılmış ve gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunamamıştır.

Pro ve anti inflamatuvar mediatörlerin serum seviyeleri, dokulardaki seviyeleri ELISA, PCR ve Western Blot gibi moleküler yöntemlerle belirlenebilir<sup>20, 235</sup>. Birçok çalışmada periapikal dokulardaki mediatörlerin seviyeleri ELISA ile belirlenmiştir<sup>83, 235</sup>. Bu doğrultuda çalışmamızda da RANKL ve OPG seviyelerini ölçmek için ELISA testi kullanılmıştır.

Scimauchi ve ark.<sup>236</sup> kağıt konlarla periapikal alandan eksüda toplanması için niceliksel bir yöntemden bahsetmişlerdir. Yaptıkları pilot çalışma, sıvı hacim ile kağıt konların ıslak uzunluğu arasındaki ilişkiyi pozitif eğrisel grafikte desteklemiştir. Diğer bir deyişle, kağıt konlara emdirilen eksüda arttıkça ölçülen numune seviyesi de artmaktadır. Bu nedenle periapikal lezyonlu dişlerden örnek alımı, Martino ve ark<sup>174</sup> yaptıkları çalışma referans alınarak gerçekleştirilmiştir. Periapikal dokunun interstisyel sıvısından örneklerin alımı gerçekleştirilmiştir. 3 tane steril 20 numaralı kağıt konlar diş apeksinden 2 mm çıkartılarak 1 dk. boyunca bekletilmiş ve her bir kağıt kon ucundan yaklaşık 4 mm. kesilmiştir. Kesilen kağıt konlar, içerisinde PBS bulunan ependorf tüplere yerleştirilerek -80°C’de saklanmıştır.

Antibiyotik kullanımı konağın savunma mekanizmasına etki eder. Hastaya antibiyotik verilmesi Th1 ve Th2 hücreleriyle ilişkili immün yanıtı değiştirebilir<sup>237</sup>. İmmün yanıtta bu değişiklikler kanal içi ilaçların etkinliğini araştırdığımız çalışmamızın sonuçlarına etki edebileceği için çalışmamıza son üç ay içinde antibiyotik kullanmamış hastalar dahil edildi. Non steroid antiinflamatuvar ilaçların PGE<sub>2</sub> metabolizması üzerine etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur fakat<sup>238, 239</sup>, IL-1 ve



TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlere etkisini bildiren çok çalışma bulunmamaktadır. Shahriari ve ark.<sup>212</sup> NSAİ olan ibuprofenin periapikal eksudadaki tedavi öncesi ve sonrası TNF- $\alpha$  ve IL-1 seviyelerinde farklılığa sebep olmadığını bildirmişlerdir. Ehsani ve ark.<sup>209</sup> ise profilaktik ibuprofen kullanan hastalarda IL-6 seviyesindeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu raporlamıştır. NSAİ kullanımının RANKL ve OPG üzerinde yarattığı etki tam olarak bilinmese de, bu ilaçların proinflamatuvar sitokinler üzerine etkileri tartışmalıdır. Bu nedenle çalışmamıza son 24 saat içinde NSAİ ilaç kullanmış hastalar da dahil edilmemiştir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Ca(OH)<sub>2</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub>+İbuprofen ve Ca(OH)<sub>2</sub>+Siprofloksasin gruplarında tedavi sonrası ve öncesi RANKL/OPG seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur.

-Gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında her bir gruptaki RANKL/OPG oranlarındaki yüzdelerik değişim açısından da istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur.

- Yaş, cinsiyet ve diş numaralarının RANKL/OPG oranı üzerine bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Kemik rezorpsiyonu, reseptör aktivatör nükleer faktör kappA B ligandı ve osteoprotegerinin önemli rol oynadığı çok aşamalı bir süreçtir. Periapikal lezyonlu dişlerde kanal içi ilaç olarak Ca(OH)<sub>2</sub> patı ve Ca(OH)<sub>2</sub>'e ilave edilmiş ibuprofen ve siprofloksasinle hazırlanmış patların kullanımı RANKL/OPG seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim yaratmamıştır. Sonuçlarımızı değerlendirecek olursak Ca(OH)<sub>2</sub>'e ilave edilmiş ibuprofen ve siprofloksasinle hazırlanmış medikamanlar RANKL/OPG salınımının değiştirmemiştir. Bu durumdan yola çıkarak Ca(OH)<sub>2</sub>'e ilave edilmiş ibuprofen ve siprofloksasinin, Ca(OH)<sub>2</sub>'in tek başına kullanımıyla benzer bir sonuç yarattığını ve periapikal lezyonların iyileşme sürecinde ilave fayda sağlamadığı düşünülebilir. İbuprofen ve siprofloksasinin kalsiyum hidroksite ilave edilerek periapikal dokulardaki mediatörlere etkisini araştıran ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKÇA

1. Stashenko P. Role of immune cytokines in the pathogenesis of periapical lesions. *Endod Dent Traumatol* 1990;6(3):89-96.
2. Bezerra M, Carvalho J, Prokopowitsch A, Pereira R. RANK, RANKL and osteoprotegerin in arthritic bone loss. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2005;38(2):161-70.
3. Lerner UH. NEW MOLECULES IN THE TUMOR NECROSIS FACTOR LIGAND AND RECEPTOR SUPERFAMILIES WITH IMPORTANCE FOR PHYSIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL BONE RESORPTION. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15(2):64-81.
4. Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000;289(5484):1504-8.
5. Alliston T, Derynck R. Medicine: interfering with bone remodelling. *Nature* 2002;416(6882):686.
6. Lerner UH. Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res* 2006;85(7):596-607.
7. Amiable N, Tat SK, Lajeunesse D, et al. Proteinase-activated receptor (PAR)-2 activation impacts bone resorptive properties of human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts. *Bone* 2009;44(6):1143-50.
8. Ricucci D, Siqueira Jr JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *Journal of endodontics* 2010;36(8):1277-88.
9. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 2008;34(11):1291-301.e3.

10. de Freitas RP, Greatti VR, Alcalde MP, et al. Effect of the Association of Nonsteroidal Anti-inflammatory and Antibiotic Drugs on Antibiofilm Activity and pH of Calcium Hydroxide Pastes. *J Endod* 2017;43(1):131-34.
11. Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, et al. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *International endodontic journal* 2003;36(1):1-11.
12. Evans M, Davies J, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *International Endodontic Journal* 2002;35(3):221-28.
13. Siqueira JF, Jr., Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J* 1999;32(5):361-9.
14. Siqueira JF UM. Influence of different vehicles on the antibacterial effect of calcium hydroxide. *J Endod.* 1998(24):663-5.
15. Dural E. *Farmakoloji*. İstanbul: Nobel tıp kitabevi; 2012.
16. Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *Int Endod J* 1996;29(2):118-24.
17. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J* 1996;29(2):125-30.
18. Shrivastava R, Rai VK, Kumar A, et al. An in vitro Comparison of Endodontic Medicaments Propolis and Calcium Hydroxide alone and in Combination with Ciprofloxacin and Moxifloxacin against *Enterococcus Faecalis*. *J Contemp Dent Pract* 2015;16(5):394-9.
19. Salem-Milani A, Balaei-Gajan E, Rahimi S, et al. Antibacterial Effect of Diclofenac Sodium on *Enterococcus faecalis*. *J Dent (Tehran)* 2013;10(1):16-22.

20. Tavares WL, de Brito LC, Henriques LC, et al. Effects of calcium hydroxide on cytokine expression in endodontic infections. *J Endod* 2012;38(10):1368-71.
21. Jiang J, Zuo J, Chen SH, Holliday LS. Calcium hydroxide reduces lipopolysaccharide-stimulated osteoclast formation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95(3):348-54.
22. Aşçı S. *Endodonti*. İstanbul; 2014.
23. Kumar V AA, Fausto N, et al, editors. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease*, ed 8. Philadelphia: Saunders; 2010.
24. Majno G JI. *Cells, tissues, and disease* Oxford University Press 2004.
25. Nair PR, Sjögren U, Sundqvist G. Cholesterol crystals as an etiological factor in non-resolving chronic inflammation, an experimental study in guinea pigs. *European journal of oral sciences* 1998;106(2p1):644-50.
26. Nair P. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 2004(15):348–81.
27. Liapatas S, Nakou M, Rontogianni D. Inflammatory infiltrate of chronic periradicular lesions: an immunohistochemical study. *Int Endod J* 2003;36(7):464-71.
28. Marton IJ, Kiss C. Characterization of inflammatory cell infiltrate in dental periapical lesions. *Int Endod J* 1993;26(2):131-6.
29. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000;343(1):37-49.
30. Goldsmith LA KS, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ, Wolff K. Fitzpatrick' *Dermatology in General Medicine*. USA McGrawHill Companies Inc. 8th edition; 2012. p. 105-499.
31. Hyde RM. *Microbiology & Immunology*. New York: Springer; 1995.

32. Schonfeld SE, Greening AB, Glick DH, et al. Endotoxic activity in periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982;53(1):82-7.
33. Dahlen G, Magnusson BC, Moller A. Histological and histochemical study of the influence of lipopolysaccharide extracted from *Fusobacterium nucleatum* on the periapical tissues in the monkey *Macaca fascicularis*. *Arch Oral Biol* 1981;26(7):591-8.
34. Akira S TK, Kaisho T:. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity,. *Nature Immunol* 2. 2001:675, 2001.
35. Janeway Jr CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annual review of immunology* 2002;20(1):197-216.
36. Medzhitov R, Janeway C, Jr. Innate immunity. *N Engl J Med* 2000;343(5):338-44.
37. Babior B. The respiratory burst of phagocytes. *The Journal of clinical investigation* 1984;73(3):599-601.
38. Nauseef W. How human neutrophils kill and degrade microbes: an integrated view. . *Immunol Rev* 2007(219):88.
39. Brinkmann V, Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs. *Nat Rev Microbiol* 2007;5(8):577-82.
40. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* 2007;176(2):231-41.
41. Mills J. *Medical Immunology. Mechanisms of immunity to infection.*: Appleton and Lange; 1997. p. 678-83.
42. Delves PJ RI. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000(343):37-49.

43. Orstavik D. Essential endodontology: prevention and treatment of apical periodontitis.; 2008.
44. Abbas AK LA PJ. Cellular and molecular immunology; 2007.
45. Damoiseaux J. Regulatory T cells: back to the future. *Neth J Med* 2006.(4):64.
46. de Brito LC, Teles FR, Teles RP, et al. T-lymphocyte and cytokine expression in human inflammatory periapical lesions. *J Endod* 2012;38(4):481-5.
47. Silva TA, Garlet GP, Fukada SY, Silva JS, Cunha FQ. Chemokines in oral inflammatory diseases: apical periodontitis and periodontal disease. *J Dent Res* 2007;86(4):306-19.
48. Barkhorda RA, Desouza Y. Human T-lymphocyte subpopulations in periapical lesions. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 1988;65(6):763-66.
49. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M. The immune system in health and disease: immunobiology. Gerald Publishing, New York Jerne NK (1955) The natural selection theory of antibody formation. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001;41:849-57.
50. Tani N. Bacteriological and immunological studies on the mechanism of development of periapical lesion. Immunobiological activities and localization in periapical lesion of the cellular components from *Bacteroides buccae*. *Kanagawa Shigaku* 1989(23):45.
51. Birklein F, Schmelz M. Neuropeptides, neurogenic inflammation and complex regional pain syndrome (CRPS). *Neurosci Lett* 2008;437(3):199-202.
52. Brian S. Sensory peptides: their role in inflammation and wound healing. *Immunopharmacology* 1997(37):133.
53. Stashenko P TR, D'Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 1998(9):498–521.

54. Caviedes-Bucheli J, Munoz HR, Azuero-Holguin MM, Ulate E. Neuropeptides in dental pulp: the silent protagonists. *J Endod* 2008;34(7):773-88.
55. Niederman R, Westernoff T, Lee C, et al. Infection-mediated early-onset periodontal disease in P/E-selectin-deficient mice. *J Clin Periodontol* 2001;28(6):569-75.
56. Torabinejad M KJ. Identification and relative concentration of B and T lymphocytes in human chronic periapical lesions. . *J Endod* 1985(11):122–5.
57. Wallstrom JB, Torabinejad M, Kettering J, McMillan P. Role of T cells in the pathogenesis of periapical lesions. A preliminary report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;76(2):213-8.
58. Tani N, Kuchiba K, Osada T, Watanabe Y, Umemoto T. Effect of T-cell deficiency on the formation of periapical lesions in mice: histological comparison between periapical lesion formation in BALB/c and BALB/c nu/nu mice. *J Endod* 1995;21(4):195-9.
59. Hanada T YA. Regulation of cytokine signaling and inflammation, . *Cytokine Growth Factor Rev* 2002(13):413.
60. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature* 2002(420):846.
61. Seo B-M MM, Gronthos S, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004(364):149.
62. Desmouliere A, Redard M, Darby I, Gabbiani G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar. *Am J Pathol* 1995;146(1):56-66.
63. Greenhalgh D. The role of apoptosis in wound healing,. *Int J Biochem Cell Biol* 1998(30):1019.



64. Trombelli L, Lee MB, Promsudthi A, Guglielmoni PG, Wikesjo UM. Periodontal repair in dogs: histologic observations of guided tissue regeneration with a prostaglandin E1 analog/methacrylate composite. *J Clin Periodontol* 1999;26(6):381-7.
65. Egelberg J. Regeneration and repair of periodontal tissues. *J Periodontal Res* 1987;22(3):233-42.
66. Grzesik WJ, Narayanan AS. Cementum and periodontal wound healing and regeneration. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13(6):474-84.
67. Kierszenbaum A. *Histology and cell biology*. Mosby. : St. Louis; 2002.
68. Linkhart TA, Mohan S, Baylink DJ. Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF beta and BMP. *Bone* 1996;19(1 Suppl):1s-12s.
69. Andreasen J, Rud J. Modes of healing histologically after endodontic surgery in 70 cases. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 1972;1(3):148-60.
70. Manolagas S. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocrine Reviews* 2000(21):115-37.
71. Matsuo K IN. Osteoclast-osteoblast communication. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2008(2):201-9.
72. Khan AA, McCreary B, Owatz CB, et al. The development of a diagnostic instrument for the measurement of mechanical allodynia. *J Endod* 2007;33(6):663-6.
73. Wang CY, Tani-Ishii N, Stashenko P. Bone-resorptive cytokine gene expression in periapical lesions in the rat. *Oral Microbiol Immunol* 1997;12(2):65-71.

74. Pfeilschifter J, Chenu C, Bird A, Mundy GR, Roodman GD. Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulate the formation of human osteoclastlike cells in vitro. *J Bone Miner Res* 1989;4(1):113-8.
75. Tani-Ishii N, Wang CY, Stashenko P. Immunolocalization of bone-resorptive cytokines in rat pulp and periapical lesions following surgical pulp exposure. *Oral Microbiol Immunol* 1995;10(4):213-9.
76. Graves DT, Delima AJ, Assuma R, et al. Interleukin-1 and tumor necrosis factor antagonists inhibit the progression of inflammatory cell infiltration toward alveolar bone in experimental periodontitis. *J Periodontol* 1998;69(12):1419-25.
77. Kwan Tat S, Padrines M, Theoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15(1):49-60.
78. Yoshida H HS, Kunisada T, Ogawa M, Nishikawa S, Okamura H, Sudo T, Shultz LD. The murine mutation osteopetrosis is in the coding region of the macrophage colony stimulating factor gene. *Nature* 1990(345):442-44.
79. Einhorn TA. Metabolic bone disease. In: Einhorn T OKR, Buckwalter J., *Orthopaedic Basic Science: Foundations of Clinical Practice*. American Academy of Orthopaedic Surgeons 2007:427-38.
80. Boyce B, Xing L. Biology of RANK, RANKL and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther* 2007;9:1.
81. Lacey DL, Timms E, Tan HL, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998;93(2):165-76.
82. Blair JM, Zheng Y, Dunstan CR. RANK ligand. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(6):1077-81.

83. Barkhordar RA, Hussain MZ, Hayashi C. Detection of interleukin-1 beta in human periapical lesions. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology* 1992;73(3):334-36.
84. Wada T, Nakashima T, Hiroshi N, Penninger JM. RANKL-RANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease. *Trends Mol Med* 2006;12(1):17-25.
85. Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 2001(142):5050-55.
86. Kawai T MT, Hosokawa Y, et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *American Journal of Pathology* 2006(169):987–98.
87. Kawai T, Shimauchi H, Eastcott JW, Smith DJ, Taubman MA. Antigen direction of specific T-cell clones into gingival tissues. *Immunology* 1998;93(1):11-9.
88. Taubman MA, Kawai T. Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Crit Rev Oral Biol Med* 2001;12(2):125-35.
89. Y. A. Teng HN, X. Gao et al.,. Functional human Tcell immunity and osteoprotegerin ligand control alveolar bone destruction in periodontal infection. *The Journal of Clinical Investigation*, 2000(106):59-67.
90. Baker P.J DM, Evans R.T, Dufour L, Johnson E, and Roopenian D.C. CD4(+) T cells and the proinflammatory cytokines gamma interferon and interleukin-6 contribute to alveolar bone loss in mice. *Infection and Immunity* 1999(67):2804–09.
91. Vernal R DN, Hern´andez M. et al., “High expression levels of receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand associated with human chronic periodontitis are

- mainly secreted by CD4(+) T lymphocytes,. *Journal of Periodontology* 2006(77):1772-80.
92. S. Kamiya MO, Y. Chiba et al. IL-27 suppresses RANKL expression in CD4(+) T cells in part through STAT3. *Immunology Letters* 2011.(138):47–53.
93. Gao Y GF, Ryan M.R, et al. IFN- $\gamma$  stimulates osteoclast formation and bone loss in vivo via antigen-driven T cell activation. *The Journal of Clinical Investigation* 2007(117):122–32.
94. Han X LX, Seliger A. R, Eastcott J, Kawai T, and Taubman M. A. Expression of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand by B cells in response to oral bacteria. *Oral Microbiology and Immunology* 2009(24):190–96.
95. Atkins G.J KP, Pan B, et al. RANKL expression is related to the differentiation state of human osteoblasts. *Journal of Bone and Mineral Research* 2003(18):1088–98.
96. Nakanishi T, Shimizu H, Hosokawa Y, Matsuo T. An immunohistological study on cyclooxygenase-2 in human dental pulp. *J Endod* 2001;27(6):385-8.
97. Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. *Cell* 2002(111):927–30.
98. Lien HHaE. Toll-like receptors and their function in innate and adaptive immunity. *International Archives of Allergy and Immunology* 2003(130):180–92.
99. Wei S, Kitaura H, Zhou P, Ross FP, Teitelbaum SL. IL-1 mediates TNF-induced osteoclastogenesis. *J Clin Invest* 2005;115(2):282-90.
100. Fujihara R, Usui M, Yamamoto G, et al. Tumor necrosis factor-alpha enhances RANKL expression in gingival epithelial cells via protein kinase A signaling. *J Periodontal Res* 2014;49(4):508-17.

101. Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000* 2010;52(1):163-206.
102. Suda K, Udagawa N, Sato N, et al. Suppression of osteoprotegerin expression by prostaglandin E2 is crucially involved in lipopolysaccharide-induced osteoclast formation. *J Immunol* 2004;172(4):2504-10.
103. de Vries TJ, Schoenmaker T, Wattanaroonwong N, et al. Gingival fibroblasts are better at inhibiting osteoclast formation than periodontal ligament fibroblasts. *J Cell Biochem* 2006;98(2):370-82.
104. Boyce BF XL. Biology of RANK,RANKL and osteoprotegerin *Arthritis Res Ther* 2007;9:1.
105. Hofbauer L. Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: novel implications for osteoclast biology and bone metabolism. *Eur J Endocrinol* 1999(141):195-210.
106. Blair JM ZY, Dunstan CR. RANK ligand *Int J Biochem Cell Biol* 2007(39):1077-81.
107. Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1997;390(6656):175.
108. Xing L, Schwarz EM, Boyce BF. Osteoclast precursors, RANKL/RANK, and immunology. *Immunol Rev* 2005;208:19-29.
109. Yao Z, Li P, Zhang Q, et al. Tumor necrosis factor-alpha increases circulating osteoclast precursor numbers by promoting their proliferation and differentiation in the bone marrow through up-regulation of c-Fms expression. *J Biol Chem* 2006;281(17):11846-55.
110. Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 2001;142(12):5050-5.

111. Stejskal D, Bartek J, Pastorkova R, et al. Osteoprotegerin, RANK, RANKL. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 2001;145(2):61-4.
112. Tsuda E, Goto M, Mochizuki S, et al. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. Biochem Biophys Res Commun 1997;234(1):137-42.
113. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. Cell 1997;89(2):309-19.
114. Kuntz KA, Brown CE, Jr., Legan JJ, Kafrawy AH. An immunohistochemical study of osteoprotegerin in the human dental pulp. J Endod 2001;27(11):666-9.
115. Kostenuik PJ SV. Osteoprotegerin: A Physiological and Pharmacological Inhibitor of Bone Resorption. Curr Pharm Des 2001;7:613-35.
116. Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. Endocrinology 2001(142):5050-5.
117. Hofbauer LC NA, Heufelder AE. Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin: potential implications for the pathogenesis and treatment of malignant bone diseases. Cancer 2001(92):460-70.
118. Luvizuto ER, Queiroz TP, Dias SM, et al. Histomorphometric analysis and immunolocalization of RANKL and OPG during the alveolar healing process in female ovariectomized rats treated with oestrogen or raloxifene. Arch Oral Biol 2010;55(1):52-9.
119. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. Proc Natl Acad Sci U S A 1998;95(7):3597-602.

120. Hasegawa T, Yoshimura Y, Kikuri T, et al. Expression of receptor activator of NF-kappa B ligand and osteoprotegerin in culture of human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res* 2002;37(6):405-11.
121. Kanzaki H, Chiba M, Shimizu Y, Mitani H. Dual regulation of osteoclast differentiation by periodontal ligament cells through RANKL stimulation and OPG inhibition. *J Dent Res* 2001;80(3):887-91.
122. Brandstrom H BT, Ljunggren O. Regulation of osteoprotegerin secretion from primary cultures of human bone marrow stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001(280):831-35.
123. Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, et al. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;275(3):768-75.
124. Beer R BM, Kielbassa AM. *Endodonti Cep Atlası*. İstanbul: Nobel; 2009.
125. Weismann H. Bleaching non-vital teeth. *Dent Sur* 1968(16):44,52.
126. Verniek AA GW. Das Bleichen verfaerbter marktoter Zaehne *Zahnaerzt Welt* 95 1986(130).
127. Friedman S. Treatment outcome and prognosis of endodontic therapy. *Essential endodontology*. Oxford: Blackwell Science; 1998.
128. Molarder A RC, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1998(31):17.
129. Xavier AC, Martinho FC, Chung A, et al. One-visit versus two-visit root canal treatment: effectiveness in the removal of endotoxins and cultivable bacteria. *J Endod* 2013;39(8):959-64.

130. Rocas IN, Siqueira JF, Jr. Identification of bacteria enduring endodontic treatment procedures by a combined reverse transcriptase-polymerase chain reaction and reverse-capture checkerboard approach. *J Endod* 2010;36(1):45-52.
131. Rocas IN, Neves MA, Provenzano JC, Siqueira JF, Jr. Susceptibility of as-yet-uncultivated and difficult-to-culture bacteria to chemomechanical procedures. *J Endod* 2014;40(1):33-7.
132. Fabricius L, Dahlen G, Holm SE, Moller AJ. Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. *Scand J Dent Res* 1982;90(3):200-6.
133. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. THE EFFECTS OF SURGICAL EXPOSURES OF DENTAL PULPS IN GERM-FREE AND CONVENTIONAL LABORATORY RATS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;20:340-9.
134. Moller AJ, Fabricius L, Dahlen G, Sundqvist G, Happonen RP. Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. *Eur J Oral Sci* 2004;112(3):207-15.
135. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85(1):86-93.
136. Abbott P. Medicaments: aids to success in endodontics. Part 1. A review of literature. *Aust Dent J* 1990(35):438-48.
137. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res* 1981;89(4):321-8.



138. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983;55(3):307-12.
139. Spångberg LS, Haapasalo M. Rationale and efficacy of root canal medicaments and root filling materials with emphasis on treatment outcome. *Endodontic Topics* 2002;2(1):35-58.
140. Reit C, Dahlen G. Decision making analysis of endodontic treatment strategies in teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1988;21(5):291-9.
141. Fava LR, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. *Int Endod J* 1999;32(4):257-82.
142. Silva L, Nelson-Filho P, Leonardo MR, Rossi MA, Pansani CA. Effect of calcium hydroxide on bacterial endotoxin in vivo. *J Endod* 2002;28(2):94-8.
143. Estrela C, Pimenta FC, Ito IY, Bammann LL. In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. *J Endod* 1998;24(1):15-7.
144. Mizuno M BY. Calcium ion release from calcium hydroxide stimulated fibronectin gene expression in dental pulp cells and the differentiation of dental pulp cells to mineralized tissue forming cells by fibronectin. . *Int Endod J* 2008(41):933-8.
145. Kontakiotis E, Nakou M, Georgopoulou M. In vitro study of the indirect action of calcium hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. *Int Endod J* 1995;28(6):285-9.
146. Siqueira JF RI. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 2008(34):1291-301.
147. Gomes BP, Ferraz CC, Garrido FD, et al. Microbial susceptibility to calcium hydroxide pastes and their vehicles. *J Endod* 2002;28(11):758-61.

148. Leonardo MR ea. Endodontia Tratamento dos Canais Radiculares. Sao Paulo, Panamericana 1982.
149. Shetty S, Manjunath MK, Tejaswi S. An In-vitro Evaluation of the pH Change Through Root Dentin Using Different Calcium Hydroxide Preparations as an Intracanal Medicament. J Clin Diagn Res 2014;8(10):Zc13-6.
150. Fava L. Pastas de hidróxido de cálcio. Considerações sobre seu emprego clínico em Endodontia. Rev Paulista de Odontol 1991(13):36-43.
151. Marques JLL ea. Avaliação da velocidade de dissociação iônica do hidróxido de cálcio associado a diferentes veículos Rev de Odontol da UNESP 1983(8):1-6.
152. Şen BH ea. A new method for studying adhesion of Candida alb, cans to dentine in the presence of smear layer. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 2003(96):201-6.
153. Holland R ea. root canal treatment with calcium hydroxide. Effect of an oily or water solubl vehicle. Rev de Odontol da UNESP 1983(12):1-6.
154. Bairy I, Bhat K, Shivananda P. An in vitro evaluation of antibacterial action of calcium hydroxide against caustic organisms of osteomyelitis. Indian J Med Microbiol 1933;11:238-42.
155. Bhat KS WS. Evaluation of bactericidal property of propylene glycol for its possible use in endodontics. . Arogya J Health Sci 1975(1):54-9. .
156. Olitzky I. Antimicrobial properties of a propylene glycol based topical therapeutic agent. . J Pharm Sci 1965(54):787-8.
157. Thomas PA, Bhat KS, Kotian KM. Antibacterial properties of dilute formocresol and eugenol and propylene glycol. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1980;49(2):166-70.

158. Molander A, Reit C, Dahlen G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide in root canals pretreated with 5% iodine potassium iodide. *Endod Dent Traumatol* 1999;15(5):205-9.
159. Abbott PV, Hume WR, Pearman JW. Antibiotics and endodontics. *Australian dental journal* 1990;35(1):50-60.
160. Grossman L. Polyantibiotic treatment of pulpless teeth. . *J Am Dent Assoc* 1951(43):265-78.
161. Sato I A-KN, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *Int Endod J* 1996(29):118-24.
162. Windley W, 3rd, Teixeira F, Levin L, Sigurdsson A, Trope M. Disinfection of immature teeth with a triple antibiotic paste. *J Endod* 2005;31(6):439-43.
163. Madhubala MM, Srinivasan N, Ahamed S. Comparative evaluation of propolis and triantibiotic mixture as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2011;37(9):1287-9.
164. Albuquerque MT, Valera MC, Moreira CS, et al. Effects of ciprofloxacin-containing scaffolds on *enterococcus faecalis* biofilms. *Journal of endodontics* 2015;41(5):710-14.
165. Boursinos LA, Karachalios T, Poultsides L, Malizos KN. Do steroids, conventional non-steroidal anti-inflammatory drugs and selective Cox-2 inhibitors adversely affect fracture healing? *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2009;9(1):44-52.
166. Gerstenfeld LC, Einhorn TA. COX inhibitors and their effects on bone healing. *Expert Opin Drug Saf* 2004;3(2):131-6.

167. Harder AT, An YH. The mechanisms of the inhibitory effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on bone healing: a concise review. *J Clin Pharmacol* 2003;43(8):807-15.
168. Buer J. Origins and impact of the term 'NSAID'. *Inflammopharmacology* 2014(22):263-7.
169. Melli M KS. Non-Steroidil Antiinflatuar ilaçlar. Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 2012: Pelikan Yayıncılık. p. 869-902.
170. Fracon RN, Teofilo JM, Satin RB, Lamano T. Prostaglandins and bone: potential risks and benefits related to the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in clinical dentistry. *J Oral Sci* 2008;50(3):247-52.
171. Dastidar SG, Ganguly K, Chaudhuri K, Chakrabarty AN. The anti-bacterial action of diclofenac shown by inhibition of DNA synthesis. *Int J Antimicrob Agents* 2000;14(3):249-51.
172. Mazumdar K, Dastidar SG, Park JH, Dutta NK. The anti-inflammatory non-antibiotic helper compound diclofenac: an antibacterial drug target. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28(8):881-91.
173. Dutta NK, Annadurai S, Mazumdar K, et al. Potential management of resistant microbial infections with a novel non-antibiotic: the anti-inflammatory drug diclofenac sodium. *Int J Antimicrob Agents* 2007;30(3):242-9.
174. Martinho FC, Nascimento GG, Leite FR, et al. Clinical influence of different intracanal medications on Th1-type and Th2-type cytokine responses in apical periodontitis. *J Endod* 2015;41(2):169-75.
175. Majno G JI. *Cells, tissues, and disease*, ed 2., Oxford: Oxford University Press; 2004.

176. Stashenko P, Yu SM, Wang CY. Kinetics of immune cell and bone resorptive responses to endodontic infections. *J Endod* 1992;18(9):422-6.
177. Takahashi K. Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease. *Int Endod J* 1998(31):311–25.
178. de Brito LCN TF, Teles RP, Totola AH, Vieira LQ. T-Lymphocyte and Cytokine Expression in Human Inflammatory Periapical Lesions. *J Endod* 2012(38):481–85.
179. Meng LJ, Qiu LH, Yu YQ, et al. [The effect of calcium hydroxide on IL-6 and TNF-alpha expression of osteoblast in periapical tissues]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* 2016;25(1):32-7.
180. Vianna ME, Horz HP, Conrads G, et al. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. *Oral Microbiol Immunol* 2007;22(6):411-8.
181. Khan AA, Sun X, Hargreaves KM. Effect of calcium hydroxide on proinflammatory cytokines and neuropeptides. *J Endod* 2008;34(11):1360-63.
182. Han B, Wang X, Liu J, et al. Influence of calcium hydroxide-loaded microcapsules on osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand activity. *J Endod* 2014;40(12):1977-82.
183. Ferreira DC, Brito DG, Cavalcanti BN. Cytokine production from human primary teeth pulp fibroblasts stimulated by different pulpotomy agents. *J Dent Child (Chic)* 2009;76(3):194-8.
184. Hofbauer LC, Neubauer A, Heufelder AE. Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin: potential implications for the pathogenesis and treatment of malignant bone diseases. *Cancer* 2001;92(3):460-70.

185. Marinho AC, Martinho FC, Leite FR, Nascimento GG, Gomes BP. Proinflammatory Activity of Primarily Infected Endodontic Content against Macrophages after Different Phases of the Root Canal Therapy. *J Endod* 2015;41(6):817-23.
186. Takayanagi H, Kim S, Koga T, et al. Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Dev Cell* 2002;3(6):889-901.
187. McKee MD, Nanci A. Osteopontin at mineralized tissue interfaces in bone, teeth, and osseointegrated implants: ultrastructural distribution and implications for mineralized tissue formation, turnover, and repair. *Microsc Res Tech* 1996;33(2):141-64.
188. Marcal JR, Samuel RO, Fernandes D, et al. T-helper cell type 17/regulatory T-cell immunoregulatory balance in human radicular cysts and periapical granulomas. *J Endod* 2010;36(6):995-9.
189. De Rossi A, Rocha LB, Rossi MA. Interferon-gamma, interleukin-10, Intercellular adhesion molecule-1, and chemokine receptor 5, but not interleukin-4, attenuate the development of periapical lesions. *J Endod* 2008;34(1):31-8.
190. Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15(6):348-81.
191. Silva TA, Garlet GP, Lara VS, et al. Differential expression of chemokines and chemokine receptors in inflammatory periapical diseases. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20(5):310-6.
192. Safavi KE, Rossomando EF. Tumor necrosis factor identified in periapical tissue exudates of teeth with apical periodontitis. *J Endod* 1991;17(1):12-4.

193. Colic M GD, Vucevic D, Vasilijic S, Rudolf R, Lukic A. Proinflammatory and immunoregulatory mechanisms in periapical lesions. . Mol Immunol 2009(47):101–13.
194. Wang CY, Stashenko P. The role of interleukin-1 alpha in the pathogenesis of periapical bone destruction in a rat model system. Oral Microbiol Immunol 1993;8(1):50-6.
195. Sasaki H, Hou L, Belani A, et al. IL-10, but not IL-4, suppresses infection-stimulated bone resorption in vivo. J Immunol 2000;165(7):3626-30.
196. Ataoğlu T, Üngör M, Serpek B, et al. Interleukin-1 $\beta$  and tumour necrosis factor- $\alpha$  levels in periapical exudates. International endodontic journal 2002;35(2):181-85.
197. Henriques LC, de Brito LC, Tavares WL, Vieira LQ, Ribeiro Sobrinho AP. Cytokine analysis in lesions refractory to endodontic treatment. J Endod 2011;37(12):1659-62.
198. Takeichi O, Saito I, Tsurumachi T, Moro I, Saito T. Expression of inflammatory cytokine genes in vivo by human alveolar bone-derived polymorphonuclear leukocytes isolated from chronically inflamed sites of bone resorption. Calcif Tissue Int 1996;58(4):244-8.
199. Adl A, Shojaee NS, Motamedifar M. A comparison between the antimicrobial effects of triple antibiotic paste and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis*. Iranian endodontic journal 2012;7(3):149.
200. Hancock HH, 3rd, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2001;91(5):579-86.

201. Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Minotti PG, et al. Antimicrobial activity of triantibiotic paste, 2% chlorhexidine gel, and calcium hydroxide on an intraoral-infected dentin biofilm model. *J Endod* 2013;39(1):115-8.
202. Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *J Endod* 2012;38(10):1372-5.
203. Kim JH, Kim Y, Shin SJ, Park JW, Jung IY. Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. *J Endod* 2010;36(6):1086-91.
204. Althumairy RI, Teixeira FB, Diogenes A. Effect of dentin conditioning with intracanal medicaments on survival of stem cells of apical papilla. *Journal of endodontics* 2014;40(4):521-25.
205. Pereira MS, Rossi MA, Cardoso CR, et al. Cellular and molecular tissue response to triple antibiotic intracanal dressing. *J Endod* 2014;40(4):499-504.
206. Wang X, Thibodeau B, Trope M, Lin LM, Huang GT. Histologic characterization of regenerated tissues in canal space after the revitalization/revascularization procedure of immature dog teeth with apical periodontitis. *J Endod* 2010;36(1):56-63.
207. Arroyo AG, Iruela-Arispe ML. Extracellular matrix, inflammation, and the angiogenic response. *Cardiovascular research* 2010;86(2):226-35.
208. Negm MM. Effect of intracanal use of nonsteroidal anti-inflammatory agents on posttreatment endodontic pain. *ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL* 1994(77):507-13.



209. Ehsani M, Moghadamnia AA, Zahedpasha S, et al. The role of prophylactic ibuprofen and N-acetylcysteine on the level of cytokines in periapical exudates and the post-treatment pain. *Daru* 2012;20(1):30.
210. Sironi M, Gadina M, Kankova M, et al. Differential sensitivity of in vivo TNF and IL-6 production to modulation by anti-inflammatory drugs in mice. *Int J Immunopharmacol* 1992;14(6):1045-50.
211. Spinas GA, Bloesch D, Keller U, Zimmerli W, Cammisuli S. Pretreatment with ibuprofen augments circulating tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and elastase during acute endotoxemia. *J Infect Dis* 1991;163(1):89-95.
212. Shahriari S RA, Jalalzadeh SM, Mani K, Zamani A. Effect of Ibuprofen on IL-1beta, TNF-alpha and PGE2 levels in periapical exudates: a double blinded clinical trial. *Iran J Immunol* 2011(8):176-82.
213. Sabeti M, Simon J, Kermani V, Valles Y, Rostein I. Detection of receptor activator of NF-kappa beta ligand in apical periodontitis. *J Endod* 2005;31(1):17-8.
214. Crotti T, Smith MD, Hirsch R, et al. Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontal Res* 2003;38(4):380-7.
215. Crotti TN, Smith MD, Findlay DM, et al. Factors regulating osteoclast formation in human tissues adjacent to peri-implant bone loss: expression of receptor activator NFkappaB, RANK ligand and osteoprotegerin. *Biomaterials* 2004;25(4):565-73.
216. Silva EJ, Orlowsky NB, Herrera DR, et al. Effectiveness of rotatory and reciprocating movements in root canal filling material removal. *Braz Oral Res* 2015;29:1-6.

217. Silva EJ, Sa L, Belladonna FG, et al. Reciprocating versus rotary systems for root filling removal: assessment of the apically extruded material. *J Endod* 2014;40(12):2077-80.
218. Siqueira Jr JF, Rôças IN, Favieri A, et al. Incidence of postoperative pain after intracanal procedures based on an antimicrobial strategy. *Journal of endodontics* 2002;28(6):457-60.
219. Tanalp J, Kaptan F, Sert S, Kayahan B, Bayırl G. Quantitative evaluation of the amount of apically extruded debris using 3 different rotary instrumentation systems. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(2):250-7.
220. Kelso A. Cytokines: principles and prospects. *Immunol Cell Biol* 1998(76):300-17.
221. Haglund R, He J, Jarvis J, et al. Effects of root-end filling materials on fibroblasts and macrophages in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95(6):739-45.
222. Silva EJ, Brito ME, Ferreira VD, et al. Cytotoxic effect of the debris apically extruded during three different retreatment procedures. *J Oral Sci* 2016;58(2):211-7.
223. Moiseiwitsch JR, Trope M. Nonsurgical root canal therapy treatment with apparent indications for root-end surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;86(3):335-40.
224. Al-Omari M, Dummer P. Canal blockage and debris extrusion with eight preparation techniques. *Journal of endodontics* 1995;21(3):154-58.
225. Uzunoglu E, Turker SA. Impact of different file systems on the amount of apically extruded debris during endodontic retreatment. *Eur J Dent* 2016;10(2):210-4.

226. Dincer AN, Er O, Canakci BC. Evaluation of apically extruded debris during root canal retreatment with several NiTi systems. *Int Endod J* 2015;48(12):1194-8.
227. Lu Y WR, Zhang L, Li HL, Zheng QH, Zhou XD, Huang DM. Apically extruded debris and irrigant with two Ni-Ti systems and hand files when removing root fillings: a laboratory study. *Int Endod J* 2013.
228. Arslan H, Khalilov R, Doğanay E, Karatas E. The effect of various kinematics on postoperative pain after instrumentation: a prospective, randomized clinical study. *Journal of Applied Oral Science* 2016;24(5):503-08.
229. Arslan H, Doğanay E, Alsancak M, et al. Comparison of apically extruded debris after root canal instrumentation using Reciproc® instruments with various kinematics. *International endodontic journal* 2016;49(3):307-10.
230. Montero JC, Mori GG. Assessment of ion diffusion from a calcium hydroxide-propolis paste through dentin. *Braz Oral Res* 2012;26(4):318-22.
231. Lage Marques J, Conti R, Antoniazzi J, Guth I. In vitro assessment of the ionic dissociation velocity of calcium hydroxide to different vehicles. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1994;8(2):81-7.
232. Cruz EV, Kota K, Huque J, Iwaku M, Hoshino E. Penetration of propylene glycol into dentine. *Int Endod J* 2002;35(4):330-6.
233. Srinivas S, Jibhkate N, Baranwal R, Avinash A, Rathi S. Propylene glycol: a new alternative for an intracanal medicament. *Journal of International Oral Health* 2016;8(5):611.
234. Torabinejad M, Kettering JD, McGraw JC, et al. Factors associated with endodontic interappointment emergencies of teeth with necrotic pulps. *J Endod* 1988;14(5):261-6.

235. Shahriari S, Rezaei A, Jalalzadeh SM, Mani K, Zamani A. Effect of Ibuprofen on IL-1beta, TNF-alpha and PGE2 levels in periapical exudates: a double blinded clinical trial. *Iran J Immunol* 2011;8(3):176-82.
236. Shimauchi H, Miki Y, Takayama S, Imai T, Okada H. Development of a quantitative sampling method for periapical exudates from human root canals. *J Endod* 1996;22(11):612-5.
237. Morikawa K, Zhang J, Nonaka M, Morikawa S. Modulatory effect of macrolide antibiotics on the Th1- and Th2-type cytokine production. *Int J Antimicrob Agents* 2002;19(1):53-9.
238. Vellani V, Franchi S, Prandini M, et al. Effects of NSAIDs and paracetamol (acetaminophen) on protein kinase C epsilon translocation and on substance P synthesis and release in cultured sensory neurons. *J Pain Res* 2013;6:111-20.
239. Endres S, Whitaker RE, Ghorbani R, Meydani SN, Dinarello CA. Oral aspirin and ibuprofen increase cytokine-induced synthesis of IL-1 beta and of tumour necrosis factor-alpha ex vivo. *Immunology* 1996;87(2):264-70.

## EKLER

### EK 1. ÖZGEÇMİŞ

#### KİŞİSEL BİLGİLER

- **Adı Soyadı:** Esra Uluköylü
- **Doğum Tarihi:** 29/05/1992
- **Doğum Yeri:** Sakarya
- **Medeni Durumu:** Bekar
- **Uyruğu:** T.C.
- **Adres:** Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, 25240 Erzurum
- **Tel:** 0442 231 1746
- **Fax:** 0442 236 0945
- **E Mail:** esra.ulukoylu@atauni.edu.tr

#### EĞİTİM

- **Lise:** Eyüboğlu Fen Lisesi (2006-2010)
- **Lisans:** İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (2010-2015)
- **Uzmanlık:** Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı (2016- Devam Ediyor)

#### YABANCI DİLLER

- İngilizce

#### ÜYE OLUNAN MESLEKİ KURULUŞLAR

- Türk Diş Hekimleri Birliği
- Türk Endodonti Derneği

## EK 2. ETİK KURUL ONAY RAPORU



T.C  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
ETİK KURULU

Oturum Tarihi: 12.04.2018  
Oturum Sayısı: 5/ 2018

### KARAR

<b>SORUMLU ARAŞTIRMACI</b>	<b>Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KARATAŞ</b> <b>Arş. Gör. Dt. Esra ULUKÖYLÜ</b>
<b>Araştırmanın Açık Adı</b>	<i>Nonsteroid Antiienflamatuvar veya Antibiyotik İlaveli Kalsiyum Hidroksitin Periapikal Lezyonlardan Nükleer Faktör Kappa B Ligandı ve Osteoprotegerin Salınımı Üzerine Etkisi: Prospektif Randimize Klinik Çalışma</i>
<b>Karar No</b>	<b>39.</b>
<b>Alınan Karar</b>	Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KARATAŞ yöneticiliğinde yürütülmekte olan ve Arş. Gör. Dt. Esra ULUKÖYLÜ tarafından hazırlanan <b>“Nonsteroid Antiienflamatuvar veya Antibiyotik İlaveli Kalsiyum Hidroksitin Periapikal Lezyonlardan Prostaglandin, E2, Nükleer Faktör Kappa B ligandı ve Osteoprotegerin Salınımı Üzerine Etkisi: Prospektif Randimize Klinik Çalışma”</b> başlıklı tez çalışması <b>“Nonsteroid Antiienflamatuvar veya Antibiyotik İlaveli Kalsiyum Hidroksitin Periapikal Lezyonlardan Nükleer Faktör Kappa B Ligandı ve Osteoprotegerin Salınımı Üzerine Etkisi: Prospektif Randimize Klinik Çalışma”</b> olarak başlığının değiştirilmesi istenen Uzmanlık Tezinin Sağlık Bakanlığı tarafından yayımlanan 19 Ağustos 2011 tarih ve 28030 sayılı <b>“Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik”</b> hükümlerine bağlı kalınarak yapılmak şartıyla; kabul edilmesinde bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oybirliği ile karar verildi.

Prof. Dr. Taşkın GÜRBÜZ

Etik Kurul Başkanı

Prof. Dr. Ertunç DAYI

Prof. Dr. Recep ÖRBAK

Prof. Dr. A. Berhan YILMAZ

Prof. Dr. K. Meltem ÇOLAK

### EK 3. AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ  
ETİK KURUL BİLİMSEL ARAŞTIRMA VE TEZ BAŞVURU FORMU  
(GÖNÜLLÜLERİN BİLGİLENDİRİLMESİ VE RIZASININ ALINMASI PROTOKOLÜ)



#### GÖNÜLLÜLERİN BİLGİLENDİRİLDİĞİ VE RIZASININ ALINDIĞI GÖSTEREN ANA ESASLAR

NONSTEROİD ANTIENFLAMATUAR VEYA ANTİBİYOTİK İLAVELİ KALSİYUM HİDROKSİTİN PERİAPİKAL LEZYONLARDAN NÜKLEER FAKTÖR KAPPA B LİGANDI VE OSTEOPROTEGERİN SALINIMI ÜZERİNE ETKİSİ: PROSPEKTİF RANDOMİZE KLİNİK ÇALIŞMA

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Projemizde kanal tedavisi yapılarak, kronik apikal periodontitis gelişmiş olan hastalarda kanal yenileme işleminde kullanılacak farklı kanal içi medikamanların RANKL ve OPG salınımı üzerine etkisi incelenecektir. Eğer mediyatör düzeyi beklenildiği gibi olursa lezyon iyileşmesinde yeni kanal içi medikaman seçenekleri sunulacaktır.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz **YRD.DOC.DR. ERTUĞRUL KARATAŞ** veya onun görevlendireceği bir hekim/araştırmacı tarafından muayene edileceksiniz ve bulgular kaydedilecektir. İnceleme sonucunda uygun görürse bu çalışmaya alınacaksınız.

Hastaya kanal yenileme tedavisi yapılacaktır , bu işlem 2 seansta tamamlanacaktır.İlk seans kanal sökölüp kanal içine ikaç yerleştirilecektir. 2. seansta kanal içi ilaç sökölüp dolum ve daimi restorasyon yapılacaktır. Her iki seansta da kanaldan örnek alınacaktır. bu işlemler esnasında hasta ağrı hissetmeyecektir.

#### 10 GÜN

Hastalara tedavi sonrası ağrı derecesini belirten bir form verilir, hastalardan ağrılarını işaretlemeleri istenecektir.Çok şiddetli ağrı durumlarında kullanılmak üzere 600 mg Ibuprofen reçete edilecektir.Apse gelişimi durumunda doktora müracaat etmeleri hususunda bilgilendirilecektir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Sizinle ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacak, ancak çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir.

Proje yürütülmesi esnasında herhangi bir sebep göstermeden aratmadan çekilebilirsiniz(ancak aratmaclar zor durumda brakmamak için aratmadan çekileceimi önceden bildirmemin uygun olacaktır). Bu durumda da sonraki bakmız garanti altına alınacaktır. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi kouluyla aratmac tarafından aratma d tutulabilirsiniz.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun tedavisi sorumlu araştırmacı tarafından yapılacak, tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük talep edilmeyecektir.

#### BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

#### Katılımcı

Ad - Soyad

Adres

Telefon

İmza .....

#### Velisi