



**PERİAPİKAL LEZYONLARDA MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ 9 VE VAZOAKTİF İNTESTİNAL
PEPTİT SALINIMI ÜZERİNE KANAL İÇİ İLAÇLARIN ETKİSİ:
RANDOMİZE KONTROLLÜ KLİNİK ÇALIŞMA**

Mine BÜKER

**Endodonti Anabilim Dalı
Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KARATAŞ**

Uzmanlık Tezi - 2017

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**PERİAPİKAL LEZYONLARDA MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ 9 VE VAZOAKTİF İNTESTİNAL
PEPTİT SALINIMI ÜZERİNE KANAL İÇİ İLAÇLARIN
ETKİSİ: RANDOMİZE KONTROLLÜ KLİNİK ÇALIŞMA**

Mine BÜKER

**Endodonti Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi**

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

**ERZURUM
2017**

T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

PERİAPİKAL LEZYONLARDA MATRİKS METALLOPROTEİNAZ 9 VE
VAZOAKTİF İNTESTİNAL PEPTİT SALINIMI ÜZERİNE KANAL İÇİ
İLAÇLARIN ETKİSİ: RANDOMİZE KONTROLLÜ KLİNİK ÇALIŞMA

DT. MİNE BÜKER

Tez Savunma Tarihi: 25.08.2017

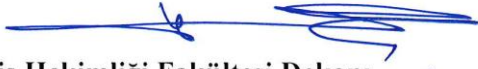
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KARATAŞ

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Hüseyin Sinan Topçuoğlu

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Hakan ARSLAN

ONAY

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı
Prof. Dr. Taşkın GÜRBÜZ

Uzmanlık Tezi
ERZURUM-2017

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Apikal Periodontitis	3
2.2. Apikal Periodontitisin Etiyolojisi	3
2.3. Apikal Periodontitisin Patogenezi	3
2.3.1. Doğal İmmün Yanıt	4
2.3.1.1. Doğal İmmün Sistemin Spesifik Cevabı.....	4
2.3.1.2. Doğal İmmün Sistemin Nonspesifik Yanıtı.....	4
2.3.2. Kazanılmış İmmün Yanıt.....	5
2.3.3. Nörojenik İnflamasyon (Duyusal Sinir Cevabı)	6
2.4. Periapikal Lezyonların Gelişimi ve İyileşmesi	6
2.5. Vazoaktif İntestinal Peptit	8
2.6. Matriks Metalloproteinaz.....	9
2.7. Cerrahi Olmayan Kök Kanal Yenileme Tedavisi	11
2.8. Kanal İçi İlaçlar	12
2.9. Kalsiyum Hidroksit.....	13
2.9.1. Kimyasal Yapısı.....	13
2.9.2. Etki Mekanizması	13

2.9.2.1. Antimikrobiyal Etki	13
2.9.2.2. Antiendotoksin Etki	14
2.9.2.3. Antifungal Etki	15
2.9.2.4. Biyofilm Üzerine Etkisi	16
2.9.2.5. Mineralizasyon Etkisi	16
2.10. Klorheksidin.....	17
2.10.1. Kimyasal Yapısı.....	17
2.10.2. Etki Mekanizması	17
2.10.2.1. Antimikrobiyal Etki	17
2.10.2.2. Antiendotoksin Etki	19
2.10.2.3. Antifungal Etki	19
2.10.2.4. Biyofilm Üzerine Etkisi	20
2.10.2.5. Antikollajenolitik Etki	21
2.11. Cerrahi Olmayan Kanal Tedavisi ve Kök Kanal Yenileme Tedavisinde Sonuç Değerlendirmesi.....	21
3. MATERYAL VE METOT.....	23
3.1. Hasta Seçimi	23
3.1.1. Dahil Edilme Kriterleri	23
3.1.2. Dahil Edilmeme Kriterleri	23
3.2. Tedavi Protokolü.....	23
3.3. MMP 9 ve VIP ELISA Test Analizi	25
3.4. İstatistiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. Biyokimyasal bulgular	29
5. TARTIŞMA.....	35

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR	46
EKLER	72
EK 1. ÖZGEÇMİŞ.....	72
EK 2. ETİK KURUL ONAY RAPORU	73
EK 3. AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	75



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 Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KARATAŞ'a,

Eğitimim boyunca yanımda olan, bilgilerini, tecrübelerini ve önerilerini samimiyetle paylaşan değerli hocam Doç. Dr. Hakan ARSLAN'a,

Ayrıca, endodonti eğitimim boyunca öğrendiklerimi borçlu olduğum değerli hocalarım Prof. Dr. K. Meltem ÇOLAK'a, Prof. Dr. Mustafa KÖSEOĞLU'na, Yrd. Doç. Dr. Aziz Şahin ERDOĞAN'a ve Yrd. Doç. Dr. Halit ALADAĞ'a,

Tez izleme komitesinde yer alan Doç. Dr. Hüseyin Sinan TOPÇUOĞLU'na,

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

Aynı ortamda çalışmaktan keyif aldığım her ihtiyaç duyduğumda yanımda olan asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize, 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.

Mine BÜKER

ÖZET

Periapikal Lezyonlarda Matriks Metalloproteinaz 9 ve Vazoaktif İntestinal Peptit Salınımı Üzerine Kanal İçi İlaçların Etkisi: Randomize Kontrollü Klinik Çalışma

Amaç: Bu çalışmanın amacı, kanal içi ilaç olarak kullanılan kalsiyum hidroksit [Ca(OH)₂] patı ve % 2 klorheksidin (CHX) jelin periapikal lezyonlardaki matriks metalloproteinaz 9 (MMP 9) ve vazoaktif intestinal peptit (VIP) salınımı üzerine etkisinin değerlendirilmesidir.

Materyal ve metot: Çalışmaya dahil edilen 60 hasta bir internet programı yardımı ile kullanılan kanal içi ilaca göre randomize olarak iki gruba ayrıldı: Ca(OH)₂ ve % 2 CHX. Kök kanal örnekleri, tedavi öncesi ve sonrası kağıt konlar kullanılarak dişlerin periapikal dokularındaki interstisyel sıvılarından elde edildi. Tedavi öncesi ve sonrası VIP ve MMP 9 seviyeleri ELISA testi ile belirlendi.

Bulgular: Grup içi analizler, Ca(OH)₂ ilaç grubunda, tedavi sonrası VIP salınım seviyesinin tedavi öncesi VIP salınım seviyesinden anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, CHX grubunda tedavi öncesi ve sonrası MMP 9 salınımı seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Ayrıca, grup içi analizler, Ca(OH)₂ ilaç grubunda tedavi öncesi ve sonrası MMP 9 salınım seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamasına rağmen, CHX ilaç grubunda tedavi sonrası MMP 9 salınım seviyesinin tedavi öncesi düzeyinden yüksek olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Sonuç: Kanal içi ilaç olarak Ca(OH)₂ patının kullanımı, VIP salınım seviyesini arttırmıştır. Bu çalışmanın limitleri dahilinde, periapikal lezyonların iyileşme sürecinde kanal içi ilaç olarak Ca(OH)₂ patı kullanılmasının faydalı olabileceği sonucuna varılabilir.

Anahtar Kelimeler: Periapikal lezyon, MMP 9, VIP, kanal içi ilaç, CHX, Ca(OH)₂

ABSTRACT

Effect Of Intracanal Medicaments On Matrix Metalloproteinase 9 And Vasoactive Intestinal Peptide Secretion In Periapical Lesions: Randomized Controlled Clinical Study

Aim: The aim of the present study was to evaluate the effect of the use of calcium hydroxide paste and % 2 chlorhexidine gel as intracanal medication on matrix metalloproteinase 9 (MMP 9) and vasoactive intestinal peptide (VIP) secretion in periapical lesions.

Material and method: Sixty patients were randomly divided into two groups according to the medication selected using a web program: Ca(OH)₂ and % 2 CHX. Root canal samples were taken from the interstitial fluid of the apical tissues in teeth by using paper points before and after root canal medication. The levels of VIP and MMP 9 before and after medication were measured by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results: Intragroup analyses revealed that in the Ca(OH)₂ medication group postmedication VIP secretion level was significantly higher than the level of premedication VIP secretion. However, in the CHX group there was no statistically significant difference between the premedication and postmedication level of VIP secretion. Moreover, intragroup analyses revealed that in the CHX medication group, the postmedication level of MMP 9 expression were higher than the premedication level, whereas in the Ca(OH)₂ medication group there was no statistically significant difference between the premedication and postmedication level of MMP 9 secretion.

Conclusion: The use of Ca(OH)₂ paste as an intracanal medication increased the level of VIP secretion. With in the limitation of the present study it can be concluded that the use of Ca(OH)₂ paste as an intracanal medication might be beneficial in healing process of periapical lesions.

Key Words: Periapical lesion, MMP 9, VIP, intracanal medication, CHX, Ca(OH)₂

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BCR	: B Hücre Antijen Reseptörü
Ca(OH)₂	: Kalsiyum Hidroksit
CGRP	: Kalsitonin Gen İlişkili Protein
CHX	: Klorheksidin
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetikasit
ELISA	: Enzime- Linked Immunosorbent Assay
ESM	: Ekstrasellüler Matriks
IFN γ	: İnterferon Gama
IL	: İnterlökin
LPS	: Lipopolisakkarit
LTA	: Lipoteikoik Asit
MHC	: Majör Histokompatibilite Kompleksi
ml	: Mililitre
MMP 9	: Matriks Metalloproteinaz 9
NaOCL	: Sodyum Hipoklorit
ng	: Nanogram
NPY	: Nöropeptit Y
OPG	: Osteoprotegerin
PAMP	: Patojenle İlişkili Moleküler Paterni
pg	: Pikogram
PMN	: Polimorfonükleer Lökosit
PRR	: Patern Tanıma Reseptörü

RANK	: Reseptör aktivator nukleer kappa B " receptor activator of nuclear factor kappa-B"
RANKL	: Reseptör aktivator nukleer kappa B Ligand " receptor activator of nuclear factor kappa-B Ligand"
SP	: Substans P
TCR	: T Hücre Antijen Reseptörü
Th	: Yardımcı T Hücreleri
TLR	: Toll Benzeri Reseptör
TNF α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
TNF β	: Tümör Nekroz Faktör Beta
ÜAP	: Üçlü Antibiyotik Patı
VIP	: Vazoaktif İntestinal Peptit
VPAC	: VIP Reseptörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1. Çalışmada yer alan katılımcıların çalışma sürecine dahil olma diyagramı	27
Şekil 4.2. Ca(OH) ₂ grubu tedavi öncesi ve sonrası VIP ortalama değerleri	31
Şekil 4.3. CHX grubu tedavi öncesi ve sonrası VIP ortalama değerleri	32
Şekil 4.4. Ca(OH) ₂ grubundaki MMP 9 seviyelerini göstermektedir.....	33
Şekil 4.5. CHX grubundaki MMP 9 seviyelerini göstermektedir.	34



TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 4.1. VIP değerlendirmesindeki sigara kullanımı ve cinsiyet dağılımı	28
Tablo 4.2. MMP 9 değerlendirmesindeki sigara kullanımı ve cinsiyet dağılımı	28
Tablo 4.3. Lojistik regresyon modeli bulguları.....	29
Tablo 4.4. Lojistik regresyon modeli bulguları.....	29
Tablo 4.5. Tedavi öncesi ve sonrası VIP seviyelerinin ortalama ve standart sapma değerleri	30
Tablo 4.6. Tedavi öncesi ve sonrası MMP 9 seviyelerinin ortalama ve standart sapma değerleri	30

1. GİRİŞ

Apikal periodontitis, periapikal dokularda bulunan ve çoğunlukla kök kanal sisteminin bakteriyel enfeksiyonu ile uyarılan iltihaplı bir hastalıktır.¹ Bakteriler ve toksinleri apikal foramen vasıtasıyla periapikal dokulara ulaştıklarında immün cevabı lokal olarak aktive eder.¹⁻⁶ Bu süreç çok komplekstir ve bağ dokusunun ana bileşenleri olan ekstrasellüler matriks (ESM) bileşenlerinin parçalanmasına yol açarlar. Ayrıca lokal immün cevapta, proinflamatuvar ve immüno-regülatör sitokinler, mediatörler, kemokinler ve nöropeptitler gibi immün hücreler görev alırlar.¹⁻⁶

İmmün hücreler, vazoaaktif intestinal peptit (VIP) ve matriks metalloproteinaz-9 salınımında görev alırlar.⁷⁻⁹ VIP, ağırlıklı olarak parasempatik nöronlarda eksprese edilir. Pulpanın parasempatik innervasyonu ile ilgili bazı tartışmalar olmasına rağmen, VIP, diş pulpa nöronlarında eksprese edildiği bilinmektedir.¹⁰ Ayrıca periapikal lezyonlarda da VIP ekspresyonu olduğu ifade edilmiştir. Periradiküler lezyonların evresine göre VIP salınımını açıklayabilecek, güçlü immünomodülatör özellikler gösterdiğine dair çalışmalar mevcuttur.^{11, 12}

Matriks metalloproteinazlar (MMP), kemik matrisi dahil olmak üzere hücre dışı matrisin (ECM) tüm bileşenlerini topluca parçalayabilen metalloendopeptidazların önemli bir ailesidir.^{13, 14} Birçok çalışma, MMP'lerin pulpa ve periapikal inflamasyonun patogenezine katılmakta olduğunu göstermiştir.¹⁵⁻¹⁸ MMP'lerin işlevlerinin esas olarak ESM'nin bozulması ile ilişkili olduğu göz önüne alındığında, yaygın olarak MMP'lerin iltihabı teşvik edebileceği kabul edilmektedir.¹⁹ Bunun aksine, Tjäderhane ve ark.²⁰ MMP'lerin kimyasal olarak inhibe edildiğinde, kök kanallarında nekroz oranı ve periapikal dokularda lezyon oluşumu arttığı için, MMP'lerin bir antiinflamatuvar rolü olduğunu ifade etmişlerdir. Bu göz önüne alındığında, inflamasyonda MMP'lerin rolleri karmaşık ve çok yönlü olabilir.²¹

Bakteriler ve yan ürünlerinin apikal periodontitisin başlıca nedenlerinden biri olması nedeniyle, optimal kök kanalı dezenfeksiyon protokolünün araştırılmasına özel önem verilmektedir. Kök kanal patojenleriyle antienflamatuar savunma mekanizmaları arasında yeni dengenin kurulmasına katkıda bulunan²², yaygın olarak kullanılan kanal içi ilaçlardan kalsiyum hidroksit (Ca(OH)_2)²³⁻²⁶ ve klorheksidin jel (CHX)²⁷⁻²⁹ iyi bilinen antimikrobiyal özelliklerine rağmen, periapikal dokulardaki immün yanıt üzerindeki etkileri pek bilinmemektedir.. Literatürde Ca(OH)_2 ve CHX jelinin antienflamatuar etkilerinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur^{30, 31}. Fakat bu iki kanal içi ilacın periapikal lezyonlardaki VIP ve MMP 9 salınımı üzerine etkisini araştıran herhangi bir çalışma mevcut değildir. Bu tez çalışmasının amacı, kanal içi ilaçların periapikal lezyonlarda matriks metalloproteinaz-9 ve vazoaaktif intestinal peptit salınımı üzerine etkisini araştırmaktır. Çalışmanın sıfır hipotezine göre, kanal içi ilaç olarak kullanılan Ca(OH)_2 patı ve CHX jelinin periapikal lezyonlardaki VIP ve MMP-9 salınımı üzerine herhangi bir etkisi yoktur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Apikal Periodontitis

Apikal periodontitis, endodontik kökenli etiyolojik ajanlardan kaynaklanan enflamasyon ve periradiküler dokuların tahripidir.¹

2.2. Apikal Periodontitisin Etiyolojisi

Apikal periodontitis hem ekzojen hem de endojen faktörlerden kaynaklanabilir. Dış faktörler; bakteriler ve toksinleri, zararlı metabolik yan ürünleri, kimyasal maddeler, mekanik tahriş, yabancı cisimleri ve travma olabilir. Endojen faktörler; konakçılardan ürat ve kolesterol kristalleri gibi metabolik ürünlerinin³² yanı sıra osteoklastları aktive eden sitokinler veya diğer inflamatuvar mediatörleri içerir³³.

Bakteriler, pulpal hastalıklarda en önemli uyarıcı olarak rol oynarlar.³⁴ Kök kanal sistemi içerisindeki bakterilerin varlığı, eninde sonunda apikal periodontitis olarak bilinen periapikal bir inflamatuvar yanıtı neden olacaktır.¹ Apikal periodontitis, ekzotoksinler ve lipopolisakkaritler gibi yan ürünlerinden kaynaklanan irritasyonun yanı sıra bakterilerin oluşturduğu irritasyona vücut savunma sisteminin bir yanıtıdır.^{35, 36}

2.3. Apikal Periodontitisin Patogenezi

Spesifik olarak hastalığın gelişiminde ortaya çıkan hücresel olaylar ve reaksiyonlar ve diğer patolojik mekanizmalar **patogenez** olarak ifade edilir.

Periapikal dokularda apikal periodontitisin patogenezi üç cevap şeklinde kendini gösterir:

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

2.3.1. Doğal İmmün Yanıt

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 bir enflamatuar reaksiyonu indükleyebilmektedir^{37, 38}. 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.

Eskiden doğal immün sistemin non spesifik cevap verdiği düşünölmekteydi. Ancak PRRlerin keşfi ile bu durum doğal immün cevabın spesifik de olabileceğini düşöndürmüştür^{39, 40}. PRR'ler; hücre yüzeyinde, hücre içi bölömlerde üretilebilir veya kan ve doku sıvılarına salınabilir⁴¹.

PRRler bakterilerde bulunan PAMPları tanırlar. Doğal immünitenin spesifik cevabı işte bu PRRlerin PAMPları tanıyabilmesi sayesinde. PRRlerin aktivasyonu;

- Oponizasyon
- Kompleman ve koagölasyon kaskadının aktivasyonu
- Fagositoz
- Proinflamatuvar sinyal yolunun aktivasyonu
- Apoptozisin uyarılması gibi birçok reaksiyonu tetikler⁴¹.

2.3.1.2. Doğal İmmün Sistemin Nonspesifik Yanıtı

Primer nonspesifik doğal immün yanıt mekanizması polimorfonökleer lökositler(PMN) ve makrofajlar gibi fagositlerin, bakterileri fagosome etmelerine dayanır. Doku enflamasyonu PMN'lerin kan sirkölasyonundan periapikal dokuya geçişine neden olur.¹ Aktive olmuş PMNlerin enflamasyon bölgesine geçişi sonucu, enflamasyon bölgesindeki oksijen tüketim miktarında ani artış olur. Oksijenin hızlı tüketilmesi

serbest oksijen radikallerinin salınımına neden olur. Oksijen radikallerinin salınımı ise hem konak hücrelerine hem de mikroorganizmaya zarar verir.⁴² Bu durum non spesifik doğal immün sistemin mekanizmasını açıklar.

2.3.2. Kazanılmış İmmün Yanıt

Doğal immün cevabın kapasitesini aşan seviyelerde meydana gelen sürekli veya ciddi enfeksiyonlara ve eksojen antijenlere karşı daha spesifik olan adaptif bağışıklık aracılık etmektedir. Adaptif bağışıklığın başlıca bileşenleri T ve B lenfositleridir.⁴³

Kazanılmış immün sistemin spesifikliği B ve T lenfositler tarafından genetik düzeyde meydana gelir. B ve T lenfositleri kompleks bir genetik süreç yürütmektedir. Bu süreç, yabancı ve kendi antijenlerini tanıyabilen ve onlara yapışabilen moleküllerin üretilmesi şeklinde özetlenebilir. Bu moleküller T (T- hücre antijen reseptörleri - TCR'ler) ve B hücrelerinin (B- hücresi antijen reseptörleri –BCR; imminoglobulin de denir) spesifik reseptörleridir. T hücreleri üzerindeki TCR; MHC molekülü içeren antijen sunan hücreler aracılığıyla antijenlerle etkileşime girerken, B hücreleri BCR reseptörleri aracılığıyla antijenlerle direkt etkileşime girmektedir.

T lenfositleri, apikal periodontitiste rol oynayan temel unsurlardan biridir ve sitokinlerin ana kaynağı olarak düşünülür.^{1-3, 44} Bu hücreler, yabancı patojenlerin tanınmasına izin vermek için hücre yüzeyinde antijen-spesifik reseptörleri taşırlar.² CD4 ve CD8 olarak bilinen hücre yüzey moleküllerinin varlığı ile ayırt edilen iki ana T lenfosit altkümüsi vardır.^{2, 45} CD4 eksprese eden T lenfositleri aynı zamanda yardımcı T hücreleri^{1, 2} olarak da bilinir ve bunlar en fazla sitokin üreticileri olarak kabul edilir. Bu alt-grup, Th1 ve Th2'ye bölünebilir ve ürettikleri sitokinler, Th1-tipi ve Th2-tipi sitokinler olarak bilinmektedir. Th1 hücreleri, interferon (IFN) γ , interlökin (IL) -2 ve tümör nekroz faktörü (TNF) β gibi bir proenflamatuar yanıt üretme eğilimindedir. Th2

hücreleri ise, IL-4, IL-5 ve IL-13 gibi anti-enflamatuar sitokinleri üretirler.² Genel olarak Th1 ve Th2 karşılıklı olarak inhibitör etkiye sahiptir.⁴⁶

Kazanılmış immün yanıtta B hücrelerinin rolü esas olarak konakçı humoral bağışıklık tepkisini oluşturan antikorların üretilmesidir. B hücreleri, plazma hücrelerine farklılaştığında çok miktarda antikor salgılanır^{46, 47}. 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.⁴⁸

2.3.3. Nörojenik İnflamasyon (Duyusal Sinir Cevabı)

Bazı primer afferent sinir lifleri çeşitli iritanların stimule etmesi ile, vazodilatasyon, proteinlerin damar dışına çıkması ve makrofaj, nötrofil, lenfosit ve mast hücreleri gibi immün sistem hücrelerinin düzenlenmesi/ göçüne neden olan nöropeptidler salarlar. Bu duruma ‘nörojenik inflamasyon’ adı verilmiştir⁴⁹. İnflamasyon boyunca nöropeptid salınımına neden olan, nörojenik inflamasyona öncülük eden^{12, 49} inflamatuvar mediatörlerde lokal artış olur ve afferent liflerde de filizlenme meydana gelir^{50, 51}.

Kronik apikal periodontitis lezyonlarının gelişiminde nöropeptidler immün düzenlemeye, kemik rezorbsiyonuna ve yara iyileşmesine katılırlar. Substans P (SP) gibi bazı nöropeptitler immün ve inflamatuvar cevabı arttırırken⁵², vazoaktif intestinal peptit (VIP) ve nöropeptid Y (NPY) inflamatuvar cevabı inhibe eder.¹²

2.4. Periapikal Lezyonların Gelişimi ve İyileşmesi

Kök kanal tedavisini takiben mevcut lezyonların periapikal sağlığının veya periapikal iyileşmesinin sürdürülmesini etkileyen faktörler; hasta faktörleri (yaş, cinsiyet, genel sağlık, diş anatomisi, ameliyat öncesi pulpal ve periapikal durum), tedavi faktörleri (operatör değişkenleri, kanal irrigasyonu, ilaç, kültür testi ve obturasyon) ve

restoratif faktörler şeklinde sınıflandırılabilir. Tedavi öncesinde periapikal lezyonun varlığı ve boyutu, kök kanal tedavisinin başarısı üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır.⁵³

Kemik rezorpsiyonu, apikal periodontitisin özelliklerinden biridir. Geleneksel olarak, bir "tampon bölge" oluşturacak şekilde kemiğin enfeksiyon kaynağından kasıtlı olarak uzaklaştırılması olarak ifade edilir, ancak bunun yerine, immün yanıt ve enfeksiyon arasındaki savaşın kaçınılmaz negatif yan etkisi olarak düşünülmelidir.

Kemik rezorpsiyon süreci osteoklastlar tarafından gerçekleştirilir. Bu hücrelerin aktivasyonu, çeşitli potansiyel mediatör moleküllerin aracılığıyla meydana gelir. Bunlardan IL-1- β ve TNF- β sitokinleri en önemlileridir ve aktif makrofajlar (IL-1 β) ve T-lenfositleri (TNF β) tarafından üretilmektedir.^{2, 54} Bu hücreler etkin bir koruyucu bağışıklık tepkisi sağlamak için periapikal dokuda etkinleştirilir. Böylece ESM ve kemik yıkım süreci başlamış olur.

Yara iyileşmesini anlamak, hastalığın patogenezi bilmek kadar önemlidir, çünkü tatmin edici yara iyileşmesi tedavinin nihai hedefidir. Enflamasyon başlar başlamaz iyileşme de başlar.

Uygun kök kanalı tedavisinden sonra apikal periodontitis lezyonlarının yara iyileşmesi şu sırayla gerçekleşir;

- Fibrovasküler granülasyon dokusunun oluşumu,
- Aktive makrofajlar tarafından nekrotik doku ve ölü bakterilerin ortamdan uzaklaştırılması
- Sonuç olarak da onarım veya yaralı dokunun yenilenmesi ile bağ dokuların yara iyileşmesi meydana gelir.

Yara iyileşmesi süreci, hücre-hücre etkileşimleri, hücre-hücre dışı matris etkileşimleri ve hücre yüzeyi reseptörleri ile çeşitli sitokinlerin, büyüme faktörlerinin,

VIP ve CGRP gibi nöropeptidlerin ve apoptozun zamansal ve mekansal ekspresyonu ile düzenlenir.⁵⁵⁻⁵⁷

VIP'ler, periapikal lezyonların iyileşmesi sürecinde , makrofajlar tarafından salınan

TNF- α , IL-2 ve IL-6 sitokinlerin üretimini inhibe ederek antiinflamatuvar görev üstlenirler.⁵⁸ Ayrıca, periapikal lezyon oluşumu sırasında ESM denatürasyonu meydana gelir. MMP-9 da hem ESM dokusunu hem de denatüre olmuş bağ dokusunu yıkarak kemik matriksinin remodelling sürecine katkıda bulunur.⁵⁹

2.5. Vazoaktif İntestinal Peptit

VIP, son keşfedilen pitüiter adenilat siklaz aktive edici polipeptiti içeren glukagon / sekretin ailesine ait 28 amino asitlik bir peptittir⁵⁸. VIP, ilk olarak ince bağırsaktan izole edildi⁶⁰ ve daha sonra merkezi ve periferik sinir sistemlerinde 'yeniden keşfedildi'. Günümüzde VIP'in, geniş bir vücut fonksiyon yelpazesinde fizyolojik düzenleyici etkiye sahip olduğu, çeşitli insan hastalıklarının patogeneğinde rol aldığı ve bazı hastalıkların önlenmesi veya iyileştirilmesi için umut vadettiği düşünülmektedir⁵⁸.

VIP, belirli biyolojik aktivitelerle başlatılan bir yol ile çeşitli biyolojik faaliyetleri düzenler⁵⁸. VIP geniş bir hücre yelpazesinde adenilat siklazla pozitif olarak bağlanmış hücre yüzey reseptörlerine spesifik bağlanarak başlatılan bir yol ile sayısız biyolojik aktiviteleri düzenler.

VIP reseptörlerine VPAC1 ve VPAC2 (VIPR1 ve VIPR2) adı verilmektedir⁶¹. Osteoklastlarda ve osteoblastlarda eksprese edilir.⁶² Ayrıca VPAC1 ve VPAC2, makrofajlar, mast hücreleri, B ve T lenfositleri gibi diğer bağışıklık hücrelerinde de tespit edilmiştir⁶³ ve VIP'in immün yanıtın endojen modülatörü olarak önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.⁶⁴

VIP, ağırlıklı olarak parasempatik nöronlarda eksprese edilir. Ayrıca, diş pulpa nöronlarında da eksprese edilir.¹⁰ Son zamanlarda ise periradiküler lezyonlarda da VIP eksprese edildiği gösterilmiştir¹¹.

Nöropeptitler, periradiküler dokunun yoğun innervasyonu sonucu olarak kronik periapikal lezyonların gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Hem osteoblastların hem de osteoklastların VIP reseptörleri ile donatılmış olduğu ve bu nöropeptidin kemik rezorpsiyonunu düzenleyebileceği öne sürülmüştür. Osteoklast hücre kültürü çalışmaları, fazla VIP konsantrasyonu varlığında hücre hareketliliğini azaltarak ve sitoplazmik büzölmeye yol açarak kemik rezorpsiyonunda lakün oluşumunu azalttığı gösterilmiştir⁶².

VIP, lezyonun büyüme ve olgunlaşma süreçlerine katılabilir, çünkü lezyon kemik rezorpsiyonu ve osteoklastik fonksiyonları düzenleme ile ilişkilendirilmiştir⁶². VIP, osteoklast hücrelerinin aktivitesini azaltarak kemik rezorpsiyonunu inhibe eder. VIP'nin bu etkisi göz önüne alındığında, bu nöropeptidin periapikal lezyonların büyümesini düzenlediği düşünülmüştür.¹¹

Periapikal lezyonlarda yüksek oranlarda makrofaj bildirilmiştir¹². VIP, makrofajlar üzerinde bir etki gösterir ve lipopolisakkaritler tarafından uyarıldığı zaman, tümör nekroz faktörü, interlökin-6- 12 'nin üretimini engeller ve sonuç olarak inflamasyonu azaltır^{58, 65}. Bu bulgular, VIP'in periapikal lezyonların büyümesini kontrol etmede bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

2.6. Matriks Metalloproteinaz

Matriksinler olarak adlandırılan matriks metalloproteinazlar (MMP); kemik matrisi de dahil olmak üzere ekstrasellüler matriksin (ESM) tüm bileşenlerini topluca parçalayabilen önemli bir metalloendopeptidaz ailesidir^{13, 14}. MMP ailesi üyeleri, kollajenazlara (MMP-1, -8 ve -13), jelatinazlara (MMP-2 ve -9), stromelisinler (MMP-3

ve -10), membran tipi MMP'lere (MMP-14, -15, -16, -17 ve -24) ve diğeri (MMP-7, -12, -19, -20, -21, -22 ve -23) şeklinde alt sınıflara ayrılmıştır.⁶⁶

Büyük çoğunluğu bağ dokusu hücreleri ve inflamatuvar fagositler tarafından salınmaktadır. MMP ile bağ dokusu matrisinin gelişimsel olarak modellenmesi, parçalanması ve yeniden şekillendirilmesi, çeşitli hücreler aracılığıyla öncü MMP'lerin salgılanmasını ve proteolitik olarak aktivasyonunu içermektedir.⁶⁷

MMP'lar dokunun yeniden yapılanması, morfogenezis, yara iyileşmesi ve normal gelişimsel süreç gibi fizyolojik durumlarda önemli rol oynarlar. Aynı zamanda tümör hücresi invazyonu, anjiyogenezis ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de yer almaktadırlar⁶⁷⁻⁷³. Ayrıca dentinden, pulpa dokusundan, odontoblastlardan da MMP'ler izole edilmiştir ve dentin matrisi oluşumunda, çürüğün ilerlemesinde, sekonder dentin oluşumunda önemli rol oynarlar.⁷⁴ Ek olarak, kronik apikal periodontitis ve kemik yıkımı lezyonları gibi birçok patolojik süreçte belirgin şekilde MMP düzeyi artmaktadır ve tüm hastalıklı veya iltihaplı dokularda onarım veya yeniden şekillendirme süreçlerinde tespit edilebilir.¹⁸

MMP ailesinden olan ve jelatinazlar olarak bilinen MMP-9'un hem fizyolojik hem de patolojik süreçlerde ekstrasellüler matriksin (ESM) parçalanmasında rol aldığı gösterilmiştir.⁶³ Carneiro ve ark.⁷⁵ apikal periodontitis lezyonlarında MMP 9'un ekspresyonunu incelemişler ve periapikal lezyonlarda artmış MMP-9 düzeyinin olduğunu ve MMP-9'un periapikal lezyonların gelişimi / progresyonu ile ilişkili doku yıkımında rol oynayabileceğini ifade etmişlerdir. Köpeklerde deneysel apikal periodontitis oluşturulan bir çalışmada MMP 9 seviyesinin yüksek olduğu gösterilmiştir.⁷⁶ Ayrıca Leone ve ark.⁷⁷ epitelize gingival lezyonlar ve periapikal lezyonlardaki MMP 9 seviyesini araştırmışlar ve her iki lezyonda da ECM degradasyonunun MMP 9 varlığıyla güçlü bir ilişkisi olabileceğini ifade etmişlerdir.

Buna karşın Wan ve ark.²¹ sağlıklı farelerle karşılaştırıldığında MMP-9 geninden yoksun farelerde daha büyük periapikal lezyon gelişimi gözlemlemişlerdir. Yine aynı çalışmada, MMP 9 geninden yoksun farelerde RANK, RANKL, OPG, IL-1b, TNF-a, MMP-2 ve MMP-8'in ekspresyon seviyelerinin arttığı görülmüştür. Bu durumlar MMP 9' un hem periapikal lezyonların patolojisinde hem de doku iyileşmesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.⁷⁸

Endodontik tedavinin ana hedefi, dişin sağlıklı koşullarda ağız boşluğunda tutulabilmesi için apikal periodontitisin önlenmesi veya tedavi edilmesidir. Maalesef, tüm tedaviler optimum uzun süreli iyileşme ile sonuçlanmaz. Bu durumda, inatçı veya yeni oluşmuş periapikal patolojiye sahip, endodontik tedavili bir dişte uygulanabilecek olan tedavi seçenekleri şu şekilde sıralanabilir; klinik takip, cerrahi olmayan kök kanal yenileme tedavisi, endodontik cerrahi ve çekimdir.⁷⁹

2.7. Cerrahi Olmayan Kök Kanal Yenileme Tedavisi

Yetersiz yapılmış kanal tedavisi veya kanal tedavisi yapılmış dişlerin apikal veya koronal sızıntı nedeniyle tekrar enfekte olması nedeniyle dişlerin tekrar sağlıklı periapikal dokulara kavuşmalarını sağlamak için yapılan işlem kök kanal yenileme olarak ifade edilir. Başarısızlığın ana nedenleri tükürük mikro sızıntı, eksik temizleme ve tıkanma, önceki başarısız endodontik tedavi, dişin anatomisi ve oklüzal travma olarak sayılabilir^{80, 81, 82}.

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 kanalı dezenfeksiyon protokolünün araştırılmasına önem verilmektedir^{23, 24, 26, 83}. Kemomekanik preparasyonunun klinik uygulamada daha önemli olduğu düşünülse de

kök kanalı dezenfeksiyonunu optimize etmek için kanal içi ilaç kullanımının etkisi kanıtlanmıştır^{24, 25, 83}. Bu nedenle, kanal içi ilaçların kullanımı önerilmiştir^{23, 24, 26, 83}

2.8. Kanal İçi İlaçlar

Apikal periodontitis, periapikal dokularda bulunan ve çoğunlukla kök kanalı sisteminin bakteriyel enfeksiyonu ile uyarılan iltihaplı bir hastalıktır¹. Periapikal patolojinin popüler etiyojisi, enfekte kök kanalları yoluyla, bakteriyel enfeksiyonun neden olduğu pulpal inflamasyonun ilerlemesinden kaynaklanan bakteri invazyonunu içerir⁸⁴. Bu nedenle, endodontik tedavi stratejileri, bakterilerin ve yan ürünlerinin kök kanal sisteminden uzaklaştırılmasına yöneliktir.

Tedavi bir randevuda tamamlanamadığında, hayatta kalan kanal içi bakteriler randevular arasında çoğalırlar⁸⁵. Bu nedenle, bakteriyel yeniden büyümeyi sınırlayan, devam eden dezenfeksiyonu sağlayan ve fiziksel bir bariyer yaratacak bir kanal içi ilaç avantajlı olabilir. Bu amaçla kullanılan kanal içi ilaçlar;

1. Fenolik preparatlar,
2. Formaldehit,
3. Halojenler,
4. steroidler,
5. Üçlü antibiyotik patlar,
6. ioaktif camlar,
7. Kalsiyum hidroksit ve
8. Klorheksidindir.

Kalsiyum hidroksit [Ca (OH)₂] en sık kullanılan kanal içi ilaçtır^{23, 24, 26, 86, 87}. Son zamanlarda da klorheksidin (CHX) potansiyel kanal içi ilaç olarak ortaya çıkmıştır^{27, 31, 88, 89}.

2.9. Kalsiyum Hidroksit

2.9.1. Kimyasal Yapısı

$\text{Ca}(\text{OH})_2$ ilk kez 1920'de Hermann tarafından direkt pulpa kapaklama ajanı olarak kullanıma sunulmuştur.⁹⁰ $\text{Ca}(\text{OH})_2$, 74.08 molekül ağırlığında beyaz kokusuz bir tozdur. Sıcaklığın artmasıyla sudaki çözünürlüğü azalır. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 'nin (0.17) ayrışma katsayısının hem kalsiyum hem de hidroksil iyonlarının yavaş salınımını kontrol ettiği gösterilmiştir. Bu düşük çözünürlük yararlı bir klinik özelliktir çünkü yaşamsal dokulardaki sıvılarla doğrudan sahiptir (yaklaşık 12.5-12.8) ve alkolde çözünmez.⁹¹ Kimyasal olarak güçlü bir baz olarak sınıflandırılır. Sert doku oluşumunu indükler

2.9.2. Etki Mekanizması

2.9.2.1. Antimikrobiyal Etki

$\text{Ca}(\text{OH})_2$ 'nin antimikrobiyal aktivitesi, sulu bir ortamda hidroksil iyonlarının salınmasına ilişkindir. Hidroksil iyonları, çok sayıda biyomolekül ile aşırı tepkimeye giren aşırı oksidan serbest radikalleridir. Hidroksil iyonlarının bakteri hücreleri üzerindeki ölümcül etkileri muhtemelen aşağıdaki mekanizmalardan kaynaklanmaktadır.⁹²

- 1. Bakteriyel sitoplazmik membran hasarı:** Hidroksil iyonları lipid peroksidasyonunu tetikler ve hücre zarının fosfolipid yapısal bileşeninin yok edilmesine neden olur.⁹²
- 2. Protein denaturasyonu:** Kalsiyum hidroksit tarafından sağlanan alkalınasyon, proteinlerin üçüncül yapısını koruyan iyonik bağın parçalanmasını indükler.⁹²
- 3. DNA hasarı:** Hidroksil iyonları bakteriyel DNA ile reaksiyona girer ve ipliklerin ayrılmasını indükler. Genler kaybolur. Sonuç olarak, DNA

replikasyonu engellenir ve hücrel aktivite düzensizleşerek bakteri DNA'sı zarar görür.⁹²

Fakat bu üç mekanizmanın hangisinin olduğunu ispatlamak zordur⁹³.

Kalsiyum hidroksitin antibakteriyel etkisi, bilim insanlarının büyük ilgi alanıdır. Antibakteriyel özelliği, Ca^{+2} ve OH^- iyonlarının iyonik ayrışımından kaynaklanmaktadır.⁹²

Sjogren ve ark.⁹⁴ kanal içi ilaç olarak $Ca(OH)_2$ patının 1 hafta süreyle uygulamasının kanal içi bakterilerini azalttığını ve negatif kültür elde edilmesinde yeterli olduğunu göstermişlerdir. Han ve ark.⁹⁵ ise dentin tübüllerindeki *Enterococcus faecalis*'in yok edilmesinde aköz bir $Ca(OH)_2$ pastasının ve silikon yağ esaslı $Ca(OH)_2$ pastasının etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Estrela ve ark.⁹⁶ $Ca(OH)_2$ 'in antimikrobiyal spektrumunun oluşturulmasında ve enfeksiyon kontrol protokollerinin geliştirilmesinde yararlı etkilerini hem direkt temas testi hem de agar difüzyon testi kullanarak incelemişlerdir. Her iki testte de 48 saat sonra, $Ca(OH)_2$ patı taşıyıcıya bakılmaksızın tam bir antimikrobiyal etki göstermiştir⁹⁶. Behnen ve ark.⁹⁷ ise, $Ca(OH)_2$ 'in dentin tübüllerindeki *E. faecalis* sayısını 24 saatte düşürdüğünü ve dentin tübüllerinden *E. faecalis*'in yok edilmesinde viskoz $Ca(OH)_2$ preparatlarının viskoz olmayan preparatlara göre daha az etkili olduğunu göstermişlerdir.

2.9.2.2. Antiendotoksin Etki

Tüm Gram-negatif bakterilerde bulunan endotoksin, polisakaritler, lipitler ve proteinlerden oluşur ve kimyasal yapısını vurgulayan lipopolisakarit (LPS) olarak adlandırılır^{98, 99}. Lipid A, endotoksin molekülünün toksik etkilerinden sorumlu bölgesidir. Serbest hareket ettiğinde, endotoksinler doğrudan hücre ya da doku patozisine neden olmaz, bunun yerine inflamatuvar hücreleri uyararak sitoninlerin salınımına neden olurlar.⁹⁸

Kök kanal tedavisi esnasında, bakteriyel çoğalma veya bakteri ölümü sırasında LPS salınımı inflamatuvar reaksiyona³³ ve periapikal kemik rezorpsiyonuna^{33, 100} neden olan bir dizi biyolojik mekanizmayı aktive eder⁹⁸.

Safavi ve ark.¹⁰¹ Ca(OH)₂'nin endotoksinin zararlı etkilerinden sorumlu oldukça toksik olan lipid A molekülünü hidroliz ettiğini göstermişlerdir. Yine Safavi ve ark.¹⁰² yaptıkları bir diğer çalışmada ise, Ca(OH)₂'nin lipid A'yı , toksik olmayan yağ asit ve amino şeker bileşenlerine dönüştürdüğünü göstermişlerdir. Bu bulgular diğer bazı in vitro çalışmalar tarafından da doğrulanmıştır.^{99, 103} Nelson-Filho ve ark.¹⁰⁴ ve Silva ve ark.¹⁰⁵ yaptıkları in vivo çalışmalarında endotoksinin periapikal lezyonların oluşumuna neden olduğunu ve Ca(OH)₂ bakteriyel LPS'yi inaktive ettiğini ortaya koymuşlardır. Tanomaru ve ark.¹⁰⁶ köpek dişlerinde yaptıkları bir çalışmada, irrigasyon solüsyonları ile yapılan biyomekanik preparasyonun endotoksini inaktive etmediğini göstermişlerdir. Bununla birlikte, kanal içi ilaç olarak Ca (OH)₂ kullanımının, endotoksinin toksik etkilerinin azaltılmasında etkili olduğunu vurgulamışlardır.

Özetle, Gram negatif bakterilerin hücre duvarının bir bileşeni olan endotoksin, inflamasyon ve kemik rezorpsiyonu yapması sebebiyle periapikal lezyonların oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. İn vitro ve in vivo yapılan çalışmalar ışığında, Ca(OH)₂ endotoksinleri inaktive eder ve halen endotoksin inaktivasyonu için klinik olarak etkili tek kanal içi ilaç olduğu görünmektedir⁹³.

2.9.2.3. Antifungal Etki

Mantarlar, birincil kök kanal enfeksiyonlarında nadiren bulunur¹⁰⁷, fakat tedavi sonrası sekonder yada inatçı enfeksiyonlarda daha yaygındırlar¹⁰⁸. Genel olarak, enfekte olmuş kök kanallarındaki mantarların oluşumu % 1 ila % 17 arasında değişir¹⁰⁹.

C. albicans hücrelerinin Ca(OH)_2 'ye karşı çok dirençli olduğu ve tüm Candida türlerinin E. faecalis'e kıyasla kalsiyum hidroksite göre daha yüksek dirence sahip olduğu gösterilmiştir.^{110, 111}

2.9.2.4. Biyofilm Üzerine Etkisi

Biyofilm, bir yüzeye sıkıca bağlanmış, uzantsız çok hücreli bakteriyel topluluk olarak tanımlanabilir. Endodontide, biyofilm oluşturan bakteri topluluklarının tedaviye dirençli apikal periodontitisin nedeni olduğu düşünülmektedir.^{112, 113}

Nair ve ark.¹¹² tek seanslı tedavilerde enstrümantasyon, irrigasyon ve kanal dolum işlemlerinden sonra dahi kanal içerisinde, istmuslarda ve aksesuar kanallardaki el değmemiş bölgelerde biyofilm varlığını göstermişlerdir. Distel ve ark.¹¹⁴, kanal içi ilaç olarak Ca(OH)_2 kullandıkları çalışmalarında, E. faecalis'in kök kanallarında biyofilmler oluşturduğunu taramalı elektron mikroskobu ve taramalı konfokal lazer mikroskobunda göstermişlerdir. Bunun aksine, Chai ve ark.¹¹⁵ Ca(OH)_2 'nin E. faecalis biyofilminin % 100 oranında eliminasyonunda etkili olduğu göstermiştir. Sonuç olarak, Ca(OH)_2 'nin antibiyofilm etkinliğini aydınlatmak için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.9.2.5. Mineralizasyon Etkisi

Apeksifikasyon vakalarında ve pulpa kapaklama ajanı olarak kullanıldığında, kalsiyum hidroksit kalsifiye bir bariyer oluşumunu indükleyebilir.¹¹⁶ Saf kalsiyum hidroksitin yüksek pH'ından dolayı pulpada yüzeysel bir nekroz tabakası oluşur ve bu da yaklaşık 2 mm. derinliktedir.¹¹⁷ Bu tabakanın ötesinde, sadece orta düzeyde bir enflamasyon gerçekleşir ve materyal yerleştirildikten sonra bakterilerden uzak bir alan sağlayarak sert doku oluşturulabilir.¹¹⁸

Onarım ve aktif kalsifikasyonu teşvik eden alkalın bir ortam sağlayan hidroksil grubu Ca(OH)_2 'nin en önemli bileşeni olarak kabul edilir. İndüklenen alkalın pH, osteoklastlardan laktik asidi nötralize etmekle kalmaz, aynı zamanda dentinin mineral

bileşenlerinin çözünmesini önler, ancak sert doku oluşumunda önemli rol oynayan alkalın fosfatazları da aktive edebilir.¹¹⁸ Alkalın fosfataz, inorganik fosfatın fosfat esterlerinden kurtulması vasıtasıyla etki eden hidrolitik bir enzimdir. Fosforik esterleri serbest bırakıp fosfat iyonlarını ayrıştırabilir, bu daha sonra kandaki kalsiyum iyonlarıyla tepkimeye girerek organik matriste bir çökelti olan kalsiyum fosfat oluşturabilir. Bu çökelti, hidroksilapatitin moleküler birimi olup¹¹⁹, mineralizasyon işlemi ile yakından ilişkili olduğuna inanılmaktadır.

2.10. Klorheksidin

2.10.1. Kimyasal Yapısı

CHX, 1959'da bakteri plağını kontrol etmek için kullanılmaya başlanmasına rağmen, dişhekimliğinde kullanımı 1970'lerde Loe ve Schiött tarafından yapılan çalışmaların yayınlanmasından sonra yaygınlaştı.¹²⁰⁻¹²²

CHX, 5.5 ve 7 arasında pH değerine sahiptir. CHX'in yapısal formülü, merkezi bir heksametilen zincir ile bağlanan iki simetrik 4-klorofenil halkasından ve iki biguanit grubundan oluşur.

2.10.2. Etki Mekanizması

Konsantrasyonuna bağlı olarak, CHX hem bakteriyostatik hem de bakterisidal etkilere sahip olabilir. Yüksek konsantrasyonlarda, CHX bir deterjan görevi görür; hücre membranına zarar vererek bakterisidal etkisini gösterir ve sitoplazmanın çökmesine neden olur. Düşük konsantrasyonlarda ise, hücreye kalıcı hasar vermez ve bakteriyostatik etki gösterir¹²³.

2.10.2.1. Antimikrobiyal Etki

CHX geniş etki spektrumuna sahiptir. Gram-pozitif ve Gram negatif bakterilere, fakültatif anaeroblara¹²³⁻¹³³ karşı etkilidir.

Lakhani ve ark.'nın¹³⁴ E. Faecalis eliminasyonunda kanal içi ilaçların etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında % 2'lik CHX jelin en iyi antimikrobiyal etki gösterdiğini ifade etmişlerdir. Ballal ve ark.¹³⁵ yaptıkları çalışmalarında, E. faecalis'e karşı % 2 CHX jelinin Ca (OH)₂ patından daha etkili bir ilaç olduğunu bildirmişlerdir. Ercan ve ark.¹³⁶ E. Faecalis e karşı Ca(OH)₂+ %2 CHX, % 2 CHX ve Ca(OH)₂ 'in antibakteriyel etkinliklerini karşılaştırmışlardır. %2 CHX'in kök kanallarından E. Feacalis eliminasyonunda çok etkili olduğunu ifade etmişlerdir.

CHX'in antimikrobiyal etki devamlılığı, ağızda negatif yüklü yüzeylerin CHX iyonlarını absorbe etme kapasitesinden kaynaklanır. Bir başka deyişle, CHX tarafından salınan pozitif yüklü iyonlar dentin içine adsorbe edilir ve böylelikle devam eden etkisi ile dentin yüzeyindeki mikrobiyal kolonileşmeyi önleyebilir.¹³⁷ White ve ark.¹³⁸ endodontik bir irrigant olarak % 2 CHX solüsyonunun antimikrobiyal etki devamlılığını değerlendirmişlerdir. Bu etkinin 72 saatte son bulduğunu ifade etmişlerdir. Leonardo ve ark.¹³¹ endodontik irrigasyon ajanı olarak % 2 CHX'in antimikrobiyal etkinliğinin devamlılığını incelemişler ve 48 sa. kadar mikrobiyal aktiviteyi engellediğini göstermişlerdir.

Antimikrobiyal etki devamlılığı, dentin ile etkileşime giren CHX moleküllerinin sayısına bağlıdır. Mohammadi ve ark.¹³⁹ 5 dakika uygulama sonrasında CHX solüsyonunun üç konsantrasyonunun (% 4,% 2 ve % 0.2) antibakteriyel etki devamlılığını değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, CHX konsantrasyonu ile antibakteriyel etki devamlılığı arasında doğrudan bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Buna karşın, Komorowski ve ark.¹⁴⁰ CHX'in 5 dakikalık uygulanmasının etki devamlılığına neden olmadığını ve bu etkinin olabilmesi için dentinin CHX solüsyonu ile 7 gün boyunca tedavi edilmesi gerektiğini ifade etmişlerdir.

2.10.2.2. Antiendotoksin Etki

Kök kanal enfeksiyonuna ağırlıklı olarak dahil olan gram negatif bakterilerin dış membran bileşeni olan lipopolisakkarit (LPS, endotoksin) apikal periodontitis patogeneğinde önemli bir etkidir.¹⁴¹

Buck ve ark.¹⁴², CHX'in detoksifikasyon aktivitesi ile ilgili olarak, endotoksin lipid A'nın biyolojik olarak aktif bölümünü inaktive etme konusunda çok az veya hiç etkinlik göstermediğini bildirmişlerdir. Vianna ve ark.²⁷ ise in-vivo olarak yaptıkları çalışmalarında kök kanal prosedürlerinin endotoksinler ve endodontik patojenler üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Kanal içi ilaç olarak Ca(OH)₂, Ca(OH)₂ + CHX ve %2 'lik CHX jeli 1 hafta süreyle kanallarda bekletmişler ve CHX'in endotoksin üzerine etkisinin olmadığı ifade etmişlerdir. Buna benzer olarak, Gomes ve ark.¹⁴³, % 2'lik CHX-jel grubu ve % 2.5'lik NaOCl grubunun antiendotoksin etkinliğini karşılaştırdıkları in vivo çalışmalarında, % 2 CHX'in endotoksinler üzerinde detoksifiye edici etkisi olmadığını ifade etmişlerdir.

Sonuç olarak, bu çalışmalar ışığında CHX'in endotoksinlere etki etmediğini ifade edebiliriz.

2.10.2.3. Antifungal Etki

Genel olarak, enfekte kök kanallarında bildirilen mantar bulunma yüzdesi % 1 ile % 17 arasında değiştiği bildirilmektedir.¹¹⁰ Mantarlar, inatçı periradiküler lezyonlarla ilişkili kalıcı ve sekonder enfeksiyon vakalarında yer alabilir. Antifungal etkinliği olan ilaçlar, mantarların neden olduğu kalıcı veya sekonder endodontik enfeksiyonların başarılı bir şekilde tedavisine yardımcı olabilir.

Waltimo ve arkadaşları¹¹⁰ C. albicans'ın yedi suşunun duyarlılığı açısından IKI, CHX-asetat (% 0.5), NaOCl (% 5 ve % 0.5) ve Ca (OH)₂ dezenfektanlarını karşılaştırmışlardır. Test edilen C. Albicans suşlarının, ilaçlara benzer duyarlılık

gösterdiğini ifade etmişlerdir. Ayrıca *C. albicans* suşlarının en fazla Ca (OH) 2'ye karşı direnç gösterdiklerini fakat NaOCl'in ve IKI'nın 30 saniye içinde ve CHX-asetatın ise 5 dakikada *C.albicans* suşlarına etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Yine, % 2 'lik CHX , Ca (OH)₂ ve nanogümüş jelin antifungal etkinliğini karşılaştıran bir çalışmada, % 2 lik CHX'nin nanogümüş jeline göre daha etkili olduğu göstermiştir.¹⁴⁴ Buna benzer olarak, endodontik yıkama solüsyonlarının antifungal etkinliğinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada ise % 6 NaOCl, % 2 CHX ve Chlor-Xtra'nın MTAD ve Tetraclean'den anlamlı derecede daha etkili olduğunu bildirmişlerdir¹⁴⁵. Sonuç olarak, CHX özellikle *C. albicans*'a karşı etkili bir antifungal ajandır.

2.10.2.4. Biyofilm Üzerine Etkisi

Biofilm, mikroorganizmalar tarafından oluşturulan, mikroorganizmaların herhangi bir yüzeye yada birbirlerine yapışmalarını sağlayan ve mikroorganizmaların içinde gömülü olarak bulunduğu ekstraselüler polimerik maddeden oluşmuş matriks olarak tanımlanabilir.¹⁴⁶ Kök kanallarının çürük sonrası uzun süreli ağız ortamına açık kalması, yetersiz tedavi edilmiş kök kanalları gibi durumlar kök kanal sisteminde biyofilm oluşumu için önemlidir.¹⁴⁷ Biyofilm oluşturmuş bakteriler planktonik koşullarda gelişmiş bakterilerle karşılaştırıldığı zaman antimikrobiyal ajanlara karşı artmış bir dirence sahiptirler.¹⁴⁶

Devaraj ve ark.¹⁴⁸ in vitro olarak *Enterococcus faecalis* biyofilmlerine karşı 5 kanal içi ilacın etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında CHX ve Ca(OH)₂ 'in curcumin, TAP ve DAP'a göre *E. Faecalis* biyofilmlerine daha az etki ettiklerini bildirmişlerdir. Spratt ve ark.¹⁴⁹ kök kanalındaki biyofilmlerine karşı bir % 2.25 NaOCl, % 0.2 CHX, % 10 povidon iyodin, 5 ppm koloidal gümüş ve kontrol grubu olarak fosfat tamponlu çözeltinin (PBS) etkinliğini değerlendirdiler. NaOCl'in en etkili antimikrobiyal ajan olduğunu fakat %0.2 CHX'in *E. Feacalis* biyofilmlerine karşı etkisiz

olduğunu ifade etmişlerdir. Clegg ve ark.¹⁵⁰ üç konsantrasyonda NaOCl (% 6,% 3 ve% 1),% 2 CHX ve MTAD'ın apikal dentin biyofilmlerine karşı ex vivo etkinliği değerlendirmiştir. %6 ve % 3'lük NaOCl 'in biyofilmi parçaladıklarını fakat % 2'lik CHX'in biyofilme etki etmediğini ifade etmişlerdir. Sonuç olarak CHX biofilmlere karşı çok az etki ettiği söylenebilir.

2.10.2.5. Antikollajenolitik Etki

Son yirmi yılda, kimyasal ve teknik ilerlemeler, rezin-dentin bağ kuvveti artışına katkıda bulunmuştur. Bununla birlikte, bond kuvvetinin erken kaybı, adeziv restorasyonları etkileyen problemlerden biridir.

Dentin kollajen fibrillerinin bozulmasının bond bozunmasından sorumlu mekanizmaya katkıda bulunduğu düşüncesi bildirilmiştir.^{151, 152} MMP'ler, tüm hücre dışı matris bileşenlerini parçalayabilen 23 memeli enzimden oluşan bir gruptur. İnsan dentini, kolajenaz (MMP-8), jelatinaz (MMP-2 ve -9) ve enamelizin (MMP-20) ihtiva eder.¹⁵³

MMP'ler sağlıklı koronal ve radiküler dentinde bulunur ve bonding restorasyonlarda kollajen ağı bozulmasında rolü vardır. Dentin kollajenolitik ve jelatinolitik aktiviteler¹⁵¹ proteaz inhibitörleri tarafından durdurulabilir. Bu, geniş spektrumlu bir MMP inhibe edici etkiye sahip olduğu bilinen CHX'in uygulandığı birçok çalışmada gösterilmiştir.¹⁵⁴⁻¹⁵⁶ Fakat CHX'in periapikal dokulardaki interstisyel sıvıda bulunan MMP'ler üzerine etkisi henüz araştırılmamıştır.

2.11. Cerrahi Olmayan Kanal Tedavisi ve Kök Kanal Yenileme Tedavisinde Sonuç Değerlendirmesi

Kök kanal tedavisini takiben yapılan başarı değerlendirme inatçı periapikal hastalığın klinik bulguları ve semptomlarının olmaması şeklindedir. Bununla birlikte,

kesin başarı değerlendirilmesi, periapikal iyileşmedir, çünkü tedavi periapikal hastalığın iyileşmesini amaçlamaktadır¹⁵⁷.

Tedavi sonucunun klinik olarak değerlendirilmesi, ağrı, dişin basınca / perküsyona duyduğu hassasiyetin, ilgili yumuşak dokuların palpasyonuna duyduğu hassasiyetin, şişme ve sinüs yolunun yokluğu gibi enfeksiyon ve enflamasyon bulgularının bulunmamasına ve periodontal ligament boşluğunun tamamen normal gelişimi ile periapikal lezyonun boyutunun küçülmesinin radyografik olarak gösterilmesine (yeterli süre dolduğunda) dayanmaktadır.

Strindberg'in¹⁵⁸ endodontik başarı ve başarısızlığı için yaygın kabul gören tanım hem radyolojik hem de klinik bulguları kapsar. Friedman ve Mor başarı ve başarısızlık yerine iyileşmiş, iyileşen ve hastalık terimlerini tercih etmişlerdir¹⁵⁹. Friedman ve Mor'un 2004 de yaptığı başarı değerlendirme tablosu aşağıdaki gibidir:

İyileşmiş	İyileşmemiş	İyileşmekte
Klinik değerlendirme: normal tablo/ görünüm	Klinik tablo normal olsa bile değişiklik olmaksızın radyolüsensi ortaya çıkmış veya persiste kalmıştır.	Klinik değerlendirme: Normal tablo/ görünüm
Radyografik değerlendirme: normal görünüm	Radyografik durum normal olsa bile, klinik belirtiler veya semptomlar mevcuttur.	Radyografik değerlendirme: Azalmış radyolüsensi

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hasta Seçimi

Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti kliniğine başvuran, 16-45 yaş arası gönüllü 60 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmanın etik kurul belgesi Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurulu tarafından 24/04/2017 tarihinde alındı (Karar no: 28).

3.1.1. Dahil Edilme Kriterleri

1. Kronik apikal periodontitisli kök kanal tedavisi görmüş dişler
2. Kök kırığı, ankiloz ve patolojik mobilitesi olmayan dişler
3. 3 mm'den az cep derinliğine sahip dişler
4. Tek köklü ve tek kanallı dişler

3.1.2. Dahil Edilmeme Kriterleri

1. Çok köklü dişler
2. Kemik metabolizmasını etkileyen hastalıklar(hipertiroidi, osteoporoz vs.)
3. Sistemik rahatsızlığı bulunan hastalar(profilaksi gerektiren hastalar dahil)
4. Son 24 saat içinde NSAİİ alan hastalar
5. Allerji öyküsü bulunan hastalar
6. Palpasyona hassasiyeti olan hastalar
7. VAS>60 olan hastalar
8. Son 1 ay içinde antibiyotik kullanmış hastalar
9. 30°'den fazla eğime sahip dişler

3.2. Tedavi Protokolü

Çalışmaya dahil edilen her hastaya çalışma ile ilgili bilgi verildikten sonra bilgilendirilmiş onam formu okutularak ve bu form imzalatıldı. Hastalar bir web

programını (www.randomizer.org) kullanılarak randomize olarak 2 gruba ayrıldı. Hasta numarası ve grup numarası kaydedildi.

Dahil edilme kriterlerine uyan hastalara, 1:100,000 epinefrin içeren 1.8 ml artikain HCl (Ultracain DS Forte; Pharma Vision San. Ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) kullanılarak infiltratif anestezisi uygulandı. Dişler rubber dam ile izole edildikten sonra kronları ve çevreleyen yapıları 30 saniye süreyle % 30 H₂O₂ ile dezenfekte edildi ve aynı süre boyunca % 2.5 NaOCl uygulandı ve % 5 sodyum tiosülfat ile NaOCl'nin etkisi inaktive edildi.²⁴ Rubber dam izolasyonu altında giriş kavitesi açıldı. Kök kanal dolgu maddesine ulaşıncaya R25 eğesi ile kök kanalındaki gutta perka uzaklaştırıldı ve 15 K file eğe (Mani Inc.; Utsunomiya, Tochigi, Japonya) kullanılarak elektronik apex bulucu (Raypex 6, VDW GmbH, Bayerwaldstr, Münih, Almanya) ile çalışma boyu tespit edildi. Kök kanalları R25 ve R50 (VDW, Münih, Almanya) reciproc eğeleri ile prepare edildi. Radyografik olarak gutta perka varlığı tespit edilmişse ileri preparasyon yapıldı. Kök kanalları eğeler arası 2 ml % 1 lik NaOCl ile irrigate edildi. Örnek alınmadan önce kök kanalları sırasıyla 5'er ml. % 1'lik NaOCl- % 0.5 Na tiosülfat – Distile su ile irrigate edildi. Kök apeksinden 2 mm çıkılarak 3 adet steril 20 numara kağıt konlarla 1 dk. beklenecek örnek alındı. Kağıt konlar uç kısmından 4mm olacak şekilde kesildi ve örnekler, içinde fosfat buffered solüsyon (PBS) bulunan eppendorf tüplerde - 80 ° C de çalışılacağı zamana kadar muhafaza edildi.³⁰ Kanal içi ilaç yerleştirilmeden önce 1 ml % 17'lik EDTA (Endo-SOLution, CerKamed, Wojciech, Polonya) ile irrigate edildi ve son yıkama solüsyonu olarak da 5 ml. distile su kullanıldı.

Daha sonra dişler seçilen kanal içi ilaca göre randomize olarak 2 gruba ayrıldı:

Grup1/ Ca(OH)₂ grubu: Tedavi protokolü uygulandıktan sonra kanal içine 1 hafta süreyle Ca(OH)₂ patı (Calcicur, Voco, Cuxhaven, Almanya) endoactivator kullanılarak çalışma boyundan 1mm kısa olacak şekilde yerleştirildi.

Grup2/ CHX jel grubu: Tedavi protokolü uygulandıktan sonra kanal içine 1 hafta süreyle CHX jeli (Gluko- CHex 2% jel, CerKamed, Wojciech, Polonya) endoactivator kullanılarak çalışma boyundan 1 mm. kısa olacak şekilde yerleştirildi.

Kanal içi ilaç tedavisinden 1 hafta sonra, kanallar, yukarıda tarif edilen dezenfeksiyon protokolü uygulanarak rubber dam izolasyonu altında aseptik olarak açıldı. Kanal içi ilaç, 5 ml distile su ile irrigate edildikten sonra master apikal eğe ile mekanik olarak uzaklaştırıldı. Sonra kök kanalları 10 mL salin solüsyonu kullanılarak tekrar irrigate edildi. Ca(OH)₂ kullanılan grup için kalsiyum hidroksit % 17 lik EDTA (Endo-SOLution, CerKamed, Polonya) sıvı sonik cihaz (endoactivator,) ile aktive edilerek uzaklaştırıldı ve 5 ml distile su ile yıkandı. CHX jel grubu için, kök kanalı içinde bulunan CHX, 5 ml. distile su ile sonik cihaz kullanılarak uzaklaştırıldı. İlk örnek alımı sırasında yapılan irrigasyon protokolü uygulandıktan sonra örnekler alındı ve -80°C de çalışılacağı zamana kadar muhafaza edildi.

3.3. MMP 9 ve VIP ELISA Test Analizi

Apikal dokuların interstisyel sıvısından alınan örneklerdeki MMP 9 (Affymetrix, eBioscience, Vienna, Austria) ve VIP (Eastbiofarm, Hangzhou, Çin) düzeyleri ELISA testi ile ölçülmüştür.

VIP ELISA analizi; insan vazoaktif intestinal peptit (VIP) monoklonal antikoruna ile daha önceden kaplanmış plate yuvalarına VIP içeren örnekler eklendikten sonra inkübe edildi. Biotin ile etiketlenmiş VIP antikorları immün kompleks oluşturması için Streptavidin HRP ile birleştirildi. Bu karışım inkübe edildikten sonra immün kompleks oluşturmayan enzimi uzaklaştırmak için plate yuvaları yıkandı. Kromojen A ve B solüsyonları eklendi, mevcut mavi renk, sarıya döndükten sonra VIP seviyesi 450 nm'de ELISA okuyucuda değerlendirildi.

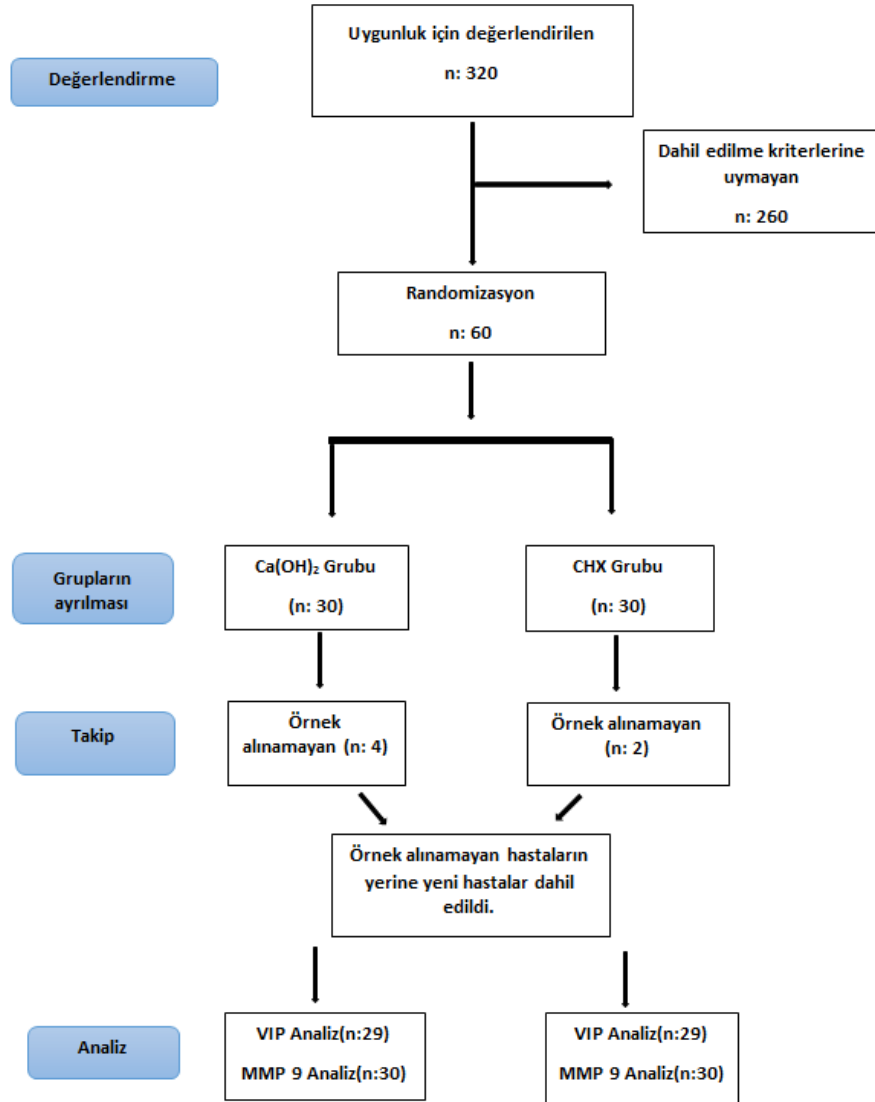
MMP-9 ELISA analizi; öncesinde anti human MMP-9 antikoruna ile kaplanmış plate yuvalarına antikorlar ile bağlanacak örnek ve standart eklendi. Biotin ile konjuge edilmiş anti-human MMP-9 antikoruna eklendi, birinci antikor ile MMP-9 bağlandı. İnkübasyonu takiben, bağlanmamış biyotin- anti human MMP9 antikor kompleksi yıkılarak uzaklaştırıldı. Yıkama basamağından sonra, Streptavidin HRP eklendi tekrar inkübe edildi ve bağlanmamış Streptavidin HRP 'yi uzaklaştırmak için yeniden yıkama yapıldı. Substrat solüsyonu eklendi ve MMP 9 seviyesi 450 nm'de ölçüldü.

3.4. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin analizi için, IBM SPSS Statistics 20 (USA) yazılımı kullanıldı. Tedavi öncesi ve sonrası MMP 9 ve VIP seviyeleri arasındaki fark üzerine en etkili faktörü (tedavi grubu, cinsiyet, sigara kullanımı) belirlemek için lineer regresyon analizi uygulandı. Grup içi analizde, veriler normal dağılım göstermediği için Wilcoxon testi uygulandı. Ek olarak, sigara kullanımı ve cinsiyet dağılımı için ki-kare testi uygulandı. Yönlendirilen tüm testler için anlamlılık değeri % 5 olarak belirlendi(p= 0.05).

4. BULGULAR

Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı kliniğine başvuran 320 hasta değerlendirildi. 320 hastanın 260'ı çalışmamızın dahil edilme kriterlerine uymadığı için çalışma dışında bırakıldı. Dahil edilme kriterlerine uyan 60 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalar, her iki grupta 30 hasta olacak şekilde randomize olarak gruplara dağıtıldı (n=30). Ancak hastalardan örnek alımı sırasında, Ca(OH)₂ grubunda 4, CHX grubunda 2 hastadan örnek alınamadı. Bu hastaların yerine çalışmaya randomize olarak başka hastalar dahil edildi. 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 ve sigara kullanımı bakımından gruplara göre dağılımları Tablo 4.1’de ve Tablo 4.2’de görülmektedir. Cinsiyet ve sigara kullanımı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı belirlendi ($P > 0.05$).

Tablo 4.1. VIP değerlendirmesindeki sigara kullanımı ve cinsiyet dağılımı

		Ca(OH) ₂ grubu	CHX grubu	P değeri
Sigara kullanımı	S +	10	9	p= 0.780
	S -	19	20	
Cinsiyet	E	15	14	p= 0793
	K	14	15	

Tablo 4.2. MMP 9 değerlendirmesindeki sigara kullanımı ve cinsiyet dağılımı

		Ca(OH) ₂ grubu	CHX grubu	P değeri
Sigara kullanımı	S +	11	9	p= 0.584
	S -	19	21	
Cinsiyet	E	15	14	p= 0796
	K	15	16	

Yapılan regresyon analizi bulgularına göre, tedavi öncesi ve sonrası VIP ve MMP 9 seviyeleri arasındaki fark ile tedavi grubu, sigara kullanımı ve cinsiyet dağılımı arasında ilişki sırasıyla Tablo 4.3’te ve Tablo 4.4’te gösterilmiştir ($p > 0.05$). Bu sonuçlara göre, tedavi-öncesi ve sonrası VIP seviyelerindeki değişim tedavi gruplarından etkilenmiştir ($p < 0.05$).

Tablo 4.3. Lojistik regresyon modeli bulguları

	B*	Standart hata	Beta	P değeri
Cinsiyet	456,946	299,225	0,195	0,133
Sigara	-191,094	318,803	-0,076	0,551
Grup	790,981	294,333	0,337	0,010

VIP

*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.

Tablo 4.4. Lojistik regresyon modeli bulguları

	B*	Standart hata	Beta	P değeri
Cinsiyet	-1,628	1,668	-,131	,333
Sigara	2,156	1,771	,164	,229
Grup	-1,647	1,624	,132	,315

MMP 9

*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

Tedavi öncesi ve sonrası MMP 9 ve VIP seviyeleri, apikal periodontitisli dişlerin periradiküler dokularından elde edildi. Ca(OH)₂ ve CHX gruplarındaki tedavi öncesi ve sonrası VIP ve MMP 9 seviyeleri Tablo 4.5 ve Tablo 4.6'da sırasıyla gösterildi.

Tablo 4.5. Tedavi öncesi ve sonrası VIP seviyelerinin ortalama ve standart sapma değerleri

	Ca(OH)₂		CHX	
	<i>Ortalama değer</i>	<i>Standart sapma değeri</i>	<i>Ortalama değer</i>	<i>Standart sapma değeri</i>
Tedavi öncesi	6408,63 ^a	1343,68	6433,85 ^A	316,9214
Tedavi sonrası	7085,88 ^b	404,1067	6310,96 ^A	431,1989

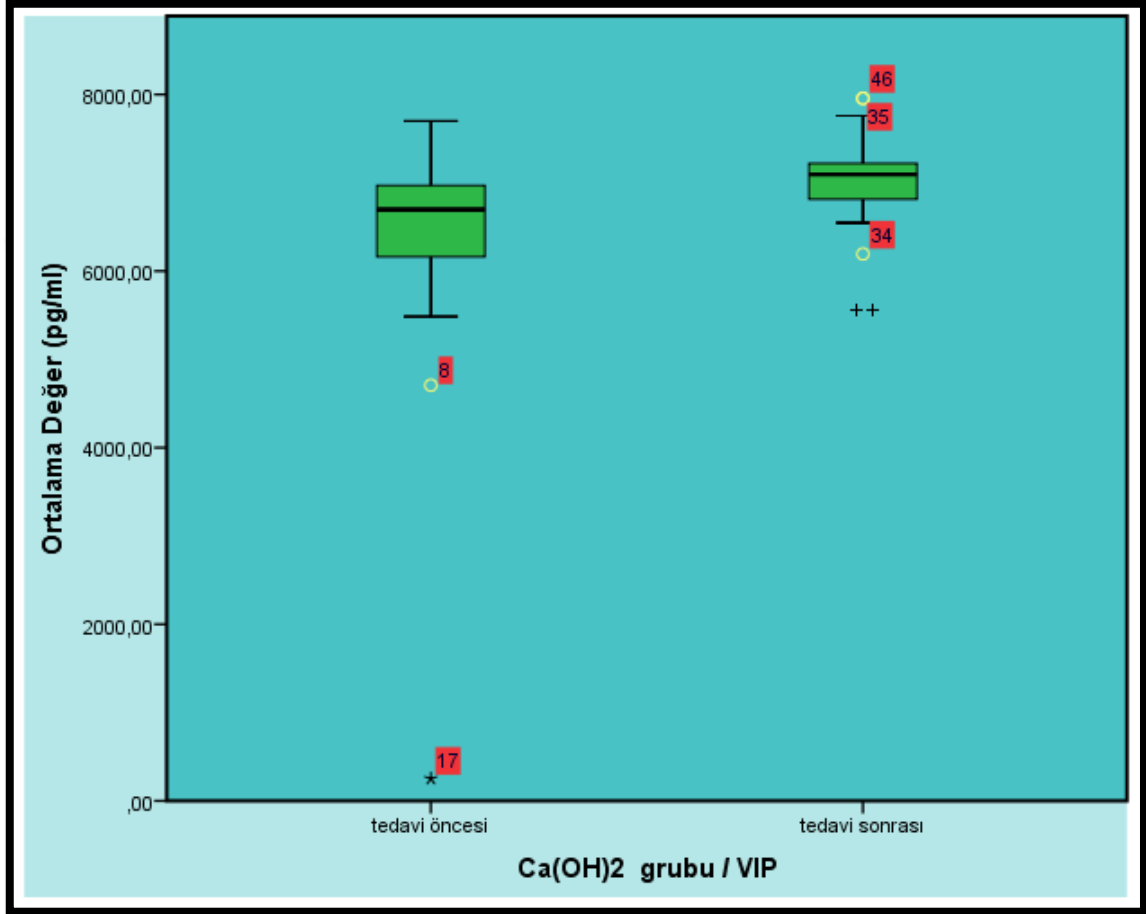
Aynı sütundaki aynı harfler istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmadığını göstermektedir (p>0.05).

Tablo 4.6. Tedavi öncesi ve sonrası MMP 9 seviyelerinin ortalama ve standart sapma değerleri

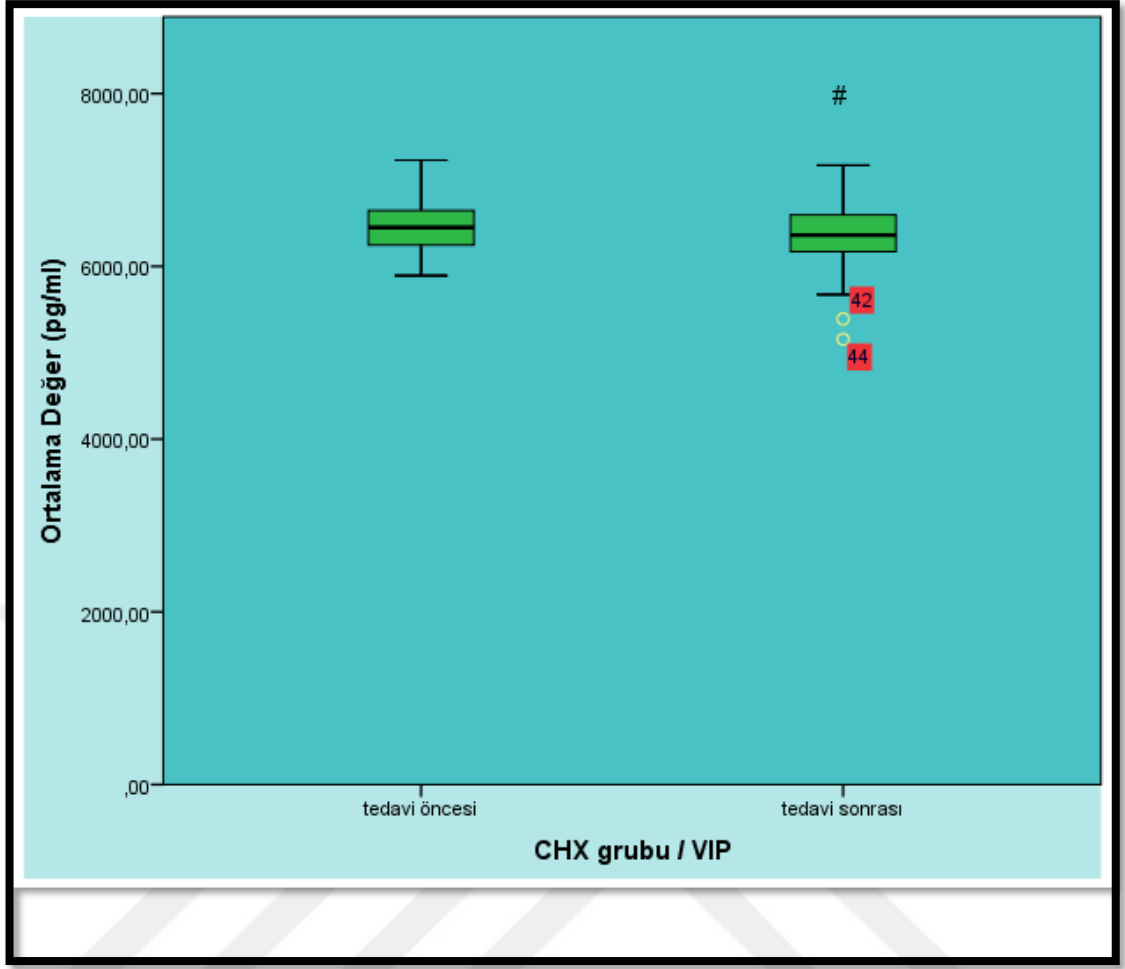
	Ca(OH)₂		CHX	
	<i>Ortalama değer</i>	<i>Standart sapma değeri</i>	<i>Ortalama değer</i>	<i>Standart sapma değeri</i>
Tedavi öncesi	2,6391 ^A	4,4105	1,6724 ^a	3,4514
Tedavi sonrası	3,8052 ^A	5,4898	4,3957 ^b	5,3455

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

Ca(OH)₂ grubunda, tedavi sonrası VIP seviyelerinin, tedavi öncesi seviyesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı bulundu (p< 0.05) (Şekil 4.2). CHX grubunda, tedavi öncesi ve sonrası VIP seviyelerinde istatistiksel olarak farklılık olmadığı bulundu (p> 0.05) (Şekil 4.3).

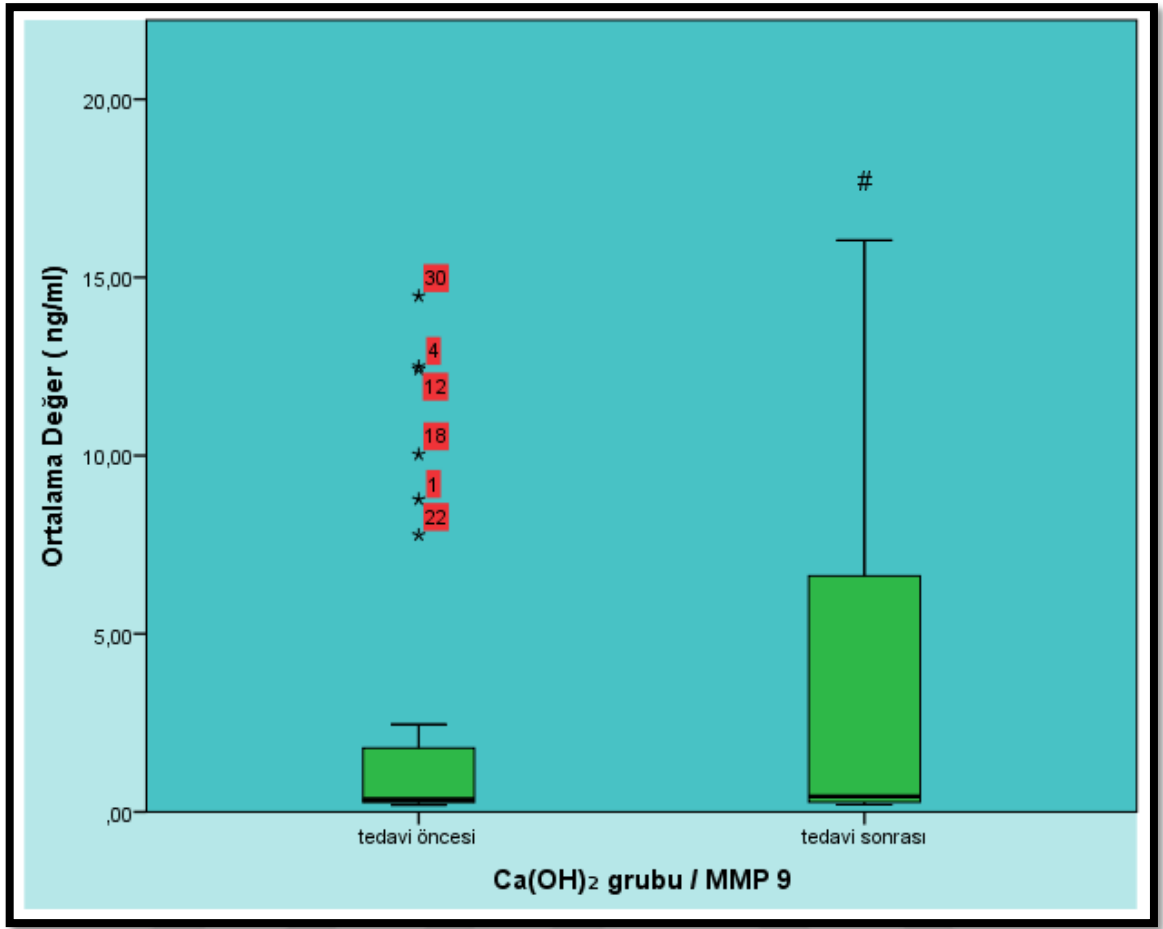


Şekil 4.2. Ca(OH)₂ grubu tedavi öncesi ve sonrası VIP ortalama değerleri
++ İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p<0.05).

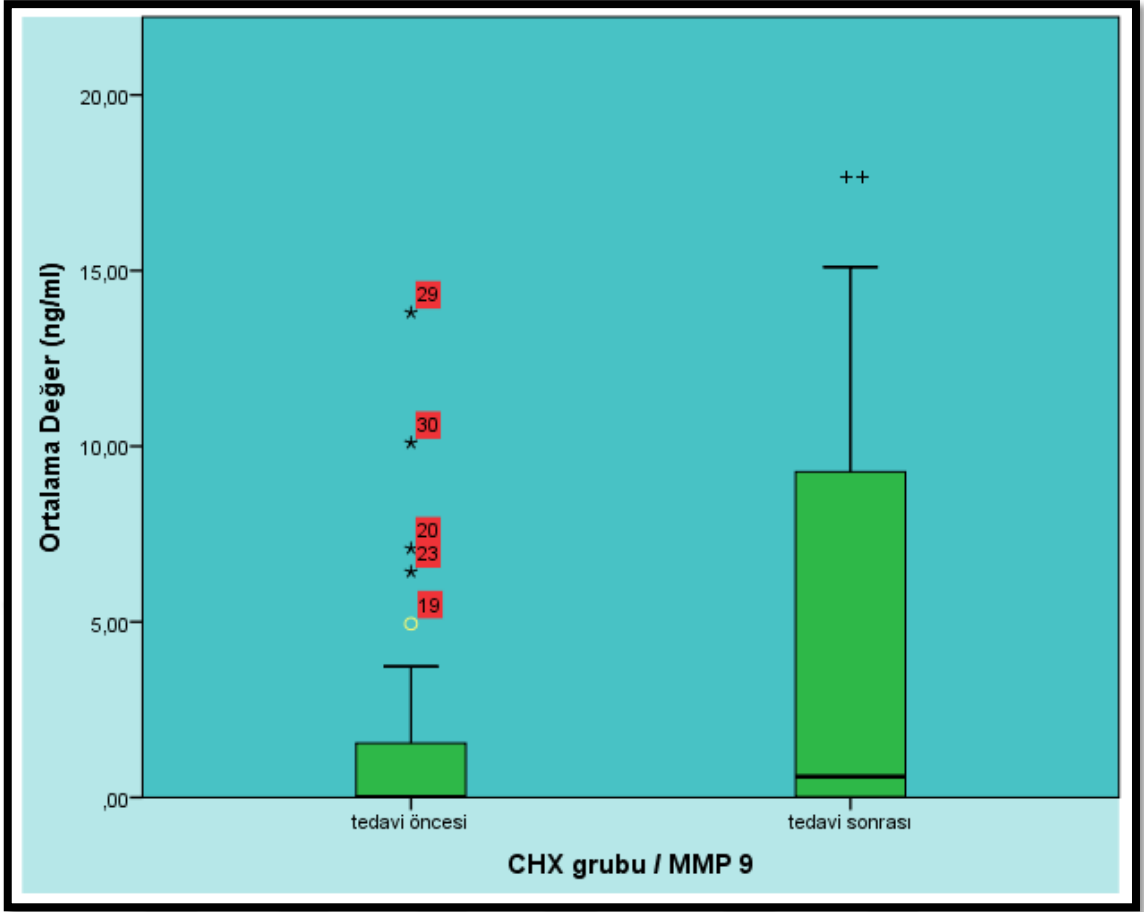


Şekil 4.3. CHX grubu tedavi öncesi ve sonrası VIP ortalama değerleri. # İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$).

Ca(OH)_2 grubunda, tedavi sonrası MMP 9 düzeyi, tedavi öncesi MMP 9 düzeyine göre artmasına rağmen istatistiksel olarak bir fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Şekil 4.4). CHX grubunda ise, tedavi sonrası MMP 9 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır ($p < 0.05$) (Şekil 4.5).



Şekil 4.4. Ca(OH)₂ grubundaki MMP 9 seviyelerini göstermektedir. # İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0.05).



Şekil 4.5. CHX grubundaki MMP 9 seviyelerini göstermektedir.

++ İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir($p < 0.05$).

5. TARTIŞMA

Pulpa ve periapikal bölgedeki mikroorganizmaların varlığı, periradiküler kemik rezorpsiyonunun başlamasına yol açan ve devam etmesiyle sonuçlanan immün cevaba neden olur. Endodontik lezyonlar, pulpa dokusunun ağız yoluyla enfekte olmasından dolayı oluşabilir. Bu durum, çürük lezyonların yanı sıra bakterilerin pulpal dokulara nüfuz etmesine izin veren iyatrojenik ve diğer koşullardan kaynaklanabilir.^{1, 52} Çoğu durumda, bu faktörler diş pulpasında enfeksiyona ve bu da maruz kalan bölgeden yayılan iltihaplanmaya neden olur. Enflamasyon çoğunlukla pulpa dokusu nekrozu ile sonuçlanır. Ardından enflamasyonun diş apeksine yayılması ve kemik rezorpsiyonuna yol açmasıyla kronik enfeksiyon meydana gelir. Enflamatuvar tepki sonucu konak dokuda doğal ve adaptif immün yanıtları aktive eden bir dizi reaksiyon oluşur. Sonuç olarak da osteoklastogenezis ve diş apeksinde bir osteolitik lezyon gelişimi başlar.¹⁶⁰

Endodontik orijinli lezyonlarda inflamatuvar reaksiyonun başlatılması, endotelyal hücreleri, polimorfonükleer lökositler (PMN'ler), makrofajlar, lenfositler ve hızlı kemik yıkımına yol açan osteoklastların aktivasyonu ile gerçekleşir. Bu yanıt sırasında bir dizi hücre tipi tarafından, periapikal alana sitokinler, kemokinler, lökotrienler ve prostaglandinler salınır. Bu inflamatuvar mediyatörler, PMN'ler ve diğer lökositlerin salınımını güçlendirerek koruyucu ya da tahrip edici rol oynayan sonuçların ortaya çıkmasını sağlar.

Bakterilerin IL-1 β , IL-1 α , nükleer faktör kappa-B ligandı (RANKL) reseptör aktivatörü olduğu veya doğal immün yanıt yoluyla TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin salınımıyla periapikal dokuların rezorpsiyonunu stimüle ettiği düşünülmektedir.¹⁶¹ Ayrıca, birçok çalışmada, endodontik kökenli lezyonlarda kemik rezorpsiyonunun gelişmesinin kazanılmış immün yanıtın rolünden bahsedilmiştir.¹⁶²⁻¹⁶⁴

Endodontik lezyonlarda baskın hücre tipleri T hücreleri, ardından B hücreleri ve monositler / makrofajlar olarak gösterilmiştir.¹⁶⁵

Dişlerin periapikal bölgesindeki bakteriler ve ürünleri tarafından uyarılan kronik inflamasyon kemik rezorbsiyonuna neden olur.¹⁶¹ Endodontik lezyonların iyileşmesinde etiyolojik faktörlerin ortadan kaldırılması en önemli adımdır. Etken ortadan kaldırılmadan yeni kemik yapımı meydana gelmez.¹⁶⁶ Bu amaçla kök kanalları kemomekanik olarak prepare edilir. Ayrıca, tek seansta bitirilemeyen cerrahi olmayan kök kanal tedavisinde ve kanal yenileme tedavisinde seanslar arası bakteri oluşumunu engellemek, antiendotoksin özelliklerinden, immünoregülatör ve reparatif etkilerinden yararlanmak amacıyla kanal içi ilaçlar yaygın olarak kullanılır.^{167, 168}

Başlangıçta bakterisidal etki sonrasında bakteriyostatik etkisi, iyileşmeyi ve onarımı teşvik etme, yüksek pH sayesinde fibroblastları uyarma, internal rezorpsiyonu durdurma, asitlerin düşük pH değerini nötralize etme, ucuz ve kullanım kolaylığı gibi avantajları sebebiyle, günümüzde kalsiyum hidroksit endodonti alanında yaygın olarak kullanılmaktadır.¹⁶⁹ Kalsiyum hidroksit, en çok kullanılan ve en fazla antimikrobiyal etkiye sahip kanal içi ilaçtır. Bu aktivite, yüksek pH ortamı sağlayan hidroksil iyonlarının ayrışma hızından etkilenir.^{170, 171} Temizleme ve şekillendirme prosedürlerinden sonra enfekte olmuş kök kanallarında rezidüel kalmış hemen hemen tüm mikroorganizmaların büyümesini muhtemelen şu üç mekanizmayla engeller: bakteriyel sitoplazmik membran hasarı, protein denaturasyonu, DNA hasarı.⁹² Ayrıca Ca(OH)₂'in sitokinlere etkisini gösteren çalışmalar çalışmalar da mevcuttur. Meng ve ark.¹⁷² periapikal dokulardaki osteoblastlardaki TNF α ve IL 6 ekspresyonu üzerine Ca(OH)₂ patının etkisini araştırdıkları çalışmalarında periapikal osteoblastlardaki TNF α ve IL 6 seviyesini azalttığını ifade etmişlerdir. Pereira ve ark.¹⁷³ kanal içi ilaç olarak ÜAP'ın hücresel ve moleküler cevabını araştırdıkları çalışmalarında kontrol grubu

olarak Ca(OH)₂ patını da değerlendirmişlerdir. Ca(OH)₂ patının, IL1 β , TGF β ekspresyonunda farklılık oluşturmadığını, TNF α ekspresyonunu azalttığını ifade etmişlerdir.

CHX tıp literatüründe deri enfeksiyonlarında, oftalmoloji, üroloji, kadın hastalıkları ve kulak-burun-boğaz hastalıkları alanlarında kullanılmasının yanı sıra, diş hekimliğinde 1959' da bakteri plağını kontrol altına almak için kullanılmıştır. CHX halen oral antiseptiklerin altın standardı olarak düşünülmemekte ve diş hekimliğinde en kapsamlı koruyucu ajan olarak kabul edilmektedir¹²⁵. Diş plağı ve diş eti iltihabı üzerindeki etkilerine ek olarak, CHX çürüklerin önlenmesi ve tedavisinde etkilidir^{174, 175} Endodontide ise, CHX, diğer kullanımların yanı sıra irrigasyon solüsyonu olarak^{27, 124-129, 131, 176-178} ve Gram(+), Gram(-) bakterilere, mayalara, fakültatif anaeroblara ve anaerobik bakterilere karşı etkili geniş spektrumlu kanal içi ilaç olarak kullanılmıştır.⁸⁸
¹³⁰ Aynı zamanda enfeksiyona uzun süreli etkilerinden dolayı Ca(OH)₂ patına alternatif bir kanal içi ilaç olarak ortaya çıkmaktadır. Ayrıca antikollojenolitik etkilerinden dolayı MMP inhibitörü olarak kullanılmaktadır.^{179, 180} Fakat literatürde kanal içi ilaç olarak kullanılan Ca(OH)₂ patının ve CHX jelinin, periapikal lezyonlardaki VIP ve MMP 9 salınımına etkisini araştıran herhangi bir klinik çalışma mevcut değildir.

VIP, fagositik aktiviteyi, serbest radikal üretimini ve makrofajların yapışması ve migrasyonunu¹⁸¹, aynı zamanda Th1 cevabını inhibe eder.⁵⁸ Ayrıca, VIP, osteoklast farklılaşmasıyla bağlantılı anahtar proteinlerin ekspresyonunu düzenleyerek osteoklast olgunlaşmasını kontrol etmektedir. Bu durum, VIP'in kemik metabolizmasında modüle edici bir rol oynadığını düşündürmektedir.⁶² Gürkan ve ark.¹⁸² yaptıkları çalışmalarında, VIP'nin E.coli LPS ile indüklenmiş deneysel peridontitisteki tedavi edici etkisini araştırmışlar ve VIP'in inflamatuvar cevabı azalttığını ve kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiğini ifade etmişlerdir. Bu çalışma da VIP'nin immünoregülatör etkisini

desteklemektedir. Tawares ve ark.¹⁸³ endodontik enfeksiyonlarda sitokin ekspresyonu üzerine Ca(OH)₂'in etkisini araştırdıkları çalışmalarında, Ca(OH)₂ ile muamele edilmiş kanallarla karşılaştırıldığında kontrol grubunda proinflatuar sitokinler olan IL1 ve IFN γ sitokinlerinin arttığını ifade etmişlerdir. Buna benzer olarak Silva ve ark.¹⁰⁵, köpekler üzerinde yaptıkları çalışmalarında, LPS ve Ca(OH)₂ ile muamele edilmiş kök kanallarının periapikal dokularını histopatolojik olarak incelemişler ve LPS'nin periapikal lezyonların oluşumuna neden olduğunu ve Ca(OH)₂'nin bu endotoksini in vivo olarak detoksifiye ettiğini bildirmişlerdir. Jiang ve ark.¹⁸⁴ LPS'nin osteoklastogenez üzerindeki direkt etkilerini ve Ca(OH)₂'nin endotoksin tarafından uyarılan osteoklastların oluşumunu inhibe etme kapasitesini değerlendirmişler ve Ca(OH)₂'nin osteoklast farklılaşmasını önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızdan elde edilen sonuca göre Ca(OH)₂' in tedavi sonrası VIP seviyesini tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı tespit edilmiştir. Ca(OH)₂'in kanal içi ilaç olarak kullanımı, periapikal lezyon oluşumunda temel role sahip LPS' yi inaktive etmiş ve doğal ve kazanılmış immün cevapta önemli rol oynayan VIP salınımını indüklemiş olabilir. Böylece, periapikal dokularda osteoklastik aktiviteyi VIP salınımını arttırarak durdurmuş olabilir. Her ne kadar bizim çalışmamızın sonuçlarıyla direk kıyaslama yapılamasa da yukarıda bahsedilen çalışmalar sonuçlarımızı desteklemektedir. Sonuç olarak, çalışmamızın 'Kanal içi ilaç olarak kullanılan Ca(OH)₂'in periapikal dokulardaki VIP salınımı üzerine herhangi bir etkisi yoktur' sıfır hipotezi reddedilmiştir.

Son zamanlarda yapılan alışmalar, VIP'in Th lenfositlerinin farklılaşmasında rol oynadığını, Th2 üretimini desteklediğini ve Th1 üretimini ise inhibe ettiğini göstermişlerdir.^{64, 185} Delgado ve ark.¹⁸⁶ in-vitro olarak VIP'in Th2 tipi sitokinlerin (IL-4, IL-5) salınımını indükleme ve Th1 tipi sitokinlerin (IFN- γ , IL-2) salınımını ise inhibe

etme kabiliyetine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca yapılan bir başka araştırma ise pozitif feed back döngüsünü içeren, VIP ve Th2 hücreleri arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. Son zamanlarda ise, Th2'nin, antijenik uyarımı takiben VIP eksprese ettikleri ve salgıladıkları ifade edilmiştir. Bunun aksine Th1 hücrelerine etki etmediğini göstermişlerdir.¹⁸⁷ Martinho ve ark.³⁰ apikal periodontitiste Th1 tipi ve Th2 tipi sitokin yanıtları üzerine farklı kanal içi ilaçların etkisini araştırdıkları çalışmalarında, % 2 CHX jelinin Th2 tipi sitokinleri üzerine etkisi olmadığını, Th1 tipi sitokinleri ise istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığını göstermişlerdir. Mevcut çalışmamızda, CHX jel grubunda VIP tedavi öncesi ve sonrası seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark olmadığı gösterilmiştir. Bu durum yukarıda bahsedilen çalışmalarla desteklenmektedir.

MMP-9 ekspresyonu birçok normal dokuda azdır ya da hiç yoktur. Enflamasyon, yara iyileşmesi ve neoplazi gibi durumlarda belirgin şekilde yükselir.¹⁸⁸ Ayrıca MMP-9, demineralizasyon başlamadan önce kollajenöz tabakanın kemik yüzeyinden uzaklaştırılarak osteoklastik rezorpsiyon sürecinin başlatılması için gereklidir.¹⁸⁹ Periapikal lezyonlarda, MMP-9'un ekspresyonunun normal periodontal ligament (PDL) örneklerindeki anlamlı derecede yüksek olduğu ifade edilmiştir.⁷⁵ ¹⁹⁰ Periapikal enflamasyon esnasında mevcut endotoksin (LPS) ve osteoklastik aktivite nedeniyle doku pH'nın asiditeye doğru yöneldiği tespit edilmiştir. Yine başka bir çalışma LPS varlığında MMP 9 ekspresyonunun arttığı bildirmiştir.¹⁹¹ Ayrıca yapılan farklı iki çalışmada da, asidik pH'ın tip IV kollajen parçalanması için etki gösteren MMP-9'un ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir.^{192, 193} . Bizim çalışmamızda, Ca(OH)₂ grubunda tedavi öncesi ve sonrası MMP 9 miktarları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi. Bu durumun temel nedeni, Ca(OH)₂ doku pH'sını yükselterek bazik ortam sağlaması ve bunun sonucunda MMP 9

salınımını artırarak asidik bir ortam oluşmaması olabilir. Bunun aksine Silva ve ark.⁷⁶ köpekler üzerinde yapmış oldukları çalışmada, deneysel olarak apikal periodontitis oluşturmuşlar ve periapikal dokularda MMP 9 seviyesinin çok yüksek olduğunu, kalsiyum hidroksitle tedavi edildiğinde ise MMP 9 seviyesini azaldığını belirtmişlerdir. Bu çalışmadan yola çıkarak ESM yıkımı ile ilişkili olan MMP9 seviyesinin akut fazda yüksek olduğunu ifade edebiliriz. Bu sonuç bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu değildir. Bunun nedeni çalışmamıza Silva ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmanın aksine kronik apikal periodontitisli hastaların dahil edilmiş olması olabilir.

Kök kanallarında Escherichia coli LPS inoküle edilen in-vitro çalışmalar^{106, 194, 195}, LPS'nin azaltılmasında kemomekanik preparasyon sonrası kanal içi ilaç olarak CHX kullanımının düşük etkinliğini göstermişlerdir. Martinho ve ark.⁸ yaptıkları bir çalışmada, kök kanallarındaki mevcut yüksek endotoksin ile MMP 9 salınımı arasında pozitif bir ilişki olabileceğini göstermişlerdir. Başka bir çalışmada ise LPS varlığında ($100\mu\text{l}^{-1}$) MMP 9 salınımının arttığı ifade edilmiştir.¹⁹⁶ Çalışmamızın sonuçlarına göre her iki grupta da tedavi sonrası MMP 9 seviyesi tedavi öncesine göre artış göstermiştir. Fakat $\text{Ca}(\text{OH})_2$ grubunun aksine, CHX grubunda MMP 9 düzeyinin tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olduğu tespit edildi. Bu durumun nedeni, CHX'nin LPS üzerine düşük etkinlik göstermesi ve kanal içi LPS miktarının daha fazla olması olabilir. Bu nedenle CHX grubunda MMP 9 salınımı daha fazla gerçekleşmiş olabilir. Ayrıca CHX'nin nötr pH'sı nedeniyle ortam pH'sını değiştirme kapasitesi bulunmamaktadır. Düşük pH'da MMP 9 ekspresyonunun arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur.^{161, 162} Bizim çalışmamızdaki artış da bu nedenle gerçekleşmiş olabilir veya mevcut durumların sinerjistik etkisiyle olmuş olabilir.

Scimauchi ve ark.¹⁹⁷ kağıt konlarla periapikal eksüdarın toplanması için niceliksel bir yöntemden bahsetmişlerdir. Yaptıkları pilot çalışma, sıvı hacim ile kağıt

konların ıslak uzunluğu arasındaki ilişkiyi pozitif eğrisel grafikte desteklemiştir. Bir başka deyişle, kağıt konlara emdirilen eksuda arttıkça ölçülen numune seviyesi de artmaktadır. Bu nedenle periapikal lezyonlu dişlerden örnek alımı, Marinho ve ark.³⁰ yaptıkları çalışma referans alınarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerin alımı, periapikal dokunun interstisyel sıvısından gerçekleştirilmiştir. 3 adet steril 20 numara paper pointler diş apeksinden 2 mm çıkartılarak 1 dk. boyunca bekletilmiş ve her bir kağıt kon ucundan 4 mm. olacak şekilde kesilmiştir. Kesilen kağıt konlar, içerisinde PBS bulunan ependorf tüplere koyularak -80°C'de saklanmıştır.

Shuping ve ark. 1 hafta süreyle Ca(OH)₂'in kanal içi ilaç olarak kullanımında % 92.5 civarında bakteri eliminasyonu sağladığını bildirmişlerdir. Barbosa ve ark. 1 hafta kanal içi ilaç olarak kullanıldığında CHX'in bakteri eliminasyonunda Ca(OH)₂ kadar etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise CHX 7 gün ile 14 gün kanal içi ilaç olarak bekletilmiş ve bakteri redüksiyonunda bir fark olmadığı belirtilmiştir.¹⁹⁸ Peters ve ark.¹⁹⁹ da kanal içi ilaç olarak Ca(OH)₂ patı kullanımı için benzer sonuçlar bildirmişlerdir. Benzer olarak Martinho ve ark. 7 gün süreyle Ca(OH)₂ patı ve CHX jelinin yeterli bakteri eliminasyonu sağladığını ifade etmişlerdir. Çalışmamızda kanal içi ilaç olarak kullandığımız Ca(OH)₂ patı ve CHX jeli 7 gün süreyle kök kanallarında bekletilmiştir.

Kök kanalında kalan kalsiyum hidroksit artıklarının; rezin esaslı patların bağlanma dayanımını azalttığı²⁰⁰, patların tübül penetrasyonunu engellediği²⁰¹ için kök kanal dolgusundan önce kanaldan uzaklaştırılması önerilmektedir. EDTA, Ca(OH)₂ patı artıklarını nötralize etme kabiliyetine sahiptir, bu da kök kanal dolgu maddesi ile etkileşimi önleyebilir veya Ca(OH)₂ patı kalıntılarını şelatlayabilir. Böylece Ca(OH)₂ patının kanaldan uzaklaştırılmasını kolaylaştırır.²⁰² Ca(OH)₂ patının kanallardan uzaklaştırması için klasik yöntem EDTA kullanarak mekanik preparasyon yapılmasıdır.

Endoaktivatör gibi sonik cihaz ve pasif ultrasonik cihaz kullanımı da diğer yöntemlerdir.²⁰³ Endoaktivatör kök kanal sistemini irrite etmek için kullanılan sonik enerji üreten bir cihazdır. Endoaktivatörün ana işlevi, salınım hareketiyle kanal içinde kuvvetli sıvı ajitasyonu oluşturmaktır. Bu hidrodinamik etki mekanizması, irrigasyon solüsyonunun kök kanal sisteminin ulaşılması zor alanlarına penetrasyonunu, dolaşımını ve akışını iyileştirmeye hizmet eder. Kök kanal sistemlerinin düzgün bir şekilde temizlenmesi klinisyene üç boyutlu obturasyon sağlamaya yardımcı olur ve bunlar uzun vadeli bir başarı sağlamaktadır.²⁰⁴ Bu nedenle çalışmamızda Ca(OH)₂ patı, 5 ml % 17 EDTA solüsyonu endoaktivatör ile aktive edilerek uzaklaştırılmıştır. CHX'in kök kanallarının apikal tıkaçlama kabiliyetine olumsuz bir etkisinin bulunmadığını gösteren bir çok çalışma mevcuttur.²⁰⁵⁻²⁰⁷ CHX jel (% 1 natrosol, hidroksietilselüloz,) 5.5 ila 7.0 optimal pH aralığında bir jel tabanı ve klorheksidin glukonattan oluşur.²⁰⁸ Natrosol jel suda çözünen biyouyumlu bir maddedir²⁰⁹ ve bu nedenle distile su ile final irrigasyon yapılarak kök kanallarından kolayca çıkarılabilir. ^{208, 210} Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda kök kanallarından CHX jel 5 ml distile su kullanılarak endoaktivatörle aktive edilerek uzaklaştırıldı.

Pro ve anti enflamatuar mediatörlerin serum seviyeleri, dokulardaki seviyeleri ELISA, PCR ve Western Blot gibi moleküler yöntemlerle belirlenebilir.^{183, 211-213} Bir çok çalışmada periapikal dokulardaki mediatörlerin seviyeleri ELISA ile belirlenmiştir.^{36, 213, 214} Bu doğrultuda çalışmamızda da MMP-9 ve VIP seviyelerini ölçmek için ELISA testi kullanılmıştır.

Metabolik bozuklukların neden olduğu artmış inflamatuvar bir durum, periapikal lezyonların klinik sonucunu etkileyebilir ve endodontik tedaviden sonra yara iyileşmesine ters etkileri olabilir. Diabetes mellitus, nötrofillerin işlevine ve bakterisidal aktivitesine ciddi şekilde zarar verir.²¹⁵ Ayrıca makrofaj alt tipi olan ve proinflamatuvar

özelliğindeki M1 makrofajlar diabetli hastalarda oldukça fazladır.²¹⁶ Bu bulgular, diyabetin konakçı immün cevabında hiperinflamatuvar bir durum oluşturabileceğini göstermektedir. Benzer olarak başka bir sistemik hastalık olan hipertansiyonun inflamatuvar bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Hipertansif durumlarda, IL-6 ve TNF α gibi proinflamatuvar sitokinlerin sıklıkla daha fazla²¹⁷, IL10 gibi antiinflamatuvar sitokinler için ise bu durumun tam tersi olduğu ifade edilmiştir.²¹⁸ Bu nedenlerden dolayı çalışmamıza sistemik rahatsızlığı bulunan hastalar dahil edilmemiştir.

Antibiyotik kullanımı konakçının savunma mekanizmasını modüle eder. Hastaya antibiyotik verilmesi Th1 ve Th2 hücreleriyle ilişkili immün yanıtı değiştirebilir.²¹⁹ İmmün yanıtta bu değişiklikler kanal içi ilaçların etkinliğini araştırdığımız çalışmamızın sonuçlarına etki edebileceği için çalışmamıza son bir ay içinde antibiyotik kullanmış hastalar dahil edilmedi. Non steroid antiinflamatuvar ilaçların PGE2 metabolizması üzerine etkilerinden bahseden çalışmalar mevcut olmasına rağmen²²⁰⁻²²², IL1 ve TNF α gibi proinflamatuvar sitokinlere etkisini bildiren çok çalışma bulunmamaktadır. Shahriari ve ark.²¹³ NSAİİ olan ibuprofenin periapikal eksudadaki IL1, TNF α ve PGE2 seviyeleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında tedavi öncesi ve sonrası TNF α ve IL1 seviyelerinde farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Ehsani ve ark.²²³ ise profilaktik olarak ibuprofen kullanımının IL6 seviyelerini istatistiksel olarak azalttığını bildirmişlerdir. Bu bilgiler ışığında proinflamatuvar sitokinler üzerine etkileri tartışmalıdır. Bu nedenle çalışmamıza NSAİD alan hastalar dahil edilmemiştir.

Sigara kullanımının PMN'lerin fonksiyonlarını etkilediği bilinmektedir.²²⁴ Sigaranın, nötrofil degranülasyonunu etkileyerek proinflamatuvar mediatörleri ve MMP-8 seviyesini etkilediği iddia edilmiştir.²²⁵ Buna karşın Özçaka ve ark.²²⁶ yaptıkları çalışmada kronik periodontitise bağlı kemik yıkımında sigara içen ve içmeyen

hastalardaki MMP 8 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır. Sigara kullanan hastalarda periapikal dokulardaki VIP seviyesini gösteren ve karşılaştırma yapabileceğimiz bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda sigara kullanımının MMP 9 ve VIP seviyelerine etkisinin olmadığı sonucu çıkmıştır. Bunun nedeni çalışmadaki örnek sayısının az olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca sigara kullanmayan hastaların anamnezlerinin bazen güvenilir olmadığı göz önünde bulundurulmalıdır.²²⁷



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Ca(OH)_2 grubunda tedavi sonrası VIP salınım düzeyi tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır.
- CHX jel grubu ise tedavi öncesi ve sonrası VIP salınım düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.
- CHX grubunda tedavi sonrası MMP 9 seviyesi tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artarken, Ca(OH)_2 grubunda tedavi öncesi ve sonrası MMP 9 salınım düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.
- Sigara kullanımının ve cinsiyetin VIP ve MMP 9 salınımı üzerine bir etkisinin olmadığı görüldü.

VIP yeni kemik yapımını destekleyen bir nöropeptittir. Periapikal lezyonlu dişlerde kanal içi ilaç olarak Ca(OH)_2 patı kullanımı VIP salınımını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırmıştır. Bu sonuçtan yola çıkarak kemik dokusunun tamir sürecinde Ca(OH)_2 'in yararlı bir etkiye sahip olduğu söylenebilir. Ca(OH)_2 ve CHX'in periapikal dokulardaki mediyatörlere etkisini araştıran ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2004, 15: 348-381.
2. Silva TA, Garlet GP, Fukada SY, Silva JS, Cunha FQ. Chemokines in oral inflammatory diseases: apical periodontitis and periodontal disease. *Journal of Dental Research*, 2007, 86: 306-319.
3. Marton IJ, Kiss C. Overlapping protective and destructive regulatory pathways in apical periodontitis. *J Endod*, 2014, 40: 155-163.
4. Marton IJ, Kiss C. Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*, 2000, 15: 139-150.
5. Colic M, Gazivoda D, Vucevic D, Majstorovic I, Vasilijic S, Rudolf R, Brkic Z, Milosavljevic P. Regulatory T-cells in periapical lesions. *Journal of Dental Research*, 2009, 88: 997-1002.
6. Colic M, Lukic A, Vucevic D, Milosavljevic P, Majstorovic I, Marjanovic M, Dimitrijevic J. Correlation between phenotypic characteristics of mononuclear cells isolated from human periapical lesions and their in vitro production of Th1 and Th2 cytokines. *Arch Oral Biol*, 2006, 51: 1120-1130.
7. Gomariz RP, Martinez C, Abad C, Leceta J, Delgado M. Immunology of VIP: a review and therapeutical perspectives. *Curr Pharm Des*, 2001, 7: 89-111.
8. Martinho FC, Teixeira FF, Cardoso FG, Ferreira NS, Nascimento GG, Carvalho CA, Valera MC. Clinical Investigation of Matrix Metalloproteinases, Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases, and Matrix Metalloproteinase/Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinase Complexes and Their Networks in Apical Periodontitis. *J Endod*, 2016, 42: 1082-1088.

9. Senft AP, Korfhagen TR, Whitsett JA, Shapiro SD, LeVine AM. Surfactant protein-D regulates soluble CD14 through matrix metalloproteinase-12. *J Immunol*, 2005, 174: 4953-4959.
10. Uddman R, Bjorlin G, Moller B, Sundler F. Occurrence of VIP nerves in mammalian dental pulps. *Acta Odontol Scand*, 1980, 38: 325-328.
11. Azuero-Holguin MM, Leal-Fernandez MC, Restrepo-Mejia LM, Velandia-Daza G, Guzman-Quimbayo F, Urquiza-Martinez M. Identification and quantification of vasoactive intestinal peptide in periradicular lesions. *J Endod*, 2003, 29: 557-558.
12. Caviedes-Bucheli J, Munoz HR, Azuero-Holguin MM, Ulate E. Neuropeptides in dental pulp: the silent protagonists. *J Endod*, 2008, 34: 773-788.
13. Everts V, Delaisse JM, Korper W, Niehof A, Vaes G, Beertsen W. Degradation of collagen in the bone-resorbing compartment underlying the osteoclast involves both cysteine-proteinases and matrix metalloproteinases. *J Cell Physiol*, 1992, 150: 221-231.
14. Tsuji M, Yamasaki M, Amano K, Matsui H, Morimoto T, Nakamura H. Histochemical localization of neutral proteases released during development of rat periradicular lesion. *Arch Oral Biol*, 2009, 54: 1128-1135.
15. Sorsa T, Mantyla P, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Gamonal J, Hernandez M. MMP activation in diagnostics of periodontitis and systemic inflammation. *J Clin Periodontol*, 2011, 38: 817-819.
16. Li G, Yue Y, Tian Y, Li JL, Wang M, Liang H, Liao P, Loo WT, Cheung MN, Chow LW. Association of matrix metalloproteinase (MMP)-1, 3, 9, interleukin (IL)-2, 8 and cyclooxygenase (COX)-2 gene polymorphisms with chronic periodontitis in a Chinese population. *Cytokine*, 2012, 60: 552-560.

17. Corotti MV, Zambuzzi WF, Paiva KB, Menezes R, Pinto LC, Lara VS, Granjeiro JM. Immunolocalization of matrix metalloproteinases-2 and -9 during apical periodontitis development. *Arch Oral Biol*, 2009, 54: 764-771.
18. Wahlgren J, Salo T, Teronen O, Luoto H, Sorsa T, Tjaderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in pulpal and periapical inflammation and periapical root-canal exudates. *Int Endod J*, 2002, 35: 897-904.
19. Thompson JM, Agee K, Sidow SJ, McNally K, Lindsey K, Borke J, Elsalanty M, Tay FR, Pashley DH. Inhibition of endogenous dentin matrix metalloproteinases by ethylenediaminetetraacetic acid. *J Endod*, 2012, 38: 62-65.
20. Tjaderhane L, Hotakainen T, Kinnunen S, Ahonen M, Salo T. The effect of chemical inhibition of matrix metalloproteinases on the size of experimentally induced apical periodontitis. *Int Endod J*, 2007, 40: 282-289.
21. Wan C, Yuan G, Yang J, Sun Q, Zhang L, Zhang J, Zhang L, Chen Z. MMP9 deficiency increased the size of experimentally induced apical periodontitis. *J Endod*, 2014, 40: 658-664.
22. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod*, 2008, 34: 1291-1301 e1293.
23. 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: 45-52.
24. Xavier AC, Martinho FC, Chung A, Oliveira LD, Jorge AO, Valera MC, Carvalho CA. One-visit versus two-visit root canal treatment: effectiveness in the removal of endotoxins and cultivable bacteria. *J Endod*, 2013, 39: 959-964.
25. Siqueira JF, Jr., Guimaraes-Pinto T, Rocas IN. Effects of chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite and intracanal medication with

- calcium hydroxide on cultivable bacteria in infected root canals. *J Endod*, 2007, 33: 800-805.
26. Vera J, Siqueira JF, Jr., Ricucci D, Loghin S, Fernandez N, Flores B, Cruz AG. One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *J Endod*, 2012, 38: 1040-1052.
 27. Vianna ME, Horz HP, Conrads G, Zaia AA, Souza-Filho FJ, Gomes BP. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. *Oral Microbiol Immunol*, 2007, 22: 411-418.
 28. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J*, 2009, 42: 288-302.
 29. Malkhassian G, Manzur AJ, Legner M, Fillery ED, Manek S, Basrani BR, Friedman S. Antibacterial efficacy of MTAD final rinse and two percent chlorhexidine gel medication in teeth with apical periodontitis: a randomized double-blinded clinical trial. *J Endod*, 2009, 35: 1483-1490.
 30. Martinho FC, Nascimento GG, Leite FR, Gomes AP, Freitas LF, Camoes IC. Clinical influence of different intracanal medications on Th1-type and Th2-type cytokine responses in apical periodontitis. *J Endod*, 2015, 41: 169-175.
 31. Tavares WL, de Brito LC, Henriques LC, Oliveira RR, Maciel KF, Vieira LQ, Sobrinho AP. The impact of chlorhexidine-based endodontic treatment on periapical cytokine expression in teeth. *J Endod*, 2013, 39: 889-892.
 32. Nair PN, Sjogren U, Sundqvist G. Cholesterol crystals as an etiological factor in non-resolving chronic inflammation: an experimental study in guinea pigs. *Eur J Oral Sci*, 1998, 106: 644-650.
 33. Stashenko P. Role of immune cytokines in the pathogenesis of periapical lesions. *Endod Dent Traumatol*, 1990, 6: 89-96.

34. Bergenholtz G. Pathogenic mechanisms in pulpal disease. *J Endod*, 1990, 16: 98-101.
35. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Ricucci D, Hulsmann M. Causes and management of post-treatment apical periodontitis. *Br Dent J*, 2014, 216: 305-312.
36. Martinho FC, Chiesa WM, Leite FR, Cirelli JA, Gomes BP. Antigenic activity of bacterial endodontic contents from primary root canal infection with periapical lesions against macrophage in the release of interleukin-1beta and tumor necrosis factor alpha. *J Endod*, 2010, 36: 1467-1474.
37. 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: 591-598.
38. Schonfeld SE, Greening AB, Glick DH, Frank AL, Simon JH, Herles SM. Endotoxic activity in periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1982, 53: 82-87.
39. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol*, 2001, 1: 135-145.
40. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 2006, 124: 783-801.
41. Janeway CA, Jr., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*, 2002, 20: 197-216.
42. Babior BM. The respiratory burst of phagocytes. *J Clin Invest*, 1984, 73: 599-601.
43. Orstavik D P-FT. Essential endodontology: prevention and treatment of apical periodontitis. *Ed2*, 2008.

44. de Brito LC, Teles FR, Teles RP, Totola AH, Vieira LQ, Sobrinho AP. T-lymphocyte and cytokine expression in human inflammatory periapical lesions. *J Endod*, 2012, 38: 481-485.
45. Henriques LC, de Brito LC, Tavares WL, Vieira LQ, Ribeiro Sobrinho AP. Cytokine analysis in lesions refractory to endodontic treatment. *J Endod*, 2011, 37: 1659-1662.
46. Abbas AK LA, Pober JS. Cellular and molecular immunology. 2007.
47. Janeway CA TP, Walport M, Shlomchik MJ. The immune system in health and disease. *Immunobiology*, 2005, ed 6.
48. 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: 451-468.
49. Birklein F, Schmelz M. Neuropeptides, neurogenic inflammation and complex regional pain syndrome (CRPS). *Neurosci Lett*, 2008, 437: 199-202.
50. Byers MR, Narhi MV. Dental injury models: experimental tools for understanding neuroinflammatory interactions and polymodal nociceptor functions. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1999, 10: 4-39.
51. Byers MR, Taylor PE, Khayat BG, Kimberly CL. Effects of injury and inflammation on pulpal and periapical nerves. *J Endod*, 1990, 16: 78-84.
52. Stashenko P, Teles R, D'Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1998, 9: 498-521.
53. Kenneth M. Hargreaves LHB, Ilan Rotstein. Factors Affecting Periapical Health or Healing Following Root Canal Treatment. *Cohen's Pathways of the Pulp*, 11.edition: 495.

54. Stashenko P, Jandinski JJ, Fujiyoshi P, Rynar J, Socransky SS. Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol*, 1991, 62: 504-509.
55. Brain SD. Sensory neuropeptides: their role in inflammation and wound healing. *Immunopharmacology*, 1997, 37: 133-152.
56. Greenhalgh DG. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol*, 1998, 30: 1019-1030.
57. Haanen C, Vermes I. Apoptosis and inflammation. *Mediators Inflamm*, 1995, 4: 5-15.
58. Pozo D, Delgado M, Martinez M, Guerrero JM, Leceta J, Gomariz RP, Calvo JR. Immunobiology of vasoactive intestinal peptide (VIP). *Immunol Today*, 2000, 21: 7-11.
59. Parks WC, Wilson CL, Lopez-Boado YS. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4: 617-629.
60. Said SI, Mutt V. Polypeptide with broad biological activity: isolation from small intestine. *Science*, 1970, 169: 1217-1218.
61. Harmar AJ, Arimura A, Gozes I, Journot L, Laburthe M, Pisegna JR, Rawlings SR, Robberecht P, Said SI, Sreedharan SP, Wank SA, Waschek JA. International Union of Pharmacology. XVIII. Nomenclature of receptors for vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Pharmacol Rev*, 1998, 50: 265-270.
62. Lundberg P, Lie A, Bjurholm A, Lehenkari PP, Horton MA, Lerner UH, Ransjo M. Vasoactive intestinal peptide regulates osteoclast activity via specific binding sites on both osteoclasts and osteoblasts. *Bone*, 2000, 27: 803-810.

63. Sakakibara H, Shima K, Said SI. Characterization of vasoactive intestinal peptide receptors on rat alveolar macrophages. *Am J Physiol*, 1994, 267: L256-262.
64. Ganea D, Delgado M. Vasoactive intestinal peptide (VIP) and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) as modulators of both innate and adaptive immunity. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2002, 13: 229-237.
65. Delgado M, Pozo D, Martinez C, Leceta J, Calvo JR, Ganea D, Gomariz RP. Vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production by macrophages: in vitro and in vivo studies. *J Immunol*, 1999, 162: 2358-2367.
66. Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumour invasion and metastasis. *Eur J Cancer*, 2000, 36: 1621-1630.
67. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med*, 2005, 9: 267-285.
68. Maskos K. Crystal structures of MMPs in complex with physiological and pharmacological inhibitors. *Biochimie*, 2005, 87: 249-263.
69. Nishizuka I, Ichikawa Y, Ishikawa T, Kamiyama M, Hasegawa S, Momiyama N, Miyazaki K, Shimada H. Matrilysin stimulates DNA synthesis of cultured vascular endothelial cells and induces angiogenesis in vivo. *Cancer Lett*, 2001, 173: 175-182.
70. Folgueras AR, Pendas AM, Sanchez LM, Lopez-Otin C. Matrix metalloproteinases in cancer: from new functions to improved inhibition strategies. *Int J Dev Biol*, 2004, 48: 411-424.
71. Zhou Z, Apte SS, Soininen R, Cao R, Baaklini GY, Rauser RW, Wang J, Cao Y, Tryggvason K. Impaired endochondral ossification and angiogenesis in mice

- deficient in membrane-type matrix metalloproteinase I. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97: 4052-4057.
72. Pilcher BK, Dumin JA, Sudbeck BD, Krane SM, Welgus HG, Parks WC. The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *J Cell Biol*, 1997, 137: 1445-1457.
73. Wiseman BS, Sternlicht MD, Lund LR, Alexander CM, Mott J, Bissell MJ, Soloway P, Itohara S, Werb Z. Site-specific inductive and inhibitory activities of MMP-2 and MMP-3 orchestrate mammary gland branching morphogenesis. *J Cell Biol*, 2003, 162: 1123-1133.
74. Jain A, Bahuguna R. Role of matrix metalloproteinases in dental caries, pulp and periapical inflammation: An overview. *J Oral Biol Craniofac Res*, 2015, 5: 212-218.
75. Carneiro E, Menezes R, Garlet GP, Garcia RB, Bramante CM, Figueira R, Sogayar M, Granjeiro JM. Expression analysis of matrix metalloproteinase-9 in epithelialized and nonepithelialized apical periodontitis lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2009, 107: 127-132.
76. Paula-Silva FW, da Silva LA, Kapila YL. Matrix metalloproteinase expression in teeth with apical periodontitis is differentially modulated by the modality of root canal treatment. *J Endod*, 2010, 36: 231-237.
77. Leone A, Uzzo ML, Rappa F, Hajj Hussein IA, Gerbino A, Spatola GF, Jurjus A. Immunohistochemical expression of apoptotic factors, cytokeratins, and metalloproteinase-9 in periapical and epithelialized gingival lesions. *Folia Histochem Cytobiol*, 2012, 50: 497-503.
78. Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjäderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontol Scand*, 2007, 65: 1-13.

79. Roda RS GBIHK, Cohen S, editors. Nonsurgical retreatment. *Cohen's Pathways of the PULP*, 2011, 10th Ed: 890-952.
80. Jokinen MA, Kotilainen R, Poikkeus P, Poikkeus R, Sarkki L. Clinical and radiographic study of pulpectomy and root canal therapy. *Scand J Dent Res*, 1978, 86: 366-373.
81. Pekruhn RB. The incidence of failure following single-visit endodontic therapy. *J Endod*, 1986, 12: 68-72.
82. Swartz DB, Skidmore AE, Griffin JA, Jr. Twenty years of endodontic success and failure. *J Endod*, 1983, 9: 198-202.
83. 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: 33-37.
84. Kawashima N SH. Immunopathological aspects of pulpal and periapical inflammation. . *Essential Endodontology.*, 2008, 2nd ed: 44-80.
85. Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol*, 1985, 1: 170-175.
86. Siqueira JF, Jr., de Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod*, 1996, 22: 674-676.
87. Oliveira LD, Carvalho CA, Carvalho AS, Alves Jde S, Valera MC, Jorge AO. Efficacy of endodontic treatment for endotoxin reduction in primarily infected root canals and evaluation of cytotoxic effects. *J Endod*, 2012, 38: 1053-1057.

88. Gomes BP, Sato E, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Evaluation of time required for recontamination of coronally sealed canals medicated with calcium hydroxide and chlorhexidine. *Int Endod J*, 2003, 36: 604-609.
89. Siqueira JF, Jr., Paiva SS, Rocas IN. Reduction in the cultivable bacterial populations in infected root canals by a chlorhexidine-based antimicrobial protocol. *J Endod*, 2007, 33: 541-547.
90. Fuks AB. Vital pulp therapy with new materials for primary teeth: new directions and treatment perspectives. *J Endod*, 2008, 34: S18-24.
91. Mohammadi Z, Dummer PM. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. *Int Endod J*, 2011, 44: 697-730.
92. Siqueira JF, Jr., Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J*, 1999, 32: 361-369.
93. Mohammadi Z, Shalavi S, Yazdizadeh M. Antimicrobial activity of calcium hydroxide in endodontics: a review. *Chonnam Med J*, 2012, 48: 133-140.
94. Sjogren U, Figdor D, Spangberg L, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J*, 1991, 24: 119-125.
95. Han GY, Park SH, Yoon TC. Antimicrobial activity of Ca(OH)₂ containing pastes with *Enterococcus faecalis* in vitro. *J Endod*, 2001, 27: 328-332.
96. Estrela C, Rodrigues de Araujo Estrela C, Bammann LL, Pecora JD. Two methods to evaluate the antimicrobial action of calcium hydroxide paste. *J Endod*, 2001, 27: 720-723.
97. Behnen MJ, West LA, Liewehr FR, Buxton TB, McPherson JC, 3rd. Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentin. *J Endod*, 2001, 27: 765-767.

98. Leonardo MR, Silva RA, Assed S, Nelson-Filho P. Importance of bacterial endotoxin (LPS) in endodontics. *J Appl Oral Sci*, 2004, 12: 93-98.
99. Barthel CR, Levin LG, Reisner HM, Trope M. TNF-alpha release in monocytes after exposure to calcium hydroxide treated Escherichia coli LPS. *Int Endod J*, 1997, 30: 155-159.
100. Yamasaki M, Nakane A, Kumazawa M, Hashioka K, Horiba N, Nakamura H. Endotoxin and gram-negative bacteria in the rat periapical lesions. *J Endod*, 1992, 18: 501-504.
101. Safavi KE, Nichols FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *J Endod*, 1993, 19: 76-78.
102. Safavi KE, Nichols FC. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. *J Endod*, 1994, 20: 127-129.
103. Olsen MH DP, Dixit SN, Veis A. The effect of calcium hydroxide inhibition on LPS induced release of IL-1b from human monocytes in whole blood. *J Endod*, 1999, 25:289.
104. Nelson-Filho P, Leonardo MR, Silva LA, Assed S. Radiographic evaluation of the effect of endotoxin (LPS) plus calcium hydroxide on apical and periapical tissues of dogs. *J Endod*, 2002, 28: 694-696.
105. Silva L, Nelson-Filho P, Leonardo MR, Rossi MA, Pansani CA. Effect of calcium hydroxide on bacterial endotoxin in vivo. *J Endod*, 2002, 28: 94-98.
106. Tanomaru JM, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LA. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J*, 2003, 36: 733-739.
107. Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurrence of Candida albicans in infections of endodontic origin. *J Endod*, 2000, 26: 695-698.

108. Siqueira JF, Jr., Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2004, 97: 632-641.
109. Waltimo TMT HM, Zehnder M, Meyer J. Clinical aspects related to endodontic yeast infections. *Endod Top*, 2004, 9: 66-78.
110. Waltimo TM, Orstavik D, Siren EK, Haapasalo MP. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *Int Endod J*, 1999, 32: 421-429.
111. Waltimo TM, Siren EK, Orstavik D, Haapasalo MP. Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. *Int Endod J*, 1999, 32: 94-98.
112. Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2005, 99: 231-252.
113. Wu MK, Dummer PM, Wesselink PR. Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. *Int Endod J*, 2006, 39: 343-356.
114. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod*, 2002, 28: 689-693.
115. Chai WL, Hamimah H, Cheng SC, Sallam AA, Abdullah M. Susceptibility of *Enterococcus faecalis* biofilm to antibiotics and calcium hydroxide. *J Oral Sci*, 2007, 49: 161-166.
116. Eda S. Histochemical analysis in the mechanism of dentine formation in dog's pulp. *Bull Tokyo Dent Coll*, 1961, 2: 59-88.
117. Estrela C HR. Calcium hydroxide. *Endodontic science*, 2009: 744-821.

118. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Junior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J*, 1995, 6: 85-90.
119. Seltzer S. BIB. The dental pulp. 1975, 2nd edn: 260.
120. Tomás I RS, Donos N. In situ antimicrobial activity of chlorhexidine in the oral cavity. *Formatex*, 2011: 530-541.
121. Loe H, Schiott CR, Karring G, Karring T. Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. *J Periodontal Res*, 1976, 11: 135-144.
122. Loe H, Schiott CR. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodontal Res*, 1970, 5: 79-83.
123. Basrani B, Lemonie C. Chlorhexidine gluconate. *Aust Endod J*, 2005, 31: 48-52.
124. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*, 2001, 34: 424-428.
125. Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc*, 1986, 112: 863-869.
126. Delany GM, Patterson SS, Miller CH, Newton CW. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1982, 53: 518-523.
127. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol*, 1986, 57: 370-377.

128. Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod*, 2001, 27: 452-455.
129. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2004, 97: 79-84.
130. Siqueira JF, Jr., de Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod*, 1997, 23: 167-169.
131. Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA, Nelson Filho P, Bonifacio KC, Ito IY. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. *J Endod*, 1999, 25: 167-171.
132. Oncag O, Hosgor M, Hilmioglu S, Zekioglu O, Eronat C, Burhanoglu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J*, 2003, 36: 423-432.
133. Dametto FR, Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, de Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2005, 99: 768-772.
134. Lakhani AA, Sekhar KS, Gupta P, Tejolatha B, Gupta A, Kashyap S, Desai V, Farista S. Efficacy of Triple Antibiotic Paste, Moxifloxacin, Calcium Hydroxide And 2% Chlorhexidine Gel In Elimination of E. Faecalis: An In vitro Study. *J Clin Diagn Res*, 2017, 11: ZC06-ZC09.

135. Ballal V, Kundabala M, Acharya S, Ballal M. Antimicrobial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens. *Aust Dent J*, 2007, 52: 118-121.
136. Ercan E, Dalli M, Dulgergil CT. In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006, 102: e27-31.
137. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J*, 2007, 52: S64-82.
138. White RR, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J Endod*, 1997, 23: 229-231.
139. Mohammadi Z. Evaluation of residual antibacterial activity of three concentrations of new root canal irrigation solution. *N Y State Dent J*, 2008, 74: 31-33.
140. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. *J Endod*, 2000, 26: 315-317.
141. Martinho FC, Chiesa WM, Zaia AA, Ferraz CC, Almeida JF, Souza-Filho FJ, Gomes BP. Comparison of endotoxin levels in previous studies on primary endodontic infections. *J Endod*, 2011, 37: 163-167.
142. Buck RA, Cai J, Eleazer PD, Staat RH, Hurst HE. Detoxification of endotoxin by endodontic irrigants and calcium hydroxide. *J Endod*, 2001, 27: 325-327.
143. Gomes BP, Martinho FC, Vianna ME. Comparison of 2.5% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine gel on oral bacterial lipopolysaccharide reduction from primarily infected root canals. *J Endod*, 2009, 35: 1350-1353.

144. Mozayeni MA, Hadian A, Bakhshaei P, Dianat O. Comparison of Antifungal Activity of 2% Chlorhexidine, Calcium Hydroxide, and Nanosilver gels against *Candida Albicans*. *J Dent (Tehran)*, 2015, 12: 109-117.
145. Mohammadi Z, Asgary S. A comparative study of antifungal activity of endodontic irrigants. *Iran Endod J*, 2015, 10: 144-147.
146. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*, 2002, 15: 167-193.
147. Svensäter G. BG. Biofilms in endodontic infections. *Endod Topics*, 2004, 9: 27-36.
148. Devaraj S, Jagannathan N, Neelakantan P. Antibiofilm efficacy of photoactivated curcumin, triple and double antibiotic paste, 2% chlorhexidine and calcium hydroxide against *Enterococcus fecalis* in vitro. *Sci Rep*, 2016, 6: 24797.
149. Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. *Int Endod J*, 2001, 34: 300-307.
150. Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *J Endod*, 2006, 32: 434-437.
151. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *Journal of Dental Research*, 2004, 83: 216-221.
152. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials*, 2003, 24: 3795-3803.

153. Martin-De Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. *Arch Oral Biol*, 2000, 45: 757-765.
154. Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipolito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, Tjaderhane L. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *Journal of Dental Research*, 2007, 86: 90-94.
155. Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *Journal of Dental Research*, 2005, 84: 741-746.
156. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol*, 1999, 6: 437-439.
157. Ng YL, Mann V, Rahbaran S, Lewsey J, Gulabivala K. Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature - part 1. Effects of study characteristics on probability of success. *Int Endod J*, 2007, 40: 921-939.
158. LZ S. The dependence of the results of pulp therapy on certain factors: ananalytic study based on radiographic and clinical follow-up examinations *Mauritzon*, 1956.
159. Friedman S, Mor C. The success of endodontic therapy--healing and functionality. *J Calif Dent Assoc*, 2004, 32: 493-503.
160. Graves DT, Oates T, Garlet GP. Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *J Oral Microbiol*, 2011, 3.
161. Jiang Y, Mehta CK, Hsu TY, Alsulaimani FF. Bacteria induce osteoclastogenesis via an osteoblast-independent pathway. *Infect Immun*, 2002, 70: 3143-3148.

162. 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: 213-218.
163. Cymerman JJ, Cymerman DH, Walters J, Nevins AJ. Human T lymphocyte subpopulations in chronic periapical lesions. *J Endod*, 1984, 10: 9-11.
164. Torabinejad M, Kettering JD. Identification and relative concentration of B and T lymphocytes in human chronic periapical lesions. *J Endod*, 1985, 11: 122-125.
165. Stashenko P, Yu SM, Wang CY. Kinetics of immune cell and bone resorptive responses to endodontic infections. *J Endod*, 1992, 18: 422-426.
166. Moshari A, Vatanpour M, EsnaAshari E, Zakershaharak M, Jalali Ara A. Nonsurgical Management of an Extensive Endodontic Periapical Lesion: A Case Report. *Iran Endod J*, 2017, 12: 116-119.
167. Menakaya IN, Adegbulugbe IC, Oderinu OH, Shaba OP. The Efficacy of Calcium Hydroxide Powder mixed with 0.2% Chlorhexidine Digluconate or mixed with Normal Saline as Intracanal Medicament in the Treatment of Apical Periodontitis. *J Contemp Dent Pract*, 2015, 16: 657-664.
168. Valera MC, Oliveira SA, Maekawa LE, Cardoso FG, Chung A, Silva SF, Carvalho CA. Action of Chlorhexidine, Zingiber officinale, and Calcium Hydroxide on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, and Endotoxin in the Root Canals. *J Contemp Dent Pract*, 2016, 17: 114-118.
169. Agrawal V. Calcium Hydroxide: A Miracle Munition. *Indian Journal of Dental Research and Review*, 2011, Content-April-September 2011: 16-18.
170. Zmener O, Pameijer CH, Banegas G. An in vitro study of the pH of three calcium hydroxide dressing materials. *Dent Traumatol*, 2007, 23: 21-25.

171. Estrela C, Bammann LL, Pimenta FC, Pecora JD. Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide pastes. *Int Endod J*, 2001, 34: 341-345.
172. Meng LJ, Qiu LH, Yu YQ, Zhan FL, Zhang L, Zhang XF. [The effect of calcium hydroxide on IL-6 and TNF-alpha expression of osteoblast in periapical tissues]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*, 2016, 25: 32-37.
173. Pereira MS, Rossi MA, Cardoso CR, da Silva JS, Bezerra da Silva LA, Kuga MC, Faria G. Cellular and molecular tissue response to triple antibiotic intracanal dressing. *J Endod*, 2014, 40: 499-504.
174. Epstein JB, McBride BC, Stevenson-Moore P, Merilees H, Spinelli J. The efficacy of chlorhexidine gel in reduction of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* species in patients treated with radiation therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1991, 71: 172-178.
175. Clark DC, Morgan J, MacEntee MI. Effects of a 1% chlorhexidine gel on the cariogenic bacteria in high-risk elders: a pilot study. *Spec Care Dentist*, 1991, 11: 101-103.
176. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Paiva SS, Guimaraes-Pinto T, Magalhaes KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2007, 104: 122-130.
177. Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod*, 1994, 20: 276-278.
178. Ercan E, Ozekinci T, Atakul F, Gul K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. *J Endod*, 2004, 30: 84-87.

179. Zhao C, Chi S, Li H, Li TB, Zhang ZM. [Effects of MMPs inhibitors on microleakage with wet bonding technique]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*, 2016, 25: 548-552.
180. Ebrahimi-Chaharom ME, Abed-Kahnamoui M, Bahari M, Hamishehkar H, Gharouni M. Effect of different concentrations of specific inhibitor of matrix metalloproteinases on the shear bond strength of self-adhesive resin cements to dentin. *J Clin Exp Dent*, 2017, 9: e431-e436.
181. De la Fuente M, Delgado M, Gomariz RP. VIP modulation of immune cell functions. *Adv Neuroimmunol*, 1996, 6: 75-91.
182. Gurkan A, Emingil G, Nizam N, Doganavsargil B, Sezak M, Kutukculer N, Atilla G. Therapeutic efficacy of vasoactive intestinal peptide in escherichia coli lipopolysaccharide-induced experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*, 2009, 80: 1655-1664.
183. Tavares WL, de Brito LC, Henriques LC, Teles FR, Teles RP, Vieira LQ, Ribeiro Sobrinho AP. Effects of calcium hydroxide on cytokine expression in endodontic infections. *J Endod*, 2012, 38: 1368-1371.
184. 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: 348-354.
185. Voice JK, Grinninger C, Kong Y, Bangale Y, Paul S, Goetzl EJ. Roles of vasoactive intestinal peptide (VIP) in the expression of different immune phenotypes by wild-type mice and T cell-targeted type II VIP receptor transgenic mice. *J Immunol*, 2003, 170: 308-314.

186. Delgado M, Sun W, Leceta J, Ganea D. VIP and PACAP differentially regulate the costimulatory activity of resting and activated macrophages through the modulation of B7.1 and B7.2 expression. *J Immunol*, 1999, 163: 4213-4223.
187. Delgado M, Ganea D. Cutting edge: is vasoactive intestinal peptide a type 2 cytokine? *J Immunol*, 2001, 166: 2907-2912.
188. Opdenakker G, Van den Steen PE, Van Damme J. Gelatinase B: a tuner and amplifier of immune functions. *Trends Immunol*, 2001, 22: 571-579.
189. Delaisse JM, Engsig MT, Everts V, del Carmen Ovejero M, Ferreras M, Lund L, Vu TH, Werb Z, Winding B, Lochter A, Karsdal MA, Troen T, Kirkegaard T, Lenhard T, Heegaard AM, Neff L, Baron R, Foged NT. Proteinases in bone resorption: obvious and less obvious roles. *Clin Chim Acta*, 2000, 291: 223-234.
190. Ahmed GM, El-Baz AA, Hashem AA, Shalaan AK. Expression levels of matrix metalloproteinase-9 and gram-negative bacteria in symptomatic and asymptomatic periapical lesions. *J Endod*, 2013, 39: 444-448.
191. Rhee JW, Lee KW, Kim D, Lee Y, Jeon OH, Kwon HJ, Kim DS. NF-kappaB-dependent regulation of matrix metalloproteinase-9 gene expression by lipopolysaccharide in a macrophage cell line RAW 264.7. *J Biochem Mol Biol*, 2007, 40: 88-94.
192. Kato Y, Nakayama Y, Umeda M, Miyazaki K. Induction of 103-kDa gelatinase/type IV collagenase by acidic culture conditions in mouse metastatic melanoma cell lines. *J Biol Chem*, 1992, 267: 11424-11430.
193. Kato Y, Ozono S, Shuin T, Miyazaki K. Slow induction of gelatinase B mRNA by acidic culture conditions in mouse metastatic melanoma cells. *Cell Biol Int*, 1996, 20: 375-377.

194. de Oliveira LD, Jorge AO, Carvalho CA, Koga-Ito CY, Valera MC. In vitro effects of endodontic irrigants on endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2007, 104: 135-142.
195. Silva LA, Leonardo MR, Assed S, Tanomaru Filho M. Histological study of the effect of some irrigating solutions on bacterial endotoxin in dogs. *Braz Dent J*, 2004, 15: 109-114.
196. Melamed D, Messika O, Glass-Marmor L, Miller A. Modulation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) secretion in B lymphopoiesis. *Int Immunol*, 2006, 18: 1355-1362.
197. 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: 612-615.
198. Paquette L, Legner M, Fillery ED, Friedman S. Antibacterial efficacy of chlorhexidine gluconate intracanal medication in vivo. *J Endod*, 2007, 33: 788-795.
199. Peters LB, van Winkelhoff AJ, Buijs JF, Wesselink PR. Effects of instrumentation, irrigation and dressing with calcium hydroxide on infection in pulpless teeth with periapical bone lesions. *Int Endod J*, 2002, 35: 13-21.
200. Kim SK, Kim YO. Influence of calcium hydroxide intracanal medication on apical seal. *Int Endod J*, 2002, 35: 623-628.
201. Calt S, Serper A. Dentinal tubule penetration of root canal sealers after root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod*, 1999, 25: 431-433.
202. Kenee DM, Allemang JD, Johnson JD, Hellstein J, Nichol BK. A quantitative assessment of efficacy of various calcium hydroxide removal techniques. *J Endod*, 2006, 32: 563-565.

203. Kirar DS, Jain P, Patni P. Comparison of different irrigation and agitation methods for the removal of two types of calcium hydroxide medicaments from the root canal wall: an in-vitro study. *Clujul Med*, 2017, 90: 327-332.
204. Lambrianidis T, Kosti E, Boutsoukis C, Mazinis M. Removal efficacy of various calcium hydroxide/chlorhexidine medicaments from the root canal. *Int Endod J*, 2006, 39: 55-61.
205. Engel GT, Goodell GG, McClanahan SB. Sealer penetration and apical microleakage in smear-free dentin after a final rinse with either 70% isopropyl alcohol or Peridex. *J Endod*, 2005, 31: 620-623.
206. Ferguson DB, Marley JT, Hartwell GR. The effect of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: long-term results. *J Endod*, 2003, 29: 91-94.
207. Marley JT, Ferguson DB, Hartwell GR. Effects of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: short-term results. *J Endod*, 2001, 27: 775-778-208.
209. Miyamoto T, Takahashi S, Ito H, Inagaki H, Noishiki Y. Tissue biocompatibility of cellulose and its derivatives. *J Biomed Mater Res*, 1989, 23: 125-133.
210. Vivacqua-Gomes N, Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Influence of irrigants on the coronal microleakage of laterally condensed gutta-percha root fillings. *Int Endod J*, 2002, 35: 791-795.
211. Martinho FC, Chiesa WM, Leite FR, Cirelli JA, Gomes BP. Antigenicity of primary endodontic infection against macrophages by the levels of PGE(2) production. *J Endod*, 2011, 37: 602-607.
212. Garcia de Aquino S, Manzolli Leite FR, Stach-Machado DR, Francisco da Silva JA, Spolidorio LC, Rossa C, Jr. Signaling pathways associated with the

- expression of inflammatory mediators activated during the course of two models of experimental periodontitis. *Life Sci*, 2009, 84: 745-754.
213. 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: 176-182.
214. Barkhordar RA, Hussain MZ, Hayashi C. Detection of interleukin-1 beta in human periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1992, 73: 334-336.
215. Gallacher SJ, Thomson G, Fraser WD, Fisher BM, Gemmell CG, MacCuish AC. Neutrophil bactericidal function in diabetes mellitus: evidence for association with blood glucose control. *Diabet Med*, 1995, 12: 916-920.
216. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*, 2007, 117: 175-184.
217. Chae CU, Lee RT, Rifai N, Ridker PM. Blood Pressure and Inflammation in Apparently Healthy Men. *Hypertension*, 2001, 38: 399-403.
218. Tinsley JH, South S, Chiasson VL, Mitchell BM. Interleukin-10 reduces inflammation, endothelial dysfunction, and blood pressure in hypertensive pregnant rats. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2010, 298: R713-R719.
219. 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: 53-59.
220. Vellani V, Franchi S, Prandini M, Moretti S, Castelli M, Giacomoni C, Sacerdote P. 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: 111-120.

221. Mokhtari F, Yazdi K, Mahabadi AM, Modaresi SJ, Hamzeheil Z. Effect of Premedication with Indomethacin and Ibuprofen on Postoperative Endodontic Pain: A Clinical Trial. *Iran Endod J*, 2016, 11: 57-62.
222. 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: 264-270.
223. Ehsani M, Moghadamnia AA, Zahedpasha S, Maliji G, Haghanifar S, Mir SM, Kani NM. The role of prophylactic ibuprofen and N-acetylcysteine on the level of cytokines in periapical exudates and the post-treatment pain. *Daru*, 2012, 20: 30.
224. Palmer RM, Wilson RF, Hasan AS, Scott DA. Mechanisms of action of environmental factors--tobacco smoking. *J Clin Periodontol*, 2005, 32 Suppl 6: 180-195.
225. Liu KZ, Hynes A, Man A, Alsagheer A, Singer DL, Scott DA. Increased local matrix metalloproteinase-8 expression in the periodontal connective tissues of smokers with periodontal disease. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1762: 775-780.
226. Ozcaka O, Bicakci N, Pussinen P, Sorsa T, Kose T, Buduneli N. Smoking and matrix metalloproteinases, neutrophil elastase and myeloperoxidase in chronic periodontitis. *Oral Dis*, 2011, 17: 68-76.
227. Buduneli N, Kardesler L, Isik H, Willis CS, Hawkins SI, Kinane DF, Scott DA. Effects of smoking and gingival inflammation on salivary antioxidant capacity. *J Clin Periodontol*, 2006, 33: 159-164.

EKLER

EK 1. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER
Adı Soyadı: Mine Büker
Doğum Tarihi: 19/08/1988
Doğum Yeri: Ereğli
Medeni Hali: Bekâr
Uyruğu: T.C.
Adres: Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, 25240 Erzurum
Tel: 0442 231 1746
Fax: 0442 236 0945
E Mail: mine.buker@atauni.edu.tr
EĞİTİM
Lise: Adana Ticaret Odası Anadolu Lisesi (2002-2006)
Lisans: Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (2006-2011)
Uzmanlık: Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı (2014- Devam Ediyor)
YABANCI DİL BİLGİLERİ
İngilizce: 63.75 (2013- Yds İlkbahar)
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

Sayı : 28

24.04.2017

ENDODONTİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

12.04.2017 tarih ve 12 sayılı yazımız ekinde gönderilen ve Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KARATAŞ yöneticiliğinde Arş. Gör. Dt. Mine BÜKER'in hazırladığı “*Periapikal lezyonlarda Matriks Metalloproteinaz 9 ve Vazoaktif İntestinal Peptit Salınımı Üzerine Kanal İçi İlaçların Etkisi: Randomize Kontrollü Klinik Çalışma*” başlıklı Uzmanlık Tezinin etik kurul başvurusu kurulumuz tarafından incelenmiş olup, konu ile ilgili alınan karar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi arz ve rica ederim.

Prof. Dr. Abdulvahit ERDEM
Etik Kurul Başkanı

Eki: Etik Kurul Kararı

Adres: Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı ERZURUM
Tel : (442) 2360942




T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ETİK KURULU

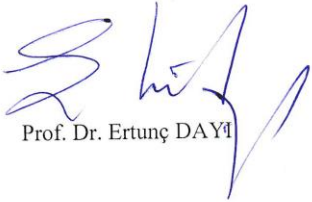
Oturum Tarihi: 24.04/2017
Oturum Sayısı: 06/2017

KARAR

SORUMLU ARAŞTIRMACI	Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KARATAŞ Arş. Gör. Dt. Mine BÜKER
Araştırmanın Açık Adı	<i>Periapikal lezyonlarda Matriks Metalloproteinaz 9 ve Vazoaktif İntestinal Peptit Salınımı Üzerine Kanal İçi İlaçların Etkisi: Randomize Kontrollü Klinik Çalışma</i>
Karar No	28
Alınan Karar	Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KARATAŞ'ın yöneticiliğinde Arş. Gör. Dt. Mine BÜKER'in birlikte yürüttüğü " <i>Periapikal lezyonlarda Matriks Metalloproteinaz 9 ve Vazoaktif İntestinal Peptit Salınımı Üzerine Kanal İçi İlaçların Etkisi: Randomize Kontrollü Klinik Çalışma</i> " konulu Uzmanlık Tezi Sağlık Bakanlığı tarafından yayımlanan 19 Ağustos 2011 tarih ve 28030 sayılı "Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik" hükümlerine bağlı kalınarak; yapılmak şartıyla kabul edilmesinde bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oybirliği ile karar verildi.


Prof. Dr. Abdulvalit ERDEM
Etik Kurul Başkanı


Prof. Dr. A. Berhan YILMAZ


Prof. Dr. Ertunç DAYI


Prof. Dr. Recep ORBAK


Prof. Dr. K. Meltem ÇOLAK TOPÇU

EK 3. AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

ETİK KURUL BİLİMSEL ARAŞTIRMA VE TEZ BAŞVURU 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

PERİAPİKAL LEZYONLARDA MATRİKS METALLOPROTEİNAZ 9 VE VAZOAKTİF İNTESTİNAL PEPTİT SALINIMI ÜZERİNE KANAL İÇİ İLAÇLARIN ETKİSİ: RANDOMİZE KONTROLLÜ KLİNİK ÇALIŞMA

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

PERİAPİKAL LEZYONLARDA MATRİKS METALLOPROTEİNAZ 9 VE VAZOAKTİF İNTESTİNAL PEPTİT SALINIMI ÜZERİNE KANAL İÇİ İLAÇLARIN ETKİSİNİ ARAŐTIRMAK.

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

RUTİN KÖK KANAL YENİLEME İŞLEMİ UYGULANACAKTIR. 1.VE 2. SEANSTA KÖK KANALINDAN ÖRNEK ALINACAKTIR.

HASTALAR BİR HAFTA SONRA İKİNCİ SEANS İÇİN ÇAĞIRILACAKTIR. ÇALIŐMAMIZ SÜRESİNCE RETREATMENT TEDAVİLERİNDE GÖRÜLEN KOMPLİKASYONLAR DIŞINDA HERHANGİ İLAVE BİR KOMPLİKASYON BEKLENMEMEKTEDİR.

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 araőtirmadan çekilebilirsiniz (ancak araőtirma zor durumda brakmamak için araőtirmadan çekileceimi önceden bildirmemin uygun olacaktır). Bu durumda da sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi kouluyla araőtirmacı tarafından araőtirma d tutulabilirsiniz.

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

MİNE BÜKER
TEL: 4422360944-1902
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ ENDODONTİ AD

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamıő bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araőtirma 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

Ad - Soyad

ETİK KURUL BİLİMSEL ARAŞTIRMA VE TEZ BAŞVURU FORMU

Adres

Telefon

İmza

Katılımcı ile görüşen araştırmacı

Ad - Soyad

Adres

Telefon

İmza

Görüşme Tanığı:

Ad - Soyad

Adres

Telefon

İmza

Görev