



TC

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI

ENDODONTİDE KULLANILAN FARKLI İRRİGASYON
AJANLARININ HUMAN OSTEOLAST VE HUMAN GİNGİVAL
FİBROBLAST HÜCRELERİNE SİTOTOKSİSİTE VE
GENOTOKSİSİTE ETKİNLİĞİNİN İN VİTRO OLARAK
DEĞERLENDİRMESİ

Dt. Zeliha UÇUR

SİVAS

2016



TC

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI

ENDODONTİDE KULLANILAN FARKLI İRRİGASYON
AJANLARININ HUMAN OSTEOLAST VE HUMAN GİNGİVAL
FİBROBLAST HÜCRELERİNE SİTOTOKSİSİTE VE
GENOTOKSİSİTE ETKİNLİĞİNİN İN VİTRO OLARAK
DEĞERLENDİRİMESİ

Dt. Zeliha UÇUR

Doç Dr. Kerem Engin AKPINAR
DANIŞ MAN ÖĞRETİM ÜYESİ

SİVAS

2016

ONAY SAYFASI

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Endodonti Anabilim Dalında uzmanlık tezi olarak kabul edilmiş tir.

İmza

Baş kan:

Üye:

Üye:

Bu tez, tarih vesayılı Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş tir.

Prof. Dr. İhsan Hübbezoğlu

Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı

TEŞ EKKÜR

Tez çalış malarımın planlanması ve yürütülmesinin yanısıra, uzmanlık sürecim boyunca maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen; iyi bir akademisyen olmadan önce, iyi bir insan olabilmeyi hedeflemenin önemini bana öğreten çok değerli danış manım Sn. Doç Dr. Kerem Engin AKPINAR'a ş ükranlarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve birikimlerini benimle paylaş an, bana yol gösteren Endodonti Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sn. Yrd. Doç Dr. Demet Altunbaş , Sn. Yrd. DoçDr. Recai Zan'a

Tezimi planlamamda ve gerçekle ş tirmemde yardım sağlayan Sn. Yrd. Doç Dr. Ceylan Hepokur'a,

Tez çalış mam süresince yanımda olan, hiçbir konuda yardımlarını esirgemeyen çok değerli arkadaş larım Nazan Özdemir, Seval Bayrak, Melike Koraltan,Tansu Doğan'a,

Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı'nın bir parçası olduğum süre boyunca, hayatımın acı tatlı her anını paylaş tığım ve dostluğunu kaybetmeyeceğimi bildiğim, Fatma Kanmaz'a,

Uzmanlık hayatım boyunca hep yanımda olan, her türlü sabrı ve desteği gösteren Yusuf Bahri Aydın'a,

Sahip olduğum herş ey için hergün teş ekkür etmeme sebep babam Sait Uğur, annem Mürş idiye Uğur ve kardeş lerime,

Tüm kalbimle teş ekkür ederim.

ÖZET

ENDODONTİDE KULLANILAN FARKLI İRRİGASYON AJANLARININ İNSAN OSTEOLAST VE İNSAN DİŞ ETİ FİBROBLAST HÜCRELERİNE SİTOTOKSİSİTE VE GENOTOKSİSİTE ETKİNLİĞİNİN İN VİTRO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Zeliha UÇUR

Endodonti Anabilim Dalı

Sivas

2016

Endodontik tedavide kullanılan irrigasyon solüsyonları periapikal dokularla temas halindedir. Bu maddelerin olası sitotoksik ve genotoksik etkileri ile periapikal dokulara verecekleri hasar açısından değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın amacı, endodontik tedavide irrigasyon solüsyonu olarak kullanılan çeşitli materyallerin XTT testi yöntemi ile human gingival fibroblast hücre hattı ve human osteoblast hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkilerini değerlendirmek, olabilecek olası genotoksik etkiyi ise 8-OHdG kiti kullanarak tespit etmektir.

Çalışmamızda, 4 farklı irrigasyon solüsyonunun sitotoksik ve genotoksik etkisi değerlendirilmiştir. Bu materyaller NaOCl, kitosan, propolis ve humik asit'tir.

Çalışmada kullanılan her bir kimyasal için hazırlanan örnekler 24 kuyucuklu hücre kültürü plaklarına yerleştirilmiş ve üzerine 1 ml (mililitre) kültür ortamı DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) ilave edilmiştir. Elde edilen örnekler 4. ve 24. saatlerde toplanmış, hücre canlılık testi için spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

Sitotoksitelerinin değerlendirilmesinde XTT test yöntemi, genotoksitenin değerlendirilmesinde ise 8-OHdG test yöntemi kullanılmıştır.

Human gingival fibroblast hücreleri ve human osteoblast hücreleri üzerine uygulanan her bir solüsyonun kendi içerisinde 4 ve 24 saatlik uygulama sonrası oluşan sitotoksite karşı ilaçsız olarak kontrol grubu hariç uygulama süresi

arttığında sitotoksik etki de anlamlı derecede artmış tır. İki hücre hattı üzerinde de en sitotoksik materyal NaOCl olmuş tur.

Human gingival fibroblast hücre hattı üzerinde yapılan genotoksisite karşı ılaşı tırılmasında dört solüsyonun oluş turduğu etki arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuş tur. Yapılan genotoksik hasar sıralamasında NaOCl^ˆ Humik asit^ˆ Kontrol^ˆ Propolis^ˆ Kitosan ş ekinde bir sıralama oluş muş tur. Bu sonuca göre NaOCl en genotoksik solüsyon olarak bulunurken kitosan ve propolis kontrol grubundan da düş ük etki göstererek antigenotoksik bulunmuş tur. (p^ˆ 0.05)

Human osteoblast hücre hattı üzerinde yapılan genotoksisite karşı ılaşı tırılmasında dört solüsyonun oluş turduğu etki arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış tır.

Anahtar Sözcükler: Fibroblast, Humik Asit, Kitosan, Osteoblast, Propolis, Sitotoksisite.

ÖZ

KTİ OTOKSİK VE GENOTOKSİSİTE AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ
ENDODONTİKTE KULLANILAN FARKLI İRİGASYON MADDELERİNİN
İNSAN OSTEOLAST VE İN VİTRO OLARAK İNSAN FİBROBLAST HÜCRELERİ

Dt. Zeliha UÇUR

Endodonti Bölümü

Sivas

2016

Endodontik tedavilerde kullanılan kök kanal irrigasyon solüsyonları yakın temas halindedir. periapikal dokular ile. Muhtemel sitotoksik ve genotoksik olanları incelemeye değer. Bu malzemelerin periapikal canlı dokulara etkileri.

Bu çalışmanın amacı, çeşitli materyallerin sitotoksik etkilerini değerlendirmektir. insan diş eti ve insanda endodontik tedavide irrigasyon solüsyonu olarak kullanılır. XTT yöntemi ile overblast hücre hattı ve olası genotoksik teşhis 8-OHdG kitinin etkisi. Bu solüsyonlar NaOCl, Chitosan, Propolis ve Humic asit. Her solüsyondan 4 adet numune alınarak steril silindirik kaplara konuldu. üreticinin talimatlarına göre aseptik koşullarda polietilen kaplar. Test edilen her bir kimyasal için hazırlanan diskler 24 odacıklı hücre kültürüne yerleştirildi. plakalar ve 1 ml kültür ortamı, DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), her birine eklendi. Alınan numuneler 4. ve 24. saat sonra toplandı. ve hücre canlılığı için spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır. XTT testi yöntemi sitotoksitelerin değerlendirilmesinde kullanıldı.

Bu çalışmanın amacı, farklı sulamanın sitotoksik etkisini incelemektir. insan diş eti fibroblast hücre hattı ve insan üzerinde XTT testi ile çözümler osteoblast hücre dizisi ve aynı hücre dizileri üzerindeki olası genotoksik etkiyi belirlemek için 8-OHdG yöntemleri kullanılarak.

İnsan gingivalfibroblast hücre dizisinin istatistiksel olarak genotoksite karşı ilaştırılmasında bu dört çözümlerin etkileri arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur. İçinde

NaOCl >Hümik Asit >Kontrol> gibi bir dizilimi genotoksik hasar derecelendirmesi
Propolis > Citosan elde edilmiş tir.

Bu sonuca göre NaOCl en genotoksik çözelti olarak bulunurken,
sitosan ve propolis grubuna göre daha az etki gösterdiği için antijenotoksik bulunmuş tur.

İnsan osteoblast hücreleri hattı üzerinde yapılan genotoksisite karşı ılaşı tırmasında herhangi bir
Bu dördünün etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.
çözümler.

Anahtar Kelimeler: Fibroblastlar, Hümik Asit, Kitosan, Osteoblastlar, Propolis,

Sitotoksisite.

İÇİNDEKİLER

TEŞ EKKÜR	ii
ÖZET.....	iii
ÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Endodontide İrrigasyon	2
2.1.1. İrrigasyon Solüsyonlarının Sınıflandırılması	6
2.1.1.1 Kimyasal Ajanlar.....	6
2.1.1.1.1. Doku Çözücü Ajanlar.....	6
2.1.1.1.1.1. Sodyum Hipoklorit (NaOCl).....	6
2.1.1.1.1.2. Klorin Dioksit (ClO ₂)	9
2.1.1.1.2. Asitler ve Şelasyon Ajanları	9
2.1.1.1.2.1. Etilen Diamin Tetraasetik asit (EDTA).....	9
2.1.1.1.2.2. REDTA (EDTA-SETREMİT).....	10
2.1.1.1.2.3. EDTA-T.....	10
2.1.1.1.2.4. Sitrik Asit.....	10
2.1.1.1.2.5. HEBP (Etidronik Asit)	10
2.1.1.1.3. Antimikrobiyel ajanlar.....	10
2.1.1.1.3.1.Klorheksidin (CHX).....	10
2.1.1.1.3.2.Mineral Trioksit Agregası (MTAD).....	11
2.1.1.1.3.3Tetraclean	11
2.1.1.1.4. Oksitleyici Solüsyonlar.....	11
2.1.1.1.4.1. Elektromekanik Olarak Aktive Edilmiş Solüsyonlar (ECA)	11
2.1.1.1.4.2. Ozonlu Su	12
2.1.1.1.5. Doğal Ajanlar.....	12

2.1.1.1.5.1. Kitosan.....	13
2.1.1.1.5.2. Propolis.....	17
2.1.1.1.5.3. Hüyük asit	19
2.2. Biyoyumluluk.....	20
2.2.1. Dental materyallerde biyoyumluluk.....	21
2.3. Hücre Kültürü.....	27
2.3.1. Hücre Kültürü Çeşitleri	27
2.3.1.1. Primer hücre kültürleri.....	27
2.3.1.2. Diploid Hücre Kültürleri:.....	27
2.3.1.3. Devamlı Hücre Kültürleri:.....	28
2.3.2. Hücre kültürü test yöntemleri.....	29
2.4. Sitotoksikite	32
2.5. Genotoksikite	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
3.1. Hücre kültürü.....	35
3.1.1. Hücre Çözme Protokolü.....	36
3.1.2. Hücrelerin yıkanması	36
3.1.3. Hücrelerin pasajlanması	37
3.1.4. Hücrelerin 96 Kuyucuklu Platelere Ekilmesi.....	37
3.1.5. Hücrelere Solüsyon Uygulanması.....	38
3.1.6. Hücrelere XTT Uygulanması	39
3.1.7. Genotoksikite için 8-OHdG ELISA kiti uygulanması.....	40
3.1.8. Sonuçların İstatistiksel Yöntemlerle Değerlendirilmesi	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. Sitotoksikite Test Sonuçlarına Ait Bulgular	42
4.1.1. Human gingival fibroblast hücre hattı üzerine uygulanan solüsyonların sitotoksik etkinliğine ait bulgular.....	42
4.1.2. Human osteoblast hücre hattı üzerine uygulanan solüsyonların sitotoksikite etkinliğine ait bulgular.....	43
4.2. Genotoksikite Test Sonuçlarına Ait Bulgular.....	44
4.2.1. Human gingival fibroblast hücre hattı üzerine uygulanan solüsyonların genotoksik etkinliğine ait bulgular.....	44

4.2.2. Osteoblast hücre hattı üzerine uygulanan solüsyonların genotoksik etkinliğine ait bulgular.....	45
5. TARTIŞ MA	47
6. SONUÇ LAR VE ÖNERİ LER	65
7. KAYNAKLAR	67
8. ÖZGEÇ MİŞ	98



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

KISALTMALAR

Ark:	Arkadaş ları
Hayır.	Klorheksidin glukonatlar
CIO ₂ :	Klorin Dioksit
DMEM:	Dulbecco'nun değiş tirilmiş medyası
EKA:	Elektrokimyasal Aktive Edilmiş Su
EDTA:	Etilendiamintetraasetik Asit
Facebook'ta:	Fetal sığır serumu
HEBP:	Etidronik Asit
H ₂ O ₂ :	Hidrojen Peroksit
HOCl:	Hipokloröz Asit
MTAD:	Mineral Trioksit Agregası
NaOCl:	Sodyum hipoklorit
NaOH:	Sodyum Hidroksit
REDTA:	EDTA-SETREMİT
XTT:	2,3-bis(2-metoksi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanlar
8-OHdG:	8-hidroksi-2'-deoksiguanozin

SİMGELER

oC	Santigrat
dk	Bir dakika
mL	Mililitre
deniz mili	Nanometre
rpm	Dakikadaki devir sayısı
µL	Mikrolitre
%	Yüzde

Ş EKİLLER DİZİNİ

Ş ekil 2. 1: Sırasıyla selüloz, kitosan ve kitinin kimyasal yapıları.	14
Ş ekil 2. 2: Kitinin deasetilizasyonu.	15
Ş ekil 2. 3: Hümik asit modeli	20
Ş ekil 2. 4: XTT' nin formazana dönüş ümü.	33
Ş ekil 3.1: Deneyde kullanılan soğutmalı santrifüj	36
Ş ekil 3. 2: Deneyde kullanılan inkübatör.	37
Ş ekil 3. 3: Deneyde kullanılan Laminar Flow.	38
Ş ekil 3. 4: XTT uygulamasının ardından platelerde renk değiş imi.....	39
Ş ekil 3. 5: Platelerin eliza okuyucuya yerleş tirilmesi.....	40
Ş ekil 3. 6: Durdurucu (stop) Materyalinin Uygulanmasının Ardından Sarıdan Maviye Renk Değiş imi.....	41

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2. 1: Humik maddelerin sınıflandırılması ve kimyasal özellikleri.....	19
Tablo 2. 2: Biyouyumluluk çalış malarında uygulanan test yöntemleri.	23
Tablo 4. 1: Human Gingival Fibroblast Hücre Hattı üzerinde gruplar arasında zamana göre absorbans düzeylerinin dağılımı	42
Tablo 4. 2: Human Osteoblast Hücre Hattı üzerinde gruplar arasında zamana göre absorbans düzeylerinin dağılımı.	43
Tablo 4. 3: Human gingival fibroblast hücre hattı üzerinde solüsyonların genotoksik etkisinin değerlendirilmesi.....	45
Tablo 4. 4: Human osteoblast hücre hattı üzerinde solüsyonların genotoksik etkisinin değerlendirilmesi.....	46

1. GİRİŞ

Endodontik tedavinin hedefi; periapikal bölgede patoloji oluş umunu önlemek ya da oluş an problemin tedavisi olup, daha da önemlisi kök kanal sisteminde gözlenen mikrobiyal bir enfeksiyonu elimine etmek veya enfeksiyondan korumaktır. Bu nedenle nihai baş arı daima iyi bir enfeksiyon kontrolüne bağlıdır (1).

Endodontik tedavinin en önemli safhalarından birisi kök kanallarının temizlenmesi ve ş ekillendirilmesidir. Kök kanal sisteminin karmaş ık anatomisi nedeniyle sadece mekanik ş ekillendirme ile kök kanalı tamamen temizlenememektedir. Bu nedenle kök kanallarının irrigasyonu tedavinin vazgeçilmez bir parçası haline gelmiş tir (2, 3).

Kök kanalının preparasyon öncesi ve preparasyon sırasında, sık aralıklarla nekrotik ve vital dokuyu çözücü, antimikrobiyal özellikli bir veya daha fazla irrigasyon solüsyonu ile yıkanması gerekmektedir (4, 5). Kök kanal tedavisinde kullanılan bu solüsyonlar yıkama iş lemi sırasında apikal foramen yolu ile periapikal dokularla temas edebilmektedir. Endodontik tedavinin baş arısındaki en önemli kriter tedavi sonrası periapikal dokuların normal sağlıklı durumlarını korumasıdır. Bu nedenle irrigasyon solüsyonlarının periapikal dokular ile temas ettiğinde, biyoyumlu olmaları büyük önem taş ımaktadır (6, 7).

Günümüze kadar irrigasyon solüsyonları ile ilgili yapılan çalış malar bu solüsyonların smear tabakasının kaldırılmasındaki etkinlikleri ve antibakteriyel özelliklerini inceleme yönünde yoğunlaş mış tir. Fakat bunun yanında endodontik tedavinin baş arısına büyük ölçüde etkili olan materyalin biyoyumluluğu üzerine yapılmış araş tırma sınırlı sayıda bulunmaktadır.

Bu sebeple çalış mamızda; kök kanal irrigasyonu amacıyla önerilen, ancak sitotoksisitelerinin ve genotoksisitesinin hücre kültürü yöntemiyle birbirleriyle karş ılaş tırıldıkları çalış ma bulunmayan Kitosan, Propolis, Humik asit ve NaOC'in biyoyumluluklarını in vitro olarak incelemeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

Kök kanal tedavisinde güncel görüş , kök kanallarının mekanik olarak temizlenmesinin ardından biyoyumlu bakterisit ilaçlarla yıkanması ve toksik olmayan dolgu patları ile tıkanmasıdır (8).

Kök kanal sistemini etkileyerek enfekte eden mikroorganizmalar iltihapsal bir süreç olan apikal periodontitisin oluşumuna ya da mevcut iltihabi durumun ilerlemesine neden olabilmektedir. Bu nedenle kök kanal tedavisi sırasında, etken mikroorganizmaların, toksinlerin ve enfekte dentinin uzaklaştırılarak dezenfeksiyonun etkin bir biçimde yapılması, apikal periodontitisin önlenmesinde ve tedavi edilmesinde önemli bir role sahiptir (9, 10).

Kök kanal sistemi ana kök kanalı, dentin kanalları, aksesuar kanallar, kanal ramifikasyonları, apikal deltalar ve transvers anostomozlar gibi mikroorganizmaların kolayca barınabileceği ve mekanik temizlemenin tek başına ulaşmakta sınırlı kaldığı anatomik yapılarla sahip olabilmektedir. Kök kanal anatomisinin bu karmaşık yapısı, mekanik preparasyonu tek başına kök kanalının üçboyutlu olarak temizlenmesinde ve dezenfekte edilmesinde yetersiz kılmaktadır. Bu nedenle mekanik preparasyon ile kimyasal irrigasyonun eş zamanlı kullanımı gereklidir (11).

2.1. Endodontide İrrigasyon

Kök kanallarının temizlenip şekillendirilmesinde kanal aletlerinin tek başına mekanik kullanımının yetersiz kalması nedeniyle işlemin tamamlayıcı bir bölümü olan irrigasyon işlemi de yapılmaktadır (8). Araştırıcılar mekanik preparasyonun mikroorganizma sayısını belirgin ölçüde azalttığını, ancak tek başına tamamen steril bir kök kanalı elde etmek için yetersiz olduğunu bildirmişlerdir (9). Bu nedenle mekanik preparasyona ilave olarak irriganlar ve diğer kanal iç ilaçlar kullanılmaktadır (1).

Endodontide kök kanal tedavisinin ayrılmaz bir parçası olan irrigasyon solüsyonları büyük önem taşımaktadır. Irrigasyon solüsyonlarının endodontide kullanım amaçları genel olarak şu şekilde sıralanabilir (12, 13);

-Kök kanallarından organik ve inorganik debrisleri, enfekte materyalleri, yumuşak ve sert doku artıklarını hem fiziksel hem de kimyasal olarak uzaklaştırmak, bu sayede bu materyallerin apikal bölümde birikmesi, apikali tıkanması ve bu bölgenin ulaşılabilir hale gelmesine engel olmak,

-Antibakteriyel özellikleri sayesinde kök kanalındaki mikroorganizmaları uzaklaştırmak,

- Kök kanallarını ıslatıp kayganlaştırarak mekanik preparasyonunun daha rahat yapılmasına olanak sağlamak,

- Kanal aletlerinin ulaşamadığı bölgeleri temizlemek ve dezenfekte etmek,

- Kök kanal dezenfeksiyonu için ara seanslarda kullanılan medikamentlerin etkisini arttırmak,

-Smear tabakasını uzaklaştırmak,

- Ağartıcı özellik taşıyarak renkleşmiş dişlerin beyazlatılmasına yardımcı olmaktır.

Bu amaçlara ulaşabilmek için kullanılacak ideal bir irrigasyon solüsyonunda bulunması gereken özellikler ise şu şekilde sıralanabilir (13-15) ;

-Kök kanalındaki artık organik, inorganik doku ve debrisleri eritebilmeli,

-Dişin çevre dokularına antijenik, toksik ve karsinojenik etki göstermemeli,

- Düşük yüzey gerilimi göstererek mekanik preparasyonla ulaşılabilen kök kanal yüzeylerine etki edebilmeli,

-Lubrikasyon özelliği ile kanal aletlerinin kanalda rahat çalışmasını sağlamalı,

- Mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etki gösterebilmeli ve bu özelliğini kullanım sonrası kök kanallarında bir süre daha devam ettirebilmeli,
- Endotoksinleri etkisiz hale getirebilmeli,
- Smear tabakasını kaldırabilmeli,
- Dentin dokusuna olumsuz etkisi olmamalı,
- Kanalda kolay nötralize olmamalı,
- Kanal dolgu maddesine olumsuz etkisi olmamalı,
- Daimi restorasyonların pulpa odası duvarına bağlanma kuvvetine olumsuz etkisi olmamalı,
- Diş in rengini değiş tirmemeli,
- Kolay elde edilebilmeli,
- Maliyeti düş ük olmalı,
- Raf ömrü uzun olmalı.

Kök kanal sisteminin ş ekillendirilmesinde kullanılan kanal aletlerinin devamlı olarak geliş tirilmesine karşı n, kök kanal sisteminin kompleks anatomik yapısı nedeniyle kanal aletleri kanal yüzeyinin tamamına temas edememekte ve mekanik preperasyon esnasında ş ekillendirilip temizlenmemiş alanlar kalabilmektedir (9). Yapılan bir çalı ş mada kök kanalının yaklaşık olarak %35' inin mekanik preparasyon ile ş ekillendirilmeden bırakıldığı belirtilmiş tir (16). Bu konu üzerine yapılmış diğer çalı ş malarda ise tek baş ına yapılan mekanik temizleme ile kanal duvarlarında geniş alanların, apikal üğünün bir kısmının ve oval kanalların yeterli düzeyde temizlenemediğini ve mikroorganizmaların bu dokunulmamış alanlarda yaş amlarını sürdürmeye devam ettiği belirtilmiş tir (16-18). Bununla birlikte mekanik preparasyon ile irrigasyon solüsyonlarının eş zamanlı kullanılması, dentin tübüllerine ve kök kanal sisteminde bulunan isthmuslara, ramifikasyonlara ve apikal delta gibi bölgelerde yaş ayan bakteri veya mantarlara solüsyonun ulaş arak etki etmesi ile kanal

tedavisinin baş arısını artırmaktadır (19). İrrigasyonun kök kanal tedavisinin baş arısına olan etkisini değerlendirmek için yapılan çeşitli çalışmalarda ise irrigan olarak serum fizyolojik solüsyonu kullanıldığında bile bakteri sayısında belirgin bir düşüş gözlemlendiği bildirilmiştir (19, 20). Kök kanallarının yalnızca mekanik temizleme ile istenilen ölçüde temizlenememesi, irrigasyon solüsyonlarına olan ilginin artmasını sağlamıştır ve ideal irrigasyon solüsyonu arayışını hep gündemde tutmuştur (8, 9, 21).

Farklı özelliklerde ve farklı irrigasyon amacı için kullanılan mevcut irrigasyon materyallerinin hiçbiri tek başına ideal bir irrigasyon materyalinden beklenen tüm bu özellikleri sağlayamamaktadır. Bu nedenle bir yandan ideal solüsyona ulaşma çabaları devam ederken bir yandan da mevcut irrigasyon solüsyonlarında ideal özelliklere ulaşma adına farklı irrigasyon uygulama yöntemleri (elektro-kimyasal olarak aktive edilmiş su, ultrasonikler kullanımı, ozonlu su, lazerler, oksidatif potansiyelli su, fotodinamik terapi, Endox sistemi gibi) geliştirilmektedir (15, 22-24).

Günümüzde yaygın olarak kullanılan irriganlar şu şekilde sıralanabilir (25);

- Sodyum hipoklorit (NaOCl)
- İyodin solüsyonları
- Klorheksidin glukonatlar (CHX)
- Etilendiamintetraasetik asit (EDTA)
- Sitrik asit
- MTAD
- Elektrokimyasal aktive edilmiş su (ECA)
- Işıklı aktive olan dezenfeksiyon

2.1.1. İrrigasyon Solüsyonlarının Sınıflandırılması

2.1.1.1 Kimyasal Ajanlar

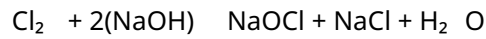
2.1.1.1.1. Doku Çözücü Ajanlar

2.1.1.1.1.1. Sodyum Hipoklorit (NaOCl)

Sodyum hipoklorit'in (NaOCl) tıp alanında uzun bir geçmişi vardır. NaOCl'in 'Dakin solüsyonu' olarak bilinen tamponlanmış % 0.5'lik konsantrasyonu ilk kez I. Dünya Savaşı sırasında kimyager Henry Drysdale Dakin ve Alexis Carrel tarafından kontamine olmuş yaraların temizlenmesi amacıyla kullanılmıştır (12). NaOCl'in endodontide kullanımı ise, ilk defa Walker tarafından 1936 yılında önerilmiştir (26). Özellikle antibakteriyel etkinliği, nekrotik dokuları çözebilmesi ve kanal aletlerine kayganlaştırıcı etki göstermesi sebebiyle endodontik tedavide farklı konsantrasyonları uzun yıllardan beri kullanılmaktadır.

Sodyum Hipoklorit'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri:

NaOCl yeşilimsi sarı bir solüsyondur, geleneksel olarak klor gazı (Cl₂) ile sodyum hidroksit (NaOH) solüsyonunun, tuz (NaCl) ve su (H₂O) ağığa çıkarmak amacıyla reaksiyona girmesi ile oluşur.



NaOCl'ye su ilave edildiğinde hipokloröz asit (HOCl) meydana gelir. HOCl aktif klor içeren güçlü bir okside edici ajandır. Hipokloröz asit mikroorganizmaların hücresel fonksiyonlarını bozarak hücre ölümüne neden olur ve solüsyonun antibakteriyel etkinliğinde önemli bir rol oynar (21).

Ortaya çıkan aktif klor, bakteri hücreesindeki önemli enzimlerin sülfidril gruplarında irreversibl oksidasyona neden olarak hücrenin metabolik fonksiyonlarını bozmaktadır (27).



NaOCl güçlü bir antimikrobiyal ajan olup, direkt teması çoğu bakterinin ani ölümüne neden olmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda vejetatif bakterilere, spor formu bakterilere, funguslara, protozoa ve virüslere karşı da oldukça etkili olduğu bulunmuştur (28).

Ayrıca NaOCl'nin, organik ve yağ çözücü olduğu, yağ asitlerini yüzey gerilimini azaltan sabun ve alkole dönüştürdüğü, aminoasitleri de nötralize ederek su ve tuza dönüştürdüğü bildirilmiştir (29).

NaOCl smear tabakasının sadece organik kısmına etki eder ve tek başına smear tabakasını ortadan kaldırmakta yetersizdir. Bu nedenle smear tabakasını kaldırmak için ilave olarak Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) ya da sitrik asit gibi inorganik dokuları çözecek ek solüsyonlara ihtiyaç vardır (26). NaOCl, ideal bir irriganın tüm gereksinimlerini karşılayamasa da, günümüzde en iyi proteolitik etkiye sahip irrigasyon solüsyonudur (26). Organik artıklara karşı iyi bir çözücü olması, düşük yüzey gerilimi sayesinde dentin tübüllerine nüfuz edebilmesi, kolay temin edilebilmesi ve ucuz olması nedeni ile günümüzde en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonu haline gelmiştir (30).

Fakat keratinize epitelyum dışında tüm canlı dokulara toksik etki göstermesi, metaller üzerinde korozif (aşındırıcı) etkiye sahip olması, organik maddelere bağlı olarak stabilitesini kaybetmesi ve kötü tadı önemli olumsuz özellikleridir (31).

NaOCl'nin endodontik tedavide kullanılan konsantrasyonu üzerine bir fikir birliği bulunmamaktadır. NaOCl diş hekimliğinde yaygın olarak %0,5 ve %6'lık konsantrasyonlarda kullanılmaktadır (21). Klinisyenler genellikle ticari olarak satılan %5,25'lik NaOCl solüsyonunu su ya da salinle dilue ederek kök kanal irrigasyonunda kullanmaktadır.

Konsantrasyon artışı NaOCl'nin doku çözücü ve antibakteriyel özelliğinin artmasına neden olmakta ancak solüsyonu daha toksik hale getirmektedir. NaOCl solüsyonlarına borik asit, asetik asit gibi spesifik asitler ekleyerek pH'ı 6.75 yapıp

antimikrobiyal etkinlik artırabilmektedir. Bu durum solüsyonun doku çözücü etkinliğini azaltabilmektedir (32).

Pashley ve ark.(33) %5.25 NaOCl'nin 1:1000 oranında seyreltilmiş halinin bile kırmızı kan hücrelerini %100'ünde hemoliz yaptığı; 1:100'lük solüsyonun ise kırmızı kan hücrelerinden dışarı çıkan hemoglobini de tahrip ettiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmanın in vivo kısmında deney hayvanlarına uyguladıklarında ise ciddi derecede enflamatuvar reaksiyonlar geliştiğini bildirmişlerdir. Bu durum NaOCl solüsyonunun osmotik basıncının serum fizyolojik ile yakın olmasına karşın hemoliz meydana getirmesini solüsyonun oksidatif özelliklerine bağlanmışlardır (33, 34).

Ayrıca NaOCl'nin toksisitesi ile ilgili çeşitli klinik olgu bildirimleri de vardır. Solüsyonun periapikal dokular, göz, maksiller sinüs gibi çevre doku ve organlarla teması sonucu gelişen, dayanılmaz ağrılarla karakterize şiddetli doku yıkımları rapor edilmiştir (30, 35-38).

NaOCl kullanımı sırasında enjektöre aşırı basınç uygulanması ve irrigasyon iğnesinin kanal içerisinde sıkışması sonucu solüsyonun periapikal dokulara taşınması ile çevre bağ dokusuna yayılan ödem meydana gelebilmektedir (39). Bunu takiben periapikal dokularda şiddetli bir kanama ve ağrı oluşmaktadır. Bağ dokusu içerisine yayılan kanama sebebiyle ekimoz oluşabilir. Şiddetli ağrı, yanma hissi, ödem, hematoma, periapikal dokularda nekroz ve abse oluşumu en sık gözlenen klinik bulgulardır (35, 40, 41).

Çeşitli araştırmacılar NaOCl solüsyonuna karşı alerjik reaksiyonların da gelişebileceğini bildirmişlerdir (42, 43). Oluşan doku cevabının, iritanın hacmine ve konsantrasyonuna bağlı olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (30, 44, 45).

Araştırmacılar, istenmeyen bu etkileri en aza indirme çabası ile solüsyonun etkili olduğu bilinen % 2,6 -% 5.25 arasındaki konsantrasyonları yerine çok daha küçük konsantrasyonlarını kullanmışlardır (21). Ancak düşük konsantrasyonlarda sitotoksik ve irrite edici özellikleri yanında, kendisinden beklenen doku çözücü ve antibakteriyel etkilerinin de belirgin biçimde azaldığı gözlenmiştir (46).

NaOCl'nin belirtilen tüm bu dezavantajları yeni irrigasyon solüsyonu arayışına neden olmaktadır (47, 48).

2.1.1.1.1.2. Klorin Dioksit (ClO₂)

ClO₂ bileşiminin gaz formu ilk olarak Humphrey Davy tarafından 1811 yılında hidroklorik asit ile potasyum klorat'ın reaksiyonu ile üretilmiş ve ürün "euklorin" olarak isimlendirilmiştir. ClO₂, NaOCl'e benzeyen ve içme suyu dezenfeksiyon işleminde, veterinerlikte ve yüzey dezenfeksiyonunda kullanılan antibakteriyel özelliğe sahip bir materyaldir (49, 50). NaOCl ve ClO₂'nin organik doku çözme kapasitesini araştıran bir çalışmanın sonucunda her iki solüsyonunda organik doku çözme yeteneğinin eşit olduğu gösterilmiştir (51).

2.1.1.1.2. Asitler ve Şelasyon Ajanları

Asitler ve şelasyon ajanları 1790'lerden sonra demineralizasyon amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (12). Şelasyon yapıcı ajanlar, dentini kostik ajanlardan daha fazla yumuşatmakta ve yumuşak dokulara daha az zarar vermektedir. Şelasyon ajanları, dentindeki Ca²⁺ iyonlarıyla birleşerek şelat tuzları oluşturmaktadır. Bu etkileşimin kanal duvarlarının enstrümantasyona daha az direnç göstermesini sağlayacağı düşünülmüştür (30).

2.1.1.1.2.1. Etilendiamin Tetraasetik asit (EDTA)

1957 yılında Nygaard-Ostby tarafından endodontide kullanılmaya başlanmıştır. EDTA, dentin yapısındaki Ca²⁺ ile şelasyon yaparak kök kanalında bulunan inorganik dokunun uzaklaştırılmasına yardımcı olmaktadır. Dentinin inorganik komponentinin ana bileşenleri olan fosfat ve kalsiyum suda çözünebilmektedir. Çözünmüş halde bulunan kalsiyum iyonları EDTA'ya bağlanarak çözüldükten sonra uzaklaşmakta ve dentinden yeni kalsiyum iyonlarının çözünmesine neden olmaktadır. Bu süreç dentinin demineralizasyonu ile sonuçlanmaktadır (52). EDTA'nın % 10 - % 17 arası konsantrasyonlarda kullanılabildiği bildirilse de en sıklıkla kullanılan konsantrasyonunun % 17 olduğu belirtilmiştir (8, 53).

2.1.1.1.2.2. REDTA (EDTA-SETREMİT)

EDTA'ya setremit eklenerek yüzey gerilimini azaltmak ve solüsyonun penetrasyonunu arttırmak amacıyla kullanılan irrigasyon solüsyonudur (54).

2.1.1.1.2.3. EDTA-T

EDTA ile katyonik bir deterjan olan %0,2'lik lauryl sodyum sülfatın kombinasyonudur. İçeriğindeki deterjan dentin tübüllerine difüzyonunu ve etkinliğini arttırmaktadır (55).

2.1.1.1.2.4. Sitrik Asit

Sitrik asit EDTA'dan daha güçlü bir şelasyon ajanıdır. EDTA gibi serbest klorin miktarını azaltarak NaOCl'in etkinliğini azaltır. Endodontide smear tabakasını kaldırmak için EDTA'dan sonra gelen en iyi ajan olarak bilinmektedir. Ayrıca antimikrobiyal etkinliği de mevcuttur. Fakat endodontide tek başına kullanımı yetersiz bulunmuştur (56, 57).

2.1.1.1.2.5. HEBP (Etidronik Asit)

HEBP etidronik asit veya etidrona olarak bilinmektedir. NaOCl ile çok kısa süreli bir reaksiyona girdiği için ve toksik olmadığı için EDTA ve sitrik asite alternatiftir (12, 49).

2.1.1.1.3. Antimikrobiyal ajanlar

2.1.1.1.3.1. Klorheksidin (CHX)

Diş hekimliğinde birçok çalışmaya konu olan klorheksidin (CHX), ilk olarak 1954 yılında antiviral bir ajan üretmek için çalışan bilim adamları tarafından katyonik polimerlerin aktivitesini araştırmak için polibisguanidlerden sentez edilip tanımlanmıştır (58).

CHX, aerop ve anaeroplarda dâhil olmak üzere gram (+) ve gram (-) bakterilere, mantarlara, dermofitlere ve bazı lipofilik virüslere karşı etkili geniş antimikrobiyal etkinliğe sahiptir(59).

2.1.1.1.3.2. Tetrasiklin, Asit, Deterjan Karışımı (MTAD)

Torabinejad ve ark.(60) tarafından geliştirilen ve antibakteriyel özellikleri olan bir irrigasyon solüsyonu elde etmek için geliştirilmiştir. MTAD'nin içeriği doksisiklin, sitrik asit ve yüzey aktif bir deterjan olan Tween-80'den oluşmaktadır ve pH'ı yaklaşık 2.15'tir. Dentini dezenfekte ettiği ve smear tabakasını uzaklaştırdığı belirtilmiştir (61).

2.1.1.1.3.3. Tetraclean

Tetraclean demineralizasyon işleminde kullanılan ajanlardan biridir. Bu solüsyon bakteriyostatik özelliklere sahip asidik bir solüsyon olması bakımından endodontik irrigan olarak da düşünülmüştür (62). Tetraclean MTAD gibi antibiyotik, asit ve deterjan karışımı bir solüsyondur. MTAD'den farklı olan tarafı içeriğindeki antibiyotik konsantrasyonu ve deterjanın tipidir. 50 mg/ml doksisiklin ve poliprolen glikol içermektedir. Oldukça düşük yüzey gerilimine sahiptir ve biyofilm tabakasına karşı yüksek derecede etkiye sahiptir (63).

2.1.1.1.4. Oksitleyici Solüsyonlar

2.1.1.1.4.1. Elektromekanik Olarak Aktive Edilmiş Solüsyonlar (ECA)

Elektromekanik olarak aktive edilmiş solüsyonlar Rus bilim adamları tarafından geliştirilmiştir. ECA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri tam olarak bilinmemektedir. Musluk suyu ve düşük konsantrasyonda tuz çözeltisinden üretilmektedir (64). İki çeşit solüsyon üretilmektedir;

Anolit solüsyon; yüksek oksidasyon potansiyeline sahiptir, antimikrobiyal etki gösterir. Katolit solüsyon; alkalidir, güçlü temizleme ve deterjan etkisine sahiptir. Her iki solüsyon da üretilmelerinden sonra sadece 48 saat aktif kalırlar (65).

2.1.1.1.4.2. Ozonlu Su

Ozon üçoksijen atomunun döngüsel yapıda bir araya gelmesiyle oluş an ve doğal olarak bulunan bir gaz bileş iktir (66). Bakterisit etki, debridman (yıkama) etkisi, anjiyogenez stimülasyon kapasitesi ve yüksek oksitleme gücü gibi biyolojik özellikleri ile ozonun endodontide irrigasyon solüsyonu olarak kullanımı gündeme gelmiş tir (67).

2.1.1.1.5. Doğal Ajanlar

Endodontide irrigasyon solüsyonu olarak kullanılan doğal ajanlar arasında herbal, yeş il çay, morinda sitrifolia, kitosan, propolis, humik asit yer almaktadır.

Endodontik tedavide geçmiş ten bugüne irrigasyon solüsyonu olarak salin gibi inert maddelerden, son derece toksik ve alerjik özellik taşıyan maddelere kadar çeş itlilik gösteren birçok bileş ik kullanılmış tır. Fizyolojik tuzlu su (FTS), çeş itli anestetik solüsyonlar, sodyum hipoklorit (NaOCl), klorheksidin (CHX), MTAD, Tetraclean, klorindioksit (ClO₂), hidrojen peroksit (H₂O₂), doksisisiklin, ve etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), REDTA, Rc-Prep, SmearClear (SC) gibi çeş elasyon ajanları, asitler ve lubrikantlar farklı özellikleriyle tek baş larına veya birkaç bir arada kullanılmış olan önemli solüsyonlar arasında sayılabilir (68-70) .

Fakat bu solüsyonların hiçbiri tam anlamıyla ideal solüsyon özelliklerini taşımadığından yeni solüsyon arayış ları da devam etmektedir.

Son yıllarda sağlık sektöründe sentetik kimyasal ürünler yerine doğal ürünlerin tercih edilmesi yönünde bir yaklaş ım giderek artmakta ve doğal ürünleri kullanmak aranan özelliklerden biri haline gelmektedir. Dolayısıyla tıpta ve diş hekimliğinin diğer alanlarında olduğu gibi endodontide de yeni irrigasyon solüsyonu üzerine yapılan çalış malarda bu yönde bir arayış söz konusudur.

Çalış mamızda doğal materyaller grubunda bulunan antimikrobiyal antiinflamatuvar ve rejeneratif etkilerinin yanı sıra immünomodülatör, antioksidan antimutajenik, karsinojenik etkilere ve düşük toksisiteye sahip olduğu bilinen, kolay bulunabilen propolis, kitosan ve humik asit solüsyonunun endodontide yaygın

kullanılan fakat toksik olduğu bilinen NaOCl'ye alternatif bir tedavi seğeneği olup olamayacağı sorusuna ış ık tutmak istenmiş tir. Bu doğal materyallerin daha iyi bir tedavi seğeneği sunacağının kanıtlanması durumunda tıbbi ve akademik faydaların yanında, ulusal kazanımların da sağlanabileceği dűř ünűlmektedir.

2.1.1.1.5.1. kitosan

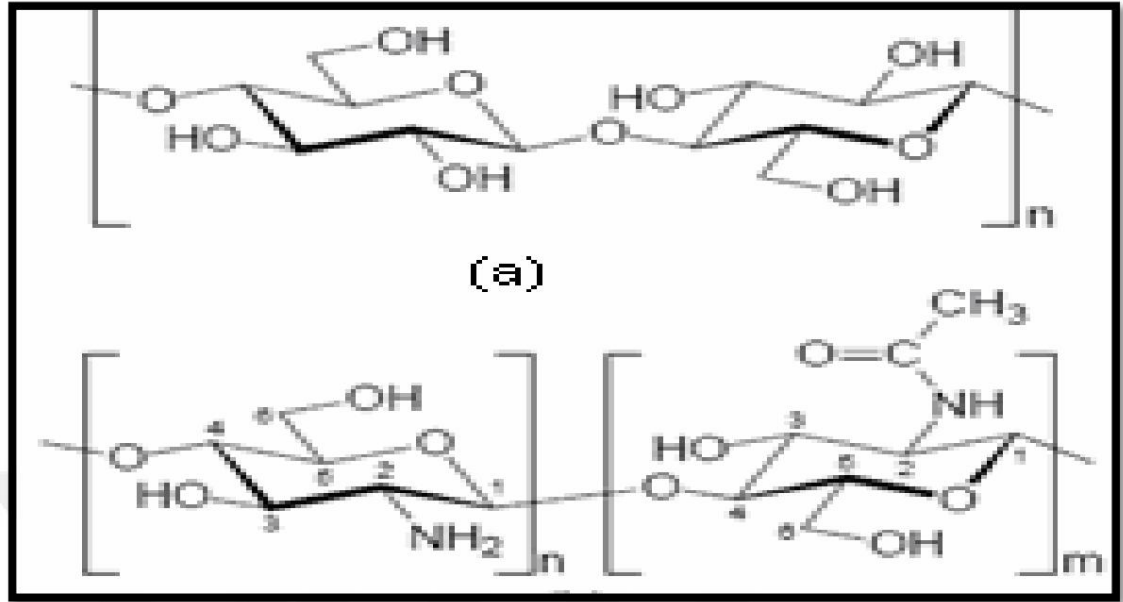
Kitosan, ilk kez 1811 yılında Henri Bracannot tarafından keř fedilmiş tir. Bracannot, mantarlarda bulunan kitini sűlfirik asitte ęözmeye ęalıř mış ancak bař arılı olamamış tir. 1894'de Hoppe-Seyler, kitini potasyum hidroksit iğerisinde 180° C'de iř leme girmiş (deasetilasyon) ve asetil iğeriği azaltılmış bir őrűn olan "kitosan"ı elde etmiş tir (71, 72).

Kitosanın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Kitosan, yengeğve karides gibi kabuklu deniz őrűnlerinin dış iskeletlerinde, kelebeklerin kanatlarında, mantarların hücre duvarlarında bulunan doğal bir polisakkarit olan kitinden kısmi deasetilasyon yoluyla elde edilen, reaktif fonksiyonel amino gruplarına sahip; kimyasal yapı olarak selűloza benzeyen ve doğada selűlozdan sonra en sık rastlanan biyopolimerdir (73). Kabuklu hayvanların dış iskeletindeki kuru ağırlığın yaklaş ık %15-20'sini kitin oluř turmaktadır (74).

Kitosan beyaz renkte, kokusuz ve tatsız, yarı ř effaf partikűl veya toz halinde bir maddedir. Sadece asidik ęözücűlerde (<6.0 pH) ęözűnűr. ęözme iř leminde asetik asit, formik asit, laktik asit gibi organik asitler kullanılır. İ norganik asitlerde ęözűnme sınırlıdır (%1 hidroklorik asitte ęözűnűr; sűlfirik ve fosforik asitte ęözűnmez). Kitosan solűsyonlarının pH 7.0 ve űzerinde stabilitesi bozulur. Aynı ř ekilde oda sıcaklıđında uzun sűre muhafaza edilmesi kitosan solűsyonlarının stabilitesini olumsuz etkilemektedir (75).

Bir biyopolimer olan kitin, esas olarak poli-[β-(1,4)-2-asetamid-2-deoksi-β D-glukopiranoz] yapısında olup ęok dűř űk oranda 2-amino-2-deoksi-β-glukopiranoz monomerlerini de ięermektedir (72).

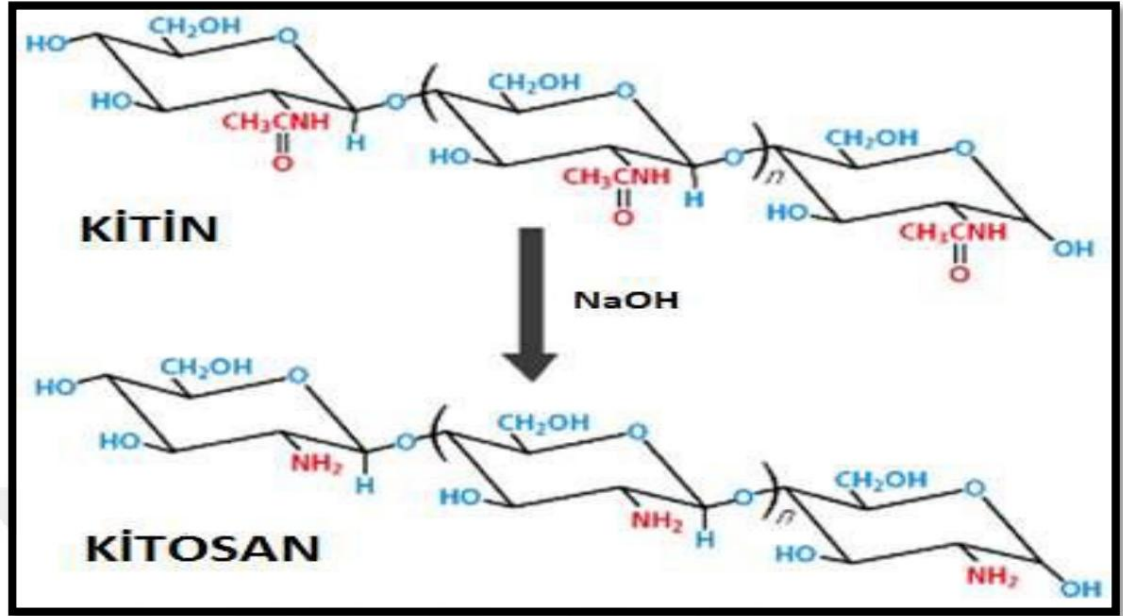


Ş ekil 2. 1: Sırasıyla selüloz, kitosan ve kitinin kimyasal yapıları.

Kitosanın kimyasal yapısı ise poli-[β -(1,4)-2-amino-2-deoksi- β -D glukopiranoz] ş eklindedir. Selülozda, ikinci karbon atomuna bağlı hidroksil (-OH) grubu bulunurken, kitinde asetamid (-NHCOCH₃), kitosanda ise amin (-NH₂) grubu bulunmaktadır (72).

Kitosan, her tekrarlayan birimdeki primer (C-6), sekonder (C-3) hidroksil grupları ve amin (C-2) grubu olmak üzere toplam üçtane reaktif gruba sahiptir. Bu reaktif gruplar kolayca kimyasal modifikasyona uğrayabilmekte ve kitosanın mekaniksel ve fiziksel özellikleri ile çözünürlüğünü deış tirmektedir (71).

Kitinin düş ük derecede deasetilasyonu yoluyla elde edilen kitosan (1 4)-2-amino-2-deoksi-D-glukoz (glukozamin) olarak da bilinmektedir (73).



Ş ekil 2. 2: Kitinin deasetilasyonu.

Kitin kaynağına bağlı olarak 3 farklı kristal formu (α -, β -, γ -) bulunmaktadır. En çok α - formu kullanılmaktadır ve kolay elde edilebilir olmasından dolayı kitosan çoğunlukla α - kitinden hazırlanmaktadır. β - kitin, zayıf molekül iç kuvvetlere sahiptir. α - kitine göre çözücülere daha hassastır ve yüksek reaktiviteye sahiptir. Bununla birlikte kitosanın kitinden daha reaktif bir materyal olması toz, jel, fiber, film gibi değişik formlarda elde edilmesine olanak sağlamaktadır (76).

Kitin ve Kitosanın Diş Hekimliğinde Kullanım Alanları:

Geçmiş ten günümüze teknolojinin ilerlemesi, kitin ve kitosanın kullanım alanlarını artırmıştır. Kitosan günümüzde tıptan gıdaya, ziraatten kozmetiğe, eczacılıktan atık su arıtımına ve tekstil sektörüne kadar sayısız alanda kullanılabilir (77-79). Özellikle yumuş ak ve sert doku iyileş melerinde, kolesterol kontrolünde, oftalmolojide, yanık tedavisinde, kolesterolün kontrolünde, fazla lipitlerin atılımında kullanımı yaygındır (77, 80, 81).

Diş hekimliğinde ise hem kitin hem de kitosan birçok alanda kullanılmaktadır (82, 83). Diş çürüğüne karşı koruma ve ağız kokusunu önlemek bu kullanım alanları arasındadır. Kitosan tuzları ayrıca diş macunlarına silikon oksitinin kötü tadını

maskelemek için, kitosan tozları ise granüler yapısını korumak amacıyla eklenmektedir. Kitin dolgu materyali olarak da kullanılabilir. Kitin ve kitosan, protezlerde mantar enfeksiyonlarına karşı geliştirilen temizleme ürünlerine ilave edilebilir (77). Van der Mei ve ark. (84) tarafından yapılan çalışmada kitosanın dental plak üzerinde etkisinin olabileceği belirtilmiştir. Jel formundaki kitosan bu nedenle, periodontal ceplerin azaltılması ile ilgili cerrahi işlemlerde de kullanılmaktadır (85-87). Kitosan çeşitli çalışmalarda smear tabakasını kaldırmak için de kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (88-91).

Kitin türevlerinin yapısal özellikleri glikozaminoglikana benzediği için yara iyileşmesinde de kullanılmaktadır (92, 93). Kitin türevlerinin yara iyileşmesini etkileyebilecekleri düşünülen mekanizma makrofajlarla ilgilidir. Kitin türevleri in vivo çalışmalarda oligomerlere hidrolize olurlar ve bu oligomerler makrofajların interferon, tümör nekrotize edici faktör ve interleükin-1 oluşumunu aktive ederler. Bu mekanizmalarla kitosan ve türevlerinin; doku rejenerasyonu ve reorganizasyonu sırasında iyileşmeyi hızlandırıcı ve bakterisidal etkileri olduğu da gösterilmiştir. Bu özelliği ile diş hekimliğinde yara iyileşmesinde kullanılarak başarılı sonuçların elde edildiği çalışmalar mevcuttur (77, 94).

Kitosan, oral yumuşak dokuları organik asitlerin zararlı etkilerinden koruması ve belirli patojenlere karşı bakterisit etki göstermesi nedeniyle de önem taşımaktadır (85).

Kitosan ayrıca hemostatik özellikte bir polimerdir. Hemostatik mekanizması klasik pıhtılaşma madan bağımsız olup eritrosit hücre membranı ile kitosan arasındaki etkileşime bağlıdır. Yapılan bir çalışmada tavşanların dillerinde yapılan kesiklerde kitosan içeren çözelti uygulanan grupta, kitosan içermeyen çözelti uygulanan gruba göre kanama zamanında azalma olduğu gösterilmiştir. Kitosana sülfat ve karboksil grupları eklenmiş kitosan sülfat türevlerinin ise heparine benzer yapı göstermeleri nedeniyle koagulan özellikte olan kitosanın aksine antikoagulan etkisi bulunmaktadır (72, 95, 96).

2.1.1.1.5.2. propolis

Propolis bal arılarının bitkilerin tomurcuk ve filizlerinden topladığı reçneleri, bal mumu ve tükürük salgıları ile karış tırarak elde ettikleri bir üründür (97).

Propolis üretimi için arılar tarafından kullanılan materyal, bitkilerin yara bölgelerinden salgılanan maddeler olabildiği gibi, yapraklardaki lipofilik materyaller ile reçne, bal mumu, müsilaj, zamk gibi maddeler de olabilmektedir. Arılar bu salgıya daha sonra çeş itli enzimler ile polen kaynaklı maddeler de katmaktadırlar (98). Yıllar boyunca propolis insanlar tarafından değişik hastalıkların tedavisinde kullanılmış tır.

Çeş itli çalış malarla propolisin etanolik özütünün antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoal, antienflamatuar, antikarsinojenik, antioksidan lokal anestetik ve immünostimülatör özellikler gösterdiği tespit edilmiş tir(99-101). Farklı orijine sahip propolis örneklerinin biyolojik aktiviteleri ile ilgili olarak çok sayıda çalış ma yapılmış tır. Günümüze değin, Türk propolisinin antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antikarsinojenik gibi çok sayıda biyolojik aktivitesi gösterilmiş tir (99, 102-104).

Propolis kimyasal içerik bakımından zengindir. İçerisinde flavonoidler ve cinnamic (hidroksil) asit gibi bileş iklerin olduğu düş ünülmektedir (105). Propolisin içerdiği mineral maddeler ş unlardır; mangan, çınko, barit, titan, bakır, kurş un, nikel, kobalt, vanadyum, krom, kalay, kalsiyum, fosfor, potasyum, kükürt, sodyum, klor, demir, magnezyum, molibden, alüminyum, silisyum, civa, selen, zirkonyum, flor ve antimonudur. Mangan ve çınkonun miktarlarının baş ka elementlerle karşı laş tırıldığında çok daha yüksek miktarlarda olduğu ifade edilmiş tir. Propoliste vitaminlerin miktarları düş üktür ve bulunduğu yere göre değişkenlik gösterirler. Propolis B1, B2, B6, C, E, nikotinik ve pantotenik asit vitaminlerini içermektedir (106).

Propolisin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Propolis genel olarak %50 reçne, %30 bal mumu, %10 uçucu yağ, %5 polen ve %5 diğer organik bileş iklerden oluş maktadır. Propolisin kimyasal bileş imi ve

fiziksel özellikleri toplandığı bölgenin coğrafik yapısına, iklimine bağlı olarak değişim gösterir. Genel olarak propolis koyu sarı, yeşil ve koyu kahverengiye doğru değişen renklerde bulunabilir. Ayrıca zamana bağlı olarak propolis rengi koyulaşmaktadır.

Yaklaşık olarak 60–70° C arasında erime noktasına sahip olan propolis düşük sıcaklıklarda sert veya donmuş olarak bulunabilir, 0° C'de ise kırılabilir özelliğe sahiptir (107). Son yıllarda propolis biyoaktif özelliklerinden daha iyi yararlanabilmek için kritik ekstraksiyon yöntemleri uygulanarak sulu çözeltileri elde edilebilmektedir (107).

Propolisin Diş Hekimliğinde Kullanım Alanları

Propolis antimikrobiyal etkinliğine ve diş hekimliği malzemelerine seçeneği olabilme ihtimaline bağlı olarak ülkemizde ve yurt dışında birçok çalışmada yapılmıştır.

Cerrahi yaraların tamirinde Magro-Filho ve de Carvalho (108) propolis içeren gargaray kullanmış ve çalışmaları sonucunda cerrahi yaraların epitelizeşonuna katkı sağladığını tespit edilmiştir.

Moradi ve ark. (109) direkt pulpa kaplaması için kullanılan biyolojik bileşimlerin sayısını artırmak amacıyla propolis solüsyonunu kullanmışlardır. Çalışmaları sonucunda propolisli solüsyonun sekonder dentin oluşumunu teşpit etmişlerdir.

Kayaoğlu ve ark. (110) iki farklı bölgeden alınan propolis özünü E. faecalis ile enfekte olmuş dentin tübüllerindeki antibakteriyel etkinliğini kalsiyum hidroksit ve klorheksidinle karşılaştırarak değerlendirmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda her iki propolis özünü de kalsiyum hidroksit ve klorheksidine benzer antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Toker ve ark. (111) propolis dentin hassasiyetini önlemedeki etkinliğini florüridle karşılaştırarak değerlendirmişlerdir. Propolisle tedavi edilen deney grubu ile


fluoridle tedavi edilen deney grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadığını bildirerek propolisin flaura alternatif baş ka bir seçenek olduğunu savunmuş lardır.

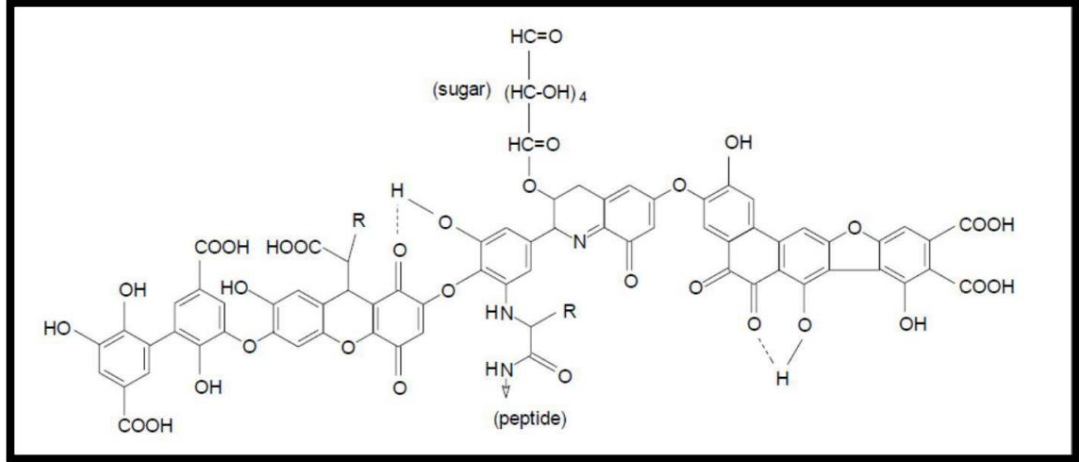
2.1.1.1.5.3. Hümik asit

Humik asit birçok farklı maddeden meydana gelebilen, doğada yaygın olarak bulunan ve doğadaki karbon rezervlerinin büyük bir bölümünü meydana getiren doğal bir maddedir (112). Humik maddeler vanillin asit, resorkinol, ferulik asit, protokateş ik asit ve benzoik asit gibi değişik ik fenolik asitler içermektedirler (113).

Bir tek yapısal formül humik maddeleri tanımlamaya yeterli gelmeyecektir. Fakat humik maddeler amino asitli, amino ş ekerli, peptidli ve aromatik gruplarla bağ kurmuş alifatik bileş ikli kompleks aromatik makromoleküller olarak düş ünülmektedir (114).

Tablo 2. 1: Humik maddelerin sınıflandırılması ve kimyasal özellikleri.

HUMİK MADDELER				
Fülvik Asit		Hümik asit		Hümin
Açık Sarı	Sarı Kahverengi	Koyu Kahverengi	Gri-Siyah	Siyah
<p>yoğunluğu artar. Polimerizasyon derecesi artar Moleküler ağırlığı artar. Karbon içeriği artar. Oksijen içeriği azalır. Asit deriş imi azalır. Ç özünürlük azalır.</p> 				



Ş ekil 2. 3: Humik asit modeli

Kimyasal özellikleri oluş ma süresine, fonksiyonel grubuna ve humifikasyon derecesine bağlı olarak farklılık göstermektedir (113).

Ziraat alanındaki yaygın kullanımının yanında humik maddeler tıbbi alanda da kullanılmaktadır. Humik asit tıpta antibakteriyel, antiviral, antitoksik, antiülserojenik, antiartrik, antialerjik, immünomodülatör ve antiinflamatuvar özellik taşıması nedeniyle kullanılmaktadır (115, 116). Humik maddelerin insanlar ve hayvanlarda birçok biyokimyasal etkileri daha önce yapılan araştırmalarla kanıtlanmıştır. Bunlar protein sentezinin artması, östrojenin uyarılması, araştırdığı asidin azaltılması ve lökotrienler, prostaglandinler ile tromboksanlar gibi iltihabi reaksiyonda yer alan medyatörlerin salınımının engellenmesini içermektedir. Bütün bu özelliklerin yanında kollajen sentezini indükleyerek de yara dokusunun iyileşmesinde yardımcı rol oynadığı bilinmektedir (117, 118). Yapılan bazı araştırmalarda ise humik asidin ve fulvik asidin antimikrobiyal ve anti-HIV özelliği gösterilmiştir (119-121).

2.2. Biyouyumluluk

Biyouyumluluk, bir materyalin canlı dokular ile temas halindeyken, herhangi bir cevap oluş turmaması, lokal veya sistemik olarak karsinojenite göstermemesi, konak tarafından yıkıma uğratılmaması anlamına gelmektedir (122, 123). Genel olarak bir

materyalin biyouyumluluğu, materyalin allerjenitesi, sitotoksitesi, genotoksitesi, oluş turduğu sistemik cevaplar ve karsinojenik özellikleriyle birlikte değerlendirilmektedir (124, 125).

Bir materyalin biyouyumlu olarak kabul edilebilmesi için konak, materyal ve materyalin fonksiyonu uyumlu olmalıdır. Biyouyumluluk dinamik bir olay olup bu faktörden herhangi birinde değiş iklik meydana geldiğinde bozulmaktadır (123). Biyouyumluluk için yalnızca materyal değil aynı zamanda materyalin çevre dokularla arasındaki etkileş imde de önemli rol oynamaktadır (126). Kısaca biyouyumluluk için konak, materyal ve materyalin fonksiyonu arasındaki etkileş imin birleş imi en önemli noktadır (123).

2.2.1. Dental materyallerde biyouyumluluk

Biyouyumluluk, diğer tıp alanlarında olduğu gibi diş hekimliğinde de herhangi bir dental restoratif materyallerin taş iması gereken temel özelliklerden birisi olarak kabul edilmektedir (123).

Birçok materyal özellikle de restoratif materyaller oral mukoza, dentin, pulpa, periodontal ve periapikal dokular gibi canlı dokularla uzun süre temas halindedir. Bu nedenle klinik kullanıma geçmeden önce bu materyallerin ve/veya komponentlerinin ağız dokuları üzerindeki potansiyel zararlı etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Materyaller bu değerlendirme sonrası elde edilen bilgiler dahilinde klinik kullanıma sürülmelidir (127).

Dental materyallerin biyouyumluluklarının değerlendirilmesi, biyolojik faktörleri, hasta risk faktörlerini, klinik deneyimleri ve mühendislik üzerine çalışmalarını içeren kompleks bir alandır (123).

Endodontide kök kanal tedavisinde kök kanallarının yıkanması ve doldurulması sırasında farklı içerikli birçok materyal kullanılmaktadır. Kullanılan materyaller çevre yumuş ak ve sert dokularla temas etmektedir. Bu materyallerin biyouyumlu olmaması, temasta olduğu bölgede bulunan hücrelerin yapısında, proliferasyonunda, adezyonunda, enzim sistemlerinde ve dolayısıyla tüm yaş amsal

fonksiyonlarında dejenerasyonların meydana gelmesi ihtimalini de beraberinde getirmektedir(128). Ayrıca kullanılan bu materyallerin yapısal özellikleri tedavinin baş arısını önemli ölçüde etkilemektedir (127).

Diş hekimliğinde kullanılan malzemeler biyouyumluluk değerlendirilmesinde beş ayrı grupta incelenmektedir (129):

1. Ağız dış ında bulunan ancak vücudun diğer bölümleri ile yutma, soluma veya dokunma yoluyla temasta olan malzemeler,

2. Ağız içinde bulunan ve yumuş ak dokularla temas halindeki malzemeler,

3. Pulpanın sağlığını etkileyebilecek malzemeler,

4. Kanal dolgu malzemeleri,

5. Diş sert dokularının sağlığını etkileyebilecek malzemeler.

Dental materyallerin biyouyumluluk değerlendirmeleri, istenmeyen doku reaksiyonlarının çok çeş itlilik göstermesi nedeni ile karmaş ık ve kapsamlı bir konudur. Materyallerin biyouyumluluk açısından incelenmesinde çok sayıda teknik mevcuttur (130).

1982 yılında Uluslararası Diş Hekimliği Birliği (FDI), Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu "International Organization for Standardization" (ISO) ve Amerikan Diş hekimleri Birliği [American Dental Association (ADA)] tarafından ortak görüş ile yayınlanan klavuzda; biyolojik testler birincil testler, ikincil testler ve kullanım testleri olarak üçgrupta sınıflandırılmış tır (131).

1. Birincil Testler (İn vitro testler):

- Sitotoksisite

- Genotoksisite

- Östrojenite bu grupta yer alan testlerdir.

2. İkincil Testler (İn vivo hayvan deneyleri):

- Sensitizasyon

- İmplantasyon

- Mukozal irritasyon bu grupta yer alan testlerdir

3.Kullanım Testleri (İnsanlarda Klinik Uygulamalar):

- Pulpa ve dentin testleri

- Pulpotomi testleri

- Endodontik kullanım testleri bu grupta yer almaktadır.

Schmalz biyoyumluluk değerlendirilmesinde uygulanacak test yöntemlerinin seçimini ise aş ağıdaki tablo ile özetlemiş tir (130).

Tablo 2. 2: Biyoyumluluk çalış malarında uygulanan test yöntemleri.

	Sistemik reaksiyonlar	Lokal reaksiyonlar	Alerjik reaksiyonlar	Diğer reaksiyonlar
Laboratuvar ortamında	Hücre kültürü testleri spesifik problemler için kullanılır.	Hücre kültürü testleri Agar üstü testler MTT testleri Dentin – bariyer testi	Hücre kültürü modelleri geliş tirilmektedir	mutajenit Ames metinleri Mikronükleus testi HPRT testi Lenfoma testleri
Hayvan deneyleri	Akut LD50(Oral uygulamalar) kronik LD50(Oral uygulamalar)	İmplantasyon testleri Kullanım testleri Endodontik testler Pulpa/dentin testleri İmplantasyon testleri	Modifikasyonlu Maksimizasyon testi Lokal lenf nodu testi	Mikronükleus testi Teraojenite Üreme üzerindeki toksisite
A kadar	Klinik çalış malar			
Diğer	Mesleki temas, zehirlenme			

1. İn vitro testler (öncül testler, eleme testleri, başlangıç testleri): Test malzemesinin, uygun hücre kültürlerindeki hücre büyüme oranı ve hücrelerin morfolojik özellikleri üzerine etkisinin negatif ve pozitif kontrol grupları kullanılarak değerlendirildiği yöntemdir (132).

Bu testler, hücre ve dokuda oluşan yaralanmaların dejeneratif (reversible) ve nekrotik (irreversible) aşamalarında ortaya çıkan spesifik olayları inceler (129).

Dental materyallerin olası toksik etkilerinin, geleneksel in vivo metotlarla değerlendirilmesindeki kısıtlamalar, in vitro test metotlarının geliştirilmesini zorunlu kılmıştır (133).

Bu tür testler, test tüpleri, hücre kültür plakları, flask veya diğer taşıyıcı kaplarda yapılabilmektedir. Memeli hücreleri, organeller, dokular, bakteri veya bazı enzim türleri, biyolojik sistem olarak kullanılabilir. Test edilecek materyal veya bu materyalden elde edilen özüt, biyolojik sistemle temas edecek şekilde test kabına yerleştirilir (134).

Biyolojik sistemle materyal arasındaki temas, direkt veya indirekt olabilmektedir. Direkt temasta biyolojik sistem, materyal ile doğrudan temas halinde iken, indirekt temasta biyolojik sistemle materyal veya özüt arasındaki etkileşim agar, filtre membranlar veya dentin gibi bariyer sistemleri sayesinde olmaktadır (127, 134)

İn vitro biyoyumluluk testlerinin amacı; vücut dokuları üzerine veya içine yerleştirildiklerinde, malzemelere karşı oluşacak biyolojik reaksiyonun test ortamında oluşturulmasıdır (127, 135).

Bu testler, sitotoksikite, hemolizis, ağız veya damar yolu ile kullanım sonucu sistemik toksisite, inhalasyon toksisitesi, teratojenite, karsinojenite tahmin testleri, Ames mutajenite testi, Styles hücre transformasyon testi gibi, bir seri yöntemi kapsamaktadır (136).

İn vitro testlerinin avantajları şu şekilde sıralanabilir (127, 136);

1. Diğer metabolik olaylardan farklı olarak hücre metabolizmasında spesifik bir fonksiyonun değerlendirilmesi,
2. Çok sayıda örneğin kısa zamanda ve ekonomik olarak değerlendirilebilmesi,
3. Kantitatif ve karşılaştırılabilir sonuçlara ulaşılabilmesi,
4. Test yöntemlerinin standardize edilebilmesi,
5. Kullanım testlerine oranla toksik maddenin daha hassas değerlendirilebilmesi,
6. Hassasiyetlerinden dolayı, toksik materyalin hayvan deneylerine geçmeden elimine edilmesine imkân tanımları,
7. Hayvan ve kullanım testlerine göre daha geniş kullanım alanına sahip olmalarıdır.

İn vitro testlerin dezavantajları ise şunlardır (131, 133):

1. Her test için bir tür hücre kullanılması,
2. Kültür hücrelerinin konak hücrelerinden farklı olması,
3. İn vitro ortamın organizmada bulunan immün sistem, inflamatuvar sistem ve dolaşım sistemi gibi karmaşık koordinasyon mekanizmalarına sahip olamaması.

Birçok in vitro sistemde tek tür hücre kullanılması bu tür etkileşimlerin oluşmasını engellemektedir. Bu durum, in vitro test sonuçlarının in vivo şartlarla uyumluluğunu tartışılmalı hale getirmektedir.

Tüm sitotoksik testlerinde, test sisteminin nontoksik, steril ve tekrarlanabilir olması önemlidir.

2-İn vivo hayvan deneyleri (ikincil testler): Test edilecek materyal, fare, rat, koyun, kedi, köpek ve domuz gibi bazı deney hayvanlarına implante edilmektedir

(134). Bu şekilde materyal ile biyolojik çevre arasında oluşabilecek karmaşık ilişkilerin gözlemlenmesi hedeflenmektedir. Test materyali klinik kullanıma en yakın şekilde deney hayvanına yerleştirilir. Biyolojik cevap, kısa (7±2 gün) veya uzun (70 ±5 gün) takip süreleri sonunda alınmaktadır.

Fakat biyolojik cevabın karmaşık yollarla oluşması, sonuçların kantitatif olarak değerlendirilmesini zorlaştırılmaktadır. Hayvan testlerinde değişkenlerin kontrolü genellikle zordur. Etik ilkeler ve hayvan hakları gibi konuların önem kazanması bu testlerin kullanılmasını giderek azaltmaktadır (134). İn vivo test çeşitleri bağ dokusu veya kemik dokuya implantasyon, oral mukoz membran irritasyon testleri ve sensitizasyon testlerini içermektedir.

3-Klinik koşullarda kullanıma dayanan testler: Klinik kullanım testleri herhangi bir materyalin insanlarda veya hayvanlarda klinik olarak kullanılması hedeflenen alana yerleştirilmesi sonrasında, materyale verilen cevapların gözlenmesi esasına dayanmaktadır (137). Klinik kullanım testleri, hayvan veya insanlar üzerinde yapılabilmektedir. İnsanlar üzerinde yapılan testlere "klinik deneme" denilmektedir. Klinik kullanım testlerinin insanlar üzerinde yapılabilmesi için bir materyalin klinik uygulamaya geçebilecek düzeye geldiğine ait yeterli çalışma ve veri olması gerekmektedir. Bu testlerde materyal kullanılacak son haliyle gönüllü bir insana yerleştirilir. İnsanlar üzerinde yapıldığında bu testlerin klinik tabloyu yansıtmaya potansiyeli oldukça yüksektir (138).

İN vivo testler hayvanlar üzerinde, klinik kullanım testleri ise malzemenin subkutan (deri altı), kas ya da kemik içine yerleştirildikten sonra doku cevabının incelenmesine dayanır. Kullanım testleri en iyi değerlendirme sonuçlarını vermektedir, fakat öncesinde in vitro ve in vivo testlerin yapılması gerekmektedir (139).

Yaptığımız bu çalışmada in vitro sitotoksikite testi uygulanmıştır. Dental materyallerin sitotoksikite testlerini değerlendirmek için uygunlukla biyolojik sistem olarak hücre kültürleri kullanılmaktadır (139, 140).

2.3. Hücre Kültürü

1885'te Wilhelm Roux, tavuk embriyosunun meduller tabakasını alarak salin solüsyonu içinde günlerce canlı tutarak hücre kültürünün temellerini atmış tır (141).

Hücre kültürü bir dokudan spontan migrasyonla ya da mekanik veya enzimatik yöntemlerle ayrılmış , in vitro şartlarda yaş atılan ve çoğaltılan tek tip hücre topluluğudur. Hücre kültürleri, canlı dokuların vücut dış ında yaş atılmasını, sürekli çoğalmasını ve geliş imini ifade etmektedir. Canlı yapılardan elde edilen dokular, vücut ısısında kültüre edilmekte ve vücudun özgün fizyolojik durumunu taklit eden besleyici sıvılarda beslenerek çoğaltılmaktadırlar. Besleyici sıvılar hayvan embriyo ekstraktlarını, plazma-serum aminoasit ve minerallerini, ş eker ve tuzları, vitamin ve antibiyotikleri içermektedir (142).

2.3.1. Hücre Kültürü Çeş itleri

Farklı dokulardan üretimi sağlanabilen hücre kültürleri genel olarak:

1. Primer hücre kültürleri
2. Diploid hücre kültürleri
3. Devamlı hücre kültürleri, olarak üçsınıfta gruplandırılmaktadır.

2.3.1.1. Primer hücre kültürleri

Orijinal dokudan yeni izole edilen kültürler ilk pasajlamaya kadar primer kültür olarak bilinir. Dokunun fizyolojik durumunu yansıtan bu hücrelerin genotipi ve fenotipi, orijinal doku hücresi ile aynı özellikleri taş ır (143). Primer kültürden sonra, pasajlama ile hücre hattı olarak tanımlanan alt kültür elde edilir. Yeni üretilen hücre kültürleri aynı fonksiyonel özelliklere sahip hücre hatlarını oluş turmaktadırlar (143).

2.3.1.2. Diploid Hücre Kültürleri:

Primer kültürlerin subkültürlerinin yapılmasından elde edilmektedirler. Tekrarlanan pasajlar sonucu orijinal dokunun karyotipini büyük oranda kaybetmemiş olan hücre dizileri olarak tanımlanır.

2.3.1.3. Devamlı Hücre Kültürleri:

Subkültürleri sonsuz olarak yapılabilen ve karyotipleri alındıkları dokulardan farklı olarak geliş tirilmiş kültürlerdir. Herhangi bir kültürün, devamlı doku kültürü olabilmesi için en az 70 kere subkültürünün yapılması gerekmektedir. Bu hücreler, sürekli transformasyona uğramaları nedeniyle fizyolojik özelliklerini koruyamamaktadırlar. Devamlı hücre hatları, embriyonik veya kanserli dokulardan kodlanarak kullanıma sunulmuş tur. Standardize edilerek ve kodlanarak kullanıma sunulmuş tur (144, 145).

Sitotoksitenin değerlendirilmesinde primer hücrelerin devamlı hücrelere oranla daha etkili oldukları bilinmektedir. Bununla birlikte, primer ve devamlı hücre kültürlerinin sitotoksik maddeye verdikleri metabolik cevaplar arasında bazı farklılıklar ortaya çıkmaktadır (135, 146).

Dental materyallerin toksisitelerinin değerlendirilmesinde primer, sekonder ve devamlı hücre kültürlerinin üçü de kullanılmaktadır (147, 148).

Hücre Kültür Çalışmalarının Avantajları (135, 149) ;

1. Hücre kültürü ortamında fizyokimyasal çevre ve buna bağlı olarak fizyolojik koşullar daha iyi kontrol edilebilir. Sıcaklık, pH, osmotik basınç gibi koşullar hücre kültüründe daha kolay sağlanabilir.

2. Homojenite kontrolü sağlanabilir. Doku örnekleri çoğunlukla heterojendir. Yapılan pasajlar sonrasında, kültüre edilmiş hücreler homojen hale gelirler. Hücrelerin homojenitesi elde edilen ürünlerin kalitesi açısından önemlidir.

3. Hücre kültürleri ekonomiktir. İn vivo sistemlerde, test için canlıya verilen maddenin bir kısmı çeşitli yollarla dışarıya atılacak, bir kısmı da organizmanın bağışıklık sistemi tarafından ortadan kaldırılacaktır. Bu koşullarda, canlı bir organizmada, verilen maddenin ancak %10'una bir cevap alınabilirken, hücre kültürlerinde bu oran %90'lara kadar çıkabilmektedir.

Hücre Kültür Çalışmalarının Dezavantajları (149);

1. Primer kültür ile başlandığında, birbirini izleyen pasajlarda hücreler farklılaşır ve bir miktar ölüm her zaman gerçekleşir.
2. Hücre kültürlerinde hijyen çok önemli olduğu için, primer kültürlerin elde edildiği doku ve bunların bulunduğu koşullar hücre kültürlerini etkiler.
3. Deneyim çok önemli bir faktördür. İn vitro çalışmalarda sterilite, kültürlerin hazırlanması ve mikroskopik inceleme uzmanlık gerektirir.
4. Hücre kültürleri ekonomik olmasına rağmen, kullanılan hücre üretme araçları ve diğer malzemeler son derece pahalıdır. Buna karşılık elde edilen ürünün saf olması çok önemli bir avantajdır. Ancak son yıllarda bu teknolojinin gelişmesi, kullanılan malzemelerin de geliştirilmesine ve giderek daha da ucuzlamasına olanak tanımaktadır.

2.3.2. Hücre kültürü test yöntemleri

Diş hekimliği materyallerinin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde kullanılan hücre kültürü test yöntemlerinin çoğu ilaçların sitotoksitesinin değerlendirilmesi için kullanılan tekniklerden uyarlanmışlardır. Ancak ilaç ve dental materyaller çözünürlük konusunda aynı değildir. Dental materyaller ilaçlara göre daha düşük çözünürlük gösterirler. Bu nedenle dental materyallerin sitotoksite testleri yapılırken test yöntemi metodunda ve değerlendirme ölçütlerinde bir takım modifikasyonlar yapılmaktadır (136).

Diş hekimliğinde sitotoksite değerlendirmesinde kullanılan test düzenekleri başlıca şu şekilde özetlenebilmektedir (150);

1. Ekstraksiyon yöntemi
2. Bariyer yöntemi
3. Direkt temas yöntemi

1. Ekstraksiyon yöntemi: Katı materyalleri değerlendirmek için kullanılır. Kanal patının biyouyumluluk değerlendirmesi için uygun olan test yöntemidir. Biyouyumluluğu test edilecek olan kanal patı test için belirtilen uygun miktarda hazırlanıp hücre besiyerinde belirlenen bir süre boyunca bekletilir. Bu işlemin amacı materyale ait sitotoksik bileşenlerin çözülerek besiyerinde birikmesidir. Elde edilen katı materyale ait ekstraktlar hücre üzerine uygulanarak seçilen test yardımı ile materyalin sitotoksik aktivitesi saptanır. Bu yöntemde besiyerinde tam olarak çözünme göstermeyecek materyaller olabileceğinden etanol, alkol gibi farklı çözücülerin kullanılması gerekebilir (151).

2. Bariyer yöntemi: Kanal dolgu patları gibi katı ve irrigasyon solüsyonları gibi sıvı materyallerin değerlendirilmesinde kullanılır. Bu yöntem uygulanırken in vivo ortam koşulları yaratmak için değerlendirilecek materyal ve ilgili hücre arasında bariyer vardır. Bariyer olarak agar veya agarose ya da değişik boyutlarda porlar içeren polikarbonat membranlar kullanılır. Değerlendirilecek materyal sıvı ise filtre kâğıtlara emdirilip agar/agarose içerisine yerleştirilerek değerlendirme yapılır. Değerlendirilecek materyal katı ise membranlı özel hücre kültürü kullanılarak değerlendirilir. Her iki yöntemde de materyaller uygun bariyer üzerine yerleştirilerek test süresinin sonunda hücre aktivitesi üzerinden sitotoksik etkileri belirlenir (152).

3. Direkt temas yöntemi: Bu test yöntemi katı ve sıvı materyallerin değerlendirilmesinde kullanılır. Değerlendirilmesi yapılacak katı materyal uygun miktarda hazırlanarak daha önceden kültür kaplarına ekilmiş hücreler üzerine yerleştirilir ya da materyal hazırlanıp direkt kültür kabına yerleştirildikten sonra üzerine hücreler ekilir (152). Bu yöntemle test edilecek uygun konsantrasyona ayarlanan sıvı materyaller ise daha önceden kültüre edilmiş hücreler üzerine doğrudan uygulanır. Yapılan çalışmalarda irrigasyon solüsyonları sulandırılırken hücre besiyeri ve distile su kullanıldığı belirtilmiştir (150, 153, 154).

Materyallerin hücre kültürü ile sitotoksik etkilerini değerlendirmek için birçok test vardır. Bu testlerden her biri hücreye ait farklı bir durumu değerlendirmektedir. Bu testler (155);

1. Canlılığı değerlendiren testler,

2. Yaş amı değerlendiren testler,
 3. Hücre proliferasyonunu değerlendiren testler,
 4. Hücre metabolizmasını değerlendiren testler.
1. Canlılığı değerlendiren testler:

Bu test ile belirli bir uygulama ve zaman sonrasında canlı hücrelerin oranının ölçülmesi ile kısa dönemde oluş an toksik reaksiyonların etkileri incelenir. Canlılık testlerinde, hücre içerisine giren eritrosin, tripan mavisi ya da naftalin siyahı gibi boyaların alınımının veya normalde canlı hücreler içerisine giren diasetil florasan, nöral kırmızı gibi boyaların salınımının ölçümüne dayalı olarak hücrelerin membran bütünlüğünün değerlendirilmesi esas alınır (155).

2. Yaş amı değerlendiren testler:

Hızlı ve kolay uygulanabilen bir test olmakla birlikte sadece test esnasındaki ölü hücreleri göstermesi dezavantajdır. Fakat toksik etkilere maruz kalan hücreler günler veya daha fazla süre etki gösterebilmektedir. Bu nedenle yaş am değerlendirme testleri gibi kısa dönem testleri yerine uzun dönem testleri daha çok tercih edilmektedir (155).

3. Hücre proliferasyonunu değerlendiren testler:

Hücre hasarını belirlemek için proliferasyon oranının kullanımı esasına dayanan test yöntemidir. Proliferasyonun değerlendirilmesinde 3H-timidin testi ve bromodeoksiuridin immünohistokimyasal teknik kullanılır. Hücre sayımı bu test ile direkt olarak yapılırken, ölen hücrelerin dış arıda bırakılması amacıyla vital boya uygulanması ile beraberde uygulanabilmesi avantajdır (156).

4. Hücre metabolizmasını değerlendiren testler:

Hücrelerin metabolik değiş imlerinin tespit edilebildiği testlerdir. Hücre metabolizmasını değerlendiren testler uzun dönemde oluş acak zararı anlamak için hücrelerin metabolik veya proliferatif kapasitelerini ölçerler(156). Toksik materyaller solunum ile glikolizis metabolizmasında tüketilen oksijen ve üretilen karbondioksit

miktarını değiş tirmektedir, bu testte bu değerler manometre ile ölçülür. MTT, XTT, NR ve LDH testleri bu grup içerisinde yer alan yaygın olarak kullanılan enzimatik testlerdir (157).

2.4. sitotoksisite

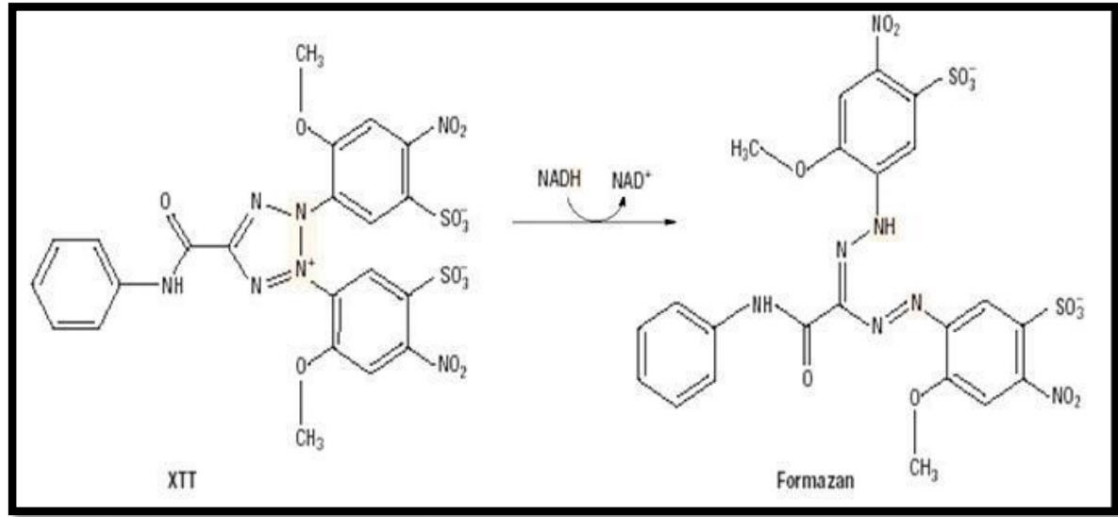
Sitotoksisite moleküler olaylar sonucunda hücrede çeş itli makromolekülerin sentezlenmesinin engellenmesi ve buna bağlı olarak hücrenin fonksiyonlarında ve yapısında belirgin hasarlar meydana gelmesi olarak tanımlanmaktadır(156).

Sitotoksisite testlerinden hücrenin yaş ayabilirliği ve hücrenin proliferasyonu gibi farklı parametreler değerlendirilerek veri elde edilir. Bu parametrelerden en önemlileri metabolik aktivite ve DNA sentezidir (158, 159).

XTT (2,3-bis(2-metoksi-4-nitro-5-sülfenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanilid) testi: Yaptığımız ęalış mada kullanılan sitotoksisite test yöntemidir. XTT Paull ve arkadaş ları tarafından 1988 yılında sentezlenen bir tetrazolyum tuzudur. Tetrazolyum tuzları histokimyasal lokalizasyon ęalış malarında ve hücre biyolojisi deneylerinde belirleyici reaktifler olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır (160). Hücre biyolojisi ve hücre kültürü ęalış malarında sitotoksite gösteren yapıların elenmesi ve büyüme faktörlerinin tespit edilmesinde sıklıkla kullanılan kimyasallardan biridir.

XTT bulunmadan önce bu amaçlar için öncelikle içerisinde radyoaktif atomlar bulunan DNA etiketli BrdU kullanılmış ama hücre kültürü ęalış malarında yanlış sonuçlara yol açtığından kısa sürede kullanımından vazgeçilmiş tir. 1950 yılından sonra tamamen hücre kültürü ęalış malarında XTT kullanılmış tir. XTT DNA sentezi ve metabolik aktivite üzerine temel değerlendirme sağlayacak bir test yöntemidir. XTT hücre proliferasyonu, sitotoksisite ve apoptoz deneylerinde etkili bir şekilde kullanılabilir (160).

XTT renksiz ya da hafif sarı renkli bir bileş ik olup indirgendiğinde parlak portakal rengine dönüş mektedir.



Ş ekil 2. 4: XTT' nin formazana dönüş ümü.

Aktif olarak prolifere olan hücrelerde XTT dönüş ümündeki artış spektrofotometrik olarak değerlendirilmektedir. Bu değerin herhangi bir iş leme tabi tutulmamış kontrol grubu ile karşı ılaştırılması sonucunda hüresel proliferatif aktivitenin göreceli artış ı belirlenir (160). XTT ölçümden önce çözme gerektirmez. Bununla birlikte XTT'nin indirgenmesinin hassasiyeti de oldukça yüksektir.

2.5. genotoksisite

Genotoksisite, DNA ve DNA bileş enlerinin oluş umunda meydana gelen hasarlarla birlikte mutasyonu da içine alan geniş kapsamlı bir terimdir. Genetik bilgiyi taşıyarak, nesilden nesile aktarılmasını sağlayan DNA üzerinde devamlı olarak hasarlar oluş maktadır, oluş an hasarlar DNA tamir sistemleri tarafından onarılmaya çalış ılmakla birlikte, hasarın çok büyük boyutta olduğu veya DNA onarım sistemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda DNA üzerinde oluş an hasarlar birikmektedir. Bu birikme zamanla mutasyonlara ve hücre ölümüne neden olmaktadır (161). Kimyasallar DNA üzerinde direkt etki gösterebilir. Bu etki genotoksisite olarak adlandırılır. Genotoksik etkiyle değış en DNA gelecek nesillere aktarılabilir. Bu etki ise mutojenite olarak adlandırılır. Bu etki subtoksik konsantrasyonlarda görülür. Mutojenite ile kanserojenite arasında da bir ilgi söz

konusudur (162). Genotoksisite ve karsinojenite arasındaki ilişki pek çok çalışmada incelenmiş ve insanlar için karsinojen olan pek çok bileşimin için genotoksik olduğu bulunmuştur. Kimyasal maddelerin mutajenik etkileri ile karsinojenik potansiyelleri arasında kuvvetli bir ilişkinin olduğunun gösterilmesi, genotoksisite testlerinin endüstri kuruluşları tarafından kimyasal maddelerin karsinojenik risklerinin araştırılmasında tarama testleri olarak kullanılması sonucunu doğurmuştur (163, 164). Pek çok kimyasalın, gelecek nesiller üzerine, kanser riski de dahil olmak üzere olası genetik hasara sebep olabilecek mutajenik özellikler taşıdığı bilinmektedir. Bu nedenle bu tür kimyasalların tanımlanması ve insan maruziyetinin sınırlandırılması gerekmektedir.

Genotoksisite Testleri

Genetik toksisite testleri, geliştirilmekte olan kimyasalların potansiyel kanserojenitelerinin araştırılması, genetik etki spektrumunun karakterize edilmesi ve toksisite ve kanserojenite test sonuçlarının yorumlanmasına yardımcı olarak kullanılır (163).

Genetik sistemler ile genotoksisitesi test edilmek istenen maddelerin karsinojenik ve mutajenik potansiyelleri arasında ilişki kurulmasını sağlayan ve en yaygın olarak kullanılan standart in vitro ve in vivo mutajenite testleri; Ames testi, Comet testi, Kromozom anormallikleri (KA) testi, Kardeş kromatit değişimi (KKD) testi ve Mikronükleus (MN) testidir (164).

DNA çift sarmal yapıda uzun iplikli bir moleküldür. Bu sarmal guanin, sitozin, timin ve adenin nükleik asitlerinden oluşmaktadır. Nükleik asitlerin riboz ya da deoksiriboz şekerleri ile birleşmesiyle deoksiadenozin, deoksitimidin, deoksisitidin ve deoksiguanozin adı verilen nükleozidler oluşur. Son yıllarda, oluşan DNA hasarının belirlenmesinde DNA baz hasarları da analiz edilmiştir (165).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 15.05.2015 tarih ve 2015-05/30 sayılı etik kurul onayı alındıktan sonra çalışmaya başlanmıştır. Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri tarafından Diş-167 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

Çalışmada kullanılan solüsyonlar: Solüsyon olarak %5.25'lik NaOCl, %15'lik propolis, %0,2'lik kitosan ve %10'luk humik asit kullanılmıştır. Deneyde kullanılacak solüsyonlar aseptik şartlarda hazırlandıktan sonra deneyin diğer aşamalarına geçilmiştir.

Hücre Hatları: Çalışmamızda kullanılan irrigasyon solüsyonlarının sitotoksikite ve genotoksikite etkinliğini değerlendirmek için human gingival fibroblast (HGF1 (ATCC® CRL2014™)) hücre hattı ve human osteoblast (hFOB 1.19 (ATCC® CRL 11372™)) hücre hattı olmak üzere iki ayrı hücre tipi kullanılmıştır (American Type Culture Collection, Manassas VA).

Kimyasallar: Deneylerde kullanılan DMEM- Low-Glucose (Sigma – Aldrich), FBS (Sigma–Aldrich), Tripsin (Applichem), L-Glutamin Streptomisin (Sigma –Aldrich), RPMI 1640(Sigma –Aldrich) XTT Kiti (Applichem A -1080), 8-OHdG kiti (Applichem A -1080) temin edilmiştir.

Cihazlar: Deneylerde CO2 inkübatör (NUAIRE), laminar-flow kabin (BIOHAZARD) buzdolapları (BOSCH), santrifüj (MSE Mistral 1000) ve Elisa reader (THERMO-SCIENTİFİC–Multiskan FC) kullanılmıştır.

3.1. Hücre kültürü

Deneylerimizde kullanılan hücre hatlarının tamamı kontaminasyonun önlenmesi için dondurularak gönderilmiştir. Bunun için çalışmamıza ilk olarak bu hücre hatlarını çözündürerek başlanılmıştır.

3.1.1. Hücre Çözürme Protokolü

Donmuş halde Cryo tüpte bulunan hücreler su banyosunda çözürüldü. Hücreler falkonlara aktararak üzerlerine 20 ml DMEM konuldu. Ardından falkonlar 5 dakika 800 rpm de santrifüj edilip santrifüj sonunda üstte kalan sıvı kısım atıldı.

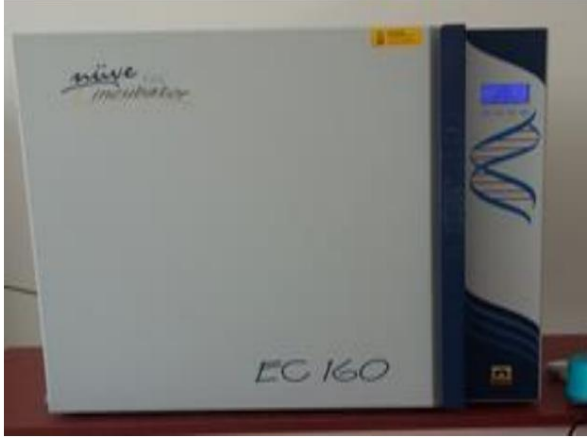


Şekil 3.1: Deneyde kullanılan soğutmalı santrifüj.

Falkonda kalan hücrelerin üzerine 15 ml DMEM eklenerek ortam flasklara aktarıldı. Flaskın içerisine 5 ml FBS ve birkaçdamla antibiyotik konularak flaskın kapağı kapatılıp inkübatöre kaldırıldı.

3.1.2. Hücrelerin yıkanması

Flaskların içerisinde büyüyen ve sayıları artan hücrelerin besiyeri azaldığı için hücre ölümünün önüne geçmek amacıyla hücrelerin yıkanması işlemi yapıldı. Bu işlem flow kabinde gerçekleştirildi. Flaskta bulunan ortam boşaltıldıktan sonra içerisine 15 ml DMEM konuldu. Ardından flaskın içerisine 5 ml FBS ve üzerine birkaçdamla L- Glutamin eklenerek inkübatöre kaldırıldı.



Ş ekil 3. 2: Deneyde kullanılan inkübatör.

3.1.3. Hücrelerin pasajlanması

Hücreler flaskın bütün yüzeyini kapladığı anda yeni bir flaska pasajlanması gerekmektedir. Aksi takdirde hücreler besin yetersizliği ve alan darlığı nedeniyle kontamine olmaya baş layacak ve kısa bir süre sonra da öleceklerdir. Bunun önüne geçmek için hücreler pasajlanmış tır.

Flaskta bulunan ortam boş altıldıktan sonra 5 ml Tripsin konuldu. Ardından Tripsinin üzerine 15 ml DMEM konuldu. Bir flask yeni bir flask olacak Ş ekilde pasajlama yapıldı. Flaskın içerisinde toplam 20 ml ortam bulunduğundan eski flastan 10 ml plateyt yardımıyla alınarak flaska aktarıldı.

Bütün flaskın içerisine 8 ml DMEM, 4 ml FBS eklenip ve içerisine birkaç damla L-glutamin konularak flasklar inkübatöre kaldırıldı.

3.1.4. Hücrelerin 96 Kuyucuklu Platelere Ekilmesi

Pasajlama durumuna gelen flasklar seçilerek ekim iş lemine baş landı. Bu iş lem flow kabinde gerçekleştirildi.



Ş ekil 3. 3: Deneyde kullanılan Laminar Flow.

Ekim için tercih edilen flaskların ortamı boş altıldı. Flaska yapış an hücrelerin kaldırılması amacı ile ortama 5 ml Tripsin eklendi. Bu flask 3 dk inkübatörde bekledildikten sonra, üzerine 15 ml DMEM eklendi ve pipetaj yapılarak flaskların içerisinde iyice yıkanması sağlandı.

Flasklar daha sonra bir flask bir falkon olacak şekilde falkonlara aktarıldı. Falkonlar 800 rpm hızda 8 dakika santrifüjlendi. Santrifüj işleminden sonra hücreler falkonların alt kısmında toplandı.

Üst kısımlarında kalan ortam döküldü. Falkonlara vurularak hücreler kaldırıldı ve hücrelerin üzerine besiyeri eklendi. 96 kuyucuktan her birine 200 µl lik karışım konuldu. İşlem bitiminde 96 kuyucuklu plateler inkübatöre kaldırıldı.

3.1.5. Hücrelere Solüsyon Uygulanması

Steril herhangi bir falkonun içerisine 40 ml DMEM ve 10 ml FBS konularak hazırlanan karışımın pipetaj yapılarak homojen dağılımı sağlandı.

Deneyde kullanılacak solüsyonlar uygulanarak 96 kuyucuklu platelere ekilen hücrelerin ortamı boş altıldı. Vorteks sonucunda elde edilen homojen karışımlar hacimleri 10-6,10-7,10-8,10-9 M olacak biçimde kuyucuklara yüklendi. İşlem bitiminde 96 kuyucuklu plateler inkübatöre kaldırıldı.

3.1.6. Hücrelere XTT Uygulanması

Besiyeri ortamı bulunan plate boş altıldı. Kuyucuklara 100 µl besiyeri, 100 µl XTT solüsyonu uygulanarak 4-24 saat 37° C'de inkübasyonda bırakıldı.

XTT yöntemi: Solüsyonların sitotoksik etkisi XTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiş tir. Hücreler 4. ve 24. saatlerde 2 kuyucuk olacak şekilde 96'lık mikropatelerde XTT (2,3-bis[2-metoksi-4-nitro-5-sülfenil]-2H-tetrazolium-5 kaboksanilit tuzu) solüsyonu kullanılarak spektrofotometrik ELISA yöntemi ile değerlendirilmiş tir. Reaktifler 50/1 (iş aretleme ajanı/aktivasyon ajanı) oranında olacak şekilde karış tırılarak hazırlanmış tir. XTT suda çözünen bir tetrazolium tuzu olmakla beraber canlı hücrede mitokondrilerindeki dehidrogenaz enzimi ile parçalandığında çözülebilir formazana dönüş mektedir. Formazandan kaynaklanan turuncu rengin yoğunluğu metabolik olarak aktif hücrelerin sayısı ile orantılıdır. Reaksiyon ELISA cihazında okunup kantite edilmiş tir. ELISA cihazında 490 nm dalga boyunda ve 630 nm referans aralığında her bir kuyucuğun absorbands değeri (OD) okunmuş tur. Hücre canlılığı yüzdesi her bir kuyucukta ölçülen optik dansite değerinin kontrol optik dansite değerine bölünmesi ve yüz ile çarpılması ile hesaplanmış tir.



Ş ekil 3. 4: XTT uygulamasının ardından platelerde renk değış imi.

Plateler 490 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ELISA okuyucuda okundu.



Ş ekil 3. 5: Platelerin eliza okuyucuya yerleş tirilmesi.

3.1.7. Genotoksisite için 8-OHdG ELISA kiti uygulanması

Çalış mada kullanılan solüsyonların hücre hattı üzerinde oluş turduğu genotoksik hasarın belirlenmesinde 8-hidroksi-deoksiguanozin ELISA kiti kullanıldı.

64, 32, 16, 8, ng/mL standart çözeltileri hazırlandı. Kuyucuklardan bir kısmına 50µL standart, 50 µL streptomycin-HRP eklendi. Diğer kuyucuklara da 40µL örnek, 10 µL VEGF antiodisi, 50 µL streptomycin-HRP eklendi. 37oC'de 60 dk. inkübe edilen playt, 5 defa PBS ile yıkandı.Yıkanan kuyucuklara 50 µL kromojen reagent A, 50 µL kromojen reagent B çözeltisi eklenerek 37oC'de 10 dk. inkübasyona bırakıldı. Tepkimeyi durdurmak için üzerine 50 µL stop çözeltisi eklendi. Renk aniden maviden sarıya döndü. Plateler 490 nm'de spektrofotometrik olarak okundu.



Ş ekil 3. 6: Durdurucu (stop) Materyalinin Uygulanmasının Ardından Sarıdan Maviye Renk Değiş imi.

3.1.8. Sonuçların İstatistiksel Yöntemlerle Değerlendirilmesi

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama \pm standart sapma Ş ekinde gösterildi. Gruplar içerisinde ve 4 saat ile 24 saat ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olup olmadığı Bağımlı t testi ile değerlendirildi. Absorbans ve konsantrasyon düzeyleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olup olmadığı Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile 1:1 ve 1:5 oranları (dilüsyon yapılmadan ve 5 kat dilüsyon ile) arasındaki farkın önemliliği ise Student's t testi ile araştırıldı. Tek Yönlü Varyans Analizi sonucunun önemli bulunması halinde anlamlı farka neden olan grup/grupları belirlemek amacıyla post hoc Tukey testi kullanıldı. $p < 0.001$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Human gingival fibroblast ve human osteoblast olmak üzere iki farklı hücre tipine dört farklı irrigasyon solüsyonunun uygulandığı bu çalışmada XTT test yöntemine ait sitotoksosite verilerine ve 8-OHdG test yöntemine ait genotoksosite verilerine ait bulgular belirtilmiştir.

4.1. Sitotoksosite Test Sonuçlarına Ait Bulgular

4.1.1. Human gingival fibroblast hücre hattı üzerine uygulanan solüsyonların sitotoksik etkinliğine ait bulgular

Deney grupları ve kontrol grubuna ait XTT yöntemi ile 4. ve 24. saatler sonunda elde edilen verilerin ortalama absorbans düzeylerinin bulguları tablo 4. 1. de verilmiştir.

Tablo 4. 1: Human Gingival Fibroblast Hücre Hattı üzerinde gruplar arasında zamana göre absorbans düzeylerinin dağılımı

Human Gingival Fibroblast Hücre Hattı sitotoksosite			
Gruplar	4. an (au)	24.an (au)	¹ p
Kontrol	1,1400± 0,8832 ^a	1,237± 0,7564 ^a	> 0,001
propolis	0,7925± 0,03096 ^b	0,6375± ,02208 ^c	<0,001
Hümik asit	0,8375± 0,2986 ^b	0,7425± 0,2309 ^b	< 0,001
NaOCl	0,4425± 0,04113 ^c	0,2475± 0,02217 [™]	<0,001
kitosan	0,8425± 0,2210 ^b	0,3825± 0,01708 ^d	<0,001
² p	<0,05	<0,05	

1 Gruplar içerisinde 24-48 saat arasında yapılan karşılaştırılmalar (Bağımlı t testi p<0,001 Anlamlı kabul edilmiştir). 2 Gruplar arası karşılaştırılmalar (Tek Yönlü Varyans Analizi p<0,05 Anlamlı kabul edilmiştir). au: Absorbans unit

Bütün grupların istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda deney grupları (propolis, humik asit, NaOCl, kitosan) ile kontrol grubu arasında hem 4 hem de 24 saat grubunda oluşan sitotoksik etki arasında anlamlı farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ile yapılan değerlendirmede tablo 4. 1 de görüldüğü üzere, kontrol grubuyla deney grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).

Tablo 4. 1 görüldüğü üzere 4 saatlik incelemede kontrol grubundan sonra en fazla hücre canlılığı kitosanda iken, en düşük hücre canlılığı NaOCl grubunda gözlenmiştir ($p < 0,05$).

Deneyimizin 24. saate ait bulgularında, en fazla hücre canlılığı kontrol grubu ve humik asitte iken en düşük hücre canlılığı NaOCl grubunda izlenmiştir ($p < 0,05$).

Her bir solüsyonun 4 ve 24 saatlik sitotoksitesine bakıldığında ise kontrol grubu haricindeki tüm gruplarda uygulama süresi arttığında oluşan sitotoksik etkinin de anlamlı derecede arttığı görülmüştür ($p < 0,001$).

4.1.2. Human osteoblast hücre hattı üzerine uygulanan solüsyonların sitotoksikite etkinliğine ait bulgular

Tablo 4. 2: Human Osteoblast Hücre Hattı üzerinde gruplar arasında zamana göre absorbans düzeylerinin dağılımı.

Human Osteoblast Hücresi			
Gruplar	4. an	Sitotoksik site 24. an	1 p
Kontrol	1,1400± 0,8832	1,237± 0,7564	> 0,001
propolis	0,9225 ± 0,01708	0,5625± ,02945	<0,001
Hümik asit	0,8275± 0,2363	0,4125± 0,2363	<0,001
NaOCl	0,3875± 0,01713	0,3375± 0,00957	<0,001
kitosan	0,6205± 0,4546	0,2225± 0,00708	<0,001
S 2	<0,05	<0,05	

1 Gruplar içerisinde 24-48 saat arasında yapılan karşılaştırılmalar (Bağımlı t testi $p < 0,001$ Anlamlı kabul edilmiş tir). 2 Gruplar arası karşılaştırılmalar (Tek Yönlü Varyans Analizi $p < 0,05$ Anlamlı kabul edilmiş tir). au: Absorbans unit

Tablo 4. 2 de görüldüğü üzere Human osteoblast hücre hattı üzerine uygulanan deney solüsyonlarının sitotoksitesisi 4 saat grubunda incelendiğinde kontrol grubundan sonra en fazla hücre canlılığı propoliste iken, en düşük hücre canlılığı NaOCl grubunda gözlenmiş tir ($p < 0,05$).

24 saat grubuna ait bulgularda ise en fazla hücre canlılığı kontrol grubu ve propoliste iken en düşük hücre canlılığı NaOCl grubunda izlenmiş tir. Tek yönlü varyans analizi ile yapılan değerlendirmede tablo 4.2 de görüldüğü üzere, kontrol grubuyla deney grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).

Tablo 4. 2 de görüldüğü üzere her bir solüsyonun 4 ve 24 saatlik sitotoksitesisine bakıldığında ise kontrol grubu haricindeki tüm gruplarda uygulama süresi arttığında oluşan sitotoksik etkinin de anlamlı derecede arttığı görülmüş tür ($p < 0,001$).

4.2.Genotoksisite Test Sonuçlarına Ait Bulgular

4.2.1. Human gingival fibroblast hücre hattı üzerine uygulanan solüsyonların genotoksik etkinliğine ait bulgular

Fibroblast hücre hattı üzerinde 4 farklı solüsyon uygulanarak genotoksisite değerlendirilmesi yapılmış tir. Solüsyonlar arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığını belirlemek için elde edilen değerler $p(\text{sig.}):0,935 > 0,001$ olduğundan normal dağılım varsayımını sağlamış tir. Bununla birlikte Levene varyansların homojenliği testine göre $p(\text{sig.}):0,232 > 0,001$ olduğundan varyansların homojenliği varsayımı da sağlanmış tir. Bu nedenle farklılığı test etmek için Anova varyans analizi testi kullanılmış tir.

Tablo 4. 3: Human gingival fibroblast hücre hattı üzerinde solüsyonların genotoksik etkisinin değerlendirilmesi

Human Gingival Fibroblast Hücresi	
Solüsyon	Genotoksisite Absorbans Değerleri
kitosan	1,0001± 0,37152a
NaOCl	0,5090± 0,25932b
Hümik asit	0,5276± 0,05730b
propolis	0,8760± 0,30123a,b
Kontrol	0,7210± 0,23229a,b
P	0,002*

p < 0.05 anlamlı kabul edilmiş tir. N: 8

P(sig.):0,243 < 0,001 olduğundan human gingival fibroblast hücre hattı üzerinde oluşan genotoksisite de solüsyonlar arası anlamlı bir fark bulunduğundan Tukey testine göre 2 grup oluşmuş tur. 1.ci grupta sırasıyla NaOCl, humik asit, propolis solüsyonları ve kontrol grubu yer almaktadır. Buna göre en yüksek genotoksisiteye sahip NaOCl uygulanan grup olmuş tur. 1.ci gruba göre daha yüksek ortalamaya sahip düşük toksisiteli 2.ci grupta kontrol, propolis ve kitosan solüsyonları yer almaktadır. 2. grup veri sonuçlarına göre ise en düşük genotoksisite kitosan uygulanan grup olmuş tur.

4.2.2. Osteoblast hücre hattı üzerine uygulanan solüsyonların genotoksik etkinliğine ait bulgular

Osteoblast hücrelerde 4 farklı solüsyon kullanılarak genotoksisite değerlendirilmesi yapılmış tir. Solüsyonlar arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığı belirlenmek istenmiş tir. Elde edilen değerler p(sig.):0,112 > 0,001 olduğundan normal dağılım varsayımını sağlamış tir. Levene varyansların homojenliği testine göre p(işaret):0,00033 < 0,001 olduğundan varyansların homojenliği varsayımı

sağlanmamış tır. Bu nedenle farklılığı test etmek için Kruskal-Wallis testi kullanılmış tır.

Tablo 4. 4: Human osteoblast hücre hattı üzerinde solüsyonların genotoksik etkisinin değerlendirilmesi

Human Osteoblast Hücresi	
Solüsyon	genotoksisite Absorbans değerleri
Kontrol	0,71438 ± 0,271567'de
kitosan	0,48888± 0,329378
NaOCl	0,81388± 0,135818
Hümik asit	0,66925± 0,091819
propolis	0,64975± 0,291657
p	0,133

p[≤] 0.05 anlamlı kabul edilmiş tır. N: 8

Osteoblast hücre hattı üzerinde oluş an genotoksisite değerlendirilmesinde solüsyonlar arası anlamlı bir fark bulunmamış tır.

5. TARTIŞ MA

Endodontik tedavide baş arıyı yakalamak için kök kanal sisteminde bulunan enfekte organik pulpal bileş enlerin, inorganik dokuların, periapikal dokular açısından enfeksiyon riski taşıyan tüm mikroorganizmaların ve toksik ürünlerinin uzaklaş tırılması ve ardından kök kanalının ideal olarak şekillendirilip üçboyutlu olarak sızdırmaz bir şekilde doldurulması gerekmektedir (8, 10). Bunun sağlanması için uygun bir irrigan ve irrigasyon sisteminin kullanılması da tedavinin önemli prosedürleri arasında yer almaktadır (166).

Endodontik tedavide kullanılan irrigasyon solüsyonlarının bir kısmı, eskiden beri kullanılan solüsyonlar olmakla birlikte en iyi klinik ve biyolojik yanıtı alabilmek amacıyla ideal kök kanal irrigasyon solüsyonu arama süreci günümüzde hala devam etmektedir.

Modern tıbbın ve diş hekimliğinin bugün üzerinde en çok çalış tığı konulardan biri, tedavide kullanılacak en doğru materyalleri bulmak ve organizma üzerinde en uygun biçimde kullanımını sağlamaktır. Bu bağlamda endodontik tedavide kullanılan materyallerin biyoyumluluğunun değerlendirilmesi büyük bir önem taşımakta olup, biyoyumluluk, herhangi bir dental restoratif materyalin klinik uygulamada kullanılması için gerekli temel şartlarından biri olarak kabul edilmektedir (167, 168).

Biyoyumluluk kısaca, belirli bir uygulamada bir materyalin uygulandığı bölgede uygun bir konak cevabı oluş turabilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır (169).

Kök kanal tedavisinde kanalların irrigasyonunda farklı içeriğe sahip birçok solüsyon kullanılmaktadır. Kullanılan irrigasyon solüsyonlarının kanal boş luğu içerisinde sınırlı kalmayıp apikal foramen aracılığı ile sement, periodontal ligament ve alveolar kemikten oluşan periapikal dokular ile temas ettiği bilinmektedir. İrrigasyon solüsyonları ayrıca mine, dentin/pulpa, periodonsiyum, yanak, dil ile de lokal olarak karşı karşıya gelebilmektedir (170-172).

Ayrıca çeşitli çalışmalarda, kemomekanik preparasyon esnasında irrigasyon iğnesinin ucu apekikale yaklaş tıkaç irrigasyon solüsyonunun apikalden taş tığını ve eğeleme işlemi sırasında kanal aletinin piston görevi yaparak solüsyonu apeks çevresine pompaladığı belirtilmiştir tir (37, 173-177).

Bu durum değerlendirildiğinde irrigasyon solüsyonlarının çevre dokularla temas etmesi durumunda bölgedeki hücrelerin yapısında, proliferasyonunda, adezyonunda, enzim sistemlerinde ve dolayısı ile tüm yaşamsal fonksiyonlarında dejenerasyon meydana getirmemesi, biyoyumlu olması istenmektedir (168, 178).

Dental materyaller biyoyumlu olmadığında uygulama alanındaki dokularda pek çok muhtemel yan etkileri oluş turma potansiyeli taş ırlar. Bunlar toksik, enflamatuvar, allerjik ve mutajenik etkiler olarak sınıflandırılabilir. Dental materyallerin klinikte kullanılmasından önce bu olası yan etkilerin incelenmesi ve mevcut yan etkilerin derecesinin belirlenmesi büyük önem taş ımaktadır (168, 179).

Walton ve Torabinejad (180) kök kanal tedavilerinin baş arısını etkileyen faktörleri sınıflandırdıkları bir araş tırma yapmış lardır. Çalış maları sonucunda kök kanal tedavilerinde elde edilen baş arıyı kullanılan materyallerin biyoyumluluğunun önemli derecede etkilediğini bulmuş lardır. Bu nedenle yeni materyal geliş tirme sürecinde, kimyasal ve mekanik özelliklerin yanında materyalin biyoyumluluğu da göz önünde bulundurulması gerektiğini belirtmiş lerdir.

Schwarze ve ark.(157) periapikal bölgeye doğrudan temas eden veya kök kanalı içerisinde olup periapikal dokulara zamanla salınan bileş imlerin biyoyumlu olmadığında, periapikal lezyonun iyileş mesine olumsuz etkide bulunabileceğini ya da yeni bir periapikal enflamasyon oluş umunu indükleyebileceğini bildirmiş lerdir.

Bu konuda yapılmış bir diğer çalış ma sonucunda ise çevre dokularla biyoyumlu olmayan materyallerin periapikal dokulara temas ettiğinde iltihap, nekroz ve beraberinde ağrı oluş turabileceğini, devam eden süreçte ise ilgili bölgenin iyileş mesi ve fonksiyonun sağlanmasında gecikme veya yapılan endodontik tedavide baş arısızlık riski oluş abileceği belirtilmiştir tir (181).

Endodontik tedavi sırasında kullanılan irrigasyon solüsyonlarının tedavi boyunca periapikal dokularla teması söz konusudur. Bu materyallerin çevre dokularla uyumlu olmadığına periapikal bölgedeki hücreler üzerinde sitotoksik ve genotoksik hasar oluş turabileceği çeş itli araş tırmalarda vurgulanmış tır (182-184).

Bu bilgiler dahilinde bu çalış mada endodontide en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonu olan NaOCl'e alternatif olabileceğini düş ündüğümüz propolis, kitosan ve humik asitin sitotoksik ve genotoksik etkinliği karş ılaş tırılmalı olarak değerlendirilmiş tir.

Yeni geliş tirilen materyallere karş ı geliş ebilecek pek çok muhtemel yan etki mevcuttur. Materyallere ait bu yan etkilerin klinik kullanım öncesi değerlendirilmesi gerekmektedir. Günümüzde yeni geliş tirilen hemen hemen her materyal için değerlendirilen ilk yan etki toksisitedir (168, 179). Bizim çalış mamızda da toksik etki sitotoksik etki ve genotoksik etki olarak iki alt grupta incelenmiş tir.

Sitotoksisite; materyallerin dokularla teması sonrasında hücrede çeş itli makromolekülerin sentezlenmesinin engellenmesi, buna bağlı olarak hücrenin fonksiyonlarında ve yapısında belirgin hasarlar meydana gelmesi olarak tanımlanır (185, 186). Sitotoksisite testlerinden hücrenin yaş ayabilirliği ve hücrenin proliferasyonu gibi farklı parametreler değerlendirerek veri elde edilir. Bu parametrelerden en önemlileri metabolik aktivite ve DNA sentezidir (158, 159).

Genotoksisite; ise genel anlamda materyallerin hücreye ait genetik yapıda değiş iklik oluş turması, materyalin çevre hücrelerin DNA sekansının bir bölümünü değiş tirmesi olarak ifade edilebilir. Bu durum, materyal ile DNA'nın doğrudan veya dolaylı yoldan etkileş mesiyle meydana gelmektedir (187).

Hücreler sahip oldukları bazı mekanizmalarla, genetik hasarın bir sonraki nesle aktarılmaması için programlanmış hücre ölümleri (apoptoz) gibi mekanizmalarla meydana gelen genotoksik hasarı onarabilirler. Ancak genetik hasar onarılmaz ve bir sonraki nesle aktarılırsa mutajenite meydana gelir (186).

Medikal ve dental materyallerin biyouyumluluklarını değerlendirmek için ş imdiye kadar çok çeş itli test yöntemleri geliş tirilmiş tir. İlk olarak hücre kültürlerinin

kullanıldığı in vitro testler ile değerlendirilen materyaller, tatmin edici sonuçlar elde edildiği takdirde hayvan testleri ile (in vivo) ve ardından son basamak olan klinik testlerle değerlendirilmektedir (169). Kısaca bir materyalin biyouyumluluğunun araştırılması için; in vitro hücre kültür testleri, in vivo hayvan testleri ve klinik kullanım testlerinin sırası ile uygulanması materyalin hasta üzerinde rutin kullanımı öncesi değerlendirmesi için izlenecek en doğru yoldur (188).

İn vivo testlerde materyallerin toksisitesinin değerlendirilebilmesinde hayvan deneyleri kullanılmaktadır. Ancak, deneyler sırasında hayvanlara bağlı faktörlerin deney sonuçlarını ve çalışmanın güvenilirliğini etkilemesi söz konusudur. Ayrıca hayvanlar ve insanlardaki fizyolojik reaksiyonlar birbirinden farklı olabilmektedir. Deney sırasında hayvanlara bağlı bu faktörler, farklı biyolojik etkileşimler meydana getirmekte ve anlamlı sonuçlar elde edilmesini engelleyebilmektedir (133).

Ayrıca bilimsel araştırmalarda hayvan deneklerin kullanımı, hayvan hakları açısından giderek artan şekilde sorgulanmakta ve sınırlandırılmaktadır. Bunun yanı sıra hayvan deneylerinin pahalı ve zaman alıcı oluşu, hayvanların beslenme ve bakımlarında ortaya çıkabilecek sorunlar in vivo çalışmaların kullanımını zorlaştırmaktadır (129).

Klinik kullanım testleri ise standardize edilmiş yöntemler şeklinde gönüllü, sağlıklı insanlarda ya da primatlarda uygulanmaktadır. En çok kullanılan primatlar köpek türleri, maymun türleri, tavşanlar ve farelerdir (189).

Geçmişte materyaller sitotoksikite ve genotoksikite açısından insanlar üzerinde yapılan klinik kullanım testleri ile değerlendirilmekteydi. Ancak günümüzde bir materyalin biyolojik dokular üzerine etkilerini incelemek için, insanların denek olarak kullanılması, etik olmamasının yanı sıra, yasal olarak da kabul edilmemektedir. Bu nedenle materyallerin biyouyumluluğunu belirlemek için insanlarda uygulanmadan önce geniş kapsamlı in vitro ve in vivo testler ile değerlendirilmesi gerekmektedir (190). Aynı şekilde ağız içerisinde kullanılacak materyallerin de oluşturacağı biyolojik cevabın önceden in vitro ve in vivo test yöntemleri ile değerlendirildikten sonra klinik kullanım testine baş vurmak gerekmektedir.

İn vivo ve klinik kullanım testlerine ait bütün bu olumsuz etkilerin yaptığımız bu çalışmada sonucunun etkilenmemesi ve daha doğru bir sonuç alınabilmesi için kullanılan irrigasyon solüsyonlarının toksik etkilerini değerlendirmek ve oluşabilecek biyolojik reaksiyonları taklit edebilmek için çalışmamızda in vitro biyoyumluluk testleri kullanılmıştır (129).

Bir materyalin toksisitesini belirlemek amacı ile yapılan araştırmalarda yaygınla kullanılan in vitro hücre kültür testleri, canlı dokuların fizyolojik durumunu taklit etmektedir (157).

İn vitro çalışmalar; kontrol edilebilir şartlarda yürütülen ve hücrel toksisitenin oluşum mekanizmasını açıklayan, uygulanması kolay araştırma test yöntemleridir. Bu testlerde hücrel olaylar tek başına, karmaşık hücreler arası ilişkilerden bağımsız olarak değerlendirilmektedir (191).

Hücre kültür test yöntemleri ayrıca materyaller arasında parametrik karşılaştırma araştırmalarına imkân verirler, tekrarlanabilirler, bireysel faktörlerden etkilenmezler ve çalışma koşulları standardize edilebilirler (131, 133, 186). Ayrıca hücre kültür test yöntemleri, hayvan deneylerine kıyasla uygulaması daha kolay, daha az zaman alan ve daha ekonomik testlerdir (192).

Birçok araştırmacı, çeşitli alanlarda kullanılan materyallerin sitotoksik ve genotoksik etkilerini değerlendirmek için hücre kültürü yönteminin hayvan çalışmalarından ve klinik çalışmalardan üstün olduğunu belirtmiş olup çalışmalarını hücre kültürü üzerinde gerçekleştirmişlerdir. Endodontide çeşitli irrigasyon ajanlarının biyoyumluluğunu değerlendirmek için in vitro hücre kültür yönteminin kullanıldığı birçok çalışmada mevcuttur (144, 153, 193-195).

Prado ve ark. (196) fosforik asit ve diğer endodontik irrigasyon ajanlarının sitotoksik ve antimikrobiyal etkinliklerini karşılaştırdıkları, Martins ve ark. (197) NaOCl, EDTA, MTAD ve sitrik asitin sitotoksitesini ve genotoksitesini değerlendirdikleri çalışmada, Alkahtani ve ark.(198) Qmix in sitotoksitesini değerlendirdikleri çalışmada, Zhang ve ark. (199) MTAD'ın sitotoksitesini inceledikleri çalışmada ve Chan ve ark.(200) yeni nano partiküllü bir irriganın

sitotoksitesinin değerlendirdikleri alış mada in vitro hücre kültürünü kullanmış lardır.

Bütün bu bilgiler ve yaptığımız diğer literatür taramaları bizi in vitro ř artlarda hücre kültürü test yöntemi üzerinden alış mamızı yürütmeye yönlendirmiş tir.

Dental materyallerin sitotoksitesinin incelenmesinde en çok kullanılan hücreler insan ve farelerin eş itli dokularından alınanan hücrelerdir. Bununla birlikte tavş an, domuz ve baş ka pek çok sayıda hayvandan da hücreler elde edilerek materyaller test edilebilmektedir. Ancak insan ve hayvan hücre fizyolojisinin farklı olması nedeniyle alış madan elde edilen verilerde insan hücresi üzerinde yapılar kadar emniyetli olmamaktadır.

Hücre kültür testlerinde en çok kullanılmış hücre tipleri ise; fibroblastlar, makrofajlar, odontoblast hücreleri, gingival fibroblastlar, nöron hücreleri, keratinositler, osteoblast benzeri MG63 hücreleri ve osteoblastlardır (189).

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin sitotoksik özelliklerinin incelendiği deneysel bazı alış malarda ise diş eti dokusundan izole edilen epitel veya fibroblast hücrelerinden oluş an primer hücre kültürleri de kullanılmış tir. Ancak, kullanılan primer hücre kültürlerinin birkapasajlamadan sonra değiş ime uğraması, testlerde elde edilen biyolojik cevaplarda varyasyonlara neden olarak toksisite bulgularının karş ılaş tırılması ve standardizasyonu ağından önemli bir dezavantaj oluş turmaktadır (135, 168).

eş itli irrigasyon solüsyonlarının in vitro test yöntemi ile sitotoksitesini ve genotoksitesini incelemeyi amaadıığımız bu alış mamızda tüm bu bilgiler dahilinde, kullanım alanının geniş olması ve standart biyolojik cevap elde edilebilmesi amacıyla ve klinik duruma yakın bir ortam hazırlayabilmek için, endodontik materyallerinin klinik olarak yerleş tirildiği bölge ve yakın temas halinde oldukları hücreler de göz önünde tutularak, human gingival fibroblast hücreleri ve human osteoblast hücreleri kullanılmış tir. Human gingival fibroblast hücreleri ve human osteoblast hücreleri apikalde endodontik materyaller ile reaksiyona katılan major hücrelerdir (201).

Fibroblastlar, periodontal bağ dokusunun yapım sürecinde birçok önemli rol üstlenmektedirler. Bu hücreler periodontal hastalık sürecinde ekstrasellüler matriksi yıkmakla ve enflamatuvar sitokinleri salgılamakla görevlidir. Osteoblast hücreleri ise kemik yapımından sorumlu ana hücelerdir (202, 203). Ayrıca çalışmamızda iki farklı tipte hücre hattı seçilerek hücre hatlarının test edilen irrigasyon solüsyonlarına verecekleri cevapları belirleyip karşılaştırılarak bu materyallerin sitotoksitesite, genotoksitesite ve rejenerasyon etkinliği hakkında daha kapsamlı sonuç elde edilmesi amaçlanmıştır.

Endodontide çeşitli amaçlarla kullanılan, birbirinden kimyasal açıdan farklı çok çeşitli materyalin değerlendirildiği birçok çalışmada in vitro hücre kültüründe bizim çalışmamızda olduğu gibi insana ait hücreler kullanılmıştır. Alhaktan ve ark. (204) NaOCl'in farklı konsantrasyonlarının sitotoksitesitesini değerlendirdikleri çalışmada, Barnhart ve ark. (205) endodontide kullanılan çeşitli irrigasyon solüsyonlarının sitotoksitesitesini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada, Konjhozic-prcic ve ark. (206) dört farklı kök kanal patının sitotoksitesitesini karşılaştırdıkları çalışmada, Parirokh ve ark. (207) ile Zhou ve ark. (208) farklı kanal patlarını değerlendirmek için yaptıkları çalışmada, Jung ve ark. (209) MTAD, biodentin, amalgam ve kompozit materyallerinin toksitesitesitesini inceledikleri çalışmada, Chen ve ark. (210) kalsiyum silikat bazlı simanların endodontide kullanımı ile ilgili yaptıkları in vitro çalışmada insan hücrelerini kullanmışlardır.

Bizim çalışmamızda da bu çalışmalarla benzer olarak human gingival fibroblast ve human osteoblast hücreleri tercih edilmiştir.

Çalışmamızda solüsyonların hücreler üzerinde oluşturduğu sitotoksitesite etkinliğinin belirlenmesinde ise XTT test yöntemi kullanılmıştır.

Bu test suda eriyebilir bir bileşik olan XTT (2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide)'nin canlı hücrelerce turuncu renkli formazan bileşiklerine indirgenme düzeyinin, metabolik aktivite göstergesi olarak ölçüldüğü kolorimetrik bir görüntüleme yöntemidir (211).

XTT testi, standart yöntemle göre daha kısa sürede sonuç verme avantajı sunmaktadır. Ayrıca çok sayıda örneğin hızla çalışılması ve sonuçların değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır (212). Endodontide yapılan ve çalışmamızla benzer özellikler taşıyan birçok çalışmada da sitotoksitenin değerlendirilmesinde XTT test yöntemi tercih görmüş tür.

Reichl ve ark. (213) geleneksel kök kanal patlarının DNA hasarına etkilerini inceledikleri çalışmada, Lee ve ark. (214) yeni geliştirilen MTA bazlı kök kanal patının sitotoksitesini inceledikleri çalışmalarında, Petel ve ark. (215) iyodoform içerikli kök kanal patlarının proliferatif ve sitotoksik etkilerini inceledikleri çalışmalarında, De-deus ve ark. (216) bioseramik esaslı kaide materyallerinin sitotoksitesini değerlendirmek üzere yaptıkları çalışmalarında XTT test yöntemini kullanmışlardır.

Bu araştırmada da benzer olarak kullanılan irrigasyon solüsyonlarının oluştuğu sitotoksiteyi değerlendirmek amacıyla XTT yöntemi tercih edildi.

Çalışmada kullanılan solüsyonların kullanılan hücreler üzerinde oluştuğu toksite, sitotoksite testine ilave olarak periapikal dokularda meydana gelen genotoksik etkinin derecesi ve oluşabilecek diğer yan etkileri belirlemek açısından genotoksite testi ile de değerlendirildi. Endodontik tedavide periapikal dokularda genotoksik etki gösteren birçok materyallerin varlığı çeşitli çalışmalarda belirtilmiş olup bu alandaki çalışmalar önem taşımaktadır (217-219).

Genotoksite testleri kanserden korunmada, çevresel etkenlerin (UV, iyonize radyasyon), endüstriyel kimyasalların etkisini araştırmada, ilaçların piyasaya sürülmeden önce toksik etkilerini ve güvenilirliğini araştırmada etkin bir şekilde kullanılmaktadır (165).

Çalışmamızda da kullanılan irrigasyon solüsyonlarının kullanılan hücreler üzerinde oluştuğu genotoksite, DNA üzerinde gösterdiği hasar 8-OHdG belirteci kullanılarak değerlendirilmiştir.

DNA'da Cu²⁺ iyonları en çok G-C den zengin bölgelerde bulunması, bu iyonların polianyonik karakterde olan DNA'nın özellikle guanin bazlarına yüksek

afinite ile bağlanıp H₂O₂ ile etkileşime girerek DNA hasarını başlatması nedeniyle en fazla hasara guanin bazının maruz kaldığı belirtilmiştir (220).

8-OHdG en sık karşılaşılan ve mutajenitesi en iyi bilinen DNA hasar ürünüdür ve çalışmamızda da genotoksisiteyi değerlendirmede 8-OHdG kullanılmıştır (221). Normal şartlarda, insan dokularındaki 8-OHdG ve diğer okside baz oluşumu ile bunların onarım hızı, kişiden kişiye değişmekle birlikte, neredeyse birbirine eşittir. DNA üzerindeki 8-OHdG bileşikleri 8-oksoguanin glikozilazlar tarafından kesilerek uzaklaştırılır. Fakat onarım yetersiz olduğu koşullarda hasar kalıcı hale gelir ve mutajenite oluşur (222-224).

8-OHdG DNA'da meydana gelen hasarı deney ortamında belirlemek için kullanılan en yaygın ürünler arasında yer almaktadır (184, 225-227). Ayrıca 8-OHdG, birçok çalışmada tek başına DNA hasarının göstergesi olarak da kullanılmıştır (228). Diş hekimliğinde birçok alanda da çalışmamızda olduğu gibi DNA hasarını tespit etmek amacıyla 8-OHdG bileşimine bakılmıştır.

Atalayın ve ark. (229) çelik bonding ajanlarının oluştuğu DNA hasarını tespit etmek için hücre kültürü üzerinde 8-OHdG bileşimine bakmışlardır. Kurgan ve ark. (230) kronik periodontitis nedeniyle meydana gelen DNA hasarını belirlemede tükürük içerisindeki 8-OHdG bileşimini baz almışlardır. Agha-hosseini ve ark. (231) liken planus ve skuamöz hücreli karsinomaya bağlı olarak gelişen genotoksisiteyi tükürük içerisinde yer alan 8-OHdG miktarına bakarak değerlendirmişlerdir. Volk ve ark. (232) TEGDMA'nın oral keratinokistler üzerinde oluştuğu genotoksik etkiyi değerlendirmek için 8-OHdG değerine bakmışlardır. Buljan ve ark.(233)braketlerin oluştuğu strese bağlı olarak gelişen DNA hasarını belirlemek için yaptıkları çalışmada aynı yöntemle baş vurmuştur.

Yaptığımız tüm bu literatür taramalarından elde edilen veriler ve dental materyallerin genotoksisitesi üzerine yapılmış birçok çalışmada belirtilen bilgiler tarafımızdan değerlendirilerek bu çalışmada da genotoksisitenin belirlenmesinde 8-OHdG belirtecini kullanılabileceğine karar verilmiştir.

NaOCl endodontide en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonu olmasına karşın yüksek bir toksisiteye sahiptir. Bu nedenle günümüzde hala NaOCl'ye alternatif olabilecek irrigasyon solüsyonu arayışı devam etmektedir (234). Yaptığımız bu çalışmada alternatif olabilecek diğer solüsyonlar ile NaOCl'in sitotoksitesini ve genotoksitesini karşılaştırılmıştır.

NaOCl'in en önemli dezavantajlarından birini oluşturan toksisitesi üzerinde literatürde birçok çalışmada mevcuttur. Botton ve ark. (218) süt dişlerinde pulpektomi işleminde kullanılan irrigasyon solüsyonlarının toksisitesini ve farmakolojik açıdan değerlendirmesini yaptığı NaOCl (%1 ve %2,5), %2 klorheksidin, %6 sitrik asit ve %17 oranında EDTA'nın karşılaştırıldığı tüm irrigasyonların bazı derecelerde toksisite gösterdiğini bulmuşlardır. NaOCl'nin diğer üç gruba göre daha toksik olduğunu bulmuşlardır.

Ok ve ark. (235) %5,25'lik NaOCl ve %2'lik CHX'in sitotoksik etkilerini human gingival fibroblast hücreleri üzerinde değerlendirmiş ve çalışmada sonucunda NaOCl CHX'e göre daha sitotoksik bulunmuştur.

Bajrami ve ark. (236) farelere ait gingival fibroblast hücrelerinde %3 NaOCl, %2 CHX ve MTAD'ın sitotoksitesini değerlendirmiş, çalışmada sonucunda NaOCl diğer solüsyonlara göre daha sitotoksik bulunmuştur.

Navarro-escobar ve ark. (237) %2,5'lik NaOCl, %15'lik sitrik asit ve %5'lik fosforik asitin sitotoksitesini in vitro hücre kültüründe bakmıştır. Çalışmaların sonucunda NaOCl diğer gruplara göre daha sitotoksik bulunmuştur.

Serper ve ark. (238) %5 NaOCl, %17 EDTA ve oksidatif potansiyele sahip suyun sitotoksik etkilerini in vitro hücre kültüründe karşılaştırmıştır. OPW, EDTA ve NaOCl'e göre kullanılan konsantrasyonlarda daha az sitotoksik göstermiştir.

Mirhadi ve ark. (239) hidrojen peroksitle farklı konsantrasyonlarda kombine edilmiş CHX ve NaOCl'in toksik etkisine yaptıkları in vitro hücre kültürü ile bakmışlardır. Çalışmada sonucunda NaOCl daha toksik bulunmuştur. Bizim yaptığımız çalışmanın sonucunda ise NaOCl'nin 4. ve 24. saatlerde hem human gingival

fibroblast hücresi, hemde human osteoblast hücresi üzerindeki sitotoksik etkisi deney grubundaki diğer solüsyonlara göre istatistiksel olarak daha fazla olmuş tur ($p < 0.05$).

Bu çalış maların sonucunda deney grubundaki diğer solüsyonlara göre toksisitesi daha fazla bulunan NaOCl bizim çalış mamızda da en yüksek sitotoksositeye sahip olmuş tur. Yaptığımız çalış manın sonucunun belirtilen bu çalış malarla uyumlu olduğunu düşünmekteyiz.

Tüm bu çalış malarda ve bizim çalış mamızda da karşı ılaş tırma gruplarına göre daha toksik olduğu bildirilen NaOCl'e karşı ı alternatif olarak propolis, kitosan gibi fitoterapik içerikli iki solüsyonu ve doğal bir materyal olan humik asiti çalış mamıza dahil ederek bu alana yeni seçenekler getirmeyi amaçladık.

NaOCl'e alternatif olabileceğini düşün düğümüz solüsyonlardan ilki propolistir ve apiterapik bir üründür. Doğal arı ürünlerinin insan sağlığını koruma ve tedavi etme amacıyla tıpta kullanımı apiterapi olarak adlandırılmaktadır (240). Apiterapik uygulamaların son yıllarda tıp alanında olduğu olduğu gibi diş hekimliğinde de kullanımı artmaktadır.

Propolis arılar tarafından üretilen reçne içeren, birçok biyolojik aktiviteye sahip doğal bir üründür (241). Propolisin antibakteriyel, antiinflamatuvar, antioksidan, antiviral etkiye sahip olduğu daha önceden bu konularda yapılmış çalış malarda belirtilmektedir (242-244).

Propolis diş hekimliğinde farklı amaçlarla farklı alanlarda kullanılmış tır. Kuafajda kaide materyali olarak, dentin hipersensivitesini önlemek için, kök kanal irrigasyon solüsyonu olarak, endodontik kanal patının içerisinde, periodontal hücrelerin canlılığını korumak için avulse diş lerde, periodontolojide yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda, oral mukozal ülserasyonların iyileş tirilmesinde ve diğer birçok alanda propolis etkin ş ekilde kullanılmış tır (245-250).

Endodontide irrigasyon solüsyonu olarak da propolisin kullanıldığı antibakteriyel ve antifungal etkilerinin araş tırıldığı çalış malar mevcuttur (242, 251, 252).

Tyagi ve ark. (242) yaptığı bir çalışmada *C.albicansa* karşı propolis, *Morinda citrifolia*, *Azadirachta indica* ve %5'lik NaOCl'nin antifungal etkinliği karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda NaOCl ve propolis en yüksek antifungal etkiyi göstermiş olup, bu iki solüsyon arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Saxena ve ark. (251) yaptıkları bir çalışmada propolis ile birlikte beş adet bitkisel içerikli solüsyonun *E.Faecalis* e karşı antimikrobiyel etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda NaOCl ile birlikte propolis en yüksek antimikrobiyel aktiviteyi göstermiş olup, bu iki materyal arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Jolly ve ark. (253) bir çalışmada endodontik aerobik ve aneorobik mikroorganizmalara karşı klorheksidin ve propolisin antimikrobiyel etkinliği karşılaştırmıştır. Çalışma sonucunda klorheksidin aneorobik grupta en yüksek antibakteriyel etkiyi göstermiştir. Fakat aerobik mikroorganizma grubuna karşı klorheksidin ve propolis eşit seviyelerde antimikrobiyel etki göstermiştir.

Bununla birlikte literatür taramalarında propolisin sitotoksitesi üzerine yapılmış daha sınırlı sayıda çalışmaya rastlanılmıştır. Bu nedenle yaptığımız bu çalışmada propolisin sitotoksik ve genotoksik etkileri ile ilgili veri elde etmek ve literatüre bu yönde katkı sağlamak amaçlanmıştır (254).

Al-shaher ve ark. (255) pulpada yer alan fibroblast hücrelerinde ve periodontal ligamentte yer alan fibroblast hücrelerinde 0-20 mg/ml propolis ve 0-250 mg/ml kalsiyum hidroksit 2 saatlik inkübasyon sonrasında sitotoksik etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda propolis uygulandığı hücrelerde görülen sitotoksikite kalsiyum hidroksit grubuna göre anlamlı derecede daha az bulunmuştur. Bizim çalışmamızda değerlendirilen propolis NaOCl grubuna göre her iki saat grubunda da daha az sitotoksikite oluştuğu görülmüştür. Yaptığımız çalışmanın sonucunun bu çalışmanın sonucu ile bu nedenle örtüşme olduğunu düşünmekteyiz.

Singla ve ark. (256) ratlara vücut kitle indeksine göre ayarlanan propolis oral yoldan verdikten sonra 12, 13 ve 14. günde ratların karaciğer hücrelerinde oluşan

sitotoksik etkiye bakmışlardır. Çalışma sonucunda propolisin bizim çalışmamızın sonucundan farklı olarak sitotoksik etki göstermediğini bildirilmişlerdir. Bu farklılığın nedeninin çalışma maddesi sitotoksikiteyi değerlendirmede enzimatik assay testinin kullanılmasının, ayrıca uygulanan hücre tipi, uygulanan konsantrasyon ve uygulama süresinin çalışmamızdan farklı olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Grenho ve ark. (257) 3T3-L1 fare fibroblast hücreleri üzerinde %25'lik Brezilya propolisinin sitotoksik etkilerini MTT test yöntemi ile 1, 3. ve 7 günde değerlendirmişlerdir. Üçzaman diliminde de hücre canlılığında anlamlı bir fark olmayıp propolisin sitotoksik etki göstermediğini bildirmişlerdir. Sönmez ve ark.

(258) human gingival fibroblast hücrelerinde %10'luk propolisin gösterdiği sitotoksik etkiyi 4 saat sonrasında MTT test yöntemi ile değerlendirip aynı şekilde çalışmamızın sonucunda propolisin sitotoksik bulmamışlardır. Çalışmamızın sonucundan bu iki çalışmanın sonucunun farklı olmasının nedeninin, MTT ve XTT test yöntemlerinin hassasiyet farklılığından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Tyszka-Czochara ve ark. (259) cilt fibroblast hücreleri üzerinde %0.01'lik propolisin sitotoksik etkisini 24 saat sonrasında MTT test yöntemi kullanarak değerlendirmişlerdir. Çalışmaları sonrasında propolisin uygulanan konsantrasyonda sitotoksik etki göstermediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda uygulanan propolis konsantrasyonunun bizim çalışmamızda uygulanan konsantrasyondan oldukça düşük olmasından dolayı çalışmamızın sonucunun farklı olduğunu düşünmekteyiz.

Ayrıca belirtilen bu çalışmaların sonucunun, bizim yaptığımız çalışmanın sonucundan farklılık göstermesinde farklı yörelere ait propolislerin içerik ve etki olarak da farklılık göstermesinden kaynaklandığını da düşünmekteyiz.

Propolisin, çalışmamızda kullanılan NaOCl solüsyonuna göre daha düşük sitotoksikiteye sahip olmasında ise içeriğinde yer alan flavanoidler ile kafeik asit esterlerinin önemli bir rolünün olduğunu düşünmekteyiz. Propoliste bulunan bu iki bileşen antioksidan mekanizmasından ve immunomodulator mekanizmasından sorumlu en önemli kilit maddelerdir (260, 261). Ayrıca içeriğinde yer alan hidroksisinnamik asit, ferulik asit, ellajik asit, kuersetin, tokoferol gibi diğer

bileş enlerin sağladığı diğer faydalı biyolojik etkilerin propolisin daha az toksik etki göstermesini sağladığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda değerlendirilen bir diğer etki olan genotoksisite ile ilgili propolis üzerine yapılmış çeşitli çalışmalarda ise farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Ali Yazıcıoğlu ve ark. (262) %25, %50 ve %75 konsantrasyonda Türk propolisinin genotoksisitesini dermal fibroblast hücre hatları üzerinde comet assay test yöntemi kullanarak değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında H₂O₂ tarafından indüklenen genotoksisiteyi propolisin azalttığı belirtilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda yaptığımız çalışmanın sonucu ile uyumlu olarak propolis genotoksik etki göstermemiştir. Bunda daha öncede belirttiğimiz gibi aynı yörelere ait propolisin kullanılmasının büyük etkisi olduğunu düşünmekteyiz.

Fu ve ark. (263) fare ilik hücre hattı üzerinde %20'lik propolisin genotoksik etkisine Ames test yöntemi ile bakmışlardır. Çalışmalarında, bizim çalışmamızla uyumlu olarak propolisin genotoksik etkisinin olmadığını belirtmişlerdir.

Montoro ve ark. (264) 48 saat süresince, insana ait lenfosit hücre hattı üzerine %10 konsantrasyona sahip propolis uygulamasının ardından giemsa boyama tekniği ile genotoksisiteyi değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında propolisin genotoksik etkinliğinin olmadığı belirtilmiştir. Santos ve ark.(265) yaptıkları çalışmada fare over hücre hattı üzerinde gama ışını uygulanarak hasar meydana getirmişlerdir. Ardından hücrelere 24 saat süresince %5 konsantrasyona sahip propolis uygulamışlardır. Çalışmada genotoksisiteyi belirlemek için mikronükleus test yöntemi kullanılmıştır. Çalışmalarında propolisin DNA hasarını azaltarak genotoksisiteyi de azalttığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızın sonucunda ise human gingival hücre hattı üzerinde 8-OHdG test yöntemi ile değerlendirilen propolis kontrol grubu ile eşdeğer bir sonuç vererek genotoksik hasar oluşturmamıştır. Yine çalışmamız kapsamında değerlendirilen human osteoblast hücre hattı üzerinde de propolisin genotoksik etkisinin olmadığı sonucunu elde ettik. Yaptığımız çalışmanın sonuçlarının yukarıda sunduğumuz benzer içerikli çalışmaların sonuçları ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Yaptığımız bu çalışmada değerlendirilen bir diğer irrigasyon solüsyonu olan kitosan ise genellikle yengeç karides, midye gibi bazı deniz kabuklularının ve çirke, örümcek gibi bazı böceklerin kabuklarında yer alan kitinin deasetilasyonu ile elde edilen, doğada yaygın olarak bulunan bir biyopolimerdir (266).

Diş hekimliğinde periradiküler cerrahide hemostatik ajan (267), endodontide ş elasyon ajanı (268), dolgu materyali (269), periodontal doku rejenerasyonu (270), kanal içerisindeki kalsiyum hidroksitin uzaktaşı tırması (271), bond ajanı (272) gibi birçok alanda kullanılmış tır.

Yapılan birçok çalışmada kitosanın çeşitli hücre ve dokular üzerindeki sitotoksitesini değerlendirilmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiş tır.

Jena ve ark. (273) insana ait makrofaj hücre hattına gümüş nano partikülü ile kaplı kitosan uygulamasından 24 saat sonra sitotoksitesini MTT test yöntemi kullanarak değerlendirmiş tır. Çalışmada kitosanın bakterisidal dozda sitotoksitesini indüklediği belirtilmiş tır. Bizim yaptığımız bu çalışmanın sonucunda ise kitosan her iki hücre hattında da kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha sitotoksik bulunmuş tur. Bu iki çalışmada sonucunda ki farklılığın nedeninin kullanılan hücre hattı ve test yöntemi olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca bu çalışmada çalışmamızdan farklı olarak kitosan ile birlikte gümüş nano partikül içeriğinin kullanılmasının kitosanın toksisitesini azalttığını düşünmekteyiz. Kitosanın çalışmamızda sitotoksik etki göstermesinde kitosanı solüsyon haline getirmekte kullandığımız asetik asidin etkisinin de olduğunu düşünmekteyiz (274).

Çalışmamızda değerlendirilen bir diğer etki olan genotoksitesine ilgili kitosan üzerine yapılmış çalışmalarda çeşitli sonuçlar bildirilmiş tır.

Fernandes ve ark. (275) insan lenfosit hücre hattı üzerinde kitosanın genotoksitesine bakmışlardır. Çalışmada sonucunda 0.07mg/mL ve daha düşük dozlarda kitosanın genotoksik etkisinin olmadığı belirtilmiş tır.

Hu ve ark. (276) kitosanı greft modellerle kombine ederek genotoksitesine Ames test yöntemi kullanılarak bakmışlardır. Çalışmada kitosanın

genotoksisite oluş turmadığı belirtilmiş tir. Bizim çalış mamızın sonucunda ise human gingival hücre hattı üzerinde 8-OHdG test yöntemi ile değerlendirilen kitosan kontrol grubuna ve diğer solüsyonlara göre değerlendirildiğinde en iyi etkiyi göstermiş olup Ç antigenotoksik etkili bulunmuş tur. Yine çalış mamız kapsamında değerlendirilen human osteoblast hücre hattı üzerinde de propolisin genotoksik etkisinin olmadığı sonucunu elde ettik. Çalış mamızda elde edilen bu sonuçların yukarıda belirtilen çalış maların sonuçları ile uyumlu olduğunu düşünmekteyiz.

Çalış mamız dahilinde değerlendirilen bir diğer materyal olan humik asit organik bileş iklere ayrış ması ile oluş an doğal bir materyaldir. Humik asit ile ilgili bu yaygın tanıma rağmen humik asitin biyolojik etkileri bu konuda yapılan çalış maların sınırlı olması nedeniyle tartış malıdır (112).

Humik asit medikal birçok alanda kullanılmaktadır fakat diş hekimliği alanında kullanımı üzerine yaptığımız literatür çalış masında sınırlı sayıda çalış maya rastlanmıştır.

Çalış ır ve ark. (277) ratlar üzerinde oluş turulan periodontitis üzerine humik asitin etkisini incelemiş lerdir. Çalış ma sonrasında humik asit uygulanan gruptaki alveolar kemik kaybı ve inflamasyon kontrol grubuna göre anlamlı dercede daha düşük bulunmuş tur.

Humik asidin sitotoksisitesi üzerine yapılan çeş itli çalış malarda ise farklı sonuçlar bildirilmiş tir.

Kihara ve ark. (278) human vasküler endotel hücre hattında humik asitin sitotoksik etkisini değerlendirmiş lerdir. Çalış maları sonucunda humik asidin uzun dönemde bu hücreler üzerinde sitotoksik etki gösterdiğini ve buna bağlı kronik vasküler hastalığa neden olabileceğini belirtmiş lerdir. Yaptığımız bu çalış manın sonucunda ise bu çalış ma ile uyumlu olarak humik asitin kontrol grubundan daha sitotoksik olduğu bulunmuş tur. Ayrıca 4.saat uygulamasında sitotoksisitesi NaOCl'den daha düşük bulunurken 24. saat ölçümünde sitotoksisite açısından NaOCl ile arasında fark bulunmamıştır.

Hseu ve ark. (279) humik asidin eritrosit hücre hattında üzerine sitotoksik etki ettiğini ve endemik bir rahatsızlık olan blackfoot hastalığında predispozan faktör olduğunu bildirmiş tir. Yaptığımız çalışmanın sonucu bu çalışmanın sonucu ile örtüşmektedir.

Çalışmamızda değerlendirilen bir diğer etki olan genotoksisite ile ilgili humik asit üzerine yapılmış çalışmalarda çeşitli sonuçlar bildirilmiştir tir.

Cheng ve ark. (118) bu hastalık kapsamında human primer fibroblast hücre hattında humik asidin etkisini incelemiştirlerdir. Çalışmaları sonucunda humik asidin oksidatif hasara bağlı olarak genotoksisite oluşturduğu, fibroblast hücrelerinin büyümesini ve canlılığını olumsuz etkilediği bildirilmiştir tir.

Bizim çalışmamızın sonucunda ise human gingival hücre hattı üzerinde 8-OHdG test yöntemi ile değerlendirilen humik asit NaOCl'den sonra en genotoksik materyal olarak bulunmuştur. Bu sonucun yukarıda belirtilen çalışmaları ile uyumlu olduğunu düşünmekteyiz.

Yine çalışmamız kapsamında değerlendirilen human osteoblast hücre hattı üzerinde de humik asidin ise genotoksik etkisinin olmadığı sonucunu elde ettik. Bu farklılığın kullanılan farklı hücre hattına bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

İrrigasyon solüsyonu seçiminde etkili olan tek faktör biyouyumluluk değildir. İdeal irrigasyon solüsyonunun biyouyumlu olmasının yanı sıra geniş antibakteriyel etkinliğe ve smear tabakasını kaldırma özelliğine sahip, nekrotik ve vital pulpa dokusunu çözmesi açısından yeterli olması gerekmektedir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlarda irrigasyon solüsyonlarının in vitro test yöntemi üzerinde sitotoksisite ve genotoksisite etkinliği değerlendirilmiştir tir. Ancak bu sonuçlar kullanılan bu maddelerin endodontik tedavideki başarılarını öngörmede tek başlarına yeterli değildir. Bu maddelerin klinik başarıları hakkında daha kapsamlı yorum yapılabilmesi için kök kanal irrigasyon solüsyonlarına karşı dokularda oluşabilecek yanıtların incelendiği in vivo çalışmaları ile uzun süreli kullanım testlerinin sonuçlarının beraber değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Bu nedenlerden dolayı endodontik tedavilerde kullanılmak üzere üretilen yeni maddelerin biyolojik uyumluluğu, güvenli kullanımları ve baş ariya olan etkileri hakkında yargıya varılabilmesi için in vivo hayvan alış malarının sonuğarının oldukça önemli olduğu ve bu alış maların yanında kullanım testleri gibi klinik alış maların sonuğarının da değerlendirildiği alış maların da yapılması gerektiği kanısına varıldı. Bu alış manın ileride yapılacak klinik ve deneysel alış malara temel oluř turabileceğini dűř ünmekteyiz.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Human gingival fibroblast hücrelerinin kullanıldığı XTT deney sonuçlarına göre hem 4 hemde 24 saatlik değerlendirmelerde irrigasyon solüsyonları kontrol grubuna göre daha sitotoksik bulunmuş tur. Ayrıca irrigasyon solüsyonlarının sitotoksosite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiş tir.

XTT sonuçlarına göre human gingival fibroblast hücre hattı üzerine 4 saat süresince uygulanan irrigasyon solüsyonlarına ait absorbands düzey dağılımı değerlendirildiğinde en düşük sitotoksositeyi kitosan gösterirken en yüksek sitotoksositeyi NaOCl göstermiş tir.($p < 0.05$)

XTT sonuçlarına göre human gingival fibroblast hücre hattı üzerine 24 saat süresince uygulanan irrigasyon solüsyonlarına ait absorbands düzey dağılımı değerlendirildiğinde en düşük sitotoksisiyeti humik asit gösterirken en yüksek sitotoksosite yine NaOCl grubunda gözlenmiş tir. ($p < 0.05$)

Human osteoblast hücrelerinin kullanıldığı XTT deney sonuçlarına göre hem 4 hemde 24 saatlik değerlendirmelerde irrigasyon solüsyonları kontrol grubuna göre daha sitotoksik bulunmuş tur. Ayrıca irrigasyon solüsyonlarının sitotoksosite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiş tir. ($p < 0.001$)

XTT sonuçlarına göre human osteoblast hücre hattı üzerine hem 4 saat hemde 24 saat süresince uygulanan irrigasyon solüsyonlarına ait absorbands düzey dağılımı değerlendirildiğinde en düşük sitotoksositeyi propolis gösterirken en yüksek sitotoksositeyi NaOCl göstermiş tir.($p < 0.05$)

Human gingival fibroblast hücrelerinin kullanıldığı 8-OHdG deney sonuçlarına göre değerlendirilen irrigasyon solüsyonlarının genotoksisite değerlendirmesinde irrigasyon solüsyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiş tir. Genotoksisite değerlendirilmesinde en genotoksik materyal NaOCl bulunurken, kitosan kontrol grubundan da daha iyi etki göstererek antigenotoksik bulunmuş tur. ($p < 0.05$)

Human osteoblast hücrelerinin kullanıldığı 8-OHdG deney sonuçlarına göre değerlendirilen irrigasyon solüsyonlarının genotoksisite değerlendirmesinde ise irrigasyon solüsyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiş tir.

Kullandığımız dört farklı irrigasyon solusyonu değişik derecelerde sitotoksisite göstermiş tir. Çalışmamızın sonuçları materyallerin sitotoksisiteleri hakkında fikir verse de konu ile ilgili daha fazla in vitro ve in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil JM. endodontik eradikasyon enstrümantasyon ve irrigasyon solüsyonları ile enfeksiyon. Son Konular, 10(1):77-102,2005.
2. Gu Ls, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley DH, Tay FR. incelemeşi çağdaş irrigant ajitasyon teknikleri ve cihazları. J Endod, 35(6):791-804,2009.
3. Kennedy J, Hussey D. Kök kanal irrigasyonunun antimikrobiyal etkileri ve ilaçtedavisi. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 103(4):560-569,2007.
4. Zehnder M. Kök kanal irrigantları. J Endod, 32(5):389-398,2006.
5. Siqueira JF, Lima KC, Magalhães FA, Lopes HP, de Uzeda M. Mechanical kök kanalındaki bakteri popülasyonunun üçkat azalması enstrümantasyon teknikleri. J Endod, 25(5):332-335,1999.
6. Lambrianidis T, Tosounidou E, Tzoanopoulou M. Bakımın etkisi periapikal ekstrüzyonda apikal ağıklık. J Endod, 27(11):696-698,2001.
7. Becker TD, Woollard G. Endodontik sulama. Gen Dent, 49(3):272,2001.
8. Alaçam T. Endodonti. 1 ed. Ankara: Özyurt Matbaacılık; 2012. 529-588 p.
9. Aş ı SK. Endodonti. 1 ed. İstanbul: Quintessence 2014. 415-436 p.
10. Gu LS, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley DH, Tay FR. incelemeşi çağdaş irrigant ajitasyon teknikleri ve cihazları. J Endod, 35(6):791-804,2009.
11. Abbott PV, Heijkoop PS, Cardaci SC, Hume WR, Heithersay GS. Bir Sem Farklı İ rrigasyon Dizilerinin ve Ultrasonik Etkilerinin İ ncelenmesi. iç Endod J, 24(6):308-316,1991.

12. Zehnder M. Kök kanal irriganlar. J Endod, 32(5):389-398,2006.
13. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Klinik endodontide smear tabakasının etkileri: bir gözden geçirme. Oral Cerrahi Oral Tıp Oral Pathol Oral Radiol Endod, 94(6):658-666,2002.
14. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Diş lerin mikrobiyolojik analizi baş arısız endodontik tedavi ve konservatif tedavinin sonucu tedavi. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 85(1):86-93,1998.
15. Özkan HB. Farklı endodontik irrigasyon materyallerinin tek ve kombine kullanımlarında A E. faecalis'e karşı etkinliklerinin in vitro olarak incelenmesi [Doktora tezi]: Selçuk Üniversitesi 2009.
16. Peters OA, Peters CI, Schonenberger K, Barbakow F. ProTaper döner kök kanal hazırlığı: kanal anatomisinin mikro ile analiz edilen son şekil üzerindeki etkileri CT. İçSon J, 36(2):36-86,2003.
17. Peters O, Schönenberger K, Laib A. Dört Ni - Ti hazırlığının etkileri mikro bilgisayarlı tomografi ile değerlendirilen kök kanal geometrisi üzerine teknikler. İçSon J, 34(3):221-230,2001.
18. Bergmans L, Van Cleynenbreugel J, Wevers M, Lambrechts P.A kullanarak kök kanal enstrümantasyonunun kantitatif değerlendirmesi için metodoloji mikrobilgisayarlı tomografi. İçSon J, 34(5):390-398,2001.
19. Stephen Cohen KMH. The Pulp 9ed'in Yolları: Mosby; 2009.
20. Gulabivala K, Patel B, Evans G, Ng YL. Mekanik ve kimyasal etkiler Kök kanal yüzeylerinde prosedürler. Son Konular, 10(1):103-122,2005.
21. Hapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Endodontide Sulama. Diş Kliniği Kuzey Am, 54(2):291-312,2010.

22. Kimura Y, Wilder-Smith P, Matsumoto K. Endodontide lazerler: bir gözden geçirme. İçSon J, 33(3):173-185,2000.
23. Desai P, Himel V. Çeşitli Kanal İş Süzamanın Karşılaşılmalı Güvenliği Sistemler. J Endod, 35(4):545-549,2009.
24. Virtej A, MacKenzie CR, Raab WHM, Pfeffer K, Barthel CR. Kararlılık Yerinde tedaviden sonra çeşitli kök kanal dezenfeksiyon yöntemlerinin performansının taşınma. J Endod, 33(8):926-929,2007.
25. Rodos SJ. Gelişmiş Endodonti 1ed: Taylor & Francis Group; 2006.
26. Zehnder M, Kosicki D, Luder H, Şener B, Waltimo T. Doku eritme tamponlanmış ve tamponlanmamış hipokloritin kapasitesi ve antibakteriyel etkisi çözümler. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 94(6):756-762,2002.
27. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza FJ. Çeşitli sodyum konsantrasyonlarının in vitro antimikrobiyal aktivitesi Enterococcus'un eliminasyonunda hipoklorit ve klorheksidin glukonat dışındaki. İçSon J, 34(6):424-428,2001.
28. Frai S, Ng YL, Gulabivala K. Konsantrasyonu etkileyen bazı faktörler ticari sodyum hipoklorit kaynaklarında bulunan klor. İçUç J, 34(3):206-215,2001.
29. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spano JC, Marchesan MA, Pecora JD. Sodyum hipokloritin etki mekanizması. Braz Dent J, 13(2):113-117,2002.
30. Alaçam T. Pulpa ve Periapikal Dokuların Biyolojisi. Ankara: Barış Yayınları; 2000. 17-44 s.
31. Clarkson RM, Moule AJ. Sodyum hipoklorit ve endodontik olarak kullanımı irrigant Aust Dent J, 43(4):250-256,1998.

32. Rossi-Fedele G, Guastalli AR, Doğramaci EJ, Steier L, De Figueiredo JA. Klor içeren endodontik irrigasyonda pH değış ikliklerinin etkisi çözümler. İçSon J, 44(9):792-799,2011.
33. Pashley EL, Birdsong NL, Bowman K, Pashley DH. Sitotoksik etkileri Hayati dokuda NaOCl. J Endod, 11(12):525-528,1985.
34. Soğur HD. Farklı kök kanal yıkama solüsyonlarını antimikrobiyal etkinliklerinin karşı ılaş tırmalı olarak incelenmesi. İzmir: Ege Üniversitesi; 2007.
35. Crincoli V, Scivetti M, Di Bisceglie MB, Pilolli GP, Favia G. Olağandış ı vaka endodontik tedavi sırasında sodyum hipoklorit kullanımına bağı adwers reaksiyon tedavi: olgu sunumu. Quintessence Int, 39(2):e70-73,2008.
36. Kaufman AY, Keila S. Sodyum hipoklorite karşı ılaş ır duyarlılık. J Endod, 15(5):224-226,1989.
37. Pelka M, Petschelt A. Kalıcı mimik kas yapısı ve sinir hasarı Sodyum hipokloritin neden olduğu: Olgu sunumu. Oral Cerrahi Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 106(3):e80-e83,2008.
38. Behrents K, Speer M, Noujeim M. Sodyum hipoklorit kazası ile konik ış ınlı bilgisayarlı tomografi ile değerlendirme. İçSon J, 45(5):492-498,2012.
39. Boutsoukis C, Psimma Z, Sluis vdL. İrrigant ekstrüzyonunu etkileyen faktörler kök kanal irrigasyonu sırasında: sistematik bir inceleme. İçSon J, 46(7):599-618,2013.
40. Paschoalino MA, Hanan A, Marques A, Garcia LF, Garrido A, Sponchiado Jr. E. Apikal foramenin ötesine sodyum hipoklorit enjeksiyonu - bir vaka raporu. Gen Dent, 60(1):16-19,2011.

41. Psimma Z, Boutsoukios C, Kastrinakis E, Vasiliadis L. İğnenin etkisi
ex vivo irrigant ekstrüzyonunda yerleş tirme derinliği ve kök kanal eğriliği. J
Bitiş , 39(4):521-524, 2013.
42. Kaufman AY. Hidrojen peroksit irrigasyonunun neden olduğu yüz amfizemi:
bir vakanın raporu. J Endod, 7(10):470-472,1981.
43. Kim M, Kim J, Lim S. Sırasında Kazayla Sodyum Hipoklorit Ekstrüzyonu
Süt Diş inde Endodontik Tedavi. J Korean Acad Pediatr Dent,
42(3):264-269,2015.
44. Hulsmann M, Hahn W. Kök kanal irrigasyonu sırasındaki komplikasyonlar -- literatür
inceleme ve vaka raporları. İçSon J, 33(3):186-193,2000.
45. Yaş ar S. Değiş ik kompozisyon ve konsantrasyonlardaki sodyum hipoklorit
solüsyonlarının farklı kök kanal dolgularının sızdırmazlıklarına etkisi
[Doktora]. Ankara: Gülhane Askeri Tıp Akademisi 2010.
46. Türkün M, Cengiz T. Sodyum hipoklorit ve kalsiyumun etkileri
doku çözünmesi ve kök kanal temizliği üzerine hidrokisit. İçUçJ,
30(5):335-342,1997.
47. Hülsmann M, Hahn W. Kök kanal irrigasyonu sırasındaki komplikasyonlar – literatür
inceleme ve vaka raporları. İçSon J, 33(3):186-193,2000.
48. Park M, Pang NS, Jung IY. Dentin tedavisinin proliferasyon ve
insan diş özü kök hücrelerinin farklılaş ması. Dent Endod'u Geri Yükle
40(4):290-298,2015.
49. Kandaswamy D, Venkateshbabu N. Kök kanalı irrigantları. J Koruyucu Dent,
13(4):256-264,2010.
50. Eddy RS, Joyce AP, Roberts S, Buxton TB, Liewehr F. Bir in vitro değerlendirme
Klor dioksinin sıgırlarda E. faecalis üzerindeki antibakteriyel etkinliğinin araş tırılması
kesici diş ler J Endod, 31(9):672-675,2005.

51. Çobankara FK, Özkan HB, Terlemez A. Organik doku karşılaştırması sodyum hipoklorit ve klor dioksitin çözünme kapasiteleri. J Endod, 36(2):272-274,2010.
52. Hulsmann M, Heckendorff M, Lennon A. Kök kanalında şelatlayıcı ajanlar tedavi: etki spektri ve kullanımları için endikasyonlar. İçUçJ, 36(12):810-830,2003.
53. Serper A, Calt S. EDTA'nın farklı demineralize edici etkileri konsantrasyonlar ve pH. J Endod, 28(7):501-502,2002.
54. Violich DR, Chandler NP. Endodontide smear tabakası - gözden geçirme. İçUçJ, 43(1):2-15,2010.
55. Aktener BO, Bilkay U. Farklı konsantrasyonlarda smear tabakası temizliği EDTA-etilendiamin karışımları. J Endod, 19(5):228-231,1993.
56. Zehnder M, Schmidlin P, Şener B, Waltimo T. Kök kanalında şelatasyon tedavi tekrar gözden geçirildi. J Endod, 31(11):817-820,2005.
57. Eldeniz AU, Erdemir A, Belli S. EDTA ve sitrik asit solüsyonlarının insan kök kanal dentininin mikrosertliği ve pürüzlülüğü. J Endod, 31(2):107-110,2005.
- [PubMed] 58. Davies GE, Francis J, Martin AR, Rose FL, Swain G. 1:6-Di-4'-1. klorofenildiguanidoheksan (hibitan); yeni bir laboratuvar araştırması yüksek etkili antibakteriyel ajan. Br J Pharmacol Chemother, 9(2):192-196,1954.
59. Russel AD. Bakteriyel sporlar ve kimyasal spor öldürücü ajanlar. Klinik Mikrobiyoloji Rev, 3(2):99-119,1990.
60. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho JB, Ben Johnson W, Bozhilov K, Kim J, Shabahang S. Smear tabakasının çıkarılması için yeni bir çözüm. J Endod, 29(3):170-175, 2003.

61. Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland LK, Shabahang S. Etki çş itli konsantrasyonlarda sodyum hipokloritin MTAD'ın smear tabakasını çkarın. J Endod, 29(4):233-239,2003.
- [PMC ücretsiz makale] [PubMed] 62. Haznedaroğlu F, Ersev H. Kök kanal irrigatörü olarak tetrasiklin HCl solüsyonu. J Endod, 27(12):738-740, 2001.
63. Giardino L, Ambu E, Becce C, Rimondini L, Morra M. Yüzey gerilimi dört yaygın kök kanal irrigasyonu ile iki yeni irriganın karşı ılaş tırılması antibiyotik içerir. J Endod, 32(11):1091-1093,2006.
64. Solovyeva AM, Dummer PM. Kök kanal irrigasyonunun temizleme etkinliği elektrokimyasal olarak aktifleş tirilmiş anolit ve katolit solüsyonları ile: bir pilot ders çalış ma. İçSon J, 33(6):494-504,2000.
65. El Karim I, Kennedy J, Hussey D. Kök kanalının antimikrobiyal etkileri sulama ve ilaç Oral Cerrahi Oral Med Oral Patol Oral Radyol Bitiş , 103(4):560-569, 2007.
66. Bocci V. Ozon tedavisi hücrel redoks dengesini normalleş tirir mi? İnsan immün yetmezlik virüsü enfeksiyonunun tedavisi için çkarımlar ve diğer birkaç hastalık. Med Hipotezleri, 46(2):150-154,1996.
67. Guinesi AS, Andolfatto C, Bonetti Filho I, Cardoso AA, Passaretti Filho J, FaraçRV. Ozonlanmış yağlar: kalitatif ve kantitatif bir analiz. Braz Dent J, 22(1):37-40,2011.
68. Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Endodontik irriganın Enterococcus faecalis'e karşı ı karşı ılaş tırmalı değerlendirmesi biyofilmler. J Endod, 32(6):527-531,2006.
69. Eddy RS, Joyce AP, Roberts S, Buxton TB, Liewebr F. Bir in vitro değerlendirme sığırlarda E-faecalis üzerinde klor dioksitin antibakteriyel etkinliğinin araş tırılması kesici diş ler J Endod, 31(9):672-675,2005.

- [PubMed] 70. Murray PE, Farber RM, Namerow KN, Kuttler S, Garcia-Godoy F. Morinda citrifolia'nın endodontik irrigant olarak değerlendirilmesi. *J End*, 34(1):66-70,2008.
71. Singh DK, Ray AR. Kitin, kitosan ve bunların biyomedikal uygulamaları türümler. *J Macromol Sci Rev Macromol Chem Phys*, C40(1):69-83,2000.
72. Demir A, Seventekin N. Kitin, Kitosan ve Genel Uygulama Alanları. *Tekstil Teknolojileri Dergisi*, 3(2) 92-103 2009.
73. Bostan K, Aldemir T, Aydın A. Kitosan ve antimikrobiyal aktivitesi. *Türk Mikrobiyol Cemiyeti Dergisi*, 37(2):118-127 2007.
74. Choi BK, Kim KY, Yoo YJ, Oh SJ, Choi JH, Kim CY. In vitro antimikrobiyal *Actinobacillus*'a karşı bir kitooligosakkarit karışımının aktivitesi *actinomyces* *comitans* ve *Streptococcus mutans*. *Int J Antimikrob Ajanları*, 18(6):553-557,2001.
75. No HK, Kim SH, Lee SH, Park NY, Prinyawiwatkul W. Stabilite ve depolama sıcaklığından etkilenen kitosan çözeltilerinin antibakteriyel aktivitesi ve zaman. *Karbohidr Polym*, 65(2):174-178,2006.
76. Köide SS. Kitin-kitosan: Özellikleri, yararları ve riskleri. *Beslenme Araştırması*, 18(6):1091-1101,1998.
77. Güvercin M, Gönül O, Salih İ, Göker K. Denizden Gelen Sağlık: Kitozan. *Akad Dent Bu Hekim Derg*, 6:1-5, 2004.
78. Gholipour-Kanani A, Bahrami SH, Rabbani S. Yeni karışımın etkisi diyabetik yaraların iyileşmesinde nanolifli yapı iskeleleri. *IET Nanobiyoteknoloji*, 10(1):1-7,2016.
79. Patrulea V, Ostafe V, Borchard G, Jordan O. Başlangıçmalzemesi olarak kitosan yara iyileştirme uygulamaları için. *Eur J Pharm Biopharm*, 97:417-426,2015.

80. Liu SH, Cai FY, Ç an MT. Kitosan İyileş tiricilerin Uzun Süreli Beslenmesi Yüksek Fruktoz Diyetiyle Bozulmuş Sıçan Modelinde Glikoz ve Lipid Metabolizması Glikoz Toleransı. *Mar Drugs*, 13(12):7302-7313,2015.
81. da Silva SB, Ferreira D, Pintado M, Sarmento B. Chitosan bazlı rosmarinik asit oküler iletimi için nanopartiküller - In vitro testler. *Uluslararası J Biol Macromol*, 84:112-120,2016.
82. Petrovich I, Grigor'iants L, Gurin A, Gurin N. [Kitosan: yapı, özellikleri, tıpta ve stomatolojide kullanımı]. *Stomatoloji*, 87(4):72-77,2007.
83. Galler K, D'souza R, Hartgerink J, Schmalz G. Diş özü için iskeleler doku mühendisliği. *Adv Dent Res*, 23(3):333-339,2011.
84. van der Mei HC, Engels E, de Vries J, Dijkstra RJ, Busscher HJ. kitosan tükürük zarlarına adsorpsiyon. *Eur J Oral Sci*, 115(4):303-307,2007.
85. Tarsi R, Muzzarelli RA, Guzman CA, Pruzzo C. Streptococcus İnhibisyonu düş ük moleküler ağırlıklı kitosanlar tarafından hidroksiapatite mutans adsorpsiyonu. *J Dent Res*, 76(2):665-672,1997.
86. Khan G, Yadav SK, Patel RR, Nath G, Bansal M, Mishra B. Geliş tirme ve Biyobozunur Metronidazol Kitosan Filmlerinin Değerlendirilmesi ve Periodontitis Tedavisinde Levofloksasin. *AAPS PharmSciTech*:1-14,2015.
87. Arancibia R, Maturana C, Silva D, Tobar N, Tapia C, Salazar J, Martinez J, Smith P. Kitosan partiküllerinin periodontal patojenler ve diş eti üzerindeki etkileri fibroblastlar. *J Dent Res*, 92(8):740-745,2013.
88. Pimenta JA, Zapparoli D, Pecora JD, Cruz-Filho AM. Kitosan: a etkisi kök dentinin mikrosertliği üzerinde yeni ş elatlama ajanı. *Braz Dent J*, 23(3):212-217,2012.

89. Silva PV, Guedes DFC, Pécora JD, Cruz-Filho AMd. Zamana bağlı etkiler Dentin yapılarında kitosan. Braz Dent J, 23(4):357-361,2012.
90. Pimenta JA, Zaparolli D, Pécora JD, Cruz-Filho AM. Kitosan: a etkisi kök dentinin mikrosertliği üzerinde yeni ř elatlama ajanı. Braz Dent J, 23(3):212-217,2012.
91. Silva P, Guedes D, Nakadi F, Pecora J, Cruz-Filho A. Chitosan: yeni Kök kanal enstrümantasyonundan sonra smear tabakasının ękarılması için çözüm. iç Son J, 46(4):332-338,2013.
92. Muzzarelli R, Biagini G, Pugnaroni A, Filippini O, Baldassarre V, Castaldini C, Rizzoli C. Parodontal dokunun kitosan ile rekonstrüksiyonu. Biyomalzemeler, 10(9):598-603,1989.
93. Aoyagi S, Onishi H, Machida Y. Yeni kitosan yara örtüsü yüklü ciddi yanık yaralarının tedavisi için minosiklin. Int J Eczanesi, 330(1):138-145,2007.
94. Lee YM, Park YJ, Lee SJ, Ku Y, Han SB, Klokkevold PR, Choi SM, Chung CP. Chitosan/tricalcium kullanarak doku mühendisliği ile kemik oluş umu fosfat süngerleri. J Periodontol, 71(3):410-417,2000.
95. Liu L, Lv Q, Zhang Q, Zhu H, Liu W, Deng G, Wu Y, Shi C, Li H, Li L. Karboksimetil Kitosan Mikrokürelerinin Hazırlanması ve Uygulanması Hemostazda. Afet Med Halk Sağlığı Hazırlık:1-8,2015.
96. Lan G, Lu B, Wang T, Wang L, Chen J, Yu K, Liu J, Dai F, Wu D. Kitosan/jelatin kompozit sünger emilebilir bir cerrahi hemostatiktir. ajan. Colloids Surf B Biointerfaces, 136:1026-1034,2015.
97. Bankova V, Popova M, Bogdanov S, Sabatini AG. kimyasal bileş imi Avrupa propolisi: beklenen ve beklenmeyen sonuçlar. Z Naturforsch C, 57(5-6):530-533,2002.

98. Castaldo S, Capasso F. Modern tıpta kullanılan eski bir ilaç olan propolis. *Fitoterapi*, 73 Ek 1:S1-6,2002.
99. Arslan S. Çürük Gelişimi Üzerine Türk Propolisinin İn vitro ve İn vivo Etkisinin İncelenmesi. Kayseri: Erciyes Üniversitesi; 2009.
100. Hosea S, Pascual-Mate A, Fernandez-Muiño M, Lopez-Diaz T, Sancho M. 1999; Propolisli balın biyoaktif özellikleri. *Gıda Kimyası*, 196:1215-1223,2016.
101. Veloz JJ, Saavedra N, Lillo A, Alvear M, Barrientos L, Salazar LA. Şili Propolisinin Streptococcus mutans Üzerindeki Antibiyofilm Etkinliği Koleksiyon Yılından etkilenmiş tir. *Biomed Res Int* 2015,2015.
102. Özcan M, Ceylan D, Ünver A, Yetişir R. Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden sağlanan polen ve propolis ekstraktlarının antifungal etkisi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 2003(3),2003.
103. Gülçelik NE, Dilara Zeybek F. Antitumor activity of propolis on farklılaşmış kanser hücre hatları. *Tıp Bilimi*, 1(4),2012.
104. Şener K, Şahinler N. Propolis Ekstraktının Bitki Patojeni Funguslara Karşı Antifungal Aktivitesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 2003(3),2003.
105. Duarte S, Koo H, Bowen WH, Hayacibara MF, Cury JA, Ikegaki M, Rosalen. PL. Yeni bir propolis türü ve kimyasal fraksiyonlarının glukoziltransferazlar ve mutans streptokokların büyümesi ve yapışması üzerine. *Biol Pharm Bull*, 26(4):527-531,2003.
106. Schkenderoff S. Arı Ürünleri Kitabı. Sofya1983.
107. Saral Ö. Apiterapik Arı Ürünlerinin (Bal, Polen, Propolis Ve Arı Sütü) Biyoaktif Özellikleri Ve Karaciğer Hasarını Önlemedeki Rollerini Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi; 2013.

108. Almas K, Mahmoud A, Dahlan A. Propolis ve salin karş ılaş tırmalı bir alış ma İnsan dentini üzerine uygulama. Bir SEM alış ması. Indian J Dent Res, 12(1):21-27,2001.
109. Moradi S, Saghravanian N, Moushekhian S, Fatemi S, Forghani M. Fibronektin ve Tenascin Takibinin İmmünohistokimyasal Değerlendirilmesi Mineral Trioksit Agregası, Trombosit Açısından Zengin Plazma ile Doğrudan Pulpa Kapatma ve Köpeklerin Diş lerinde Propolis. İnan Endod J, 10(3):188,2015.
- [PMC ücretsiz makale] [PubMed] 110. Kayaoğlu G, Ömürlü H, Ak G, Gürel M, Gencay Ö, Sorkun K, Salih B. Geleneksel endodontiye karş ı Propolis'in antibakteriyel aktivitesi enfekte dentin tübüllerinde Enterococcus faecalis'e karş ı dezenfektanlar. J Bitiş , 37(3):376-381, 2011.
111. Toker H, Ozan F, Ozdemir H, Deger H. Dentin hassasiyetinin tedavisinde propolisin etkisi. Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 25(3):1-7,2008.
112. Vetricka V, Baigorri R, Zamarreño AM, Garcia-Mina JM, Yvin JC. glukan ve humik asit: Bağış ıklık sistemi üzerinde sinerjik etkiler. J Med Gıda 13(4):863-869,2010.
113. Vengerovskii AI, Golovina EL, Burkova VN, Saratikov AS. enterik sorbentler deneysel toksik hepatitte eplir'in hepatoprotektif etkisini güğendirir. Eksp Klin Farmakol, 64(1):46-48, 2001.
114. Tan KH. Toprak ve  evredeki Hüyük Madde. New York2003. p. 1-50.
115. Van Rensburg C, Van Straten A, Dekker J. oksifulvik asidin antimikrobiyal aktivitesi. J Antimikrob Kemoterapi, 46(5):853-854.2000.
116. Zhang H, Feng J, Zhu W, Liu C, Gu J. Cerium-humic'in bakteriyostatik etkileri asit kompleksi. Biol İz Elem Res 73(1):29-36,2000.

117. Onuryüz Ş , Z., Güler A. Humik maddelerin kullanım alanı ve sektörde giriş imcilik. SAÜ Fen Edebiyat Dergisi 1:345-350,2012.
- [PMC ücretsiz makale] [PubMed] 118. Cheng ML, Ho HY, Huang YW, Lu FJ, Chiu DT-Y. hüyük asit indükler insan primerinde oksidatif DNA hasarı, büyüme geriliği ve apoptoz fibroblastlar. Exp Biol Med 228(4):413-423,2003.
119. van Rensburg CE, Dekker J, Weis R, Smith TL, Janse van Rensburg E, Schneider J. Oksihumatın anti-HIV özelliklerinin araş tırılması. Kemoterapi, 48(3):138-143,2002.
120. Joone GK, van Rensburg CE. Anti'nin in vitro araş tırılması Potasyum humatın inflamatuvar özellikleri. Enflamasyon, 28(3):169-174,2004.
121. Joone GK, Dekker J, Jansen van Rensburg CE. soruş turma oksihumatın immün sistemi uyarıcı özellikleri. Z Naturforsch C 58(3-4):263-267,2003.
122. Edgerton M, Levine MJ. Biyouyumluluk: protezdeki geleceği Araş tırma. J Protez Dent, 69(4):406-415,1993.
123. Vataha JC. Dental döküm alaş ımlarının biyouyumluluğu: bir inceleme. J Protez Dent, 83(2):223-234,2000.
- [PubMed] 124. Sideridou Kimliği, Achilles DS. Reaksiyona girmemiş Bis-GMA, TEGDMA'nın elüsyon çalı ş ması, İş ıkla sertleş en diş reş nelerinden ve reş ne kompozitlerinden UDMA ve Bis-EMA HPLC kullanarak. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 74(1):617-626,2005.
125. Kömürçüoğlu E, Ölmez S, Vural N. Rezidüel monomerin değerlendirilmesi Üç farklı fissür örtücüde in vitro eliminasyon yöntemleri. J Oral Rehabilitasyon, 32(2):116-121,2005.
126. Vataha JC. Diş hekimleri için biyouyumluluk ilkeleri. J Protez Dent, 86(2):203-209,2001.

127. Testere TY, Cao T, Yap AU, Lee Ng MM. Diş dilimi organ kültürü ve dental sitotoksitesite değerlendirme için yerleşik hücre hattı kültür modelleri malzemeler. *Toxicol In Vitro*, 19(1):145-154,2005.
- [PubMed] 128. Cohen BI, Pagnillo MK, Musicant BL, Deutsch AS. Bir in vitro çalışmada iki kök kanal patının sitotoksitesitesi. *J Endod*, 26(4):228-229,2000.
129. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. İn vitro biyoyumluluk modelleri: bir gözden geçirme. *Dent Mater*, 12(3):186-193,1996.
130. Schmalz G, Arenholt-Bindslev D. Diş Malzemelerinin Biyoyumluluğu. 1 baskı Berlin-Heidelberg Almanya: Springer; 2009. 99-137 s.
131. Schmalz G. Dental restoratifin biyoyumluluk testindeki kavramlar malzemeler. *Clin Oral Investig*, 1(4):154-162,1997.
132. Vataha JC. Diş hekimleri için biyoyumluluk ilkeleri. *J Protez Dent* 86(2):203-209,2001.
133. Browne RM. Dental materyallerin sitotoksitesitesinin in vitro değerlendirme-- bir rolü var mı? *Int Endod J*, 21(2):50-58,1988.
134. Vataha JC. Diş Malzemelerinin Biyoyumluluğu: Elsevier Science; 2003.
135. Cenni E, Ciapetti G, Granchi D, Arciola CR, Savarino L, Stea S, Montanaro L, Pizzoferrato A. Test sırasında yerleşik hücre dizileri ve birincil kültürler tıbbi cihazlar in vitro. *Toksikol İn Vitro*, 13(4-5):801-810,1999.
136. Hensten-Petersen A. Değerlendirme için mevcut yöntemlerin karşılaştırılması sitotoksitesite. *Int Endod J*, 21(2):89-99,1988.
137. Şenel S, McClure SJ. Kitosanın veterinerlikte potansiyel uygulamaları ilaç *Adv Drug Deliv Rev*, 56(10):1467-1480,2004.

138. Murray PE, Garcia Godoy C, Garcia Godoy F. How is biocompatibility of dental biomaterials being evaluated? Med Oral Patol Oral Surg Maxillofac Surg, 12(3):E258-266,2007.
139. Geurtsen W, Leyhausen G. Kök kanal dolgu malzemelerinin biyolojik yönleri-- doku uyumluluğu, sitotoksikite ve mutajenite. Klinik Oral Araştırma, 1(1):5-11,1997.
140. Schmalz G. Dental Materyallerin Toksikite Testi İçin Hücre Kültürlerinin Kullanımı Avantajlar ve Sınırlamalar. J Dent 22:S6-S11,1994.
141. M. K. Farklı dentin bağlayıcı ajanların dentin bariyer testi kullanılarak L929 hücreleri üzerine sitotoksikite testlerinin incelenmesi [Doktora Tezi]. Konya: Selçuk Üniversitesi 2007.
142. Gerstner R. Pulpal elementlerin doku kültürleri. Oral Cerrahi Oral Med Oral Pathol, 32(3):473-486,1971.
143. Pollard JW. Temel hücre kültürü. Yöntemler Mol Biol, 75:1-11,1997.
144. Hauman CH, Aşık RM. Kullanılan dental materyallerin biyouyumluluğu açısından endodontik tedavi: bir gözden geçirme. Bölüm 1. Kanal iç ilaçlar ve maddeler. İçişleri, 36(2):75-85,2003.
145. van Wyk CW, Olivier A, Maritz JS. Kültürlenmiş pulpa fibroblastları: bunlar in vitro sitotoksikite testleri için uygun mu? J Oral Pathol Med, 30(3):168-177,2001.
146. Thonemann B, Schmalz G, Hiller KA, Schweikl H. L929'un Yanıtları fare fibroblastları, birincil ve ölümsüzleştirilmiş sığır diş papillasından türetilmiş diş reçine bileşenlerine hücre hatları. Dent Mater, 18(4):318-323,2002.
147. Lovschall H, Eiskjaer M, Arenholt-Bindslev D. Formaldehit sitotoksikite testi üç farklı tahlilde değerlendirilen üç insan hücre tipi. In Vitro Toksikol, 16(1):63-69,2002.

148. Tsaryk R, Kalbacova M, Hempel U, Scharnweber D, Unger RE, Dieter P, Kirkpatrick CJ, Peters K. İnsan endotel hücrelerinin oksidatif tepkisi Ti6Al4V alaşıımı üzerindeki stres. *Biyomateryaller*, 28(5):806-813,2007.
149. Çekiş UG. Doğal mercan ve hidroksiapatitin in vitro olarak rat kemik iliği hücre kültüründe biyouyumluluk ve osteojenik aktivite yönünden araştırılması. Ankara: Hacettepe Üniv; 2001.
150. Zhang W, Torabinejad M, Li Y. Kullanılarak MTAD'nin sitotoksitesinin değerlendirilmesi MTT-tetrazolyum yöntemi. *J Endod*, 29(10):654-657,2003.
151. Spangberg L, Pascon EA. Malzeme Hazırlığının Önemi
Biyomalzemelerin Invitro Değerlendirmesi Sırasında Sito-Toksisitenin İfadesi. *J Endod*, 14(5):247-250, 1988.
152. A. MJ, Davis J. Temel hücre kültürü tekniği ve hücre hatlarının bakımı
JM D, editör. New York: Oxford Üniversitesi Pres; 1998.
153. Malheiros CF, Marques MM, Gavini G. Sitotoksik maddenin in vitro değerlendirilmesi kanal irrigantı olarak kullanılan asit solüsyonlarının etkileri. *J Endod*, 31(10):746-748,2005.
154. Scelza MF, Teixeira AM, Scelza P. EDTA-T'nin kireçgiderme etkisi, %10 sitrik asit ve kök kanal dentininde %17 EDTA. *Oral Cerrahi Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 95(2):234-236,2003.
155. Freshney IR. Hayvan Hücrelerinin Kültürü: Temel Tekniğin El Kitabı. 5 baskı: John Wiley ve Oğlu; 2005.
156. Tuncer S, Demirci M. Dental materyallerde biyouyumluluk değerlendirilmesi. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Der*, 21:141-149,2011.
157. Schwarze T, Fiedler I, Leyhausen G, Geurtsen W. Hücresel uyumluluk Sertleşme süresi boyunca beş endodontik pat. *J Endod*, 28(11):784-786,2002.

158. Weyermann J, Lochmann D, Zimmer A. Kullanımına ilişkin pratik bir not sitotoksosite deneyleri. *Int J Pharm*, 288(2):369-376,2005.
- [PubMed] 159. Ngawongsatit P, Banada PP, Panbangred W, Bhunia AK. WST-1 tabanlı hücre hızlı tespiti için MTT bazlı tahlilin yerine sitotoksosite testi CHO hücre dizisi kullanan toksijenik *Bacillus türleri*. *J Mikrobiyoloji Yöntemleri*, 73(3):211-215,2008.
160. Berridge MV, Herst PM, Tan AS. Hücre biyolojisinde arağar olarak tetrazolium boyları: hücresel azalmalarına ilişkin yeni görüş ler. *Biyoteknoloji Annu Rev*, 11:127-152,2005.
161. Baş aran N. *Tıbbi Genetik*. İstanbul: Güneş & Nobel Kitapevi; 2003.
162. Zorba YO, Yıldız M. Adeziv restoratif materyallerde biyouyumluluk testleri ve kriterleri. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg*, (2):15-21,2007.
163. Zeiger E. Genetik toksisite testinin tarihçesi ve mantığı: kiş isel olmayan ve bazen kiş isel, görünüm. *Environ Mol Mutagen*, 44(5):363-371,2004.
164. ř ekeroğlu ZA, ř ekeroğlu V. Genetik toksisite testleri. *Tübav Bilim Dergisi*, (3):221-229,2011.
165. ř ekeroğlu ZA, ř ekeroğlu V. Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(3):221-229,2011.
166. de Gregory C, Estevez R, Cisneros R, Paranjpe A, Cohenca N. Efficacy Sodyum penetrasyonu üzerine farklı sulama ve aktivasyon sistemleri simüle edilmiş yanal kanallara hipoklorit ve ęalış ma uzunluğuna kadar: bir inç vitro ęalış ma. *J Endod*, 36(7):1216-1221,2010.
167. Gulati N, Chandra S, Aggarwal PK, Jaiswal JN, Singh M. Sitotoksosite öjenol ęınko oksit içeren mühürleyicide. *Endod Dent Traumatol*, 7(4):181-185,1991.
168. Wataha J. *Dental Materyallerin Biyouyumluluğu* 2003.

169. Türkcan İ, Nalbant AD. Dental protetik materyallerin biyolojik uyumluluğu ve test yöntemleri. *Acta Odontologica Turcica*, 33(2),2016.
170. Chaugule VB, Panse AM, Gawali PN. Sodyumun Olumsuz Reaksiyonu Süt Diş lerinin Endodontik Tedavisi Sırasında Hipoklorit. *Int J Clin Pediatr Dent*, 8(2):153, 2015.
171. Alkahtani A, Al Khudhairi TD, Anil S. dinamik ve pasif kök kanalının debridman etkinliği ve apikal ekstrüzyonu sulama sistemleri. *BMC ağız sağlığı*, 14(1):12,2014.
172. Mehdipour O, Kleier DDJ, Averbach DRE, Kleier DJ, Averbach RE. Sodyum hipoklorit kazalarının anatomisi. *Sürekli Eğitimi Tamamlayın*, 5(8):9,2007.
173. Brown DC, Moore BK, Brown CE, Jr., Newton CW. Bir in vitro çalış ma endodontik kanal hazırlığı sırasında sodyum hipokloritin apikal ekstrüzyonu. *J Endod*, 21(12):587-591,1995.
174. Chow TW. Kök kanal irrigasyonunun mekanik etkinliği. *J Endod*, 9(11):475-479,1983.
175. Williams CE, Reid JS, Sharkey SW, Saunders WP. in-vitro ölçümü Süt azı diş lerinde apikalden ekstrüde irrigant. *İçSon J*, 28(4):221-225,1995.
176. Motta M, Chaves-Mendonca M, Stirton C, Cardozo H. Kaza sonucu enjeksiyon sodyum hipoklorit ile: bir olgu sunumu. *İçSon J*, 42(2):175-182,2009.
177. Lam T, Wong O, Tang S. Sodyum hipoklorit kazası vaka raporu. *Hong Kong J Emerg Med*, 17(2):173,2010.
178. Çalış kan MK. Endodontik materyallerin biyoyumluluğu ve kök kanallarının irrigasyon. 2. ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2006.

179. Leonardo MR, da Silva LA, Tanomaru Filho M, Bonifacio KC, Ito IY. İnde kullanılan patların ve macunların antimikrobiyal aktivitelerinin in vitro değerlendirilmesi endodonti. J Endod, 26(7):391-394,2000.
180. Walton RE, Johnson WT. Endodontinin İlkeleri ve Uygulamaları. 2 baskı Philadelphia: 1996.
181. Pinna L, Brackett MG, Lockwood PE, Huffman BP, Mai S, Cotti E, Dettori C, Pashley DH, Tay FR. Kendinden yapış kanlı bir ürünün in vitro sitotoksisite değerlendirmesi, metakrilat reçne bazlı kök kanal patı. J Endod, 34(9):1085-1088,2008.
- [PubMed] 182. Amaral KF, Rogero MM, Fock RA, Borelli P, Gavini G. Sitotoksisite Murin yerleş ik makrofajlarına uygulanan EDTA ve sitrik asit analizi kültür. İçSon J, 40(5):338-343,2007.
183. Chang YC, Huang FM, Tai KW, Chou MY. sodyumun etkisi kültürlenmiş insan periodontal bağ hücreleri üzerinde hipoklorit ve klorheksidin. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 92(4):446-450,2001.
184. Lin CP, Chen YJ, Lee YL, Wang JS, Chang MC, Lan WH, Chang HH, Chao WM, Tai TF, Lee MY, Lin BR, Jeng JH. Kök ucu dolgu malzemelerinin etkileri ve mitokondriyal dehidrogenaz aktivitesi ve sitotoksisite üzerindeki öjenol insan periodontal bağ fibroblastları. J Biomed Mater Res B Uygulaması Biomater, 71(2):429-440,2004.
185. Murray PE, Garcí a Godoy C, Garcí a Godoy F. How is the biocompatibilty of dental biyomateriyaller değerlendiriliyor mu? Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 12(3):258-266,2007.
186. Tuncer S, Demİrcİ M. Dental materyallerde biyoyumluluk değerlendirmeleri. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi Dergisi, 2011(2),2011.
187. Geurtsen W. Dental döküm alaş ımlarının biyoyumluluğu. Crit Rev Oral Biol Med, 13(1):71-84, 2002.

188. Piş kin B, Aksever H, Gündüz K. Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyouyumluluk değerlendirme yöntemleri. Ondokuz Mayıs Univ Dis Hekim Fak Ders 10(2):41-49,2009.
189. Piş kın B, Avsever H, Gündüz K. Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyouyumluluk değerlendirme yöntemleri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 10(2),2009.
190. Güşer JM, Sakaguchi RL. Craig'in restoratif diş malzemeleri. 12 baskı St. Louis: Mosby Elsevier; 2006.
191. Wataha JC, Lockwood PE. Dental döküm alaş ımlarından elementlerin salınması 10 ay boyunca hücre kültürü ortamına. Dent Mater, 14(2):158-163,1998.
192. Schmalz G, Schuster U, Thonemann B, Barth M, Esterbauer S. Dentin bariyeri transfekte edilmiş sığır hamurundan türetilmiş hücrelerle test edin. J Endod, 27(2):96-102,2001.
193. Scelza MFZ, Daniel RLP, Santos EM, Jaeger MMM. Sitotoksik etkileri Kök kanalı irrigantları olarak kullanılan %10 sitrik asit ve EDTA-T: bir in vitro analiz. J Endod, 27(12):741-743,2001.
194. Souza NJ, Justo GZ, Oliveira CR, Haun M, Bincoletto C. Sitotoksisite perforasyon onarımında kullanılan malzemeler V79 fibroblast hücre hattı kullanılarak test edilmiş tir ve granülosit-makrofaj progenitör hücreler. İçSon J, 39(1):40-47,2006.
195. Mehalick LA, Poulsen C, Fischer CL, Lanzel EA, Bates AM, Walters KS, Cavanaugh JE, Guthmiller JM, Johnson GK, Wertz PW. Diferansiyel insan oral diş eti epiteli için uzun zincirli bazların sitotoksisitesi keratinositler, oral fibroblastlar ve dendritik hücreler. Kısaca veriler, 5:285-291,2015.
196. Prado M, Silva EJNLD, Duque TM, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFAD, Gomes BPFDA. Fosforik asidin antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri

Diğer kök kanal irrigantlarına kıyasla çözüm. J Uygulama Sözlü Bilim, 23(2):158-163,2015.

197. Marins JSR, Sassone LM, Fidel SR, Ribeiro DA. İn vitro genotoksisite ve EDTA, NaOCl, MTAD'ye maruz kalan fare fibroblastlarında sitotoksisite ve sitrik asit. Br Dent J, 23(5):527-533,2012.
198. AlKahtani A, Alkahtany SM, Mahmood A, Elsafadi MA, Aldahmash AM, Anil S. QMix™ endodontik irrigasyon solüsyonunun insan üzerindeki sitotoksisitesi kemik iliği mezenkimal kök hücreleri. BMC ağız sağlığı, 14(1):27,2014.
199. Zhang W, Torabinejad M, Li Y. Kullanılarak MTAD'nin sitotoksisitesinin değerlendirilmesi MTT-tetrazolyum yöntemi. J Endod, 29(10):654-657,2003.
200. Chan EL, Zhang C, Cheung GS. Yeni bir nano-gümüş parçacığının sitotoksisitesi endodontik irrigasyon Clin Cosmet Investig Dent, 7:65,2015.
201. Yan P, Yuan Z, Jiang H, Peng B, Bian Z. Bioaggregate'in Etkisi insan periodontal ligament fibroblastlarının farklılaşması. İçUçJ, 43(12):1116-1121,2010.
202. Üçboyutlu kolajen matrislerinde Grinnell F. Fibroblast biyolojisi. Trendler Hücre Biol, 13(5):264-269,2003.
203. Harada Si, Rodan GA. Osteoblast fonksiyonunun kontrolü ve kemiğin düzenlenmesi kitle. Doğa, 423(6937):349-355,2003.
204. Alkahtani A, Alkahtany SM, Anil S. An in vitro Değerlendirme Değişen Sodyum Hipoklorit Konsantrasyonlarının İnsan Üzerindeki Sitotoksisitesi Mezenkimal Kök Hücreler. J Küçümseme Uygulaması 15(4):473,2014.
205. Barnhart BD, Chuang A, Dalle Lucca JJ, Roberts S, Liewehr F, Joyce AP. Bir çeşitli endodontik irrigantların sitotoksisitesinin in vitro değerlendirilmesi insan diş eti fibroblastları. J Endod, 31(8):613-615,2005.

206. Konjhodzic-Prcic A, Jakupovic S, Hasic-Brankovic L, Vukovic A. Vitro
İnsan Diş Eti Üzerinde Dört Kök Kanal Patlayıcının Sitotoksitesinin Karşı İlaş tırılması
fibroblastlar. Med Arch, 69(1):24,2015.
207. Parirokh M, Forghani FR, Paseban H, Asgary S, Askarifard S, Mahani SE.
İki Reçne Esaslı Yalıtkanın ve Bir Florürlü Verniğin İnsan Üzerindeki Sitotoksitesi
Diş Eti Fibroblastları. İran Endod J, 10(2):89,2015.
208. Zhou Hm, Du Tf, Shen Y, Wang Zj, Zheng Yf, Haapasalo M. In Vitro
Kalsiyum Silikat İçeren Endodontik Yalıtıcıların Sitotoksitesi. J Endod,
41(1):56-61,2015.
209. Jung S, Mielert J, Kleinheinz J, Dammaschke T. İnsan ağız hücrelerinin tepkisi
farklı endodontik restoratif materyallere: bir in vitro çalış ma. Baş ve yüz
tıp, 10(1):55,2014.
210. Chen CC, Ho CC, Chen C-HD, Wang WC, Ding SJ. in vitro biyoaktivite
ve endodontik kullanım için dikalsiyum silikat simanların biyouyumluluğu. J
Bitiş , 35(11):1554-1557, 2009.
211. Gündoğdu G. Homosistein toksisitesi ne sülfid molekülünün olası katkisi ve oksidatif
stresin rolünün nöroblastoma hücre dizisinde İncelenmesi:
Pamukkale Üniversitesi; 2012.
212. Arikan S. Antifungal duyarlılık testleri: Neredeyiz.
213. Reichl F, Rothmund L, Shehata M, Högg C. DNA çift sarmal kırıkları
yeni ve çağdaş endodontik patların neden olduğu Uluslararası J,2015.
214. Lee BN, Son HJ, Noh HJ, Koh JT, Chang HS, Hwang IN, Hwang YC,
Ah WM. Yeni geliştirilen orto MTA kök ucu dolgusunun sitotoksitesi
malzemeler. J Endod, 38(12):1627-1630,2012.
215. Petel R, Moskovitz M, Tickotsky N, Halabi A, Goldstein J, Hourri-Haddad Y.
İyodoform içeren kök kanalının sitotoksitesi ve proliferatif etkileri

- RAW 264.7 makrofaj ve RKO epitel hücre hatlarında dolgu malzemesi.
Arch Oral Biol, 58(1):75-81,2013.
216. De-Deus G, Canabarro A, Alves G, Linhares A, Senne MI, Granjeiro JM.
Bir biyoseramik nanopartikülât çimentonun primer olarak optimal sito uyumluluğu
insan mezenkimal hücreleri. J Endod, 35(10):1387-1390,2009.
217. Huang TH, Ding SJ, Hsu TZ, Lee ZD, Kao CT. Kök kanal patları neden olur
sitotoksisite ve nekroz. J Mater Sci Mater Med, 15(7):767-771,2004.
218. Botton G, Pires C, Cadoná F, Machado A, Azzolin V, Cruz I, Sagrillo M,
Praetzel J. İrigasyon solüsyonlarının toksisitesi ve farmakolojik iliş kiler
süt diş lerinin pulpektomisinde kullanılır. Uluslararası J,2015.
219. Ribeiro DA, Scolastici C, de Lima PLA, Marques MEA, Salvadori DMF.
Antimikrobiyal endodontik bileş iklerin tek hücreli jel ile genotoksisitesi
Ç in hamsteri yumurtalık (CHO) hücrelerinde (kuyruklu yıldız) tahlili. Oral Cerrahi Oral Tıp
Oral Pathol Oral Radiol Endod, 99(5):637-640,2005.
220. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-
OHdG): oksidatif stres ve karsinogenizin kritik bir biyobelirteci. J Çevre
Sci Health C, 27(2):120-139,2009.
221. Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN. 8-Hidroksideoksiguanozin ve 8-
oksidatif DNA hasarının biyobelirteçeri olarak hidroksiguanin. Yöntemler
Enzymol, 300:156-166, 1998.
222. Cadet J, D'Ham C, Douki T, Pouget JP, Ravanat JL, Sauvaigo S. Gerçekler ve
DNA'daki oksidatif baz hasarının ölçümündeki eserler. serbest radikal
Res, 29(6):541-550,1998.
223. Yokuş B, Ç akir DÜ. İnvivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkeri; 8-Hydroxy
2'-deoxyguanosine. Turk Klinikleri J Med Sci, 22(5):535-543,2002.

224. Hüseyin SP, Harris CC. İnsan kanserinin moleküler epidemiyolojisi: tümör baskılayıcı genlerin mutasyon spektrum çalış malarının katkısı. *YengeçBurcu Res*, 58(18),1998.
225. Takane M, Sugano N, Iwasaki H, Iwano Y, Shimizu N, Ito K. Yeni biyobelirteç klinik olarak sağlıklı olanlardan tüm tükürükte oksidatif DNA hasarı olduğuna dair kanıt ve periodontal hastalıklı bireyler. *J Periodontol*, 73(5):551-554,2002.
226. Lunec J, Holloway KA, Cooke MS, Sahte S, Griffiths HR, Evans MD. Üriner 8-okso-2'-deoksiguanozin: in vivo DNA onarımının redoks regülasyonu? *Free Radic Biol Med* 33(7):875-885,2002.
227. Sawamoto Y, Sugano N, Tanaka H, Ito K. Periodontopatinin saptanması periodontitis hastalarının tükürüğünde bakteri ve oksidatif stres belirteci. *Oral Microbiol Immunol*, 20(4):216-220,2005.
228. Kasai H. Bir oksidatif DNA hasarı formunun analizi, 8-hidroksi-2'- sırasında hücrel oksidatif stresin bir belirteci olarak deoksiguanozin karsinojeniz. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 387(3):147-163,1997.
229. Atalayin C, Armagan G, Konyalioglu S, Kemaloglu H, Tezel H, Ergucu Z, Keser A, Dağcı T, Önal B. Resveratrolün dentine karşı koruyucu etkisi bağlayıcı ajanların neden olduğu sitotoksisite. *Dent Mater J*, 34(6):766-773,2015.
230. Kurgan Ş , Önder C, Altıngöz S, Bağış N, Uyanık M, Serdar M, Kantarcı A. tükürük 8-hidroksi deoksiguanozin düzeylerinin yüksek hassasiyette tespiti kronik periodontitisli hastalar. *J Periodontal Res*,2015.
231. Agha-Hosseini F, Mirzaii-Dizgah I, Farmanbar N, Abdullahi M. Oksidatif oral likenli insan deneklerin tükürüğündeki stres durumu ve DNA hasarı planus ve oral skuamöz hücreli karsinom. *J Oral Pathol Med* 41(10):736-740,2012.

232. Volk J, Leyhausen G, Geurtsen W. Glutasyon seviyesi ve genotoksisite TEGDMA'ya maruz kalan insan oral keratinositleri. J Biomed Mater Res B Uygulaması Biomater 100(2):391-399,2012.
233. Buljan ZI, Ribaric SP, Abram M, Ivankovic A, Spalj S. In vitro oksidatif geleneksel ve kendinden bağlanan braketlerin neden olduğu stres. ağız ortodu, 82(2):340-345,2011.
- [PubMed] 234. Vinothkumar TS, Rubin MI, Balaji L, Kandaswamy D. In vitro değerlendirme kullanarak antimikrobiyal bir endodontik irrigant olarak beş farklı bitki özütü gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu. J Koruyucu Dent, 16(2):167,2013.
235. Ok E, Adanır N, Hakkı S. Çeşitli sitotoksisite karşılaştırma tırması konsantrasyonları %2 klorheksidin glukonat ile kekik özütü solüsyonu ve %5.25 sodyum hipoklorit. Eur J Dent 9(1):6,2015.
236. Bajrami D, Hoxha V, Gorduysus O, Muftuoglu S, Zeybek ND, Küçükaya S. Endodontik irrigantların in vitro sitotoksik etkisi. Med Sci Monit Basic Res, 20:22,2014.
237. Navarro-Escobar E, González-Rodríguez Milletvekili, Ferrer-Luque CM. sitotoksik kullanılan iki asit çözeltisi ve %2,5 sodyum hipokloritin etkileri endodontik tedavi. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 15(1):e90-94,2010.
238. Serper A, Çalt S, Doğan AL, GüçD, Özgüçelik B, Kuraner T. Karşılaştırma tırması oksidatif potansiyelin sitotoksik etkileri ve smear tabakasını kaldırma kapasitesi su, NaOCl ve EDTA. J Oral Sci, 43(4):233-238,2001.
239. Mirhadi H, Abbaszadegan A, Ranjbar MA, Azar MR, Geramizadeh B, Torabi S, Aleyasin ZS, Gholami A. Hidrojenin Antibakteriyel ve Toksik Etkisi Klorheksidin Farklı Konsantrasyonlarıyla Kombine Peroksit Sodyum Hipoklorit ile Karşılaştırma tırması. J Dent 16(4):349,2015.

240. Yazici S, Baş kan EB. Dermatolojide Arı ve Bal (Apterapi). Turkiye Klinikleri J Gen Surg-Special Topics, 6(1):36-41,2013.
241. Purra AR, Mushtaq M, Acharya SR, Saraswati V. Karş ılaş tırmalı bir değerlendirme propolis ve %5.0 potasyum nitratın dentin hassasiyetini giderici olarak kullanılması: Bir klinik ders alış ma. J Indian Soc Periodontol, 18(4):466,2014.
242. Tyagi SP, Sinha DJ, Garg P, Singh UP, Mishra CC, Nagpal R. Karş ılaş tırması propolis, Morinda citrifolia, Azadirachta indica'nın antimikrobiyal etkinliği (Neem) ve üzerinde oluş an Candida albicans biyofilmi üzerinde %5 sodyum hipoklorit diş substratı: Bir in vitro alış ma. J Conserv Dent, 16(6):532,2013.
243. Joy Sinha D, Garg P, Verma A, Malik V, Maccune ER, Vasudeva A. Propolis ve İki Azadirachta Ekstresi ile Dentin Tübül Dezenfeksiyonu indica Candida albicans'a Karş ı Diş Yüzeyinde Oluş an Biyofilm. Ağk Diş J, 9(1), 2015.
244. Bankova V, Galabov A, Antonova D, Vilhelmova N, Di Perri B. Kimyasal Propolis Extract ACF® bileş imi ve herpes simpleksine karş ı etkinliği virüs. Fitotıp, 21(11):1432-1438,2014.
245. Madhavan S, Nayak M, Shenoy A, Shetty R, Prasad K. Dentinal aş ırı duyarlılık: CPP-ACP F, sodyumun karş ılaş tırmalı bir klinik değerlendirmesi florür, propolis ve plasebo. J Conserv Dent, 15(4):315,2012.
246. Lima RVE, Esmeraldo MRA, de Carvalho MGF, de Oliveira PT, de Carvalho RA, da Silva FL, de Brito C, Melo EM. Kullanarak pulpotomi sonrası pulpa onarımı farklı pulpa kapatma ajanları: karş ılaş tırmalı bir histolojik analiz. Pediatr Dent 33(1):14-18,2011.
247. Ahangari Z, Alborzi S, Yadegari Z, Dehghani F, Ahangari L, Naseri M. The Biyolojik depolama ortamı olarak propolisin periodontal ligament hücresi üzerindeki etkisi kopmuş bir diş te hayatta kalma: bir in vitro alış ma. Hücre J 15(3):244,2013.

248. Carbajal Mejía JB. Kalsiyum hidroksitin antimikrobiyal etkileri, klorheksidin ve *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans* üzerinde propolis. *J Clin Dent'i Araştırma*, 5(3):194-200,2014.
249. Wimardhani YS, Soegyanto AI. Neden Olduğu Oral Mukozal Üserasyon Konsantre Propolis Ekstraktının Topikal Uygulaması. *Dava Temsilcisi Dent*, 2014,2014.
- [PMC ücretsiz makale] [PubMed] 250. Bretz WA, Paulino N, North JE, Moreira A. Propolisin etkinliği Gingivitis: Randomize Kontrollü Bir Çalışma. *J Alternatif Tamamlayıcı Med*, 20(12):943-948,2014.
251. Saxena D, Saha SG, Saha MK, Dubey S, Khatri M. An in vitro değerlendirme Beş bitkisel ekstraktın antimikrobiyal aktivitesi ve aktivitelerinin karşılaştırılması *Enterococcus faecalis*'e karşı %2,5 sodyum hipoklorit ile. *Hintli J Dent Res*, 26(5):524,2015.
252. Verma MK, Pandey RK, Khanna R, Agarwal J. Antimikrobiyal Süt dişlerinin kök kanal irrigasyonunda %25 propolis ekstraktının etkinliği. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 32(2):120,2014.
253. Jolly M, Singh N, Rathore M, Tandon S, Banerjee M. Propolis ve Sık Kullanılan İntrakanal İrriganlar: Karşılaştırmalı Değerlendirme Antimikrobiyal Potansiyel. *J Clin Pediatr Dent*, 37(3):243-249,2013.
254. Bıray Ç, Gündüz C, Yılmaz B, Şahin F, Topçuoğlu N. Propolis Ve Etken Maddeleri Olan Kafeik Asit Fenetil Ester (Cape) Ve Sinamik Asitin, İnsan T Hücreli Akut Lenfoblastik Lösemi Hücre Dizisi (Ccrf-Cem)'de Sitotoksik Ve Apoptotik Etkinliğinin Değerlendirilmesi. *Ege Tıp Dergisi*, 45(2),2006.
255. Al-Shaher A, Wallace J, Agarwal S, Bretz W, Baugh D. Propolisin Etkisi pulpa ve periodontal bağdan insan fibroblastları. *J Endod*, 30(5):359-361,2004.

256. Singla S, Kumar NR, Kaur J.
erkek sıçanların karaciğerinde doksorubisin kaynaklı toksisite üzerine propolis. Toksikol İnt,
21(2):191,2014.
257. Grenho L, Barros J, Ferreira C, Santos V, Monteiro F, Ferraz M, Cortes M. In
içeren propolisin vitro antimikrobiyal aktivitesi ve biyouyumluluğu
nanohidroksiapatit. Biomed Materyali, 10(2):025004,2015.
258. Sönmez S, Kirilmaz L, Yücesoy M, Yücel B, Yılmaz B. Arı etkisi
oral patojenler ve insan diş eti fibroblastları üzerinde propolis. J
Ethnopharmacol, 102(3):371-376,2005.
259. Tyszka-Czochara M, Pasko P, Reczynski W, Szlosarczyk M, Bystrowska B,
Opoka W. Çinko ve propolis ciltte sitotoksiteyi ve proliferasyonu azaltır
fibroblast hücre kültürü: toplam polifenol içeriği ve antioksidan kapasitesi
propolis. Biol İz Elem Res, 160(1):123-131,2014.
260. Serarslan G, Altuğ ME, Konaş T. Kafeik asid fenetil ester'in insizyonel yara
modelinde plazma lipid peroksidasyonu, antioksidan durum ve nitrik oksit
seviyesi üzerine etkisi. Türkderm, 41:11-14,2007.
261. Akyol S, Armutçu F, Yiğitoğlu MR. Propolisin Aktif Bileşenlerinden Kafeik
Asit Fenetil Ester'in (Cape) bazı Nörolojik Hastalık ve Acillerde
Kafeik Asit Fenetil Esterin (Pelerin) Tıbbi Kullanımı
Propolisin Aktif Bileşeni, Nörolojik.
262. Aliyazicioglu Y, Demir S, Turan I, Cakiroglu T, Akalin I, Deger O, Bedir A.
Türk propolisinin H₂O₂ kaynaklı DNA üzerinde önleyici ve koruyucu etkileri
sünnet derisi fibroblast hücre hatlarında hasar. Acta Biologica Macaristan,
62(4):388-396,2011.
263. Fu JY, Xia Y, Zheng Y. Propolisin bazılarına karşı antimutajenitesi
in vivo ve in vitro mutajenler. Çevre. Bilim, 17(4):469-475,2004.

264. Montoro A, Barquinero J, Almonacid M, Montoro A, Sebastià N, Verdú G, Sahuquillo V, Serrano J, Saiz M, Villaescusa J. Konsantrasyona bağımlı γ-ışını kaynaklı kromozoma karşı propolisin etanol ekstraktı ile koruma insan kan lenfositlerinde hasar. J Kanıtı Dayalı Tamamlayıcı Alternatif İle, 2011,2010.
265. Santos GS, Tsutsumi S, Scallop DP, Bartolini P, Okazaki K. Effect of Genotoksisite, sitotoksisite ve klonojenik ölüm üzerine Brezilya propolisi (AF-08) 60 Co gama ile ışınlanmış Çin hamsteri yumurtalık (CHO-K1) hücrelerinin yüzdesi radyasyon. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen, 762:17-23,2014.
266. del Carpio-Perochena A, Bramante CM, Duarte MAH, de Moura MR, Aouada FA, Kishen A. Kitosanın şelatlayıcı ve antibakteriyel özellikleri Dentin üzerindeki nanoparçacıklar. Restorasyon Dent Endod, 40, 2015.
267. Azargoon H, Williams BJ, Solomon ES, Kessler HP, He J, Spears R. kullanarak hemostatik etkinliğin ve kemik yara iyileşmesinin değerlendirilmesi HemCon diş pansumanı. J Endod, 37(6):807-811,2011.
268. del Carpio-Perochena A, Bramante CM, Duarte MAH, de Moura MR, Aouada FA, Kishen A. Kitosanın şelatlayıcı ve antibakteriyel özellikleri Dentin üzerindeki nanoparçacıklar. Restorasyon Dent Endod, 40(3):195-201, 2015.
269. İbrahim MA, Neo J, Esguerra RJ, Fawzy AS. Karakterizasyonu kitosan ile modifiye edilmiş cam iyonomerin antibakteriyel ve yapışma özellikleri çimento. J Biomater 0885328215589672,2015.
270. Yan XZ, van den Beucken JJ, Cai X, Yu N, Jansen JA, Yang F. Periodontal veya ile enzimatik olarak katılaşmış kitosan hidrojelleri kullanılarak doku rejenerasyonu hücre yükleme olmadan. Doku Müh Bölüm A, 21(5-6):1066-1076,2014.
271. Vineeta N, Gupta S, Chandra A. Kalsiyum hidroksitin geri alınabilirliği kök kanallarından Kitosan içeren kanal iç ilaç Bir in vitro CBCT hacimsel analiz. J Conserv Dent, 17(5):454,2014.

272. Diolosà M, Donati I, Turco G, Cadenaro M, Di Lenarda R, Breschi L, Paoletti S. Dayanıklılığı Arttırmak İçin Metakrilat Modifiye Kitosan Kullanımı Dentin Bağlama Sistemleri. *Biyomakromoleküller*, 15(12):4606-4613,2014.
273. Jena P, Mohanty S, Mallick R, Jacob B, Sonawane A. Toksikite ve kitosan kaplı gümüş nanopartiküllerin insan üzerindeki antibakteriyel değerlendirilmesi patojenler ve makrofaj hücreleri. *Int J Nanotıp*, 7:1805,2012.
274. Lineaweaver W, Howard R, Soucy D, McMorris S, Freeman J, Crain C, Robertson J, Rumley T. Topikal antimikrobiyal toksisite. *Arch Cerrah*, 120(3):267-270,1985.
275. Fernandes JC, Borges M, Nascimento H, Bronze-da-Rocha E, Ramos OS, Pintado ME, Malcata FX, Santos-Silva A. Sitotoksikite ve genotoksikite Lenfositler üzerinde kitooligosakkaritler. *Int J Biol Makromol*, 49(3):433-438,2011.
276. Hu P, Wang T, Xu Q, Chang Y, Tu H, Zheng Y, Zhang J, Xu Y, Yang J, Yuan H. Stearik asitle aş ılanmış kitosanın genotoksikite değerlendirilmesi oligosakkarit nanomikeller. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 751(2):116-126,2013.
277. Çalış ır M, Akpınar A, Poyraz Ö, Göze F, Ç ınar Z. The histopathological and sistemik olarak uygulanan hümk maddenin etkilerinin morfometrik olarak incelenmesi Sıçanlarda ligatür kaynaklı periodontitiste alveolar kemik kaybı üzerindeki asit. *J Periodontal Araş tırma*,2015.
278. Kihara Y, Tanaka M, Gumiri S, Hosokawa T, Tanaka S, Saito T, Kurasaki M. Doğal hümk asidin insan damarlarında neden olduğu toksisitenin mekanizması endotel hücreleri. *Environ Toxicol*, 29(8):916-925,2014.
279. Hseu YC, Lu FJ, Engelking LR, Chen CL, Chen YH, Yang HL. Hümk insan eritrositlerinde asit kaynaklı ekinosit transformasyonu: morfolojik değiş imlerin karakterizasyonu ve

hasarın altında yatan mekanizma. J Toxicol Çevre Sağlığı A, 60(3):215-230.2000.



8. ÖZGEÇ MİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, Soyadı: Zeliha UÇUR

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 25 Şubat 1988, Aksaray

Medeni Durumu: Bekâr

Tel: +90 346 21910 10

Faks: +90 346 219 10 10

e-posta: zlhugur@gmail.com

Yazışma Adresi: Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti A.D.
Merkez/SİVAS

Eğitim

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Uzmanlık Eğitimi	Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hek. Fak.	2013-2014
Uzmanlık Eğitimi	Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hek. Fak.	2014-al
Lisans	İstanbul Üniversitesi Diş Hek. Fak.	2010
Lise	Ortaköy Lisesi, Aksaray	2005