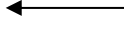


DİLARA DİNÇ



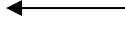
Adınızı soyadınızı giriniz

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .

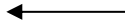


DOKTORA TEZİ



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

İSTANBUL-2020



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**BİTKİSEL VE ANTIOKSİDAN İÇERİKLİ VİTAL PULPA
TEDAVİ AJANLARININ SİTOTOKSİSİTE VE ALKALEN
FOSFATAZ DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DİLARA DİNÇ

**DANIŞMAN
PROF. DR. OYA AKTÖREN**

**PEDODONTİ ANABİLİM DALI
PEDODONTİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

DİLARA DİNÇ

İTHAF

Bu doktora tez çalışmasını ***aileme*** ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana her konuda yol göstererek gelişmemi sağlayan, titiz çalışmasını ve sabrını esirgemeyerek beni destekleyen, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum **Sayın Prof. Dr. Oya Aktören'e**,

Tez çalışmam boyunca akademik, teknik ve psikolojik katkı sağlayan, her zaman güler yüzü ile beni çalışmaya heveslendiren İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Öğretim Üyesi **Sayın Dr. Mehmet Fatih Seyhan'a**,

Tez çalışmamın takibinde ilgi ve desteklerini esirgemeyen değerli Tez İzleme Komitesi hocalarım **Sayın Prof. Dr. Koray Gençay** ve **Sayın Prof. Dr. Betül Kargül'e**,

Pedodonti doktora eğitimim süresince çok değerli katkı ve desteklerini gördüğüm, başta Pedodonti Anabilim Dalı Başkanı **Sayın Prof. Dr. Gamze Aren** olmak üzere, saygıdeğer hocalarım **Sayın Prof. Dr. Zeynep Aytepe**, **Sayın Prof. Dr. Figen Seymen**, **Sayın Prof. Dr. Elif Sepet**, **Sayın Prof. Dr. Elif Bahar Tuna İnce**, **Sayın Doç. Dr. Arzu Pınar Erdem**, **Sayın Doç. Dr. Mine Koruyucu** ve **Sayın Dr. Yelda Kasımoğlu'na**,

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana destek olan **Sayın Doç. Dr. Yeliz Güven**, **Sayın Dr. Sermin Dicle Aksakal**, **Sayın Dr. Nilüfer Üstün**, **Sayın Dt. Müge Ali Metiner'e**,

Bu süreçte tüm zorlukları birlikte göğüslediğim ve birlikte güzel anılar biriktirdiğim dostlarım **Dt. Cansu Akay**, **Dt. Ceren İlisulu**, **Dt. Gülsevim Usta**, **Dt. Merve Esen'e**, beraber çalıştığım **tüm Pedodonti Anabilim Dalı asistanı arkadaşlarıma** ve **Pedodonti Anabilim Dalı çalışanlarına**,

Tüm hayatım boyunca destekleri ile aldığım kararların arkasında durmamı sağlayan, her koşulda sevgilerini hissettiğim **canım annem Nurhan Bektaş** ve **babam Günay Bektaş'a**,

Hayatıma girdiği günden bu yana her üzüntü ve sevinçte benimle olan, attığım her adımda desteğini hep hissettiğim, doktora eğitimim boyunca anlayış ve sabrını benden esirgemeyen **can eşim Gökhan Dinç'e**

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dilara Dinç

İstanbul, 2020

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 31902



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	2
BEYAN.....	3
İTHAF.....	4
TEŞEKKÜR.....	5
İÇİNDEKİLER	7
TABLolar LİSTESİ.....	11
ŞEKİLLER LİSTESİ	13
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	16
ÖZET	18
ABSTRACT.....	19
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	20
2. GENEL BİLGİLER	22
2.1. Pulpa Dokusu	22
2.1.1. Pulpanın Sinirsel Uyarımı	26
2.1.2. Pulpanın Kan Dolaşımı	26
2.1.3. Pulpanın Lenf Dolaşımı	27
2.2. Pulpanın Görevleri	27
2.2.1. Dentin Oluşumu	27
2.2.2. Pulpanın Besleyici Görevi	28
2.2.3. Pulpanın Sinirsel Görevi	28
2.2.4. Pulpanın Savunma Görevi	28
2.3. Pulpanın Uyarılara ve Tedavilere Karşı Dentin Yanıtı	28
2.3.1. Uyarılara Karşı Dentin Yanıtı	28
2.3.2. Tedavilere Karşı Sert Doku Oluşumu	29
2.4. Vital Pulpa Tedavileri	30
2.5. Vital Pulpa Tedavilerinde Başarıyı Etkileyen Faktörler	32
2.6. Vital Pulpa Tedavilerinde Kullanılan Geleneksel Materyaller	33
2.7. Vital Pulpa Tedavilerinde Kullanılan Bitkisel/Antioksidan İçerikli Materyaller	37
2.7.1. Bitkisel Ajanlar	37
2.7.1.1. Kurkumin (<i>Curcuma longa</i> , Turmerik, Zerdeçal).....	37
2.7.1.2. <i>Aloe vera</i> (<i>Aloe Barbedensis</i> , Aloin)	40

2.7.2. Antioksidan Karışım	42
2.8. İn Vitro Çalışmalarda Biyouyumluluk Değerlendirme Yöntemleri	43
2.8.1. Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu (ISO) ve Biyouyumluluk Değerlendirmesi	44
2.8.2. Sitotoksosite Değerlendirme Testleri	44
2.8.2.1. Direkt Hücre Kültürü Testi	45
2.8.2.2. Agar Difüzyon Testi	46
2.8.2.3. Filtre Difüzyon Testi	46
2.8.2.4. Dentin Bariyer Testi	46
2.8.3. Sitotoksosite Testlerinde Kullanılan Biyolojik Sistemler	46
2.8.4. İnsan Dental Pulpa Kök Hücre Özellikleri	48
2.8.5. İn Vitro Sitotoksosite Testlerinin Değerlendirme Yöntemleri	48
2.8.5.1. Canlılığı Değerlendiren Testler	48
2.8.5.2. Yaşamı Değerlendiren Testler	49
2.8.5.3. Hücre Proliferasyonunu Değerlendiren Testler	49
2.8.5.4. Hücre Metabolizmasını Değerlendiren Testler	49
2.9. Alkalen Fosfataz	50
3. GEREÇ VE YÖNTEM	52
3.1. Gereç	52
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Deney Materyalleri	52
3.1.2. Hücre Kültürü Çalışmasında Kullanılan Cihazlar, Aletler, Sarf ve Kimyasal Malzemeler	53
3.1.2.1. Cihaz ve Aletler	53
3.1.2.2. Sarf Malzemeler	53
3.1.2.3. Kimyasal Malzemeler	54
3.1.3. Alkalen Fosfataz Enzim Aktivitesi Analizinde Kullanılan Kit ve Cihazlar	54
3.2. Yöntem	54
3.2.1. Hücre Kültürü	55
3.2.2. Alt Kültürleme	56
3.2.3. Hücre Dondurma	57
3.2.4. Materyal Örneklerinin Hazırlanması	57
3.2.4.1. Kurkumin Örneklerinin Hazırlanması	57
3.2.4.2. Aloin Örneklerinin Hazırlanması	58

3.2.4.3. Antioksidan Karışım Örneklerinin Hazırlanması.....	59
3.2.4.4. ProRoot MTA Örneklerinin Hazırlanması.....	60
3.2.5. Sitotoksitenin Değerlendirilmesi.....	61
3.2.6. Alkalen Fosfataz Aktivitesinin Değerlendirilmesi.....	63
3.2.7. İstatistiksel Analiz.....	64
4. BULGULAR.....	65
4.1. WST-1 Hücre Proliferasyon Testine İlişlin Bulgular	65
4.1.1. Kurkumin Grubunda Elde Edilen Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması	65
4.1.2. Kurkumin Grubunda Dozlara İlişkin Bulguların Karşılaştırılması.....	67
4.1.3. Kurkumin Grubunda Dozların Günlere Göre Karşılaştırılması.....	69
4.1.4. Aloin Grubunda Elde Edilen Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması.....	74
4.1.5. Aloin Grubunda Dozlara İlişkin Bulguların Karşılaştırılması	76
4.1.6. Aloin Grubunda Dozların Günlere Göre Karşılaştırılması	78
4.1.7. Antioksidan Karışım Grubunda Elde Edilen Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması	83
4.1.8. Antioksidan Karışım Grubunda Konsantrasyonlara İlişkin Bulguların Karşılaştırılması	84
4.1.9. Antioksidan Karışım Grubunda Konsantrasyonların Günlere Göre Karşılaştırılması	86
4.1.10. MTA Grubunda Elde Edilen Bulgular Ve Kontrol Grubu ile Karşılaştırılması	90
4.1.11. MTA Grubunda Konsantrasyonlara İlişkin Bulguların Karşılaştırılması	92
4.1.12. MTA Grubunda Konsantrasyonların Günlere Göre Karşılaştırılması	94
4.2. Alkalen Fosfataz Enzim Düzeyi Testine İlişkin Bulgular	98
4.2.1. Kurkumin Grubunda ALP Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması.....	98
4.2.2. Aloin Grubunda ALP Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması	100
4.2.3. Antioksidan Karışım Grubunda ALP Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması	102
4.2.4. MTA Grubunda ALP Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması	104
5. TARTIŞMA	106

KAYNAKLAR	129
HAM VERİLER	1556
FORMLAR	1601
ETİK KURUL KARARI	1612
PATENT HAKKI İZNİ	1623
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	163
ÖZGEÇMİŞ	164



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Deney materyallerinin içerik ve üretici firma bilgileri	52
Tablo 4-1: Kurkumin dozlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbans değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	66
Tablo 4-2: Kurkumin doz gruplarında saptanan ortalama absorbans değerlerinin karşılaştırılması.....	68
Tablo 4-3: Kurkumin 2,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	69
Tablo 4-4: Kurkuminin 6,75 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	70
Tablo 4-5: Kurkumin 12,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	71
Tablo 4-6: Kurkumin 25 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	72
Tablo 4-7: Kurkumin 50 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	73
Tablo 4-8: Aloin dozlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbans değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	75
Tablo 4-9: Aloin doz gruplarında saptanan ortalama absorbans değerlerinin karşılaştırılması.....	77
Tablo 4-10: Aloinin 2,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	78
Tablo 4-11: Aloinin 6,75 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	79
Tablo 4-12: Aloinin 12,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	80
Tablo 4-13: Aloinin 25 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	81
Tablo 4-14: Aloinin 50 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	82
Tablo 4-15: Antioksidan karışım konsantrasyonlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbans değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması	83
Tablo 4-16: Antioksidan karışım konsantrasyon gruplarında saptanan ortalama absorbans değerlerinin karşılaştırılması.....	85
Tablo 4-17: Antioksidan karışımın %25 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	86
Tablo 4-18: Antioksidan karışımın %50 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	87
Tablo 4-19: Antioksidan karışımın %75 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	88
Tablo 4-20: Antioksidan karışımın %100 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması.....	89

Tablo 4-21: MTA konsantrasyonlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbans değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	91
Tablo 4-22: MTA gruplarında saptanan ortalama absorbans değerlerinin karşılaştırılması	93
Tablo 4-23: MTA'nın %25 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	94
Tablo 4-24: MTA'nın %50 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	95
Tablo 4-25: MTA'nın %75 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	96
Tablo 4-26: MTA'nın %100 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	97
Tablo 4-27: Kurkumin dozlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	98
Tablo 4-28: Kurkumin dozlarının ALP aktivitesinin 7. ve 14. gün ortalama değerlerinin karşılaştırılması.....	99
Tablo 4-29: Kurkumin dozlarının ALP aktivitesine etkisinin karşılaştırılması.....	99
Tablo 4-30: Aloin dozlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	100
Tablo 4-31: Aloin dozlarının ALP aktivitesinin 7. ve 14. gün değerlerinin karşılaştırılması	101
Tablo 4-32: Aloin dozlarının ALP aktivitesine etkisinin karşılaştırılması.....	101
Tablo 4-33: Antioksidan karışım konsantrasyonlarının ALP enzim aktivitesine ilişkin bulguları ve bulguların kontrol grubu ile karşılaştırılması	102
Tablo 4-34: Antioksidan karışım konsantrasyonlarının ALP aktivitesinin 7. ve 14. gün değerlerinin karşılaştırılması.....	103
Tablo 4-35: Antioksidan karışım konsantrasyonlarının ALP aktivitesine etkisinin karşılaştırılması.....	103
Tablo 4-36: MTA konsantrasyonlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	104
Tablo 4-37: MTA konsantrasyonlarının ALP aktivitesinin 7. ve 14. gün ortalama değerlerinin karşılaştırılması.....	105
Tablo 4-38: MTA konsantrasyonlarının ALP aktivitesine etkisinin karşılaştırılması..	105
Tablo 5-1: Antioksidan karışım 'Supradyn' ve diğer antioksidan karışımların vitamin ve mineral içerikleri.....	120

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1: Sıvı azot tankında bekletilmiş insan dental pulpa kök hücreleri (Lonza Group, İsviçre)	55
Şekil 3-2: Sıvı azot tankı (Arpege 70, Almanya).....	55
Şekil 3-3: Hücre kültüründe kullanılan kimyasal malzemeler (Gentamisin sülfat, L- Glutamin (10 ml), askorbik asit (5 ml) ve amfoterasin B) (Lonza Group, İsviçre).....	56
Şekil 3-4: Deneylerde kullanılan floresan mikroskopu (Zeiss Zen, Axio Observer, Almanya)	57
Şekil 3-5: Konfluent hale gelmiş hücrelerin mikroskop görüntüsü.....	57
Şekil 3-6: Çalışmada kullanılan kurkumin materyali (<i>Curcuma longa</i> , Sigma-Aldrich C1386-10 gr, ABD)	58
Şekil 3-7: Kurkuminin stok solüsyonu	58
Şekil 3-8: Çalışmada kullanılan aloin materyali (<i>Aloe barbadensis</i> Miller Leaves, Sigma-Aldrich B6906-100 mg, ABD)	59
Şekil 3-9: Aloinin stok solüsyonu.....	59
Şekil 3-10: Çalışmada kullanılan antioksidan karışımın tablet formu (Bayer AG, Almanya)	60
Şekil 3-11: Antioksidan karışım stok solüsyonu	60
Şekil 3-12: Çalışmada kullanılan MTA materyali (Dentsply Tulsa Dental, ABD).....	61
Şekil 3-13: MTA stok solüsyonu	61
Şekil 3-14: İnkübatör (Nüve, EC 160, İstanbul, Türkiye)	62
Şekil 3-15: 96 kuyucuklu plakaya besiyeri ile ekilmiş insan dental pulpa kök hücreleri	63
Şekil 3-16: WST-1 proliferasyon testinin solüsyonu (Roche, Almanya)	63
Şekil 3-17: 24 kuyucuklu plakaya besiyeri ile ekilmiş insan dental pulpa kök hücreleri	64
Şekil 3-18: Spektrofotometre (Thermo Scientific, Multiskan GO, ABD).....	64
Şekil 4-1: Kurkumin dozlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbans değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	67
Şekil 4-2: Kurkuminin 2,5 µg/ml dozunun 1. günde hücreler üzerine etkisi	68
Şekil 4-3: Kurkuminin 50 µg/ml dozunun 7. günde hücreler üzerine etkisi	68
Şekil 4-4: Kurkumin 2,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	69

Şekil 4-5: Kurkuminin 6,75 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	70
Şekil 4-6: Kurkuminin 12,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	71
Şekil 4-7: Kurkuminin 25 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	72
Şekil 4-8: Kurkuminin 50 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	73
Şekil 4-9: Aloin dozlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbans değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	76
Şekil 4-10: Aloinin 2,5 µg/ml dozunun 1. günde hücreler üzerine etkisi.....	77
Şekil 4-11: Aloinin 50 µg/ml dozunun 7. günde hücreler üzerine etkisi.....	77
Şekil 4-12: Aloinin 2,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	78
Şekil 4-13: Aloinin 6,75 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	79
Şekil 4-14: Aloinin 12,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	80
Şekil 4-15: Aloinin 25 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	81
Şekil 4-16: Aloinin 50 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması	82
Şekil 4-17: Antioksidan karışım konsantrasyonlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbans değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması	84
Şekil 4-18: Antioksidan karışımın %25 konsantrasyonunun 1. günde hücreler üzerine etkisi.....	85
Şekil 4-19: Antioksidan karışımın %100 konsantrasyonunun 7. günde hücreler üzerine etkisi.....	85
Şekil 4-20: Antioksidan karışımın %25 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	86
Şekil 4-21: Antioksidan karışımın %50 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	87
Şekil 4-22: Antioksidan karışımın %75 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	88
Şekil 4-23: Antioksidan karışımın %100 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması.....	89
Şekil 4-24: MTA konsantrasyonlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbans değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	91
Şekil 4-25: MTA'nın %25 konsantrasyonunun 1. günde hücreler üzerine etkisi	93
Şekil 4-26: MTA'nın %100 konsantrasyonunun 7. günde hücreler üzerine etkisi	93
Şekil 4-27: MTA'nın %25 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	94
Şekil 4-28: MTA'nın %50 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	95

Şekil 4-29: MTA'nın %75 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	96
Şekil 4-30: MTA'nın %100 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması	97
Şekil 4-31: Kurkumin dozlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	99
Şekil 4-32: Aloin dozlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	101
Şekil 4-33: Antioksidan karışım konsantrasyonlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve bulguların kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	103
Şekil 4-34: MTA konsantrasyonlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	105



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

⁰C: Santigrad derece

2CaO·SiO₂: Dikalsiyum silikat

3CaO·Al₂O₃: Trikalsiyum aluminat

3CaO·SiO₂: Trikalsiyum silikat

4CaO·Al₂O₃·Fe₂O₃: Aluminoferrit

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

ALP: Alkalen Fosfataz

Bi₂O₃: Bizmut oksit

BMP-2: Kemik morfogenetik proteini 2

Ca₂O₃: Trikalsiyum oksit

CaSO₄·4H₂O: Kalsiyum sülfat dihidrat

cm: Santimetre

CO₂: Karbondioksit

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMSO: Dimetil sülfoksit

DSP: Dentin sialoprotein

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

FBS: Fetal bovine serum

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

HBSS: Hanks dengeli tuz çözeltisi

HEMA: 2-hidroksietil metakrilat

HEPES: (4-(2-hidroksietil)-1-piperazineetansulfonik asit)

IARC: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı

ISO: Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu

LED: Işık yayan diot

m: Metre

Max: En yüksek

mg: Miligram

Min: En düşük

ml: Mililitre

mM: Milimol

MTA: Mineral Trioksit Aggregat

MTS: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolyum

MTT: 3-(4, 5- dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide

NF-kB: Nüklear faktor kappa B

PBS: Phosphate Buffered Saline

PRF: Trombositten zengin fibrin

rpm: Dakikadaki devir sayısı

Rt-PCR: Revers-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Runx2: Runt ile ilişkili transkripsiyon faktörü 2

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

SiO₂: Silikat oksit

sn: Saniye

TGF- β : Transforme Edici Büyüme Faktörü – Beta

TNS: Trypsin Neutralizing Solution

WST-1: 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H-tetrazolyum

XTT: 2,3-Bis(2-metoksi4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolyum

μ g: Mikrogram

μ l: Mikrolitre

μ m: Mikrometre

ÖZET

Dinç D. Bitkisel ve antioksidan içerikli vital pulpa tedavi ajanlarının sitotoksikite ve alkalen fosfataz düzeylerinin değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pedodonti Anabilim Dalı, Doktora Tezi. İstanbul. 2020.

Amaç: Bu çalışma, bitkisel ajanlardan *Curcuma longa* ve *Aloe vera* bitkilerinin özütleri kurkumin ve aloin, antioksidan karışım ve mineral trioksit agregatın (MTA) insan dental pulpa kök hücreleri üzerindeki sitotoksikite ve alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi düzeylerinin değerlendirilmesi amacı ile gerçekleştirildi. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmada, insan dental pulpa kök hücreleri (Lonza Group,İsviçre), kurkumin (Sigma-Aldrich,ABD), aloin (Sigma-Aldrich,ABD), vitamin-mineral içerikli antioksidan karışım (BayerAG, Almanya), ProRoot MTA (Dentsply,ABD) kullanıldı. Kurkumin ve aloin dozları 2,5-6,75-12,5-25-50 µg/ml, antioksidan karışım ve MTA konsantrasyonları %25-50-75-100 olarak hazırlandı; materyallerle etkileşime girmeyen insan dental pulpa hücreleri kontrol grubu olarak değerlendirildi. Sitotoksikite, materyallerin tüm doz/konsantrasyonlarında 1.,2.,3.,7. günlerde WST-1 testi ile; 2,5-6,75 µg/ml kurkumin ve aloin, %25-50'lik antioksidan karışım ve MTA'nın ALP aktivitesi 7. ve 14. günlerde ELISA testi ile incelendi. Elde edilen bulgular Tek Yönlü Anova, Tukey ve Sidak testleri ile istatistiksel olarak Graphpad Prism 6 programında analiz edildi. **Bulgular:** 2,5 µg/ml kurkumin, aloinin tüm dozları, %25-50'lik MTA'nın 1.günde hücre proliferasyonunu anlamlı derecede ($p<0,05$) arttırdığı ve doz/konsantrasyon, materyal-pulpa etkileşim süresinin artması ile pulpa hücrelerinde proliferasyonun azaldığı; antioksidan karışımın anlamlı derecede sitotoksik etki ($p<0,05$) gösterdiği belirlendi. ALP aktivitesinin incelenmesinde ise hiçbir materyalin 7 ve 14 günde anlamlı derecede etki ($p>0,05$) oluşturmadığı saptandı. **Sonuç:** 2,5-6,75 µg/ml kurkumin ve aloinin, %25-50'lik MTA'nın kısa zaman sürelerinde sitotoksik etki oluşturmadığı, antioksidan karışımın tüm konsantrasyon/zamanlarda yüksek sitotoksikite gösterdiği ve hiçbir materyalin ALP aktivitesini 14 günde anlamlı derecede artırmadığı belirlendi. Günümüzde alternatif pulpa tedavi ajanı olarak önerilen kurkumin ve aloinin sitotoksikite ve ALP aktivitesi düzeylerinin uzun dönemde gelecek in-vitro çalışmalarla incelenmesine ve formülasyon içeriklerinin geliştirilmesine gereksinim olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler : vital pulpa tedavisi, kurkumin, aloin, antioksidan karışım, MTA

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 31902

ABSTRACT

Dinç D. The assessment of cytotoxicity and alkaline phosphatase levels of herbal and antioxidant based vital pulp therapy agents. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Pedodontics, PhD Thesis. Istanbul. 2020.

Aim: The objective of this in-vitro study was to assess the cytotoxicity and alkaline phosphatase (ALP) activity of curcumin and aloin extracted from *Curcuma longa* and *Aloe vera*, an antioxidant mix (AM) and mineral trioxide aggregate (MTA) on human dental pulp stem cells. **Material-Methods:** Human dental pulp stem cells (Lonza Group, Switzerland), curcumin (Sigma-Aldrich, USA), aloin (Sigma-Aldrich, USA), AM (Bayer AG, Germany), ProRoot MTA (Dentsply, USA) were used in the study. 2.5-6.75-12.5-25-50 µg/ml's of curcumin/aloin, 25-50-75-100 %'s of AM/MTA were prepared; unincubated pulp cells were assessed as controls. Cytotoxicity of all doses/concentrations was analyzed at 1,2,3,7 days by WST-1 test; and 2.5-6.75 µg/ml's of curcumin and aloin, 25-50%'s of AM/MTA were assessed for ALP activity at 7-14 days by ELISA test. Data was statistically analyzed by OneWayAnova, Tukey and Sidak tests at Graphpad Prism 6. **Results:** The findings have shown that 2.5 µg/ml of curcumin, all doses of aloin, 25-50 %'s of MTA increased the cell proliferation significantly ($p < 0.05$) on 1st day. Curcumin, aloin, MTA inhibited the cell viability as dose/concentration and exposure time have increased; and AM has exhibited cytotoxic effects ($p < 0.05$) at all concentrations/time intervals. No significant increases ($p > 0.05$) in ALP assays of all materials were found at 7-14 days. **Conclusion:** Data of this study revealed that 2.5-6.75 µg/ml's of curcumin/aloin and 25-50 %'s of MTA have increased pulp cell proliferation; and none of the materials have increased ALP activity significantly at 7-14 days. It's concluded that future in-vitro tests analyzing the long-term cytotoxicity and ALP activity of curcumin and aloin, recommended as alternative vital pulp agents, are needed.

Key Words: vital pulp therapy, curcumin, aloin, antioxidant mix, MTA

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 31902

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diş çürüğü, travma ya da restoratif prosedürlerden etkilenmiş diş pulpasını vital ve sağlıklı olarak korumayı amaçlayan vital pulpa tedavilerinde farklı içerikli vital pulpa tedavi ajanlarının kullanıldığı görülmektedir. Vital pulpa tedavilerinde pulpa dokusunun iyileşmesi ve sağlıklı kalabilmesi için uygulanan materyallerin biyouyumlu olması, dentin pulpa kompleksinin rejenerasyonunu indüklemesi, iyileşme potansiyelini arttırmasının yanısıra antiinflamatuvar ve antibakteriyel özelliklere sahip olması sıklıkla vurgulanmaktadır (Cohenca ve ark. 2013; Simon ve Goldberg 2014 pp. 267-276; Asgary ve ark. 2014; Saghiri ve ark. 2015; Komabayashi ve ark. 2016; Cintra ve ark. 2017; Najeeb ve ark. 2017; Maher ve ark. 2018; Dammaschke ve ark. 2019).

Çocuklarda süt ve sürekli dişlerin vital pulpa tedavilerinde, geçmişten günümüze kadar kullanılan ajanlar incelendiğinde; kalsiyum hidroksit, formokrezol, ferrik sülfat, adezivler ve kalsiyum silika esaslı materyallerin klinikte en çok kullanılan pulpa tedavi ajanları olduğu gözlenmektedir (Schroder 1985; Bogen ve ark. 2008; Bogovic ve ark. 2011; Erdem ve ark. 2011; Becker ve Lang 2019). Kalsiyum silika bazlı materyaller grubunda yer alan, başarı oranlarının yüksek olması nedenleri ile altın standart olarak kabul edilen mineral trioksit agregat (MTA) ise günümüzde çocuk diş hekimliğinde uygulanan vital pulpa tedavilerinin klinik, radyografik ve histolojik başarısında önem taşıyan bir pulpa ajanı olarak tanımlanmaktadır (Chang ve ark. 2015; Cintra ve ark. 2017; Güven ve ark. 2017; Tomás-Catalá ve ark. 2018; Jiménez-Sánchez ve ark. 2019).

İnsan vücudunda olumlu etkiler gösteren çeşitli bitkilerin, eski çağlardan beri tıpta tedavi amaçlı olarak kullanıldığı; bitkisel ajanlardan ilaç içeriklerinin oluşturulmasına yönelik deneysel araştırmaların yapıldığı ve planlandığı görülmektedir (Faleiro ve ark. 2009; Takashi ve ark. 2009; Gupta ve ark. 2013; Hou ve ark. 2016; Meng ve ark. 2013; Kunnumakkara ve ark. 2017; Hewlings ve ark. 2017; Teplicki ve ark. 2018; Li ve ark. 2019). Bitkisel ajanların, tıp alanının yanısıra diş hekimliğinde in vitro ve klinik çalışmalarda uygulandığında da başarılı bulgular elde edildiği bildirilmektedir (Jittapironsak ve ark. 2010; Karuppiyah ve Rajaram 2012; Yaman ve ark. 2012; Mohan ve Gundappa 2013; Cantekin ve Gümüş 2014; Purohit ve ark. 2017; Cusicanqui ve ark. 2018; Méndez ve ark. 2018; Cusicanqui ve ark. 2018; Prabhakar ve ark. 2019).

Diş hekimliği tedavilerinde kullanılan bitkisel ajanlar incelendiğinde, bitkilerin sıklıkla antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özelliklerinden yararlanıldığı öne

sürülmektedir. Çocuk diş hekimliğinde bitkisel içerikli çeşitli vital pulpa tedavi ajanları kullanılarak son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda, *Curcuma longa* ve *Aloe vera* bitkilerinden oluşturulan ajanların kullanıldığı görülmekte; bu bitkilerin antienflamatuar, antimikrobiyal ve biyouyumluluk özelliklerine sahip olduğu ve sert doku oluşumunu indüklediği, klinik ve radyografik başarısının ise yüksek olduğu belirtilmektedir (Chaitanya ve ark. 2016; Sholehvar ve ark. 2016; Songsiripraduboon ve ark. 2017; Hugar ve ark. 2017; Purohit ve ark 2017; Prabhakar ve ark. 2019; Sinjari ve ark. 2019).

Klinik çalışmalarda bitkisel ajanların yanısıra, vitamin ve mineral içerikli antioksidan özelliğe sahip farklı materyallerin de çocuklarda vital pulpa ajanı olarak uygulandığı, antioksidan özellikteki bu materyallerin pulpa dokusunun immün yanıtına yardımcı olduğu, rejenerasyonu ve sert doku oluşumunu indüklediği, klinik ve radyografik başarı gösterdiği bildirilmektedir (Reddy ve ark. 2014; Kathal ve ark. 2017).

Vital pulpa tedavilerinde kullanıldığı gözlenen bitkisel ve antioksidan içerikli ajanların pulpa hücrelerinde oluşturdukları etkileri inceleyen çalışmalar incelendiğinde, *Curcuma longa* ve *Aloe vera* esaslı bitkisel ya da vitamin ve mineral içerikli antioksidan materyallerin insan dental pulpa hücrelerinde oluşturduğu proliferatif/sitotoksik etkilerini ve sert doku indükleme potansiyellerini değerlendiren in vitro deneysel çalışmaların ise yetersiz olduğu veya hiç bulunmadığı görülmektedir.

Bu tez çalışması, vital pulpa tedavi ajanları olarak son yıllarda kullanıldığı gözlenen bitkisel ajanlardan *Curcuma longa* ve *Aloe vera* bitkilerinin özütleri kurkumin ve aloinin, vitamin-mineral içerikli bir antioksidan karışımın ve günümüzde altın standart olarak kabul edilen MTA'nın, farklı doz/konsantrasyon ve zaman aralıklarında, insan dental pulpa kök hücreleri üzerinde oluşturduğu sitotoksikite ve alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi düzeylerinin, WST-1 ve ELISA testleri ile incelenmesi; elde edilen bulguların materyaller ile etkileşime girmemiş dental pulpa hücrelerinden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amacı ile gerçekleştirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pulpa Dokusu

Diş pulpası, dişin kök kanalları ve pulpa odasında bulunan, vaskülarizasyon ve innervasyon yeteği olan, birbirinden farklı göreve sahip birçok hücre içeren, farklılaşma yeteneğine sahip kök hücrelerden oluşmuş mezenkimal kökenli yumuşak bağ dokusudur (Cohen ve Burns 2002 pp 5-39; Lambrechts ve ark. 2017). Pulpa dokusu, dişin apikal forameni ve kök boyunca bulunan aksesuar kanalları aracılığı ile önce periyodonsiyumla ve ardından vücudun diğer sistemleri ile ilişki halindedir. Pulpa içerisinde odontojenik özellik gösteren hücrelerin yanında savunma, beslenme, duyu algılama görevlerinden sorumlu hücreler ile birlikte ekstrasellüler matriks, kan damarları ve sinir ağı da bulunmaktadır. Pulpa dokusunu kaybeden dişlerin, doğal biyolojik savunma özelliklerini yitirdikleri, çürüğe ve apikal periodontitise daha yatkın hale geldikleri bilinmektedir (Bayırlı 1999 pp. 41-84.; Tziafas ve Kodonas 2010; Itoh ve ark. 2018).

Pulpa ve dentinin birbirleriyle olan bütünlükleri nedeni ile pulpa dentin kompleksi olarak tanımlanmakta ve pulpa ya da dentinde meydana gelen fizyolojik veya patolojik oluşumlardan birlikte etkilenebildiklerinden bir bütün olarak değerlendirilmeleri gerekmektedir (Camp ve Fuks 2006 pp. 834-59; Pashley ve Liewehr 2006 pp. 460-513).

Dentin yapısının yaklaşık %70'ini, çoğunluğunu hidroksiapatitin oluşturduğu inorganik matriks kaplarken, %20 kütesini kollajenden zengin organik matriks ve kalan %10'luk kısmını ise su oluşturmaktadır. Süt ve sürekli dişlerin dentin yapıları birbirine benzer olmakla birlikte süt dişi, prenatal ve postnatal dentin olmak üzere iki katmandan oluşmaktadır (Pashley ve ark. 2002 pp 63-94).

Diş gelişimi sırasında oluşan dentin primer dentin; kök gelişimi tamamlandıktan sonra oluşan dentin sekonder dentin; çürük, restoratif işlemler, kimyasal uyarılar, atrizyon, travma gibi uyarılara karşı dişin hayatı boyunca oluşturduğu dentin ise tersiyer dentin olarak tanımlanmaktadır. Tersiyer dentin aynı zamanda reperatif ya da reaksiyoner dentin olarak da adlandırılmaktadır (Mjör ve Ferrari 2002; Pashley ve Liewehr 2006 pp. 460-513; Özçobanoğlu ve Durutürk 2013).

Pulpa dokusu birbirleri ile ilişkili dört tabakadan ve her tabakanın içerdiği çeşitli hücrelerden oluşmaktadır. Pulpa tabakaları şu şekilde tanımlanmaktadır:

Odontoblast tabakası; sağlıklı pulpanın en dış tabakasıdır. Predentin tabakası ile bağlantılıdır ve odontoblastların hücre gövdelerinden, kılcıl damarlardan, sinir liflerinden ve dendritik hücrelerden oluşmaktadır. Pulpanın en kural kısmında yer almaktadır ve dentinin organik içeriğinin oluşumundan sorumludur.

Hücreden fakir tabaka; göreceli olarak hücresiz kabul edilen bir katmandır. Odontoblast tabakasına bitişiktir ve kılcıl damarlardan, miyelinsiz sinir liflerinden, fibroblastların sitoplazmik uzantılarından oluşmaktadır.

Hücreden zengin tabaka; çok fazla sayıda fibroblast barındırmanın yanı sıra, lenfosit, dendritik hücre, diferansiye olmamış kök hücre içermektedir. Bu hücreler hasar görmüş dentinin yerine yeni dentin yapılmasında rol oynamaktadırlar.

Pulpa merkezi; kan damarlarının, sinir ağının ve kollajen fibrillerin en yoğun olarak bulunduran tabakadır (Murray ve ark. 2002; Cohenca ve ark. 2013; Dammaschke ve ark. 2019).

Pulpa, odontoblast, fibroblast, makrofaj, dendritik hücreler, lenfositler, mast hücreleri, diferansiye olmamış hücreler gibi çok çeşitli ve fazla sayıda hücre içermektedir. Pulpanın içerdiği hücrelerin özellikleri ve görevleri şu şekildedir:

Odontoblastlar; pulpanın en dış tabakasında, predentinin altında yer almaktadır ve gevşek bağ dokusu olan pulpa ile predentin birbirinden ayırmaktadır. Dış gelişimi ve olgunlaşması sırasında dentinogeneziste görevli olmasından dolayı dentin pulpa kompleksinin en karakteristik hücresi kabul edilmektedir. Görevi; dentinogenezis döneminde kollajen fibrillerden ve proteoglikanlardan oluşan matriksi sentezlemek ve dentin mineralizasyonunu sağlayan asit fosfataz ve alkalin fosfataz enzimlerini salgılamaktır. Odontoblastlar, kollajen sentezinin yanı sıra proteoglikan, dentin sialoproteini ve fosforin sentezinde de görev almaktadırlar. Bunların içinde fosforin yalnızca dentine özgü bir proteindir ve diğer mezenkimal hücrelerde oluşmamaktadır.

Odontoblastlar; hücre gövdesi ve hücre uzantısı şeklinde iki ana bölümden meydana gelmektedirler. Hücre gövdesi kısmı henüz mineralize olmamış dentin olan predentin tabakasının alt kısmında yer almaktadır ve hücrenin sentez görevini üstlenmektedir. Hücre uzantıları ise dentin kanalcıklarının içine doğru ilerlemektedir ve Tomes Lifi adını almaktadır; peritübüler dentin yapımında görevli olmakla birlikte uzantılar dentin kanalcıkları içerisinde de yan dallar aracılığıyla birbirine bağlanmaktadır.

Bu bağlantı hücrel aktivitenin uyumlu şekilde gerçekleşmesini, molekül, sıvı, elektrolit akımının düzenlenmesini sağlarken aynı zamanda oluşan dış çürüğünün de dentin içerisinde ilerlemesini kolaylaştırmaktadır (Kiji 2002 pp. 460-513; Özçobanoğlu ve Durutürk 2013). Hücreler arasında yaklaşık 30-40 µm boyutunda boşluklar ve hücre bağlantılarını sağlayan desmozom, geçirgen (gap junction) ve sıkı (tight junction) bağlantılar gibi oluşumlar yer almaktadır. Geçirgen bağlantılar hücreler arasında küçük molekül geçişlerine izin verirken, sıkı bağlantılar odontoblastların daha çok apikal bölgesinde yer almakta ve sıvı ya da molekül geçişine engel olmaktadır (Torabinejad ve Walton 2011 pp. 1-20).

Pulpanın kuron kısmında odontoblastların şekli sütun biçiminde olmakta ve kollajen sentezinin sağlanmasından ve mineralize olabilen, düzenli kanalları barındıran normal dentin yapımından sorumlu kabul edilmektedir. Kök boyunca apikal foramene doğru şekli kübikleşmekte ve daha az düzenli kanallara sahip amorf dentin oluşturmaktadır. Odontoblast sayıları en fazla pulpa boynuzunda bulunurken, servikal bölge ve kökün orta kısmında kural oranla azalmaktadır. Odontoblastlar farklılaşma evrelerinin son aşamalarında olduklarından daha fazla bölünememektedirler (Pashley ve ark. 2002 pp 63-94; Cohenca ve ark. 2013; Dissanayaka ve Zhang 2017).

Fibroblastlar; pulpada en çok bulunan hücrelerdir ve daha çok kural bölgede yer almaktadır. Hücre içi matriksin yapımında ve kollajen yapımında görev almaktadırlar. Tip I ve Tip III kollajen, glikozaminoglikan, proteoglikan, fibronektinin sentezinden sorumludurlar. Genç fibroblastların farklılaşma yeteneği yüksek olduğu için pulpanın yaşı ve canlılığı fibroblastların durumu ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Fizyolojik kök rezorpsiyonu henüz başlamamış süt dişlerindeki fibroblastların yapısı sürekli dişlerdeki fibroblast yapısı ile benzer görülürken, fizyolojik kök rezorpsiyonu başlamış süt dişlerinde fibroblast yapılarında sitoplazmik değişiklikler görülmektedir (Greeley 1981 pp. 456-460; Pashley ve Liewehr 2006; Da Rosa ve ark. 2018).

Savunma hücreleri; makrofajlar, dendritik hücreler, lenfositler, polimorfonükleer lökositler, mast hücreleri, bu grup altında pulpa savunma mekanizmasında rol almaktadır. Kan dolaşımı ile pulpaya ulaşan makrofajlar endositoz ve fagositoz görevini üstlenirken, dendritik hücreler tüm bağ dokularda olduğu gibi pulpa içerisinde de antijen sunucu olarak çalışmaktadırlar. Sağlıklı pulpada T lenfositler yüksek oranda bulunurken B lenfositlere daha az rastlanmaktadır. Polimorfonükleer lökositler sağlıklı pulpada az

miktarda bulunmakta, mast hücreleri ise kronik enflamasyonlu pulpada rol almaktadırlar (Cohen ve Burns 2002 pp 5-39; Alaçam 2012 pp. 41-70).

Diferansiye olmamış mezenkimal hücreler; pulpa merkezinde ve hücreden zengin tabakada bulunmaktadır. Rejenerasyon sırasında fibroblastlara ve odontoblastlara, inflamasyon durumunda da makrofajlara ve odontoklastlara farklılaşma özelliklerini barındırmaktadırlar. Pulpa yaşlandıkça sayıları azalacağı için pulpanın kendini tamir kapasitesinin de azalacağı bildirilmektedir.

Ekstrasellüler matriks; kollajen lifler, kıvamı jelatine benzer amorf biçimli matriks ve kılcal kan damarlarından oluşan doku sıvılarından oluşmaktadır. Esas maddesi olan proteoglikanlardan dolayı şişkin bir görüntüye ve yapışkan jelöz bir kıvama sahip olmaktadır ve pulpanın ekstirpe edilmesine rağmen şeklini koruması bu yapıyla ilişkilendirilmektedir. İçeriğindeki başlıca proteoglikanlar; kondroitin sülfat, heparan sülfat, hyaluronik asit, dermatan sülfat olarak belirtilmiştir. Bu bileşikler pulpa içerisindeki kollajenin üretimi ve çoğaltılmasında, yara iyileşmesi prosedüründe, hücre proliferasyonunda, enfeksiyon ve inflamasyon proseslerinde görev almaktadırlar. Aktif dentinogenezis sürecinde en fazla bulunan proteoglikan kondroitin sülfat olurken, diş sürmesinden sonra miktarı oldukça azalmakta ve hyaluronik asit ve dermatan sülfat miktarında önemli artış olmaktadır. Ayrıca ekstrasellüler matriks hidrofilik yapısından dolayı genç pulpada yaklaşık %90 oranında su bulundurmaktadır ve esneme potansiyelini arttırarak gelen kuvvetlere karşı pulpayı koruma altında tutmaktadır. (Cohen ve Burns 2002 pp 5-39; Gloe ve Pohl, 2002; Pashley ve Liewehr 2006; Alaçam 2012 pp. 41-70; Dissanayaka ve Zhang 2017).

Pulpanın bağ dokusu lifleri; temel görevi pulpa dokusuna destek sağlamak olan lifler, kollajen lifler ve retiküler lifler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Retiküler lifler, arterioller ve odontoblastların çevresinde yer almakta ve pulpa içerisinden başlayarak predentinin ağ yapısına dahil olmaktadır. Retiküler lifler, ‘Von Korff Lifleri’ olarak da bilinmektedir. Kollajen lifler ise; en sık pulpanın hücreden zengin tabakasında, kuronal pulpada dağınık biçimde yer almaktadır. Dentinde en çok Tip I kollajen, pulpada ise Tip I ve Tip III kollajen beraber bulunmaktadır; Tip I kollajen odontoblastlar tarafından sentezlenirken, fibroblastlar hem Tip I hem Tip III kollajenin sentezinden sorumlu olmaktadır. Sentezlendikten sonra pulpa canlılığı devam ettiği sürece pulpadan uzaklaşmadıklarından dolayı pulpa yaşı arttıkça kollajen miktarı da

birikime bağılı olarak artmaktadır (Bayırlı 1999 pp. 41-84; Torabinejad ve Walton 2011 pp 1-20; Itoh ve ark. 2018).

2.1.1. Pulpanın Sinirsel Uyarımı

Pulpa duyarlılığı, pulpa içerisinde bulunan miyelinli A-delta ve miyelinsiz C lifleri tarafından sağlanmaktadır. Farklı patofizyolojik özellikler altında çalışan her iki duyuşal sinir lifi de beyne nosiseptif uyarılar iletmektedir. Sinir liflerinin sinirsel uyarıyı iletim farklılığına bağılı olarak, ağrının karakteristik özellikleri tanımlanabilmektedir. A lifleri miyelinli ve geniş yapılı olduklarından dolayı sinirsel iletiyi 2-35m/sn hızda iletmekte ve mekanik, elektriksel ve termal uyarıların neden olduğu keskin ve batıcı tipteki ağrının algılanmasında rol almaktadırlar. C lifleri, miyelinsiz ve dar yapıları nedeni ile 0,7-1,5m/sn hızında iletim yapabilmekte ve sızı, karıncalanma gibi yanıcı, devamlı, künt ve gecikmiş ağrının algılanmasını sağlamaktadırlar (Koutsis 1994; Cohen ve Burns 2002 pp 5-39; Lambrichts ve ark. 2017).

2.1.2. Pulpanın Kan Dolaşımı

Pulpa içerisindeki kan damarları, dişin foramen apikale bölümünden pulpa içerisine girmekte ve yelpazeye benzer şekilde yan damarlar vererek koronal pulpaya doğru ilerlemektedir. Pulpa içerisinde arter ve venler yerine yaklaşık 100 µm çapında arterioller ve yer yer 200 µm çapına ulaşabilen venüller yer almaktadır. Pulpanın kendine özgü mikrodolaşım niteliğinde kan dolaşımının olduğu belirtilmektedir (Trowbridge 1981; Pashley ve Liewehr 2006). Bu kapiller ağ içerisinde arterioller odontoblastlara ulaşarak özellikle odontoblast aktivitesinin yoğun olduğu dönemlerde metabolitler açısından besin kaynağı olarak hücreleri beslemektedirler. Kan damarları arasındaki pencere şeklinde boşluklar ile intersisyal sıvı aracılığıyla odontoblastlar ve kan damarları arasında besin ve artık madde alışverişi sağlandığı görülmektedir. Pulpa içerisine gelip pulpa aktivitelerinde kullanılan kan, ardından venüller aracılığı ile apikal foramenden dışarı çıkmaktadır. Bu şekilde gelen kan akımının pulpa içerisinde tam tur yol alması sağlanmaktadır (Mjör ve ark. 2001; Pashley ve Liewehr 2006; Da Rosa ve ark. 2018).

Pulpa içerisinde kan akımının düzenli sağlanabilmesi adına kan damarları pulpanın her bölgesinde bulunmakta ancak koronal kısımda apikale oranla 2 kat daha fazla yer almaktadır. Koronal pulpa bölümlerinden pulpa boynuzu kısmında ise damar ağının daha fazla yoğunluğa sahip olduğu bilinmektedir (Kim ve Schuessler 1983; Lambrichts 2017).

Pulpa içerisinde arteriyoller ve venüller arasında arteriyovenöz anastomozlara rastlanmakta, bu oluşumların görevinin ise, arteriyollerden venüllere kan geçişini sağlamak olduğu belirtilmektedir. Arteriol ve venüller pulpa içerisinde kan akımının düzenlenmesinde etkin rol oynamaktadır. Sağlıklı süt dişleri ve sürekli dişler arasında damarsal yapılar bakımından pek fazla farklılığa rastlanmamakla birlikte, süt dişlerinde arteriyovenöz anastomozlar görülmemektedir (Fox ve Heeley 1980; Rapp 1992; Cohen ve Burns 2002 pp 5-39; Lambrichts ve ark. 2017).

2.1.3. Pulpanın Lenf Dolaşımı

Pulpanın lenfatik sistemi, pulpanın merkezindeki damarlarla pulpanın çevresindeki küçük ve ince duvarlara sahip lenfatik damarlardan oluşmaktadır ve bu damarlar arasındaki boşluklardan intersisyal sıvı yardımıyla hücre artıkları, plazma proteinleri, lenfositlerin taşınması sağlanmaktadır. Pulpadan lenfatik damarlar ile dışarı çıkarılan maddelerin, periodontal ligament yolu ile bölgesel lenf noduna drenajı sağlanmaktadır (Torabinejad ve Walton 2011 pp 1-20).

2.2. Pulpanın Görevleri

2.2.1. Dentin Oluşumu

Odontoblast hücreleri, dental papillanın ektomezenşimal kökenli hücrelerinden gelişmektedir ve diş oluşum mekanizmasında primer dentin yapımında rol almaktadır. Pulpanın sub-odontoblast tabakasının altındaki pulpa hücreleri ise dentinogenezise destek veren hücreler olmaktadır. Primer dentinogenezisin ardından çok daha yavaş biçimde, diş yaşamı boyunca sekonder dentin salgılanması devam etmektedir ve zamanla pulpa boşluğu oluşan dentinle daralmaktadır (Linde ve Goldberg 1993). Pulpa hasarı karşısında, dentin-pulpa kompleksi birlikte yanıt vererek, diğer dentin tiplerinden farklı olarak yeni ve daha az geçirgen bir yapıya sahip sert doku oluşturmakta ve bu yapı tersiyer dentin adını almaktadır (Tziafas ve ark. 2000). Tersiyer dentin de reaksiyonel ve reparatif dentin olmak üzere iki farklı yapı içermektedir. Hafif uyarılar karşısında, düşük inflamasyon sonucunda oluşan dentine reaksiyonel dentin; şiddetli uyarana karşı, yoğun inflamasyona yanıt olarak oluşturulan dentine ise reparatif dentin adı verilmektedir (Bleicher 2014).

Dentin oluşumunda görev alan dentin matriksinin, uygun koşullarda salgılanmaya hazır halde bekleyen biyoaktif moleküller içeren bir yapı olduğu; reaksiyoner yanıtlara

karşın oluşan reperatif dentinogenezisin ise çok daha karmaşık biyolojik süreçler içerdiği bildirilmektedir (Tziafas ve ark. 2000; da Rosa ve ark. 2018).

2.2.2. Pulpanın Besleyici Görevi

Pulpa damarları, oksijen ve besin desteği sağlayan, pulpa için zengin bir besleyici ağ yapısındadır. Odontoblastik tabaka içerisinde yer alan uzantılar da beslenme görevine destek sağlamaktadır (Bayırlı 1999 pp. 41-84; Rosa ve ark. 2018).

2.2.3. Pulpanın Sinirsel Görevi

Pulpa duyu liflerinden santral sinir sistemine uyarı ve bilgi taşıyabilen, sinir ağı geniş bir dokudur. Pulpayı gelen uyarılar miyelinli (A lifi) ve miyelinsiz (C lifi) sinir lifleri yardımıyla taşınmaktadır. Pulpa içerisinde yer alan sinirsel lifler ve kan damarları birlikte çalışarak kan akımının ve pulpa içi basıncın da ayarlanmasında rol oynamaktadırlar (Bayırlı 1999 pp. 41-84; Alaçam 2012 pp. 41-70; Cohen ve Burns 2002 pp 5-39).

2.2.4. Pulpanın Savunma Görevi

Pulpanın kendini savunması iki şekilde gerçekleşebilmektedir. Çürük, travma ya da restoratif prosedüre bağlı pulpada gelişen bir hasar sonucu dentin devamlılığının bozulduğu ya da dentin kalınlığının azaldığı durumlarda, yeni odontoblast oluşumunun indüklenmesi ve farklılaşmasının ardından yeni dentin oluşumunu sağlamaktadır.

Pulpa enflamasyonunda ise, bakteri toksinlerini ayırt ederek uygun immun yanıtı oluşturmada ve kendini korumaktadır (Torabinejad ve Walton 2011 pp 1-20; da Rosa ve ark. 2018).

2.3. Pulpanın Uyarılara ve Tedavilere Karşı Dentin Yanıtı

2.3.1. Uyarılara Karşı Dentin Yanıtı:

Hafif çürük lezyonu ya da travma gibi patolojik durumlar, tersiyer dentin oluşumu için odontoblastlara sinyal niteliğinde olmaktadır. Uyarı neticesinde, pulpada dentin sınırından yeni matriks salgılanması başlamakta ve yaralanma bölgesinde daha az geçirgen ve sklerotik dentin oluşmaktadır. Patolojik durumlarda ya da atrizyon gibi fizyolojik koşullarda oluşan tersiyer dentin, pulpa-dentin kompleksinin savunma mekanizması olduğu için, fizyolojik süreçte oluşumu gözlenen sekonder dentin oluşumundan daha hızlı olmaktadır. Oluşan tersiyer dentinin kalitesi tübüler yapısına

bağlı olmakta ve bölgenin geçirgenliğini belirlemektedir. Tersiyer dentin oluşturan, aynı zamanda primer ve sekonder dentinogenezisten de sorumlu olan hücreler odontoblastlar olduğu için, fizyolojik dentinogeneziste oluşan dentin ile tersiyer dentin arasında tübüler bağlantı ve iletişim devam etmektedir. Bu nedenle, tersiyer dentin oluşumu da dentinogenezisin devamı olarak kabul edilebilmektedir. Pulpanın yaralanma bölgesindeki odontoblastların da hasar gördüğü durumlarda, pulpada uygun koşullar sağlanabildiğinde, pulpa hücrelerinden odontoblast benzeri hücreler, yeni dentin matriksini oluşturmak amacıyla farklılaşabilmektedir. Farklılaşmış hücrelerden oluşan dentin yapısının fizyolojik dentinogeneziste oluşan dentin yapısı ile tübüler bütünlük gösteremediği belirtilmektedir (Byers ve Narchi 1999; Tziafas ve Kodonas 2010; Fuks 2019 pp. 483-493).

Odontoblastik aktiviteyi indüklemeye mekanizmasında, hücresel düzeyde birçok sinyal oluşumu gözlenirken, transforme edici büyüme faktörleri (Transforming Growth Factor-beta, TGF- β) öne çıkmaktadır. Diş gelişimi sırasında, odontoblastlar TGF- β salgılamakta ve oluşan dentin matriksi içerisinde de bir miktar TGF- β kalmaktadır. Bu nedenle, dentin yapısı yalnızca inert diş sert dokusu olarak görev almamaktadır, içeriğindeki biyoaktif moleküllerden dolayı potansiyel aktif hücre stoğu olarak düşünülmektedir (Tziafas ve Kodonas 2010; Fuks ve ark. 2016 pp 149-152).

2.3.2. Tedavilere Karşı Sert Doku Oluşumu:

Vital pulpa tedavilerinde kullanılan materyallerin sert doku oluşturma potansiyeli, değerlendirilmesi gereken kriterler arasında yer almaktadır. Yapılan deneylerde sert doku oluşumunu indüklemeye yeteneği bazı belirteçler ile anlaşılmaktadır. Sert doku oluşumunda erken dönem belirteç olarak alkalen fosfataz enzimi aktivitesi ve tip 1 kollajen oluşumu kullanılırken geç dönem belirteçleri olarak da osteonektin, osteopontin, osteokalsin değerlendirilmektedir (Lin ve ark. 2011; Chang ve ark. 2015).

Alkalen fosfataz, plazma membranına bağlı bir enzim olmakta ve reaksiyon esnasında serbestlediği fosfat iyonları ile kalsiyum iyonları birleşerek hidroksiapatitin bir birimi olan kalsiyum fosfatı oluşturmaktadır. Çalışmalarda sert dokunun oluşum hızı alkalen fosfataz enzim salgılanmasındaki artış miktarı ile ilişkilendirilmektedir. Mineralize dokudaki hücrelerin fenotipinin ya da gelişimsel olgunluk dönemi değerlendirilmesi için alkalen fosfataz enzim ölçümünün en fazla tercih edilen belirteç olduğu belirtilmektedir (Golub ve Battaglia 2007; Siller ve Whyte 2019).

2.4. Vital Pulpa Tedavileri

Mine ve dentinle çevrelenmiş dental pulpa, dişin merkez kısmında bulunan ve pulpa hücreleri, odontoblastlar, savunma hücreleri, nöronlar, endotelyal hücreler, ekstrasellüler matriks gibi birçok yaşayan hücreyi içerisinde barındıran dinamik bir yapıdır. Pulpa, canlılığını koruyabildiği sürece görevlerini yerine getirebilmektedir. Bu nedenle; geri dönüşümlü pulpa hasarına neden olan diş çürüklerinde, diş sert dokularında çeşitli nedenlere bağlı olarak oluşan madde kayıplarında, kök gelişimi tamamlanmamış açık apekse sahip dişlerde vital pulpa tedavileri büyük önem taşımaktadır (Komabayashi ve ark. 2016). 2015 yılında Belçika’da düzenlenen ‘International Caries Consensus Collaboration’ toplantısında, derin çürük lezyonlarının tedavisinde birincil hedefin pulpal sağlığın korunması olduğu vurgulanmıştır (Schwendicke ve ark. 2016).

Pulpa ekspozu üç farklı nedenle gerçekleşebilmektedir. Derin dentin çürükleri pulpaya ulaştığında çürük kaynaklı pulpa ekspozu görülebileceği gibi diş tedavileri sırasında mekanik işlemlere bağlı olarak ya da travma sonucu diş kırıklarında pulpa açığa çıkabilmektedir (Komabayashi ve ark. 2016). Pulpanın ekspoz olduğu ya da olmadığı durumlarda uygulanabilen vital pulpa tedavileri, pulpayı koruma amaçlı, biyomateriyalin pulpaya direkt ya da indirekt olarak uygulanarak pulpa sağlığının devamını amaçlayan tedavilerdir ve indirekt kuafaj, direkt kuafaj, parsiyel pulpotomi ve pulpotomi tedavilerini içermektedir (Tziafas ve ark. 2000).

İndirekt pulpa kuafajı, pulpa dokusuna yaklaşmış, derin çürük lezyonuna sahip ancak pulpa dejenerasyonuna ilişkin herhangi bir klinik ve radyografik bulgunun saptanmadığı süt ve sürekli dişlerde pulpa canlılığını korumaya yönelik olarak uygulanan bir tedavi yöntemidir (Chousein ve Durutürk 2014). Bu yöntemde, çürük lezyonunun pulpaya en yakın tabakası, pulpa perforasyonun önlenmesi ve yeni bir travmadan kaçınılması amacı ile bırakılarak biyoyumlu bir materyal ile üzeri örtülenmektedir. Çürük tabakası içerisinde kalan mikroorganizmaların ise zaman içerisinde inaktive hale dönüştüğü belirtilmektedir (Smith ve Smith 1998; Fuks 2002). Çalışmalar, doğru endikasyon varlığında, uygun yöntem ve materyal uygulandığında indirekt pulpa kuafajının süt dişlerindeki başarı oranının %90’ın üzerinde olduğunu bildirmektedir. (Farooq ve ark. 2000; Straffon ve Loos 2000; Falster ve ark. 2002; Dammaschke ve ark. 2019).

Direkt pulpa kuafajı; restoratif prosedürler sırasında ya da travma nedeni ile ekspoz olmuş sağlıklı pulpanın vitalitesini korumayı ve pulpa üzerinde mineralize doku oluşturmayı amaçlayan tedavi yaklaşımıdır. Tedavinin uygulanabilmesi için, dişin asemptomatik ve kontamine olmamasının gerekliliği bilinmektedir. Direkt pulpa kuafaj tedavisinin başarısı; ekspoz olmuş pulpa boyutu, pulpanın kanama niceliği ve niteliği, hastanın yaşı, pulpanın bakteri kontaminasyonu, perforasyonun lokalizasyonu gibi birçok etkene bağlı olmaktadır. Bazı araştırmacılar, direkt pulpa kuafajında kullanılan biyomateryallerin en önemli özelliğinin sert doku oluşumunu indüklemesi olduğunu belirtmektedir (Alaçam 2012 pp. 41-70; Ricketts 2001; Çalışkan 2006 pp 31-82; Komabayashi ve ark. 2016).

Parsiyel pulpotomi; travmatik yaralanmalar ya da çürük nedeniyle pulpası ekspoz olmuş genç sürekli dişlerde pulpa vitalitesinin devamlılığının sağlanabilmesi için pulpanın etkilenmiş bölümünün çıkarıldığı, kalan kural ve radiküler pulpanın ise devamlılığının sağlanmasının amaçlandığı, başarılı sonuçlar oluşturabilen bir tedavi yöntemidir (Cvek 1978; Gökçek ve Bodrumlu 2016). Kök oluşumu tamamlanmamış genç sürekli dişlerdeki yoğun kan akımının iyileşme sürecinde etkin rol oynadığı düşünülmektedir (Fuks 2000). Bu tedavi yönteminin hem komplike kural kırıkları görülen anterior dişlerde ve hem de çürük ile ekspoz olmuş pulpaya sahip posterior genç sürekli dişlerde %90'ın üzerinde başarı oranına sahip olduğu belirtilmektedir (Zilberman ve ark. 1989; Mejarel ve Cvek 1993; Fuks 2019 pp.483-493).

Pulpotomi; çürüğün pulpa dokusuna ulaştığı ya da travma sebebiyle ekspoz olan pulpada, kural pulpanın çıkarılması ve kök pulpa vitalitesinin devam ettirilmesi amacı ile kanal pulpası üzerine biyomateryal uygulanması yöntemi olarak tanımlanır. Pulpotomi tedavisinin, şişlik, ağrı, mobilite, fistül, perküsyon ve palpasyonda ağrı, patolojik kök rezorpsiyonu, periapikal ya da interradiküler radyolüseni, pulpa kalsifikasyonları, pulpada aşırı kanama bulgularını gösteren olgularda kontrendike olduğu bildirilmektedir (Fuks 2008; Erdem ve ark. 2011, Komabayashi ve ark. 2016; Fuks 2019 pp.329-351). Çalışmalarda, tanının doğru konulduğu genç sürekli dişlerde uygulanan pulpotomi tedavisinin başarısının ise yüksek olduğu ve kanal tedavisine alternatif bir tedavi olduğu belirtilmektedir. Günümüzde, pulpa rejenerasyonu üzerine çalışmaların hız kazanması ve geliştirilen biyomateryaller nedeni ile minimal invaziv endodontik tedavilere verilen önemin arttığı vurgulanmakta, kök ucunun kapandığı ve çürüğe bağlı ekspoz olmuş

sürekli dişlerde de pulpotomi tedavisinin başarılı klinik sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Becker ve Lang 2019; Elmsmari ve ark. 2019).

2.5. Vital Pulpa Tedavilerinde Başarıyı Etkileyen Faktörler

Bakteriyel kontaminasyon, vital pulpa tedavilerinde başarıyı etkileyen en önemli kriterler arasında kabul edilmektedir. Pulpa iltihabı ve pulpa nekrozu oluşumunun önlenmesinde ve başarılı dentin köprüsü oluşmasında pulpanın bakteri izolasyonu önemli bir yere sahip olmaktadır. Bakteri kontaminasyonunu önlemek için, kavite preparasyonu sırasında, kavite tükürükten izole edilmeli, pulpaya yaklaştıkça steril frez kullanılmalı ve hermetik kaplama sağlayan bir ajan kullanılmalıdır (Mjör ve Ferrari 2002; Murray, Hafez ve ark. 2002; Hilton 2009; Akhlagi ve Khademi 2015).

Perforasyon büyüklüğü; pulpa perforasyonunun büyüklüğü arttıkça, tedavinin başarı oranının düşük olacağı kanısı bulunsa da, pulpanın inflamasyon durumu ve mikrobiyal kontaminasyonun perforasyon büyüklüğüne kıyasla, iyileşme sürecinde daha etkili olduğu bildirilmektedir (Kupietzky ve Holan 2003; Belobrov ve ark. 2008).

Kanama kontrolü; pulpanın ekspozе olduğu durumlarda, pulpanın kanama miktarı perforasyonun büyüklüğüne, açılan pulpa damarlarının miktarına ve inflamasyon şiddetine bağlı olmaktadır. Pulpa kanamasının niceliği ve niteliği pulpa sağlığına ilişkin bilgi vermektedir. Ekspozе olmuş pulpada kanamanın renginin koyu olduğu ve kolay durdurulamadığı durumlarda vital pulpa tedavilerinin başarılı olmadığı belirtilmektedir (Stockton 1999; Murray, Windsor ve ark. 2002; Cao ve ark. 2016).

Pulpanın yaşı; genç pulpa dokusunda aktif hücreler yoğunlukta iken, yaşlı pulpada bu hücrelerin yerini fibrötik doku almaya başlamış ve kalsifik birikintiler artmaya başlamıştır. Pulpa yaşlandıkça, pulpa hücrelerinin farklılaşma ve yenilenme kapasiteleri azalmakta ve dolayısıyla pulpanın dış etkenlere karşı savunma gücünde düşüş gözlenmektedir. Genç pulpada tedavi başarı oranının daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Lim ve Kirk 1987; Alaçam 2012 pp. 41-70).

Kavite dezenfeksiyonu; kavite içerisinde kalan bakterilerin restorasyondan sonra da pulpaya difüze olabildiği, pulpada enflamasyona yol açabildiği belirtilmekte ve kavite dezenfektanı ya da dezenfektan etkili restorasyon materyallerinin kullanılması önerilmektedir (Brännström 1986; Murray, Hafez ve ark. 2002; Gökçek ve Bodrumlu 2016).

Kullanılan materyal; vital pulpa tedavilerinde kullanılan materyallerin antiinflamatuvar ve antibakteriyel özellikte olması, pulpanın kök hücrelerini uyarması, iyileşme potansiyelini arttırması, odontoblast diferansiyasyonunu indüklemesi gibi özelliklere sahip olmasının gerekliliği vurgulanmaktadır (Cohenca ve ark. 2013; Asgary ve ark.. 2014; Komabayashi ve ark. 2016).

2.6. Vital Pulpa Tedavilerinde Kullanılan Geleneksel Materyaller

Vital pulpa tedavilerinde geçmişten günümüze, farklı başarı oranları gösteren ve her zaman sert doku oluşum mekanizmasına yeterli katkıyı sağlayamayan, çeşitli materyallerin kullanıldığı görülmektedir. Pulpa tedavileri sonrası dentin ve pulpa dokusunda oluşan hücresel ve moleküler düzeydeki değişikliklerin, günümüzde kullanılan teknik ve materyallerin gelişmesine bağlı olarak in vitro çalışmalar ile başarılı düzeyde incelenebildiği belirtilmektedir (Fuks 2016 pp 149-152).

Vital pulpa tedavilerinde geçmişten günümüze kadar farklı materyallerin kullanıldığı görülmektedir:

Akışkan halde uygulanan kalsiyum hidroksitin, başka bir materyal ile kombine edilmiş kalsiyum hidroksite göre hidroksil iyonlarının salgılanma miktarına bağlı olarak sert doku oluşturma açısından daha etkili olduğu, ayrıca ışıkla sertleşen bazı formların ise ekspoz olmuş pulpa üzerine uygulanmasının pulpada sitotoksik etkiler gösterdiği belirtilmektedir. Ekspoz olmuş pulpa yüzeyine kalsiyum hidroksit materyalinin uygulanmasının, reparatif dentinogenezisi indüklemeye özelliği gösteren TGF- β ve kemik morfogenetik proteinin (bone morphogenetic protein, BMP) salgılanmasını sağladığı bildirilmektedir (Rutherford ve ark. 1994; Nakashima 1994; Tziafas ve ark. 1998; Hu ve ark. 1998; Graham ve ark. 2006; Subramaniam ve ark. 2006; Camilleri ve ark. 2014; da Rosa 2018; Dammaschke ve ark. 2019).

Formokrezol; 1874 yılından beri süt dişi vital pulpa tedavilerinde yüksek klinik ve radyografik başarı göstermesi nedeni ile dünyada en fazla kullanılan geleneksel ajanlardan biri olarak belirtilmekte; günümüzde sitotoksitesinin vurgulanması nedeni ile %19 formaldehit, %35 trikrezol, %15 gliserol, %50 su içeren orijinal Buckley formokrezolün 1:5 oranında seyreltilerek kullanılması önerilmektedir (Erdem ve ark. 2011).

Formokrezol uygulandığı pulpada fiksatif ve bakteriyostatik etkiler göstermektedir. Formokrezol pulpotomisi uygulanmış dişlerin histopatolojik olarak incelenmesinde, uygulanan pulpa yüzeyinde fiksasyon, 1/3 orta bölümünde sıklıkla kronik enflamasyon, 1/3 apikalde ise sağlıklı vital pulpa gözlemlendiği bildirilmiştir. Araştırmacılar formokrezol pulpotomisi sonrası fiksasyon tabakası altında pulpa dokusunda kronik enflamasyonun yanısıra progresif nekroz, fibröz ve kalsifik dejenerasyonlar oluşabildiğini belirtmişlerdir (Aktören 1988; Primosch ve ark. 1997; Olatasi ve ark. 2015).

2004 yılında Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (International Agency for Research on Cancer, IARC) tarafından formokrezolün mutajenik, sitotoksik, genotoksik ve karsinojenik özelliklerinin olduğunun bildirilmesi, hayvan deneylerinde uygulanması sonrası serbest kalan formaldehitin sistemik dolaşıma katılarak kas, karaciğer, böbrek, kalp, dalak, akciğer dokularında mutajenik ve sitotoksik etkiler oluşturduğunun gösterilmesi yeni materyal arayışlarına hız kazandırmıştır (Buckley 1904; IARC 2004; Kahl ve ark. 2008; Lewis 2009).

Ferrik sülfat; formokrezole benzer klinik ve radyografik başarı oranları göstermesi nedeni ile formokrezole alternatif bir ajan olarak önerilmiştir. Ferrik sülfat, pulpada hemostatik etki oluşturmakta, ferrik ve sülfat iyonları ile kan reaksiyona girerek aglutinasyon oluşturmaktadır. Günümüzde post-operatif klinik ve radyografik başarı oranlarının yüksek olması nedeni ile dünya çocuk diş hekimi kliniklerinde sıklıkla süt dişi pulpotomi tedavilerinde kullanıldığı, başarılı klinik ve radyografik sonuçlar elde edildiği görülmektedir (Bandi ve ark. 2017; Guven ve ark. 2017; Fang ve ark. 2019).

Dentin adezivler; hibridizasyonun doğru yöntem ile başarılı olarak oluşturulduğu dişlerde mikrosızıntıyı uzun dönemde başarı ile engelleyerek pulpayı koruduğu için kuafaj tedavilerinde kullanılabildiği görülmektedir (Cox ve ark. 1987; Cox 2002 pp. 325-43). Ancak çalışmalar, ajanların içerisindeki monomerlerin yetersiz polimerizasyonu sonucunda pulpada sitotoksikite oluşturabildiğini, artık monomerlerin pulpada nekroza yol açtığını bildirmiştir. Ayrıca dentin adezivlerinin içeriklerinin pulpa hücrelerinin sert doku oluşturmalarını inhibe ettiği belirtilmiştir (Galler ve ark. 2011). Araujo ve ark., çürükle ekspoz olmuş süt dişlerinde asitleme ve dentin adeziv uygulama yöntemiyle direkt kuafaj tedavisini uygulamışlar, 1 yıllık klinik ve radyografik takip sonucunda adezivlerin direkt kuafajda uygulanmasının başarılı olduğunu bildirmişlerdir (Araujo ve

ark. 1996). Araştırmacılar, tedavi edilen süt dişlerini histolojik olarak incelemişler ve ekspoz alanın bitişiğinde mikro-apseler oluştuğunu ve dentin formasyonunun gözlenmediğini belirtmişlerdir (Araujo ve ark. 1997). Pameijer ve Stanley adezivlerin direkt kuafajda kullanılması sonucu pulpada apseler gözlendiğini bildirmişlerdir (Pameijer ve Stanley 1998). İndirekt pulpa kuafajında adeziv rezin materyallerinin ve kalsiyum hidroksitin başarısının kıyaslandığı bazı çalışmalarda ise, kalsiyum hidroksitin adezivlere göre daha başarılı sonuçlar oluşturabildiği (De Souza Costa ve ark. 2001; Accorinte ve ark. 2005), dentin adezivlerinin biyoyumlu olarak kabul edilmediği ve pulpa kaplama ajanı olarak kullanımının önerilmediği bildirilmiştir (Modena ve ark. 2009; Akhlaghi ve Khademi 2015; Dammaschke ve ark. 2019).

Kalsiyum silika bazlı materyaller; biyoyumlu ve pulpada sert doku oluşumunu indüklemesi nedeniyle günümüzde pulpa tedavilerinde en sık tercih edilen materyaller olarak tanımlanmaktadır. Pulpa hücrelerini uyaran mineralli yapısı ile cam iyonomer simanlara benzer şekilde dentin ile bağlanma oluşturabilen bu materyaller, kalsiyum hidroksite oranla postperatif başarısının ve mekanik dayanıklılığının daha yüksek olması nedenleri ile günümüzde pulpa kaplama ajanı olarak uygulanması tercih edilmektedir (Akhlaghi ve Khademi 2015; Cao ve 2016; Dammaschke ve ark. 2019).

Mineral trioksit agregat (MTA), 1998 yılında Gıda ve İlaç Kurumu'nun onayı sonrası kök ucu dolgu materyali olarak klinik kullanımda yerini almıştır. Zaman içerisinde endikasyon seçenekleri genişlemiş; vital pulpa tedavileri, perforasyon tamiri, rezorpsiyon tedavisi gibi alanlarda da kullanımı yaygınlaşmıştır. Düşük sitotoksisite ve yüksek biyoyumluluk göstermesi, doku örtüleme yeteneğinin fazla olması, hidrofilik özelliği, doku iyileşmesinde rol oynaması gibi özellikleri klinik kullanımını arttırmıştır (Torabinejad 1999; Parirokh ve Torabinejad 2010; Erdem ve ark. 2011; Gelman ve Park 2012; Nosrat ve ark. 2013; Nowicka ve ark. 2013; Guven ve ark. 2017).

Kalsiyum silika bazlı bir materyal olan MTA, ilk olarak gri renkli olarak üretilmiş ancak ön diş tedavilerinde renkleşme komplikasyonu nedeni ile içeriğindeki aluminoferrit ($4\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$) çıkarılmış ve renkleşme yapmayan beyaz MTA oluşturulmuştur. Her iki tür MTA'da da trikalsiyum silikat ($3\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$), dikalsiyum silikat ($2\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$), trikalsiyum aluminat ($3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$), trikalsiyum oksit (Ca_2O_3), silikat oksit (SiO_2), kalsiyum sülfat dihidrat ($\text{CaSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Gypsum) ana bileşenleri bulunmaktadır ve bu

bileşime radyoopasite sağlanması amacı ile bizmut oksit (Bi_2O_3) eklenmektedir (Ferris ve Baumgartner 2004; Tselnik ve ark. 2004).

Kalsiyum silika bazlı materyallerde reaksiyon, dikalsiyum ya da trikalsiyum sementin su ile karıştırılması ile başlamaktadır ve MTA'nın hidrasyonu sonucu yan ürün olarak açığa çıkan kalsiyum hidroksit ile benzer özellikler göstermektedir. MTA'nın kalsiyum hidroksite göre daha homojen ve nitelikli dentin köprüsü, daha az enflamasyon ve nekroz meydana getirdiği belirtilmektedir (Parirokh ve Torabinejad 2010; Torabinejad ve Parirokh 2010; Darvell ve Wu 2011; Berzins 2014 pp. 17-36). MTA'nın avantajları arasında sızdırmazlık, mineralize doku oluşturma potansiyeli ve yüksek biyoaktivite özelliği belirtilmekte; dezavantajları ise uzun sertleşme süresi, manipülasyon zorluğu, dişte renkleşme oluşturmaları olarak bildirilmektedir (Bogen ve ark. 2008; Ioannidis ve ark. 2013; Asl Aminabadi ve ark. 2016; Tomas-Catala ve ark. 2018).

Kalsiyum silika bazlı materyallerden olan, 2009 yılında klinik kullanımına başlanan Biodentin (Septodont, Fransa), tozunda trikalsiyum silikat, kalsiyum karbonat, kalsiyum oksit ve zirkonyum oksit; likitinde ise modifiye polikarboksilat ve kalsiyum klorit bileşenlerini içermektedir. Kalsiyum karbonat sertleşme süresini kısaltırken, polikarboksilat manipülasyonunu kolaylaştırmaktadır. Dentin köprüsü oluşumu ve pulpada düşük inflamasyon oluşturma özellikleri MTA ile benzer olarak belirtilmektedir (Camilleri ve ark. 2013; Nowicka ve ark. 2013).

MTA'nın süt dişlerinde pulpotomi ajanı olarak kullanıldığı klinik, radyografik ve histolojik çalışmada, MTA'nın formokrezole oranla daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Eidelman ve ark. 2001). Chueh ve Chiang, çürük varlığında bakterilerin ortamdan uzaklaştırılması sonrası inflame ama vital olan pulpanın pulpotomi tedavisinde MTA kullanılmasının pulpayı sağlıklı ve fonksiyonel duruma getirdiğini; sağlıklı dental pulpa kök hücrelerinde MTA'nın mitojenle aktive olan protein kinaz yolunu kullanarak odontoblastik farklılaşmayı sağladığını bildirmişlerdir (Chueh ve Chiang 2010).

Wang ve ark. MTA'nın inflame olan pulpada odontojenik/osteojenik aktiviteyi nükleer faktör kappa B (NF- κ B) yolunu kullanarak aktive ettiğini ve irreversible pulpitisin başlangıç aşamalarında pulpa dokusunu tamir edebildiğini belirtmişlerdir (Wang ve ark. 2017).

Kalsiyum silika bazlı materyallerin, 5-7 yaş arası 29 sağlıklı çocukta pulpotomi tedavisindeki başarısının değerlendirildiği randomize kontrollü bir çalışmada, ProRoot

MTA, MTA-Plus, Biodentin ve ferrik sulfat ile pulpotomi uygulanmış süt dişleri 6, 12 ve 24 ay sürede klinik ve radyografik olarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda materyallerin toplam başarı oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadığı bildirilmiştir (Guven ve ark. 2017).

PRF (platelet rich fibrin) ile yapılan rejeneratif endodontik tedavide MTA kullanımının başarısının 3 yıl süre ile araştırıldığı klinik bir çalışmada; apeks gelişimi tamamlanmamış periapikal lezyonlu dişlerde MTA uygulanmasının klinik ve radyografik olarak başarılı sonuçlar verdiği belirtilmiştir (Kandemir ve ark. 2010).

2.7. Vital Pulpa Tedavilerinde Kullanılan Bitkisel/Antioksidan İçerikli Materyaller

2.7.1. Bitkisel Ajanlar

Günümüzde, bitkisel esaslı tedavi yaklaşımlarının tıp ve diş hekimliği alanlarında uygulanmasının arttığı gözlenmektedir. Tıpta eski çağlardan beri hastalıkların tedavisinde ve ilaç formülasyonlarında kullanılan bitki özütlerinin, diş hekimliği tedavilerinde antibakteriyel ajan ya da vital pulpa tedavi ajanı olarak kullanıldığı görülmektedir.

Çocuk diş hekimliğinde, vital pulpa tedavilerinde biyolojik yaklaşımların, bitkisel ajanların ve biyoaktif materyallerin öneminin vurgulandığı; sitotoksisite ya da genotoksisite göstermeyen, doku rejenerasyonu oluşturan, pulpa iyileşmesini indükleyen yeni materyallerin klinikte kullanılabilmesi amacı ile gerçekleştirilen deneysel araştırmaların günümüzde arttığı ve önem kazandığı gözlenmektedir. Bitkisel ajanlardan *Curcuma longa* ve *Aloe vera* bitkilerinin klinik etkinliğinin çalışmalarda incelendiği, bazı klinik çalışmalarda MTA ile karşılaştırıldığı, in vitro çalışmalarda ise çeşitli hücre tipleri üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği gözlenmektedir. Ancak bu ajanların rutin dişhekimliği klinik kullanımında yer alabilmesi için yüksek kanıt değerine sahip in vitro ve in vivo çalışmalara gereksinim olduğu görülmektedir (Dinç ve Aktören 2019).

2.7.1.1. Kurkumin (*Curcuma longa*, Turmerik, Zerdeçal)

Kurkumin (diferuloyl metan), zencefil (Zingiberaceae) bitki ailesine ait olan *Curcuma longa* bitkisinden elde edilen ve turmerik adı ile de tanımlanan bir bitkisel maddedir. Geleneksel tıpta tedavi amaçlı kullanılan ve sarı fenolik bir pigment olan kurkumin; demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin olarak iki şekilde bulunmakta ve Food and Drug Administration (FDA) tarafından ‘genel olarak güvenli’ (Generally Recognized As Safe, GRAS) olarak kabul edilmektedir. Kurkuminoidlerin

(kurkumin; demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin) %95'lik formlarının, en fazla 12.000 mg/gün olacak şekilde 4.000-8.000 mg/gün dozlarında günlük sistemik kullanımının tolere edilebilir ve güvenli profile sahip olduğu belirtilmektedir. Dünya genelinde, faydalarından yararlanmak adına çeşitli şekillerde kullanılmaktadır. Örneğin; Hindistan'da baharat, Çin ve ABD'de koruyucu ve renklendirici madde, Malezya'da antiseptik materyal olarak; Japonya'da çay içerisine eklenip servis edilerek, Tayland'da kozmetik ürünlerine eklenerek kullanılabildiği ve maddenin kapsül, tablet, merhem, sabun vb. farklı formlarının bulunduğu görülmektedir (Lao ve ark. 2006; Basnet ve Skalko-Basnet 2011; Gupta ve ark. 2013; Hewlings ve Kalman 2017).

Tıp alanında kurkumin üzerine yapılan araştırmalar, kurkuminin antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antidiyabetik, antikoagülan, hepato-koruyucu, antiülser, hipotansif ve hipokolesteremik gibi birçok terapötik etkilere sahip olduğunu göstermenin yanı sıra; sitokinlerin, büyüme faktörlerinin, inflamasyondan sorumlu moleküllerin düzenlenmesinde de rol aldığını belirtmektedir. Hücresel düzeyde sinyal yolları üzerinde etki göstererek antikanser özellik gösterdiğine ilişkin çalışmalar da bulunmaktadır (Chattopadhyay ve ark. 2004; Gupta ve ark. 2013; Meng ve ark. 2013; Akbik 2014; Kunnumakkara ve ark. 2017).

Kurkuminin diş hekimliğinde kullanım alanları incelendiğinde; kurkuminin daha çok klinik çalışmalarda kullanıldığı, in vitro çalışmaların ise yetersiz kaldığı görülmektedir. Kurkuminin diş hekimliğinde vital pulpa tedavilerinde ya da diğer diş tedavilerinde antimikrobiyal ajan olarak uygulandığı gözlenmektedir (Mandrol ve ark. 2016; Purohit ve ark. 2017; Sinjari ve ark. 2019; Prabhakar ve ark. 2019).

Basir ve ark., insan diş minesinin sukroz ile oluşturulmuş çürük yapıcı ortamla etkileşimi sonrası 5, 10, 20 mg/ml dozlarında mine üzerine uygulanan kurkuminin çürük engelleyici özelliğini in vitro olarak araştırmışlar; çalışma sonucunda, kurkuminin 5 mg/ml dozunun çürük oluşumunu önleyici özellik gösterdiği ve bu bulgunun kurkuminin bakteriyel aktiviteyi kısıtlaması ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir (Basir ve ark. 2018).

Kurkuminin mavi LED ışık ile kombine kullanılmasının enfekte dentin çürükleri üzerinde antimikrobiyal özelliğinin araştırıldığı çalışmada; sadece kurkumin kullanılmasının mikroorganizmaların canlılığı ve intakt biyofilm vitalitesi üzerinde etkili olmadığı, LED ile kombine kullanılmasının ise anlamlı derecede mikroorganizma

sayısını düşürdüğü ve intakt biyofilm vitalitesini azalttığı bildirilmiştir (Cusicanqui Méndez ve ark. 2018).

Purohit ve ark. 4-9 yaş grubu 15 çocukta, süt dişlerinde pulpotomi ajanı olarak kurkumini uygulamışlar ve klinik başarısını değerlendirmişlerdir. Çalışmada kurkumin, distile su ve radyolusent madde karışımı, 1:3:3 oranında hazırlanması sonrası pulpotomi ajanı olarak uygulanmış, dişler sırasıyla çinko oksit ojenol ve cam iyonmer siman üzerine kompozit rezin ile restore edilmişlerdir. Çocukların 3. hafta, 2., 4. ve 6. ay klinik ve radyografik değerlendirilmeleri sonucunda; 6. ayda bir dişte ağrı oluştuğu, diğer dişlerde klinik ve radyografik olarak herhangi bir patolojik bulgu gözlenmediği, kurkuminin pulpotomi tedavilerinde alternatif bir pulpa ajanı olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Purohit ve ark. 2017).

Kurkuminin pulpotomi ajanı olarak kullanıldığı bir başka klinik çalışmada, kurkumin jeli tam konsantrasyon olarak pulpa üzerine uygulanmış ve kurkumin, formokrezol, propolis ve kalsiyum hidroksitin postoperatif başarısı incelenmiştir. Çalışma sonucunda uygulanan tüm materyallerin kabul edilebilir klinik ve radyografik başarı gösterdiği bildirilmiştir (Hugar ve ark. 2017).

Prabhakar ve ark., kurkumin ve MTA'yı rat dişlerinde pulpotomi ajanı olarak uygulamışlar ve 7., 14., 30. günlerde ratları sakrifiye edip pulpotomi yapılan dişleri histolojik olarak incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, her iki grupta da zaman içerisinde inflamatuvar hücre yanıtının azaldığı, kurkumin grubunda pulpa dokusunun daha bütünlük içinde kaldığı, MTA grubunda dentin köprüsü oluşumunun gözlemlendiği, kurkumin grubunda ise dentin köprüsünün daha ince olarak gözlemlendiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, kurkuminin yara iyileşmesi özellikleri gösterdiğini ve gelecekte maliyeti düşük bir pulpotomi ajanı olarak kullanımının artacağını öne sürmüşlerdir (Prabhakar ve ark. 2019).

Kurkuminin vital pulpa tedavilerindeki rolü kadar antimikrobiyal özellikleri de araştırılmaktadır. *Enterococcus faecalis* biyofilmi üzerine kurkuminin etkisinin sodyum hipoklorit, klorheksidin ve salin ile karşılaştırmalı olarak çekilmiş insan dişlerinde in vitro koşullarda incelendiği çalışmada, biyofilm üzerine en etkili ajanın sırası ile sodyum hipoklorit, kurkumin ve klorheksidin olduğu belirtilmiştir. Bitkisel ajanların sodyum hipoklorit irrigasyonunun yerini alabilmesi için daha fazla geliştirilmelerine gereksinim olduğu öne sürülmüştür (Neelakantan ve ark. 2013).

Işıkla ya da ultrasonik yöntemlerle aktive edilmiş kurkuminin antibakteriyel özelliğinin daha yüksek olabileceği hipotezi ile planlanmış bir çalışmada, sodyum hipoklorit, salin ve kurkuminin *Enterococcus faecalis* biyofilmine etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, ışıkla aktivasyonun ultrasonikle aktivasyondan daha etkili olduğu ve en yüksek bakterisit etkinin ışıkla aktive edilmiş kurkumin grubunda gözlemlendiği bildirilmiştir (Neelakantan ve ark. 2015).

Enfekte süt dişlerinde *Porphyromonas* türleri, *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri üzerinde kurkumin, sodyum hipoklorit ve yeşil çay ekstresinin etkilerinin araştırıldığı çalışmada, sodyum hipoklorit ve kurkuminin, yeşil çay ekstresi grubuna göre anlamlı derecede daha fazla antibakteriyel özelliğe sahip olduğu; sodyum hipokloritin dezavantajlarından dolayı kurkuminin irrigasyon için tercih edilebileceği belirtilmiştir (Dhariwal ve ark. 2016). Chaitanya ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise, %3'lük sodyum hipoklorit, kurkumin ve *Morinda citrifolia* bitkisinin özütü, *E. faecalis* ve *S. aureus* bakterileri üzerinde antibakteriyel özellikleri açısından değerlendirilmiş ve sodyum hipokloritin daha etkili sonuçlar verdiği gösterilmiştir (Chaitanya ve ark. 2016).

Kurkuminin %6 ve %9'luk solüsyonunun *Fusobacterium nucleatum* biyofilmi üzerinde antimikrobiyal etkinliğinin %5'lik sodyum hipoklorit, %2'lik klorheksidin ve steril distile suyun etkinlikleri ile karşılaştırıldığı çalışmada, %9'luk kurkuminin sodyum hipoklorit ve klorheksidine göre biyofilm üzerinde anlamlı düzeyde daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiği ve biyofilm bütünlüğünü bozduğu belirtilmiştir (Ashok ve ark. 2017).

Araştırmacılar kurkuminin ekonomik bir ajan olması ve farmakolojik açıdan güvenli kabul edilmesi nedenleri ile kullanımının gelecekte artacağını öne sürmüşlerdir (Akbik ve ark. 2014).

2.7.1.2. Aloe vera (*Aloe Barbadensis*, Aloin)

Afrika bölgesine özgü olan Aloe bitkisinin 400'den fazla alt grubu olduğu, içlerinde en yaygın olarak *Aloe vera*, diğer adı ile *Aloe barbadensis*'in kullanıldığı bildirilmektedir. "Ölümsüzlük bitkisi", "şifalı bitki" ya da "çölün zambağı" olarak da tanımlanabilen *Aloe vera* bitkisinin yaklaşık 2000 yıl önce, Yunan bilim insanlarının her hastalığın tedavisinde başarılı olduğuna inanmaları nedeni ile çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı belirtilmektedir (Mohan ve Gundappa 2013).

Vitaminler, enzimler, mineraller, şekerler, antrakinonlar, yağ asitleri, hormonları gibi aktif 75 bileşen içeren *Aloe vera* bitkisi; antienflamatuar, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidan özellikler göstermektedir (Mohan ve Gundappa 2013; Guo ve Mei 2016). 2000 yıldan daha uzun süredir deri hastalıkları, eksternal ve internal ülserler, hiperlipidemi, diyabet, lupus eritematozus gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanıldığı belirtilmektedir. *Aloe vera* alternatif tıbbın yanısıra, kozmetik sektöründe de kullanılmakta; el kremi, temizleyici, şampuan, bebek losyonu, mendil gibi birçok ürünün içeriğine dahil edilmektedir (Atiba ve ark. 2011).

Aloe vera bitkisinin, hem oral hem de topikal yolla kullanılabildiğini ve güvenilir olduğunu öne süren çalışmaların yanısıra, belirtildiği kadar güvenilir olmadığını, insanlarda genotoksik, karsinojenik ve toksik etkiler gösterdiğini belirten çalışmaların da olduğu görülmektedir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından ‘genel olarak güvenilir ve etkili’ kabul edilmediği açıklanmıştır. Kanser Araştırmaları Ajansı tarafından ise insanlar için potansiyel karsinojen sınıfına dahil edilmiştir (FDA 2012; IARC 2015; Guo ve Mei 2016).

Grupta ve ark.’ın gerçekleştirdikleri çalışmada, süt azı dişlerinin pulpotomi tedavisinde *Aloe vera* jeli pulpotomi ajanı olarak uygulanmış ve dişler 1 ay sonunda klinik, radyografik ve histopatolojik olarak incelenmiştir. Çalışma sonucunda, araştırmacılar dişlerde herhangi bir patolojik bulgu saptanmadığını ve *Aloe vera*’nın süt dişlerinin pulpotomi tedavisinde başarılı bir ajan olarak kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir (Grupta ve ark. 2010).

Songsiripraduboon ve ark., 7-11 yaş grubu çocukların 37 adet süt azı dişinin direkt pulpa kuafaj tedavisinde uygulanan *Aloe vera* ve kalsiyum hidroksitin etkinliğini 6 ay süre ile klinik, radyografik ve histopatolojik olarak değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, klinik ve radyografik toplam başarı oranları *Aloe vera* ve kalsiyum hidroksit gruplarında sırası ile %72.73 ve %70 olarak saptanmıştır. Histopatolojik incelemelerde ise *Aloe vera* grubunda pulpanın kalsiyum hidroksite göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha iyi histolojik yanıt verdiği; *Aloe vera*’nın dentin rejenerasyonunu stimule ederek iyileşmeye yardımcı olduğu belirtilmiştir (Songsiripraduboon ve ark. 2017).

Süt azı dişlerinin pulpotomi tedavisinde *Aloe vera* ve MTA’nın etkinliğinin 1., 3., 6., 9. ve 12. aylarda klinik ve radyografik olarak değerlendirildiği çalışmada; 1., 3., 6., 9. ve 12. aylarda *Aloe vera*’nın klinik başarısının sırasıyla %24.1, %57.1, %75, %66.6,

%100, MTA'nın klinik başarısının ise %96.4, %100, %100, %100, %100 olarak bulunduğu; MTA'nın *Aloe vera*'ya göre anlamlı derecede daha yüksek başarı oranı gösterdiği belirtilmiştir (Kalra 2017).

Soares ve ark., insan dental pulpasından elde edilmiş mezenkimal kök hücrelerin kültür medyumuna Hemospon ve *Aloe vera* eklenerek oluşturulmuş farklı materyalleri ratların tibia kemiklerindeki defektlere uygulamışlar; 7. ve 15. günde kurban edilerek ratlarda doku yanıtlarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, *Aloe vera* içeren gruplarda akut inflamatuvar özelliklerin daha az gözlemlendiği, kemik oluşumu açısından gruplar arasında anlamlı farklılık oluşmadığı bildirilmiştir. Sonuç olarak, *Aloe vera*, Hemospon ve insan dental pulpa kök hücrelerinin kombine kullanımının, kemik defektlerinin tedavisinde kullanılabileceği önerilmiştir (Soares ve ark. 2019).

Aloe vera bitkisinin incelendiği araştırmaların değerlendirildiği çalışmada, *Aloe vera*'nın araştırmalarda bildirilen yan etkileri ve çeşitli formlarının etkileri incelenmiştir. *Aloe vera* bitkisinin birçok polisakkarit ve fenolik bileşikler içerdiği ve bunların insan vücudunda, diyare, hipokalemi, böbrek yetmezliği gibi yan etkileri oluşturabildiği, *Aloe vera* yaprağından elde edilen ekstraktların ise ratlar üzerinde karsinogenik özellik gösterebildiği bildirilmiştir (Guo ve Mei 2016).

2.7.2. Antioksidan Karışım

Bitkisel ajanların yanısıra vitamin ve mineral içerikli antioksidan karışım preparatlarının da son yıllarda vital pulpa tedavilerinde kullanıldığı görülmektedir. Klinik çalışmalarda uygulanan bu karışımların içeriklerinde bulunan vitamin ve minerallerin antioksidan özelliklerinin pulpa iyileşmesini indüklediği öne sürülmektedir. Örneğin; niasin tip 1 kollajen sentezi yapımında, vitamin E yara iyileşmesinin hızlanmasında, B5 vitamini immün sistem cevabını tetiklemesinde, B1 vitamini granülasyon dokusu oluşturmada, bakır topikal antimikrobiyal özellikte, demir nötrofil ve lenfosit migrasyonunda etkili olabildiği belirtilmektedir (Reddy ve ark. 2014; Kathal ve ark. 2017).

Pulpotomi tedavilerinde yeni bir ajan olarak kullanılabilmesi umuduyla, çoğunlukla vitaminlerden oluşan bir karışım (Antioxidants plus trace elements (OXIn-Xttm, Hindistan), Reddy ve ark. tarafından süt dişi pulpotomi tedavisinde pulpotomi ajanı olarak uygulanmış ve dişler 3, 6, 9. aylarda klinik, radyografik ve histolojik olarak değerlendirilmiştir. 9. ay sonunda bir dişte ağrı gözlenmiş olduğu için klinik başarısızlık,

yine aynı dişte lamina durada genişleme olması nedeni ile radyografik başarısızlık tespit edilmiştir. Taramalı elektron mikroskopi (SEM) incelemelerinde 3. ayda sert doku bariyeri, 6. ayda tubuler dentin köprüsü oluşumu, 9. ayda ise mineralize sert doku oluşumu gözlemlendiği ve antioksidan karışımın, pulpotomi tedavilerinde kullanılabilecek iyi bir alternatif ajan olabileceği belirtilmiştir (Reddy ve ark. 2014).

Kathal ve ark. ticari olarak hazır bulunan, çoğunlukla vitaminlerden oluşan içeriğe sahip antioksidan karışım (Oxyfruit 40) ve MTA (Angelus, Brezilya) materyallerini 5-9 yaş grubu çocuğun 40 süt dişinin pulpotomi tedavisinde uygulamışlar; dişleri çinko oksit öjenol ve cam iyonomer siman uygulaması sonrası paslanmaz çelik kuronlar ile restore etmişlerdir. Dişlerin 6 ve 12 aylık sürelerde klinik ve radyografik olarak incelenmesi sonucunda, klinik başarının 6. ay ve 12. ayda antioksidan karışım grubunda % 95 ve %94.74, MTA grubunda %100 ve %88.89; radyografik başarının 6. ve 12. ayda antioksidan karışım grubunda %95 ve %94.74, MTA grubunda ise %100 ve %88.89 olarak saptandığı ve gruplar arasında anlamlı farklılıkların bulunmadığı bildirilmiştir. Çalışma sonucunda, antioksidan karışımın, diğer ticari preparatlara göre biyouyumluluk ve ekonomik açıdan daha avantajlı olduğu belirtilmiştir (Kathal ve ark. 2017).

2.8. İn Vitro Çalışmalarda Biyouyumluluk Değerlendirme Yöntemleri

Biyouyumluluk; ‘bir materyalin belirli uygulamalarında uygun bir konakçı yanıtı oluşturma kabiliyeti’ olarak tanımlanmaktadır (European Society for Biomaterials 1986). Materyallerin biyouyumlulukları, yapısındaki monomerlere ve bu monomerlerin hücreler üzerindeki etkisine, materyalin çeşidine, uygulandığı bölgeye ve fonksiyonuna göre çeşitlilik gösterdiği öne sürülmektedir (Hanks ve ark. 1996; Tuncer ve Demirci 2011; Atalayın ve ark. 2016; Adabi ve ark. 2017).

Diş hekimliğinde kullanılan materyaller, uygulandıkları bölgeye göre sert (mine, dentin, sement) ya da yumuşak dokularla (mukoza, pulpa, dişeti vb.) temas etmekte ve biyolojik bir doku yanıtına neden olmaktadır. Doku yanıtının yanısıra materyalin de dokuya karşı yanıtı gelişmekte; bu karşılıklı yanıtlar ise çift taraflı dinamik bir sürecin sonucunda oluşmaktadır. Bu nedenle, materyallerin biyouyumlulukları in vivo ve in vitro testler ile değerlendirilmektedir (Wataha 2001; Dobrovolskaia ve McNeil 2007; Uzun ve Bayındır 2011).

2.8.1. Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu (ISO) ve Biyouyumluluk Değerlendirmesi

Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu, 2008 ve 2009 yıllarında yayınladıkları 7405 ve 10993 dökümanları ile, diş hekimliğinde kullanılan tıbbi materyal ve cihazların, biyouyumluluklarının değerlendirilmesinde bazı standartları ve yapılabilecek olan testleri belirtmiştir. Testler üç aşamadan oluşmaktadır:

1- Yeni bir materyalin, klinik kullanımı öncesi in vitro testleri yapılmalıdır. İn vitro testlerin ardından doku reaksiyon testleri ve hayvan deneyleri tamamlanmalı ve sonra klinik kullanım testlerine geçilmelidir.

2- Üretici ve araştırmacılar, sitotoksisite testlerinden birini seçebilir.

3- Yapılan testlerin sonuçları incelenmeli ve üretici tarafından kullanım önerileri açıklanmalıdır.

ISO kapsamında belirlenen testler, belirtildiği şekilde, in vitro testler (Faz 1), hayvan deneyleri (Faz 2) ve kullanım testleri (Faz 3) olmak üzere yapılmalıdır (ISO 10993-5 2009; Murray ve ark. 2007).

2.8.2. Sitotoksisite Değerlendirme Testleri

Materyallerin bulundukları ortamlarda çözünmesi ya da aşınması sonucu ortaya çıkan bileşenleri canlı dokular üzerinde hücre hasarı oluşturma ya da enflamasyon mediatörlerinin salınımı gibi birtakım etkilere neden olmaktadır (Leiskar ve Helgeland 1981; Schmalz ve Arenholdt-Bindslev 2009 pp 1-12). Materyallerin dokuda oluşturduğu bu olumsuz doku reaksiyonları toksisite olarak kabul edilmektedir. Materyalin toksisite derecesi materyal bileşenlerinin yoğunluğuna ve dokuyla etkileşim süresine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Saw ve ark. 2005; Mallineni ve ark. 2013; Aslantürk 2017).

Sitotoksisite; materyalin uygulanmasının ardından hücrede meydana gelen moleküler olaylar sonucunda, hücrenin gerekli molekülleri sentezlemesinin engellenmesi ile hücre fonksiyonlarında ve yapısında hasarın meydana gelmesi olarak tanımlanmaktadır (Aldridge 1993; Murray ve ark. 2007). Hücreler, sitotoksik materyale belirli sürede maruz kaldıklarında nekroz, apoptoz, otofaji gibi biyolojik olaylar sonucu canlılığını yitirebilir ya da proliferasyon özelliklerini kaybedebilirler (Galluzzi ve ark. 2009).

Sitotoksosite testleri, materyallerin, hücrelerin morfolojisi, büyümesi ve üremesi üzerine etkilerinin ölçüldüğü biyolojik değerlendirme yöntemleridir. Bu testlerin amacı ve avantajları, belirlenen bir materyale karşı yanıtın, kısa sürede ve düşük maliyetle belirlenebilmesi, hassas ve detaylı sonuçların elde edilebilmesi ve karşılaştırılabilmesi, hayvan deneylerine geçmeden önce toksisitenin belirlenebilmesi olarak belirtilmektedir. Avantajlarının yanı sıra, *in vivo* koşullarla uyumluluğunun ise tartışmalı olduğu gözlenmektedir (Browne 1988; Schmalz 1997; Uzun ve Bayındır 2011; Yıldırım ve ark. 2017). ISO standartlarına göre, diş hekimliğinde kullanılan materyaller için kullanılabilecek olan *in vitro* sitotoksosite test yöntemleri;

- Direkt hücre kültürü testi (Direkt kontakt testi / Ekstrat testi)
- Agar difüzyon testi
- Filtre difüzyon testi
- Dentin bariyer testi olarak belirlenmiştir (ISO 1997).

2.8.2.1. Direkt Hücre Kültürü Testi

Yöntemin uygulanma biçimi, materyal ve bileşenlerinin 24 saat ya da daha fazla süreyle hücre kültürü üzerine uygulanması esasına dayanmaktadır. Test sonucunda toksik bileşenin doza bağlı hücre yanıtı sonuçları belirlenmekte ve bu bilgiler üretici firmalar tarafından toksik bileşeni en düşük dozda içerecek şekilde materyali hazırlamak amacıyla değerlendirilmektedir (Murray ve ark. 2007; Moharamzadeh ve ark. 2009; Tuncer ve Demirci 2011; Yıldırım ve ark. 2017).

Direkt kontakt testi; test aşamasında, materyalin hücre kültürü ile temas şekli önem göstermektedir. Suda çözünabilen materyaller, hücre kültürü için kullanılan medyum içinde de çözünmekte ve hücreler ile direkt temas sağlanabilmektedir. Test sonucunda hücre sayısı ve morfolojisi incelenebilmektedir. Direkt kontakt testi, hassas bir yöntemdir, düşük sitotoksik değerler de ölçülebilmektedir (ISO 2009, De Melo ve ark. 2013).

Ekstrat testi; suda çözünmeyen materyallerin, çözücü bir sıvı içerisinde bekletilerek, çözünmesi sağlanmakta ve elde edilen ekstraksiyon sıvısı testlerde kullanılmaktadır. Ekstraksiyon sıvısı santrifüj işleminin ardından hücreler üzerine uygulanmaktadır. Sıvı içerisindeki bileşenlerin toksik potansiyelleri, yüzey alanı, doz, ısı, pH, osmolarite ve zaman gibi birçok faktöre bağlı olmakta ve deneylerde bu parametreler

değerlendirilmektedir (Polyzois 1994; Murray ve ark. 2007; Moharamzadeh ve ark. 2009).

2.8.2.2. Agar Difüzyon Testi

Agar difüzyon testi, uzun yıllardır kullanılan bir bariyer test yöntemidir. Bu yöntemde, hücreler nötral boya ile boyandıktan sonra üzeri agar ile kaplanmakta, test materyali de agar üzerine yerleştirilmektedir. Agar üzerinden difüze olan test materyal bileşenlerinin hücreler üzerine sitotoksitesi değerlendirilmektedir. Bu yöntemin değerlendirilmesi, hücre membran permeabilitesinin artışına bağlı olarak hücre lizomlarında boyanın birikme oranına bakılarak yapılmaktadır. Bu yöntem, agardan difüze olamayacak büyüklükte olan ya da agar ile reaksiyona girebilecek materyaller için uygun olmamaktadır (Murray ve ark. 2007; Yıldırım ve ark. 2017).

2.8.2.3. Filtre Difüzyon Testi

Milipor test yöntemi olarak da adlandırılan filtre difüzyon yönteminde, inkübe edilen hücreler ve materyal arasına selüloz filtre yerleştirilmektedir ve materyalin hücreler üzerine etkisinin gözlenebilmesi için materyal bileşenlerinin 0,45 µm büyüklüğündeki porlardan geçebilmesi gerekmektedir. Testin değerlendirilmesi, nötral kırmızı ile boyama yapılarak spektrofotometre ile yapılmaktadır (Ergün ve ark. 2006; Yıldırım ve ark. 2017).

2.8.2.4. Dentin Bariyer Testi

Diş tedavilerinde kullanılan dental materyallerin, pulpa ile arasında bariyer olarak dentinin bulunmasından yola çıkılarak geliştirilen bu yöntem, test materyalinin monomerlerinin difüzyon kabiliyeti ölçülmektedir. Outhwaite ve ark.'nın dentin geçirgenliğini etkileyen faktörlerin araştırıldığı çalışmalarından sonra yöntem geliştirilmiştir. Dentin bariyeri olarak sığır ya da insan dentininden elde edilen diskler kullanılabilir. Bariyerin bir yüzüne hücreler diğer yüzüne de materyal yerleştirilip deneyin tamamlanmasının ardından değerlendirmeler yapılmaktadır. Dentin bariyer test yöntemi in vivo koşulları taklit edebilen bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Outhwaite 1974; Schmalz ve ark. 2001; Murray ve ark. 2007; Yıldırım ve ark. 2017).

2.8.3. Sitotoksite Testlerinde Kullanılan Biyolojik Sistemler

Organ kültürleri, hücre organelleri ve kültür edilmiş hücreler, sitotoksite testlerinde kullanılan biyolojik sistemlerdir. Bu sistemler içerisinde en çok tercih edilen

ise hücre kültürleri olmaktadır. Hücre kültür çalışmalarında, canlı dokulardan elde edilen hücrelerin, in vitro koşullarda vücudun fizyolojisini taklit eden sıvılar içerisinde canlı tutulup üremeleri sağlanmaktadır. Çalışmalarda primer hücre kültürü ya da devamlı hücre hatları tercih edilmektedir (Schmalz 1997; Tuncer 2011; Tokur ve Aksoy 2017).

Primer hücre kültürü; canlı dokulardan direkt olarak alınan parçanın 24 saatten daha uzun süre kültür edilip, hücre canlılığı sağlandıktan sonra hücre pasajlaması yapıp alt kültürler elde edilerek (sekonder hücre hattı) çoğaltılmasıdır. Hücre pasajlaması tekrarlanarak devamlı hücre hatları elde edilmektedir. Primer hücre kültüründe, hücrelerin insandan izole edilmesi ve kültür edilmesinin zorluklarına karşın, dokunun fizyolojik özelliklerini tamamen yansıtmayı avantaj kabul edilmektedir (Tuncer 2011; Ergün ve ark. 2006; Adan ve ark. 2016).

Devamlı hücre hatları; sürekli çoğalabilme özelliğine sahip, birtakım transformasyonlara uğramış primer hücrelerdir. In vivo koşulları tam olarak sağlayamamalarına karşın, primer hücre kültürüne oranla üstün çoğalabilme yeteneklerine sahiptirler (Schmalz 1994; Pizzoferrato ve ark. 1994; Yıldırım ve ark. 2017).

Araştırmacılara göre primer hücre kültürleri, devamlı hücre hatlarına oranla daha hassas özellik göstermektedir ancak her iki hücre kültürünün de çalışma bulguları açısından benzer sonuçlar verdiği bildirilmektedir. Schmalz, belirli bilimsel deneyler için primer hücre kültürlerinin; dental materyallerin standart toksisite deneylerinde ise devamlı hücre hatlarının kullanımının daha uygun olduğunu belirtmiştir (Schmalz 1997).

Hücre kültür çalışmaları, maliyeti düşük, tekrarlanabilirliği fazla, materyal etkilerinin direkt olarak gözlenebildiği ancak kontaminasyon riskinin yüksek olduğu, hücre çoğaltılmasının uzun zaman aldığı ve deney sonuçlarının değerlendirilmesi için uzmanlık gerektiren çalışmalardır. Hücre kültür çalışmalarında hücrelerin yaşayıp çoğalabilmeleri için, fizyolojik koşulları taklit eden, besin, büyüme faktörü ve hormonları içeren hücre büyüme medyumlarına gereksinim bulunmakta, aynı zamanda kültür ortamının pH, CO₂ ve sıcaklık değerlerinin ise devamlı kontrol altında tutulması gerekmektedir. Deneyler için uygun hücrelerin seçiminde; deneyin amacı, hücre hatlarının sınırlı ya da sonsuz olması, hücrelerin normal ya da değişime uğraması, hücre kültür şartları ve özellikleri göz önünde bulundurulması gereken faktörler olarak belirtilmektedir (Ergün ve ark. 2006; Yıldırım ve ark. 2017).

2.8.4. İnsan Dental Pulpa Kök Hücre Özellikleri

Kök hücreler, genellikle hem kendini yenileyebilen hem de çok soylu farklılaşma yapabilen klonojenik hücreler olarak tanımlanmaktadır. Post-natal kök hücreler, kemik iliği, sinir dokusu, cilt, retina ve diş epiteli gibi çeşitli dokulardan izole edilebilmektedir (Tekeli ve ark. 2016).

Dental pulpa kök hücreleri, vaskülarizasyon ve sinir ağı açısından zengin, heterojen bir kök hücre popülasyonu içeren ektomezenşim kökenli yumuşak bağ dokudur. En belirgin özelliği; odontoblastlarla kaplı tübüller içeren mineralize matriks ve kan damarları içeren fibröz bir doku oluşturabilmesi olarak kabul edilmektedir (Bianco ve ark. 2001; Gronthos ve ark. 2002; Tziafas 2010 pp. 111-137; Lambrichts ve ark. 2017).

Yapılan çalışmalar, osteoblastlara benzer şekilde pulpa hücrelerinin de kemik sialoprotein, alkalin fosfataz, tip I kollajen ve osteokalsin gibi kemik oluşumunu destekleyen markerları eksprese ettiğini göstermiştir (Buchaille ve ark. 2000; Gronthos ve ark. 2002; Piva ve ark. 2017).

2.8.5. In Vitro Sitotoksosite Testlerinin Değerlendirme Yöntemleri

ISO 7405 ve 10993-5 standartlarına göre, kullanılan sitotoksosite test yönteminin değerlendirilmesinde, boyama, hücre sayımı, metabolik bozulma, hücre zarı bütünlüğünün bozulması gibi parametreler değerlendirilmelidir. Standardizasyonun sağlanabilmesi için ISO'nun belirlediği yöntemler;

1- Canlılığı değerlendiren testler

2- Yaşamı değerlendiren testler

3- Hücre proliferasyonunu değerlendiren testler

4- Hücre metabolizmasını değerlendiren testler olarak sınıflandırılabilir (Freshney 2005 pp. 1-216; Murray ve ark. 2007; Yıldırım 2017).

2.8.5.1. Canlılığı Değerlendiren Testler

Materyalin uygulandığı ve toksik ajana maruz kalmış hücre kültüründe canlı kalan hücre oranının hesaplandığı bu test aynı zamanda kısa zamandaki sitotoksik etkileri de göstermektedir. Bu yöntemde hücre membran bütünlüğü bozulmamış ve bozulmuş hücrelerin boyanması ile değerlendirme yapılmaktadır. Diasetil floresan ya da nötral kırmızı boyalarının kullanıldığı, boyaların canlı ve membran bütünlüğü bozulmamış

hücrelere difüze olduğu yöntem vital boyama testi; tripan mavisi veya eritrosin gibi boyaların membran bütünlüğü bozulmuş hücrelerde birikmesinin incelendiği yöntem ise non-vital boyama yöntemi olarak tanımlanmaktadır. Boyanan hücrelerin değerlendirilmesi floresan ya da kolorimetrik yöntemler ile yapılmaktadır (Freshney 2005 2005 pp. 1-216; Powers ve Sakaguchi 2006 pp. 97-125; Adan ve ark. 2016).

2.8.5.2. Yaşamı Değerlendiren Testler

Yaşam değerlendirme testleri, hücreler üzerine uygulanmış materyalin uzun dönemde toksik etkilerin değerlendirilmesi amacı ile kullanılmaktadır. Canlılığı değerlendiren testler yalnızca test esnasındaki hücre canlılık oranını belirtirken, toksik reaksiyon etkilerinin geri dönüşebilir olmasını göz ardı ettiği için, yaşam değerlendirme testleri, canlılık testlerine oranla daha doğru sonuçlar verebilmektedir. Bu yöntemde, hücrelerin, düşük hücre yoğunluğunda koloni oluşturabilme kabiliyetleri değerlendirilmektedir (Freshney 2005 2005 pp. 1-216; Tuncer 2011; Adan ve ark. 2016).

2.8.5.3. Hücre Proliferasyonunu Değerlendiren Testler

Test materyal bileşenlerinin hücre proliferasyonu üzerine etkisinin incelendiği bu yöntem, en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Hücre kültürünün yapılmasından birkaç gün sonra oluşturulan büyüme eğrisi kullanılarak değerlendirme yapılmakta ve 3H-timidin ve Bromodeoksiuridin immunohistokimyasal teknikleri kullanılmaktadır (Moharamzadeh 2009; Yıldırım 2017).

2.8.5.4. Hücre Metabolizmasını Değerlendiren Testler

Uzun dönem sitotoksik etkileri değerlendiren, hücrelerin metabolizma ve proliferasyon becerilerinin değerlendirilmesinin esas alındığı bir yöntem olan hücre metabolizma testleri, hücre sayısının fazla olduğu durumlarda tercih edilen oldukça hassas bir yöntemdir; 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H-tetrazolyum (WST-1), Metiltiazol difenil tetrazolyum (MTT), 2,3-Bis(2-metoksi4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolyum (XTT), 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolyum (MTS) gibi tetrazolyum tuzları sıklıkla tercih edilmektedir.

Bu testler, proliferasyon gösteren hücrelerin, artmış mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesi ile tetrazolyum tuzunun kullanarak oluşan renk değişikliğinin ELISA okuyucu ya da spektrofotometre ile ölçümü esasına dayanmaktadır. XTT, hücreler

tarafından yavaş indirgenmekte ve ilave maddelerin eklenmesi gerekmektedir. MTT kültür ortamında çözünemediği için, çözücü olarak dimetil sülfoksit ilave edilmesi gerekliliği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, daha verimli tüketildiği ve daha hızlı renk değişikliği gösterdiği, absorbans-hücre sayısı korelasyonu yüksek olan WST-1 testinin kullanılması önerilmektedir (Terzioğlu 2013; Tokur ve Aksoy 2017; Yıldırım 2017).

2.9. Alkalen Fosfataz

Alkalen fosfataz plazma membranına bağlı glikoproteinler olarak tanımlanmakla beraber, doğada prokaryot ve ökaryot hücrelerde bulunmaktadır. Alkalen fosfataz enzimi, dimerik enzimlerin geniş bir bölümünü oluşturmaktadır. Genellikle hücre yüzeyinde sınırlı kalmakta, yüksek pH değerlerinde fosfatları hidrolize etmektedir. Memelilerde alkalen fosfataz multigen ailesi tarafından kodlanan ve çinko içeren metaloenzimler olmakta ve dimerik moleküller olarak işlev görmektedirler. Enzim aktivitesi için iki Zn^{2+} ve bir Mg^{2+} iyonuna gereksinim bulunmaktadır (Sharma ve ark. 2012; Sadeghirishi ve Yazdanparast 2007; Siller ve Whyte 2018).

Alkalen fosfataz, 1907 yılında ilk olarak Suzuki ve ark. tarafından tanımlanmasının ardından, sürekli ve yoğun şekilde araştırma konusu olmuştur. İskeletsel mineralizasyonda aldığı rol haricinde, hakkında birçok dokuda çalışma prensibine ilişkin az bilgi mevcuttur. Dört izoenzimden oluşan yapı, bağırsak alkalen fosfatazı, plasental alkalen fosfataz, germ hücresi alkalen fosfatazı ve dokuya özel olmayan alkalen fosfataz olarak sınıflandırılmaktadır. Dokuya özel olmayan alkalen fosfataz; kemik, böbrek ve karaciğer doku hücreleri tarafından üretilmektedir. İnsan ve hayvan serumunda bulunan alkalen fosfatazlar, karaciğer, bağırsak, plasenta, diş minesi, tiroid bezi, pankreas, kemik dokusu hücre zarında görülmektedir. Sağlıklı ve yetişkin bireylerden elde edilen verilere göre; yetişkinlerde vücuttaki alkalen fosfataz seviyesinin yarısını kemik alkalen fosfataz izoenzimi oluştururken; çocuklarda serumdaki alkalen fosfataz düzeyi toplam miktarın %77'si olarak belirtilmektedir. Çocuklarda kemik alkalen fosfataz düzeyinin tespit edilemediği durumlarda serumdaki toplam alkalen fosfataz düzeyinin ölçümünün yeterli olabileceği bildirilmektedir (Şen ve ark. 2002; Sharma ve ark. 2014).

Alkalen fosfataz, sert doku mineralizasyonu dışında, böbrek ve karaciğer aktivitesinde de rol oynadığı bilinmektedir. Serumdaki karaciğer ve kemik alkalen fosfataz düzeyi ölçülmesi hastalık tanılarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Farklı yaş gruplarından bireylerin, çeşitli hastalık durumlarında ve sağlıklı koşullardaki alkalen

fosfataz düzeyleri, bu alanda yapılan çalışmalar ile belirtilmiştir. Örneğin; serumdaki yüksek alkalen fosfataz değeri; safra kanallarının tıkalı olduğunun; ya da fazla kemik oluşumuna bağlı olarak, hiperparatiroidizm, Paget hastalığı gibi hastalıklar, hasar görmüş karaciğer hücrelerinin de göstergesi olabilmektedir (Suzuki ve ark. 1907; Whyte 2010; Zhu ve ark. 2012;Siller ve Whyte 2018).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışması, in vitro koşullarda İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Yaşam Bilimleri ve Teknolojileri Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Deney Materyalleri

- Kurkumin (*Curcuma longa*, Sigma-Aldrich C1386-10 gr, ABD)
- Aloin (*Aloe barbadensis* Miller Leaves, Sigma-Aldrich B6906-100 mg, ABD)
- Supradyn Film Kaplı Tablet Multivitamin, Mineral ve Koenzim Q10 içeren Takviye Edici Gıda (Bayer AG, 51368, Almanya)
- ProRoot MTA White (Dentsply Tulsa Dental, ABD) (Tablo 3-1).

Tablo 3-1: Deney materyallerinin içerik ve üretici firma bilgileri

Materyal	İçerik	Üretici Firma
Kurkumin, <i>Curcuma longa</i> , (Turmeric) powder C1386	Kurkumin 10 gr	Sigma-Aldrich, ABD
Aloin, <i>Aloe barbadensis</i> B6906	Aloin 100 mg	Sigma-Aldrich, ABD
Supradyn Film Kaplı Tablet Multivitamin, Mineral ve Koenzim Q10 İçeren Takviye Edici Gıda	Vitaminler; C vitamini (80 mg), Niasin (16mg), E vitamini (12 mg), Pantotenik asit (6mg), B6 Vitamini (1.4 mg), B2 Vitamini (1.4 mg), B1 Vitamini (1.1 mg), A vitamini (800 mcg), Folik asit (200 mcg), Biotin (50 mcg), K Vitamini (25 mcg), D Vitamini (200 IU), B12 Vitamini (2.5 mcg) Mineraller; Kalsiyum (120 mg), Magnezyum (80 mg), Demir (14 mg), Çinko (10 mg), Mangan (2 mg), Bakır (1 mg), İyot (150 mcg), Selenyum (50 mcg), Molibden (50 mcg) Diğer; Koenzim Q10 (4.5 mg)	Bayer AG, Almanya
ProRoot® MTA Root Repair Material WHITE Refill Kit, 1gr	Toz: trikalsiyum silikat, trikalsiyum aluminat, trikalsiyum oksit, silikat oksit, bizmut oksit Likit: Distile su	Dentsply Tulsa Dental, ABD

3.1.2. Hücre Kültürü Çalışmasında Kullanılan Cihazlar, Aletler, Sarf ve Kimyasal Malzemeler

3.1.2.1. Cihaz ve Aletler

- Buzdolabı (Ariston Hot Point, İtalya)
- CO₂'li inkübatör (Nüve, EC 160, Türkiye)
- Derin dondurucu (-80°C) (Nüve, DF490, Türkiye)
- Floresan mikroskopu (Zeiss Zen, Axio Observer, Almanya)
- Laminar akım hücre kültür kabini (Nüve, MN 090, Türkiye)
- Mikropipet seti ve pipettör (Labsolute, Pipette assistant, Almanya)
- Otomatik pipet (Socorex, İsviçre)
- Santrifüj cihazı (Elektro-Mag M 815 P, Türkiye)
- Sıvı azot tankı (Arpege 70, Almanya)
- Su banyosu (Wilde Bath, Almanya)
- Spektrofotometre (Thermo Scientific, Multiskan GO, ABD)
- Hemasitometre (Interlab, Türkiye)

3.1.2.2. Sarf Malzemeler

- 96 kuyucuklu steril plaka
- 24 kuyucuklu steril plaka
- 75 cm² steril plastik kültür flasks
- 50 ml'lik steril falkon tüp
- 15 ml'lik steril santrifüj tübü
- 0,22 µm steril medyum süzme filtresi
- Steril petri kabı
- Serolojik pipet 5 ml
- Serolojik pipet 10 ml
- Pipet ucu 200 µl
- Pipet ucu 1000 µl

3.1.2.3. Kimyasal Malzemeler

- Cell Proliferation Reagent - WST-1 (Roche, Almanya)
- Dimethyl Sulfoxide - DMSO (Gibco, ABD)
- Dulbecco's Modified Eagle Medium 500 ml (Lonza Group, İsviçre)
- Fetal Bovine Serum (FBS) (Lonza Group, İsviçre)
- Human Dental Pulp Stem Cells Bullet Kit PT-3005 (Growth Supplement, Fetal Bovine Serum, L-Glutamine, Gentamycin Sulfate-Amphotericin B, Ascorbic Acid) (Lonza Group, İsviçre)
- İnsan Dental Pulpa Kök Hücre Hattı (Lonza Group, İsviçre)
- Phosphate Buffered Saline (Lonza Group, İsviçre)
- Reagent Pack, Subculture Reagents (Trypsin/EDTA, TNS, HEPES)100 ml CC-5034 (Lonza Group, İsviçre)

3.1.3. Alkalen Fosfataz Enzim Aktivitesi Analizinde Kullanılan Kit ve Cihazlar

- Human Alkaline Phosphatase ELISA Kit (Elabsience, ABD)
- ELISA mikroploka okuyucusu (Thermo Fisher Scientific, Multiskan Go, ABD)

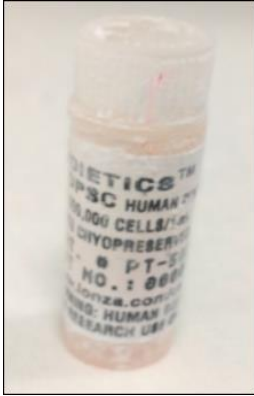
3.2. Yöntem

Bu tez çalışmasında, kurkumin, aloin, antioksidan karışım ve MTA materyalleri, belirlenen doz/konsantrasyon ve sürelerde, in vitro koşullarda, insan dental pulpa kök hücre hattı üzerine uygulandı; deney materyali uygulanmayan, besiyeri içinde kültür edilmiş insan dental pulpa kök hücre hattı kontrol grubu olarak belirlendi. Kurkumin ve aloin 2,5, 6,75, 12,5, 25 ve 50 µg/ml dozlarda; antioksidan karışım ve MTA %25-50-75-100'lük konsantrasyonlarda hazırlandı. Tüm materyallerin hücre canlılığı üzerine olan sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde WST-1 hücre proliferasyon testi 1., 2., 3. ve 7. günlerde, alkalen fosfataz (ALP) enzim aktivitesinin belirlenmesinde ise ELISA testi 7. ve 14. günlerde uygulandı. Sitotoksikite testinde materyallerin tüm doz ve konsantrasyonları incelendi. ALP aktivitesi testinde materyallerin en yüksek hücre canlılığı gösteren doz/konsantrasyonları değerlendirildi; kurkumin ve aloinin 2,5 ve 6,75 µg/ml dozları, antioksidan karışım ve MTA'nın %25 ve %50'lik konsantrasyonları analiz edildi. Testlerin absorbans değerleri spektrofotometre ile ölçüldü. Sitotoksikite testi 4 tekrarlı, ELISA testi 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

3.2.1. Hücre Kültürü

İnsan dental pulpa kök hücreleri (Lonza Group, İsviçre) (Şekil 3-1) satın alınımından hücre ekim işleminin başlangıç zamanına kadar azot tankı içerisinde (-196 °C) (Şekil 3-2) bekletildi ve deney gününde azot tankından çıkarılıp su banyosu içerisinde çözündürülüp oda sıcaklığına getirildi.

Hücre ekimi için besiyeri hazırlığı, laminar akımlı kabin içerisinde steril koşullarda hazırlandı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda hücre besiyeri içine L-Glutamin (10 ml), askorbik asit (5 ml), gentamisin sülfat ve amfoterasin B (0,5 ml) (Şekil 3-3) eklendi; hücrelerin büyümesi için uygun şartlar sağlandıktan sonra 75 cm²'lik kültür flaskı içerisine hücre ekimi gerçekleştirildi. 37 °C, %5 CO₂ ve nemli ortamdaki inkübatörde yeri değiştirilmeden 5 gün süre ile bekletilen kültür flasklarının %80 konfluent olması beklendi. Hücrelerin konfluent olduğu floresan mikroskopunda hücre sayımı ile saptandı ve alt kültürlenme işlemine geçildi.



Şekil 3-1: Sıvı azot tankında bekletilmiş insan dental pulpa kök hücreleri (Lonza Group, İsviçre)



Şekil 3-2: Sıvı azot tankı (Arpege 70, Almanya)



Şekil 3-3: Hücre kültüründe kullanılan kimyasal malzemeler (Gentamisin sülfat, L-Glutamin (10 ml), askorbik asit (5 ml) ve amfoterasin B) (Lonza Group, İsviçre)

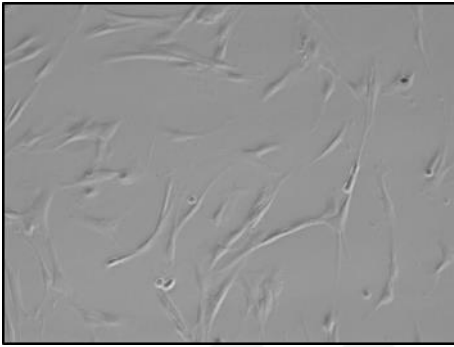
3.2.2. Alt Kültürleme

Alt kültürleme işleminde kullanılan tripsin, HEPES (N'-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2 ethanesulphonic acid), TNS (trypsin neutralizing factor) solüsyonları kullanım öncesi -20 °C derecede bekletildiği derin dondurucudan çıkarıldı ve sıcak su banyosu içerisinde bekletilerek oda sıcaklığına getirildi.

Konfluent hale geldiği ve flask tabanına yapıştığı gözlenen hücrelerin pasajlama işlemi için öncelikle flask içindeki besiyeri aspire edilerek uzaklaştırıldı. Tripsin inhibitörlerinin giderilmesi için flask 4 ml HEPES ile yıkandı; 2 ml tripsin EDTA solüsyonu eklenerek tripsin aktivitesinin gerçekleşmesi için 5 dk süreyle inkübatörde bekletildi. Hücrelerin flask yüzeyinden tamamen ayrıldığı floresan mikroskopu (Şekil 3-4) ile kontrol edildikten sonra tripsinin etkisinin giderilmesi için 4 ml TNS ile flask yüzeyi yıkandı ve yüzeyden ayrılan hücreler steril falkon tüplerine taşındı. Hücre süspansiyonu, 1500 rpm'de 5 dakika süresince santrifüj edilip oluşan süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra hücreler yeni flaslara ekildi. 5-6 gün aralıklarla, mikroskop aracılığıyla konfluent olduğu gözlenen hücrelerde aynı işlemler tekrarlanarak ikinci ve üçüncü pasajlar elde edildi (Şekil 3-5). Pasajlama işleminin tekrarlanmasına bağlı olarak artan hücre yorgunluğu göz önünde bulundurularak deneyler için üçüncü pasaj hücreleri kullanıldı, hücreler deney gününe kadar inkübatörde saklandı. Deneylerde kullanılmayan birinci ve ikinci pasaj hücreleri ise hücre dondurma prosedürleri uygulanarak azot tankında saklandı.



Şekil 3-4: Deneylerde kullanılan floresan mikroskopu (Zeiss Zen, Axio Observer, Almanya)



Şekil 3-5: Konfluent hale gelmiş hücrelerin mikroskop görüntüsü

3.2.3. Hücre Dondurma

Hücre alt kültürleme işlemi devam ederken elde edilen ve deneylerde kullanılmayacak olan alt kültür hücreleri, dondurma işlemi için azot tankında stoklandı. Dondurma besiyeri için %10'luk 10 ml DMSO, 40 ml besiyeri, 10 ml dondurma medyumunu içeren yeni bir besiyeri hazırlandı ve besiyeri içerisine hücreler eklenerek 1,5 ml'lik kriyovial tüplere alındı. Kademeli dondurma işlemi için -80 °C'de bir gece bırakıldıktan sonra, tüpler sıvı azot tankına aktarıldı.

3.2.4. Materyal Örneklerinin Hazırlanması

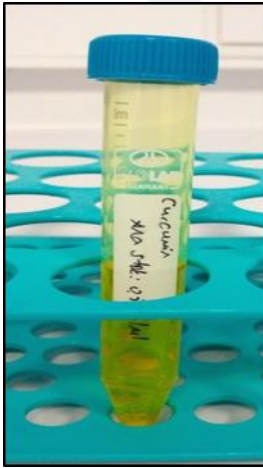
3.2.4.1. Kurkumin Örneklerinin Hazırlanması

Ticari olarak hazır bulunan kurkumin materyali (*Curcuma longa*, Sigma-Aldrich C1386-10 gr, ABD) (Şekil 3-6) toz halinde temin edilip, 3,5 mg hassas tartıda tartıldıktan sonra, 7 ml ölçüde %60'luk etanol içerisinde deneylerde kullanılmak üzere çözdürüldü; 1500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi ve 0,22 µm por çaplı steril süzme filtresinden süzülüp, bakteri eliminasyonu sağlanıp homojen bir sıvı elde edildi. Kurkumin konsantrasyonu 0,5 mg/ml olacak şekilde hazırlanıp, deneylerde kullanılmak üzere stok

solüsyonu hazırlandı (Şekil 3-7) ve deney gününe kadar -20 °C’de saklandı (Mandrol ve ark. 2016).



Şekil 3-6: Çalışmada kullanılan kurkumin materyali (*Curcuma longa*, Sigma-Aldrich C1386-10 gr, ABD)



Şekil 3-7: Kurkuminin stok solüsyonu

3.2.4.2. Aloin Örneklerinin Hazırlanması

Ticari olarak hazır bulunan aloin materyali toz halinde temin edilip (*Aloe barbadensis* Miller Leaves, Sigma-Aldrich B6906-100 mg, ABD) (Şekil 3-8), 5,5 mg aloin, 11 ml %60’lık etanol içerisinde çözdürüldü; 1500 rpm’de 15 dakika santrifüj edildi ve 0,22 µm por çaplı steril medyum süzme filtresinden süzülüp, bakteri eliminasyonu ve homojen bir sıvı elde edildi. Konsantrasyon 0,5 mg/ml olacak şekilde stok solüsyonu hazırlandı (Şekil 3-9) ve deney gününe kadar -20 °C’de bekletildi (Pengjam ve ark. 2016).



Şekil 3-8: Çalışmada kullanılan aloin materyali (*Aloe barbadensis* Miller Leaves, Sigma-Aldrich B6906-100 mg, ABD)



Şekil 3-9: Aloinin stok solüsyonu

3.2.4.3. Antioksidan Karışım Örneklerinin Hazırlanması

Antioksidan karışım özelliğine sahip, multivitamin, mineral ve koenzim Q10 içerikli ticari preparat Supradyn (Bayer AG, Türkiye) (Tablo 3-1) (Şekil 3-10) materyalinin örnekleri hazırlanırken, tabletler önce laminar akımlı kabin içerisinde ultraviyole ışık altında 15 dakika bekletildi; daha sonra 2 adet tablet falkon tüpüne alındı ve 20 ml DMEM eklendi. 24 saat 37 ± 2 °C’de inkübatörde bekletildikten sonra homojenizasyonun sağlanması için falkon tüpü 1500 rpm’de 15 dakika süresince santrifüj edildi; kontaminasyon riskine karşı 0,22 µm por çaplı steril süzme filtresinden süzülüp yeni bir falkon tüpüne aktarıldı ve -20 °C’de deney gününe kadar saklandı (Şekil 3-11).



Şekil 3-10: Çalışmada kullanılan antioksidan karışımın tablet formu (Bayer AG, Almanya)



Şekil 3-11: Antioksidan karışım stok solüsyonu

3.2.4.4. ProRoot MTA Örneklerinin Hazırlanması

ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental, ABD) materyal örnekleri, üretici firmanın önerileri doğrultusunda (Tablo 3-1) (Şekil 3-12), laminar akımlı kabin içerisinde aseptik koşullar sağlanarak, steril teflon kalıplarda, 8 mm iç çapında 2 mm derinliğinde 4 adet disk elde edilecek şekilde hazırlandı ve sertleşmesi için 1 gün süreyle oda koşullarında bekletildi. Materyalin tam sertleşmesi sağlandıktan sonra kontaminasyon riskini elimine etmek için örnekler 15 dakika süresince, laminar akımlı kabin içerisinde ultraviyole ışık altında bekletildi; diskler daha sonra falkon tüpüne alındı ve 10 ml DMEM eklenerek salınım sıvısının elde edilmesi için 37 ± 2 °C'de inkübatörde 1 gün bekletildi. Hazırlık aşamasında ISO 10993-5 standartları esas alınıp yüzey/besiyeri oranının $0,5-6 \text{ cm}^2/\text{ml}$ olması, besiyerinin tüm örnekleri kapsayabilmesine dikkat edildi.

Materyalin salınım sıvısının homojen olmasının sağlanması için inkübatörden çıkarılan falkon tüpleri 1500 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edildi; kontaminasyon riskine karşı salınım sıvısı $0,22 \mu\text{m}$ por çaplı steril medyum süzme filtresinden süzülüp

yeni bir falkon tüpüne aktarıldı ve -20 °C’de deney gününe kadar saklandı (Şekil 3-13) (Thomas-Catala ve ark. 2018). .



Şekil 3-12: Çalışmada kullanılan MTA materyali (Dentsply Tulsa Dental, ABD)



Şekil 3-13: MTA stok solüsyonu

3.2.5. Sitotoksitenin Değerlendirilmesi

Kurkumin, aloin, antioksidan karışım ve MTA materyalleri, belirlenen doz ve sürelerde, in vitro koşullarda, 3. pasajdan elde edilen insan dental pulpa kök hücre hattı üzerine uygulandı ve deney materyali uygulanmayan, besiyeri içinde kültür edilmiş hücre hattı kontrol grubu olarak belirlendi. Kurkumin ve aloin materyalleri için 2,5, 6,75, 12,5, 25 ve 50 µg/ml dozları; antioksidan karışım ve MTA için ise %25, %50, %75, %100'lük konsantrasyonları hazırlandı. Tüm materyallerin hücre canlılığı üzerine etkileri 1., 2., 3. ve 7. günlerde WST-1 hücre proliferasyon testi ile incelendi.

Sitotoksite testlerinde, deney materyallerinin dozları ve konsantrasyonları'nın 1., 2., 3. ve 7. günlerde hücre hattında meydana getirdiği etkinin absorbansı, kontrol grubunun absorbansı ile karşılaştırıldı. Kontrol grubunun absorbansı 100 kabul edildi ve uygulanan dozlardaki pozitif veya negatif etki, bu absorbansa göre değerlendirildi. Deney gruplarında farklı doz/konsantrasyon'lar ve günlere ilişkin olarak elde edilen bulgular ise her materyalin kendi grubu içerisinde karşılaştırıldı.

WST-1 hücre proliferasyon testi:

İnkübatör ortamından (Şekil 3-14) çıkarılan hücreler, flask yüzeyinden ayrılması için önce 2 ml PBS ile yıkandıktan sonra 2 ml tripsin eklenerek 5 dakika inkübatörde bekletildi ve sonrasında tripsinin etkisinin yok edilmesi için 4 ml TNS ile yıkandı. Hücre ve medyum karışımı falkon tüplerine alınıp 1500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Hemasitometre ile hücre sayımı gerçekleştirilip floresan mikroskopunda kontrol edildikten sonra elde edilen hücreler %3 FBS ve 1 ml DMEM içeren yeni bir medium içerisine eklendi ve 1., 2., 3., 7. gün sitotoksosite ölçümleri için dört farklı 96 kuyucuklu plaka üzerine, kuyucuk başına 1×10^4 hücre olacak şekilde ekildi (Şekil 3-15). Hücrelerin kuyucuklara tutunmasının sağlanması için 24 saat 37 °C, %5 CO₂ nemli ortamdaki inkübatörde bekletildi. Plakalar üzerinde, kontrol grubunun ardından deney grupları sıralandı.

Mikroskop altında hücrelerin kuyucuklara tutunmuş olduğu gözlemlendikten sonra, materyallerin dozlama işlemine geçildi. Materyallerin stok solüsyonları, hücreler üzerine uygulanmadan önce muhafaza edildiği -20 °C'den çıkarıldı ve sıcak su banyosunda oda sıcaklığına getirildikten sonra DMEM ile seyreltilerek belirlenen doz ve konsantrasyonlar hazırlandı.

Materyallerin sitotoksosite ölçümleri için, 96 kuyucuklu plakaya ekilmiş hücreler üzerine her dozdan 100 µl eklenerek dozlama işlemi yapıldı ve 1, 2, 3 ve 7 gün olmak suretiyle dört farklı gün için ayrı plakalar kullanıldı. WST-1 ölçüm gününe kadar her bir plaka inkübatörde bekletildi. Deney gününde ölçümü yapılacak olan plaka inkübatörden çıkarılıp her kuyucuğa 6 µl WST-1 solüsyonu (Şekil 3-16) eklenip 3 saat inkübatörde bekletildikten sonra spektrofotometre ile absorbans değerleri 450 nm'de okundu ve sitotoksosite testi 4 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.



Şekil 3-14: İnkübatör (Nüve, EC 160, İstanbul, Türkiye)



Şekil 3-15: 96 kuyucuklu plakaya besiyeri ile ekilmiş insan dental pulpa kök hücreleri



Şekil 3-16: WST-1 proliferasyon testinin solüsyonu (Roche, Almanya)

3.2.6. Alkalen Fosfataz Aktivitesinin Değerlendirilmesi

ALP aktivitesi testi:

Deney materyallerinin sitotoksikite testi bulgularına göre en yüksek hücre canlılığı gösterdiği dozlar 7. ve 14. günlerde alkalen fosfataz enzim aktivitesi açısından değerlendirildi. Kurkumin ve aloin materyalleri için 2,5 µg/ml ve 6,75 µg/ml dozları, antioksidan karışım ve MTA materyalleri için ise %25 ve %50 konsantrasyonları kullanıldı. Deney gruplarında farklı doz ve günlere ilişkin olarak elde edilen bulgular kontrol grubu ile ve her materyalin kendi grubu içinde karşılaştırıldı.

Materyallerin 7. ve 14. günlerde ALP enzim düzeylerinin belirlenmesinde 24 kuyucuklu plakalar kullanıldı (Şekil 3-17). Her bir kuyucuğa 5×10^4 hücre ekimi yapıldı. Hücrelerin kuyucuklara tutunmasının sağlanması amacı ile plakalar 24 saat süreyle inkübatörde bekletildi. Mikroskop altında hücre tutunması gözlemlendikten sonra kuyucuk başına her bir dozdan 400 µl eklenerek dozlama işlemi gerçekleştirildi.

7. ve 14. günlerde materyal sıvıları hücreler üzerinden steril pipetler yardımıyla toplanıp analiz gününe kadar dondurma tüpleri içinde -80 °C’de muhafaza edildi ve deney günlerinde ELISA testi ölçümleri yapıldı.

Elde edilen sıvıların ALP düzeylerinin ölçümü, ALP’ye özgü bir antikor ile kaplanmış insan ALP ELISA kiti (Elabsience, ABD) ile gerçekleştirildi. Kit içerisinde hazır bulunan tüm reaktif ve standartlar üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlandı. Uygulama kitapçığında belirtilen solüsyonlar kademeli olarak belirli zaman aralıklarında eklendi. Test sonuçları 450 nm dalga boyunda spektrofotometre ile okundu (Şekil 3-18). ALP konsantrasyonu standart eğri kullanılarak hesaplandı. ELISA testi 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.



Şekil 3-17: 24 kuyucuklu plakaya besiyeri ile ekilmiş insan dental pulpa kök hücreleri



Şekil 3-18: Spektrofotometre (Thermo Scientific, Multiskan GO, ABD)

3.2.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi Graphad Prism 6 programında, Tek yönlü ANOVA testi ile yapıldı. Doğrulama (post-hoc) analizleri için, sitotoksosite test analizinde Tukey çoklu karşılaştırma testi, ELISA testi analizinde ve Sidak testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında, kurkumin, aloin, antioksidan karışım ve MTA deneysel materyallerinin farklı dozlarda ve günlerde insan dental pulpa kök hücre hattı üzerinde oluşturdukları proliferatif ya da sitotoksik etkileri WST-1 hücre proliferasyonu testi, ALP aktivitesi düzeylerinin ise ELISA testi ile incelenmesi sonucu elde edilen bulgular aşağıda belirtilmektedir:

4.1. WST-1 Hücre Proliferasyon Testine İlişkin Bulgular

4.1.1. Kurkumin Grubunda Elde Edilen Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

Kurkuminin 2,5, 6,75, 12,5, 25, 50 µg/ml dozlarının, insan dental pulpa kök hücre hattı ile 1, 2, 3 ve 7 gün süreyle inkübe edilmesi sonucu elde edilen bulgular; saptanan grup ortalama değerlerinin, absorbans değeri 100 kabul edilen kontrol grubu ile karşılaştırılması Tablo 4-1 ve Şekil 4-1’de görülmektedir.

1. günde, 2,5 µg/ml kurkumin dozunun, kontrol grubuna göre, hücre canlılığını istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı ($p:0,0288$), 6,75 µg/ml dozunun anlamlı bir etki oluşturmadığı ($p:0,0554$), 12,5, 25, 50 µg/ml dozları uygulandığında ise hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu saptandı ($p:0,0020$, $p:0,0003$, $p:0,0011$).

2. ve 3. günde, 12,5, 25 ve 50 µg/ml kurkumin dozlarının hücre canlılığını istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı ($p<0,05$), 2,5 µg/ml ($p:0,7097$; $p:0,8904$) ve 6,75 µg/ml ($p:0,0719$; $p:0,3800$) dozlarının istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı görüldü.

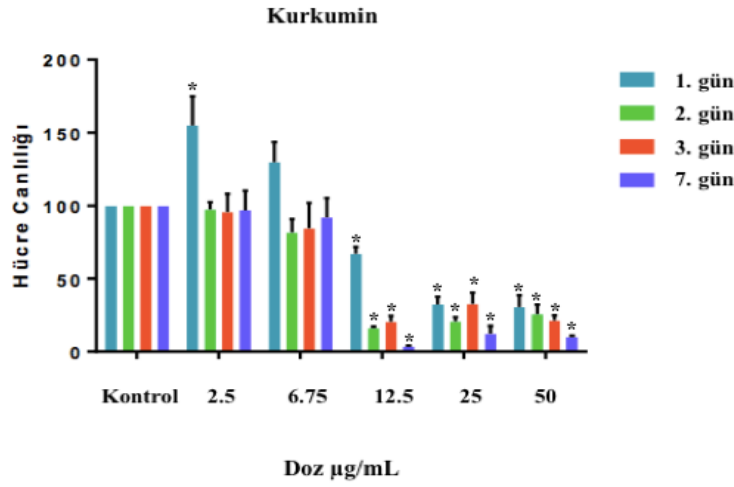
7. günde, 12,5, 25 ve 50 µg/ml kurkumin dozlarında hücre canlılığının ortalama %8’e kadar düştüğü ve hücre canlılığındaki bu düşüşün istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,0001$); 2,5 ve 6,75 µg/ml kurkumin dozlarında ise hücre canlılığı oranlarının sırası ile %97 ve %92 olduğu ve kontrol grubu ile arasında anlamlı farklılıkların olmadığı ($p>0,05$) saptandı.

Tablo 4-1: Kurkumin dozlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbens değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

Kurkumin dozları	1. gün			2. gün		
	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p
2,5 µg/ml	153,6 (133,6-179,7)	155,1 ± 19,80	0,0288*	96,78 (94,64-103,3)	97,89 ± 4,040	0,7097
6,75 µg/ml	125,8 (118,2-149,6)	129,8 ± 13,68	0,0554	81,23 (70,78-92,78)	81,51 ± 9,379	0,0719
12,5 µg/ml	67,62 (61,34-72,62)	67,30 ± 4,672	0,0020*	15,93 (15,33-17,72)	16,23 ± 1,038	<0,0001*
25 µg/ml	31,86 (26,93-39,07)	32,43 ± 5,240	0,0003*	20,5 (17,76-24,4)	20,79 ± 2,733	<0,0001*
50 µg/ml	32,64 (19,79-37,5)	30,64 ± 8,047	0,0011*	27,62 (16,23-30,8)	25,57 ± 6,643	0,0005*
Kurkumin dozları	3. gün			7. gün		
	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p
2,5 µg/ml	91,67 (86,45-113,4)	95,80 ± 12,33	0,8904	99,36 (79,82-109,5)	97,00 ± 13,19	0,9667
6,75 µg/ml	88,62 (59,49-100,9)	84,42 ± 17,69	0,3899	98,21 (72,16-99,49)	92,02 ± 13,26	0,6280
12,5 µg/ml	21,81 (15,43-23,55)	20,65 ± 3,764	<0,0001*	3,617 (2,682-4,215)	3,532 ± 0,6372	<0,0001*
25 µg/ml	32,1 (24,13-42,39)	32,68 ± 7,887	0,0011*	11,02 (9,323-18,52)	12,47 ± 4,276	0,0001*
50 µg/ml	21,38 (18,04-25)	21,45 ± 3,350	<0,0001*	10,47 (9,068-10,86)	10,22 ± 0,7942	<0,0001*

*İstatistiksel olarak anlamlı, $p < 0,05$.

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizinde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



(*İstatistiksel olarak anlamlı, $p < 0,05$)

Şekil 4-1: Kurkumin dozlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbands değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

4.1.2. Kurkumin Grubunda Dozlara İlişkin Bulguların Karşılaştırılması

Kurkumin grubunda dozlara ilişkin ortalama absorbands değerlerinin karşılaştırılması Tablo 4-2’de gösterilmektedir.

1. gün, uygulanan kurkumin dozlarının hücre canlılığında oluşturduğu etki incelendiğinde 25 µg/ml ve 50 µg/ml dozlarının birbirleriyle olan karşılaştırması dışında tüm dozların karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı ($p < 0,05$). Doz arttıkça hücre canlılığının, bir önceki doza oranla azaldığı belirlendi.

2., 3. ve 7. gün kurkumin bulgularının istatistiksel analizi sonucunda, doz arttıkça hücre canlılığının sıklıkla azalma gösterdiği gözlemlendi. Kurkuminin 2,5 ve 6,75 µg/ml dozları, tüm günlerde, daha yüksek dozlar ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek hücre canlılığı gösterirken ($p < 0,05$), diğer dozların birbirleriyle olan karşılaştırılmasında anlamlı farklılıklar saptanmadı ($p > 0,05$).

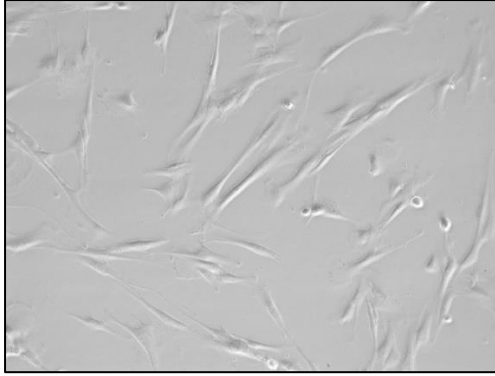
Kurkuminin en yüksek hücre canlılığı gösteren 2,5 µg/ml dozunun 1. günde hücreler üzerinde oluşturduğu değişiklik ve yüksek sitotoksosite gözlenen 7. günde 50 µg/ml dozunun hücrelerde oluşturduğu etki Şekil 4-2 ve Şekil 4-3’te görülmektedir.

Tablo 4-2: Kurkumin doz gruplarında saptanan ortalama absorbans değerlerinin karşılaştırılması

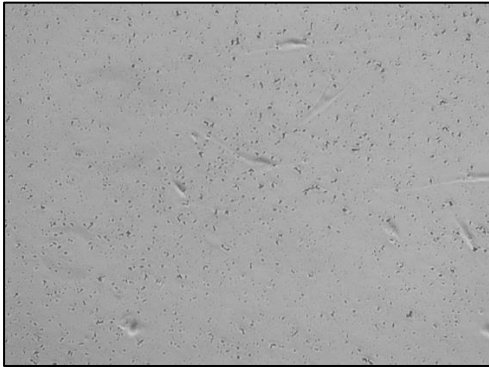
Kurkumin dozları	1. gün		2. gün		3. gün		7. gün	
	Ortalama fark	p	Ortalama fark	p	Ortalama fark	p	Ortalama fark	p
2,5 – 6,75 µg/ml	25.31	p<0,05*	16,16	p>0,05	11,38	p>0,05	4,981	p>0,05
2,5 – 12,5 µg/ml	87.85	p<0,05*	81,44	p<0,05*	75,14	p<0,05*	93,47	p<0,05*
2,5 – 25 µg/ml	122.7	p<0,05*	77,1	p<0,05*	63,12	p<0,05*	84,53	p<0,05*
2,5 – 50 µg/ml	124.5	p<0,05*	72,3	p<0,05*	74,35	p<0,05*	86,78	p<0,05*
6,75 – 12,5 µg/ml	62.54	p<0,05*	65,28	p<0,05*	63,77	p<0,05*	88,48	p<0,05*
6,75 – 25 µg/ml	97.41	p<0,05*	60,72	p<0,05*	51,74	p<0,05*	79,54	p<0,05*
6,75 – 50 µg/ml	99.2	p<0,05*	55,94	p<0,05*	62,97	p<0,05*	81,8	p<0,05*
12,5 – 25 µg/ml	34.87	p<0,05*	-4,564	p>0,05	-12,03	p>0,05	-8,94	p>0,05
12,5 – 50 µg/ml	36,66	p<0,05*	-9,342	p>0,05	-0,79	p>0,05	-6,684	p>0,05
25 – 50 µg/ml	1.785	p>0,05	-4,78	p>0,05	11,23	p>0,05	2,256	p>0,05

* İstatistiksel olarak anlamlı (p<0,05)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-2: Kurkuminin 2,5 µg/ml dozunun 1. günde hücreler üzerine etkisi



Şekil 4-3: Kurkuminin 50 µg/ml dozunun 7. günde hücreler üzerine etkisi

4.1.3. Kurkumin Grubunda Dozların Günlere Göre Karşılaştırılması

Kurkumin grubunda tüm dozların 1., 2., 3. ve 7. gün absorbans ortalama değerlerinin karşılaştırılmasına ilişkin bulgular aşağıda belirtilmektedir:

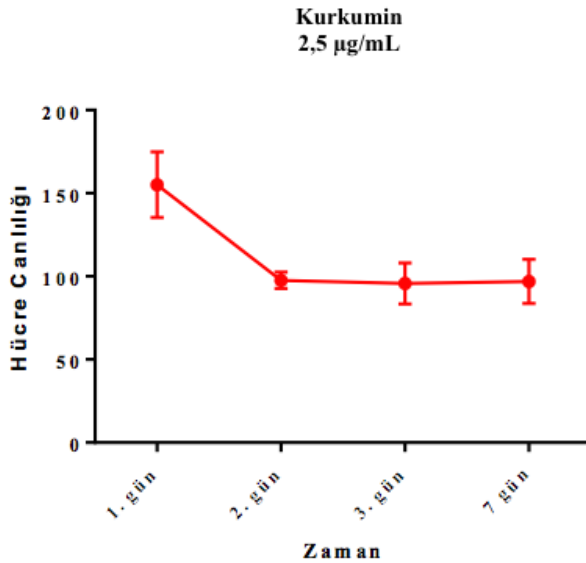
2,5 µg/ml kurkumin dozunun, 1. günde oluşturduğu hücre proliferasyonunun diğer tüm günlere oranla, istatistiksel olarak anlamlı olarak daha fazla olduğu belirlendi ($p<0,05$). 2., 3. ve 7. gün absorbans değerlerinde ise anlamlı farklılıklar bulunmadı ($p>0,05$) (Tablo 4-3) (Şekil 4-4).

Tablo 4-3: Kurkumin 2,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

Kurkumin 2,5 µg/ml		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	57,21	$p<0,05^*$
1. gün - 3. gün	59,35	$p<0,05^*$
1. gün - 7. gün	58,15	$p<0,05^*$
2. gün - 3. gün	2,09	$p>0,05$
2. gün - 7. gün	0,89	$p>0,05$
3. gün - 7. gün	-1,2	$p>0,05$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-4: Kurkumin 2,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

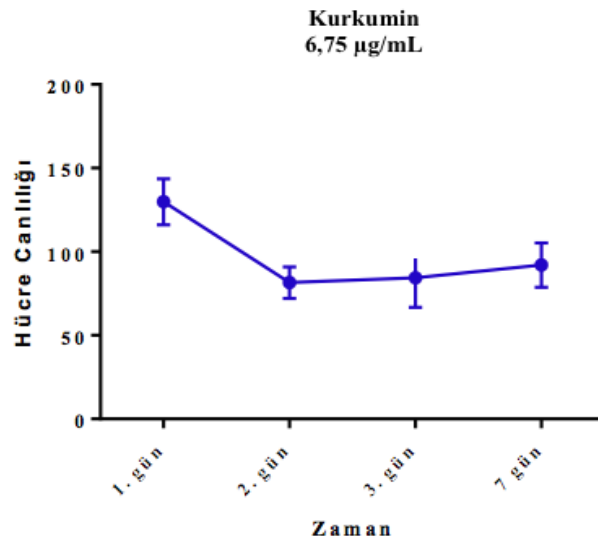
6,75 µg/ml kurkumin dozunun, 1. gün ve diğer günlere ilişkin ortalama değerleri arasında anlamlı farklılıklar saptandı ve 1. günde hücre canlılığının daha yüksek olduğu belirlendi ($p<0,05$); diğer günler arasında anlamlı farklılıklar saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4-4) (Şekil 4-5).

Tablo 4-4: Kurkuminin 6,75 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

Günler	Kurkumin 6,75 µg/ml	
	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	48,29	$p<0,05^*$
1. gün - 3. gün	45,38	$p<0,05^*$
1. gün - 7. gün	37,78	$p<0,05^*$
2. gün - 3. gün	-2,915	$p>0,05$
2. gün - 7. gün	-10,51	$p>0,05$
3. gün - 7. gün	-7,657	$p>0,05$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-5: Kurkuminin 6,75 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

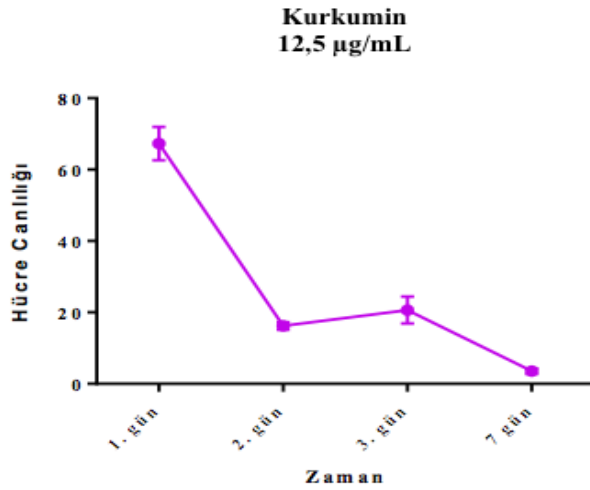
12,5 µg/ml kurkumin dozunun 1. günde, diğer günlere oranla anlamlı olarak daha yüksek hücre canlılığı oluşturduğu saptandı ($p<0,05$). Günler arasındaki en büyük farkın 1. ve 7. günler arasında olduğu belirlendi ($p<0,05$) (Tablo 4-5) (Şekil 4-6).

Tablo 4-5: Kurkumin 12,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

Günler	Kurkumin 12,5 µg/ml	
	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	51,08	$p<0,05^*$
1. gün - 3. gün	46,65	$p<0,05^*$
1. gün - 7. gün	63,77	$p<0,05^*$
2. gün - 3. gün	-4,426	$p>0,05$
2. gün - 7. gün	12,69	$p>0,05$
3. gün - 7. gün	17,12	$p>0,05$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-6: Kurkuminin 12,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

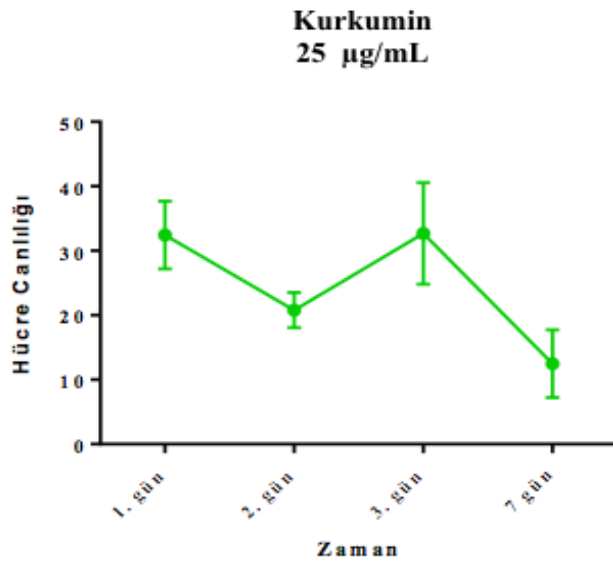
25 µg/ml kurkumin dozunda, yalnızca 1. ve 7. gün, 3. gün ve 7. gün karşılaştırmalarında anlamlı farklılıklar saptandı ($p<0,05$). 1. ve 3. gün ortalama absorbands değerleri birbirine yakınken, 7. günde sitotoksik etkide artış olduğu belirlendi ($p<0,05$) (Tablo 4-6) (Şekil 4-7).

Tablo 4-6: Kurkumin 25 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

Günler	Kirkumin 25 µg/ml	
	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	11,64	$p>0,05$
1. gün - 3. gün	-0,252	$p>0,05$
1. gün - 7. gün	19,96	$p<0,05^*$
2. gün - 3. gün	-11,89	$p>0,05$
2. gün - 7. gün	8,317	$p>0,05$
3. gün - 7. gün	20,21	$p<0,05^*$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-7: Kurkuminin 25 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

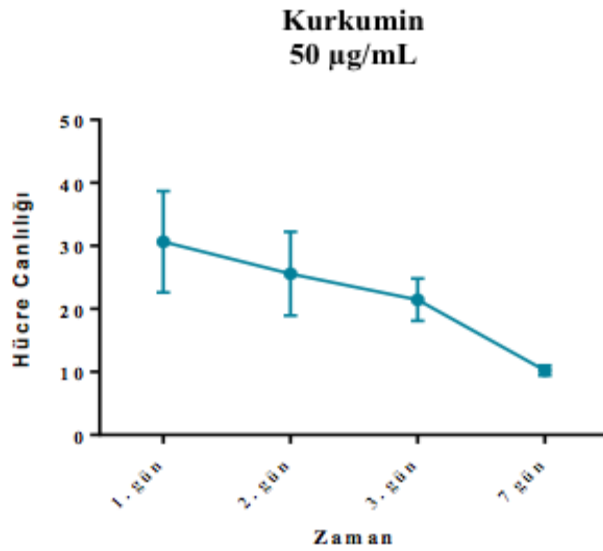
50 µg/ml kurkumin dozunun yalnızca 1. ve 7. gün bulguları arasında farklılığın anlamlı olduğu belirlendi. Etkileşim süresi arttıkça sitotoksik etkinin de arttığı saptandı ($p<0,05$) (Tablo 4-7) (Şekil 4-8).

Tablo 4-7: Kurkumin 50 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

Günler	Kurkumin 50 µg/ml	
	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	5,076	$p>0,05$
1. gün - 3. gün	9,195	$p>0,05$
1. gün - 7. gün	20,43	$p<0,05^*$
2. gün - 3. gün	4,119	$p>0,05$
2. gün - 7. gün	15,35	$p>0,05$
3. gün - 7. gün	11,23	$p>0,05$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-8: Kurkuminin 50 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

4.1.4. Aloin Grubunda Elde Edilen Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

Aloinin 2,5, 6,75, 12,5, 25, 50 µg/ml dozları insan dental pulpa kök hücre hattı üzerine uygulandığında elde edilen bulgular Tablo 4-8 ve Şekil 4-9’da gösterilmektedir.

1. günde, aloinin tüm dozlarının hücre proliferasyonu üzerinde kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış sağladığı saptandı ($p < 0,05$). 2,5, 6,75, 12,5, 25, 50 µg/ml aloin dozları için sırasıyla p değerleri $p:0,0416$, $p:0,0002$, $p:0,0018$, $p:0,0017$ ve $p:0,0069$ olarak bulundu.

2. günde, aloin için belirlenmiş hiçbir dozun, kontrol grubuna göre, hücre canlılığı üzerinde anlamlı düzeyde olumlu ya da olumsuz bir etkiye neden olmadığı görüldü ($p > 0,05$).

3. günde, tüm aloin dozları içinde yalnızca 50 µg/ml’nin anlamlı olarak hücre canlılığını azalttığı saptandı ($p: 0,0401$). Diğer dozların hücre proliferasyonu üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmadığı gözlemlendi ($p > 0,05$).

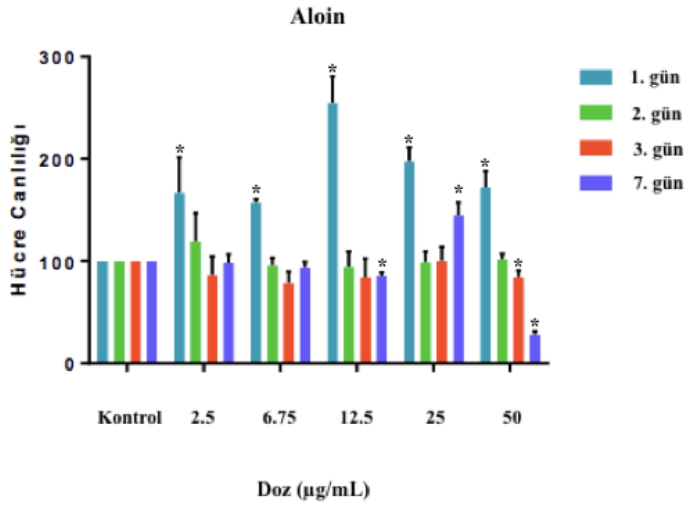
7. günde, 2,5 µg/ml ve 6,75 µg/ml aloin doz değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı farklılık oluşturmadığı ($p:0,9688$, $p:0,2332$), 25 µg/ml dozunun hücre canlılığını artırdığı ($p:0,0075$), 12,5 ve 50 µg/ml dozlarının ise kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde sitotoksik etki oluşturduğu belirlendi ($p: 0,0077$, $p < 0,0001$).

Tablo 4-8: Aloin dozlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbens değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

Aloin Dozları	1. gün			2. gün		
	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p
2,5 µg/ml	155,3 (139,72-205,55)	170,3 ± 28,92	0,0416*	110,5 (95,21-159,93)	119,0 ± 28,20	0,5569
6,75 µg/ml	156,1 (154,72-162,14)	157,3 ± 3,363	0,0002*	98,64 (85,857-100,93)	96,02 ± 7,003	0,6624
12,5 µg/ml	246,3 (237,81-284,50)	253,7 ± 21,21	0,0018*	97,47 (74,44-109,32)	94,68 ± 14,66	0,8708
25 µg/ml	192,8 (188,70-217,11)	197,8 ± 13,25	0,0017*	95,52 (90,211-114,20)	98,86 ± 10,53	0,9976
50 µg/ml	172,9 (154,57-188,70)	172,2 ± 15,71	0,0069*	102,3 (95,854-106,52)	102,94 ± 6,643	0,8473
Aloin Dozları	3. gün			7. gün		
	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p
2,5 µg/ml	85,72 (65-109,34)	86,45 ± 18,13	0,4922	97,45 (88,250-109,19)	98,08 ± 8,585	0,9688
6,75 µg/ml	82,54 (62,68-86,449)	78,55 ± 10,97	0,0735	92,59 (90,038-101,27)	94,13 ± 4,988	0,2332
12,5 µg/ml	78,48 (69,63-110,21)	84,20 ± 18,12	0,3960	85,57 (81,60-89,527)	85,57 ± 3,248	0,0077*
25 µg/ml	99,93 (85-116,88)	100,4 ± 13,47	>0,9999	144,5 (133,46-157,98)	145,1 ± 10,06	0,0075*
50 µg/ml	82,39 (79,492-93,69)	84,49 ± 6,290	0,0401*	27,85 (24,393-31,034)	27,78 ± 2,807	<0,0001*

* İstatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



(*İstatistiksel olarak anlamlı, $p < 0,05$)

Şekil 4-9: Aloin dozlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbans değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

4.1.5. Aloin Grubunda Dozlara İlişkin Bulguların Karşılaştırılması

Aloin grubunda dozlara ilişkin ortalama absorbans değerlerinin karşılaştırılması Tablo 4-9'da gösterilmektedir.

1. gün uygulanan aloin dozlarının hücre canlılığına etkileri değerlendirildiğinde, dozlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunan karşılaştırmalarda, 12,5-25 ve 12,5-50 µg/ml karşılaştırmaları dışında tüm karşılaştırmalarda yüksek olan dozun düşük olan doza göre hücre canlılık oranının daha yüksek olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

Aloin uygulanmış hücrelerin 2. ve 3. güne ait proliferasyon değerleri incelendiğinde; dozlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmadı ($p > 0,05$).

7. gün ortalama absorbans değerlerinin karşılaştırılmasında ise; aralarında anlamlı farklılıklar bulunan dozlar incelendiğinde, 50 µg/ml dozu hariç diğer dozlarda, yüksek olan dozun hücre canlılığını arttırdığı saptandı ($p < 0,05$).

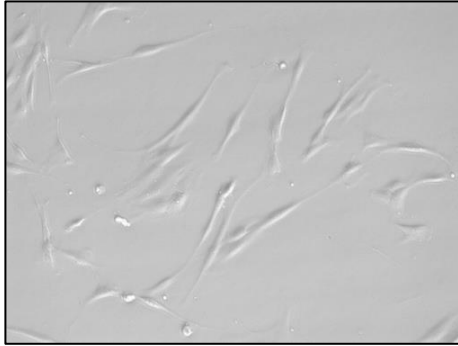
Aloinin hücre proliferasyonunu arttırdığı 1. günde 2,5 µg/ml dozunun ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği 7. gün 50 µg/ml dozunun hücreler üzerinde oluşturduğu etkiler Şekil 4-10 ve Şekil-11'de gösterilmiştir.

Tablo 4-9: Aloin doz gruplarında saptanan ortalama absorbans değerlerinin karşılaştırılması

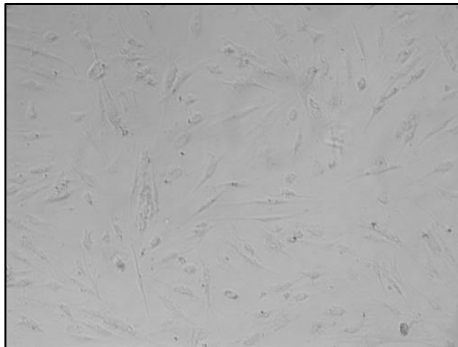
Aloin dozları	1. gün		2. gün		3. gün		7. gün	
	Ortalama fark	p	Ortalama fark	p	Ortalama fark	p	Ortalama fark	p
2,5 – 6,75 µg/ml	13	p>0,05	22,98	p>0,05	7,899	p>0,05	3,959	p>0,05
2,5 – 12,5 µg/ml	-83,4	p<0,05*	24,37	p>0,05	2,246	p>0,05	12,52	p>0,05
2,5 – 25 µg/ml	-27,5	p<0,05*	20,18	p>0,05	-13,99	p>0,05	-47,02	p<0,05*
2,5 – 50 µg/ml	-1,9	p>0,05	16,06	p>0,05	1,957	p>0,05	70,03	p<0,05*
6,75 – 12,5 µg/ml	-96,41	p<0,05*	1,342	p>0,05	-5,652	p>0,05	8,557	p>0,05
6,75 – 25 µg/ml	-40,59	p<0,05*	-2,843	p>0,05	-21,88	p>0,05	-50,92	p<0,05*
6,75 – 50 µg/ml	-14,99	p>0,05	-6,92	p>0,05	-5,942	p>0,05	66,37	p<0,05*
12,5 – 25 µg/ml	55,92	p<0,05*	-4,185	p>0,05	-16,23	p>0,05	-59,47	p<0,05*
12,5 – 50 µg/ml	81,52	p<0,05*	-8,26	p>0,05	-0,289	p>0,05	57,51	p<0,05*
25 – 50 µg/ml	25,59	p>0,05	-4,08	p>0,05	15,94	p>0,05	117,3	p<0,05*

* İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-10: Aloinin 2,5 µg/ml dozunun 1. günde hücreler üzerine etkisi



Şekil 4-11: Aloinin 50 µg/ml dozunun 7. günde hücreler üzerine etkisi

4.1.6. Aloin Grubunda Dozların Günlere Göre Karşılaştırılması

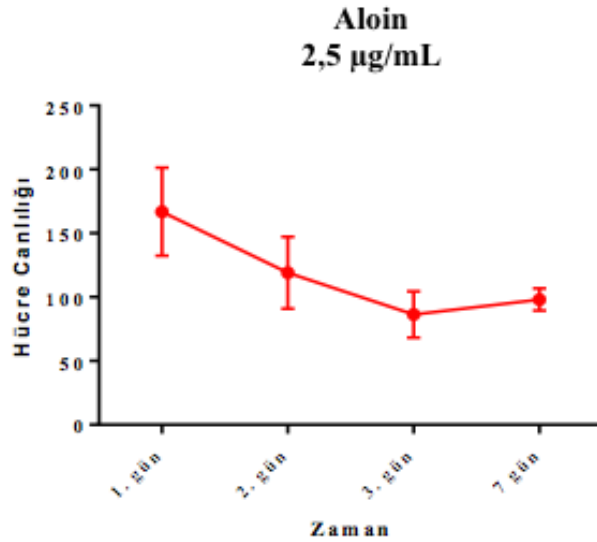
Aloin materyalinin 2,5 µg/ml dozunda 1. gün ile diğer tüm günler arasında ve 2. ve 3. günler arasında anlamlı farklılıklar saptandı; 1. gündeki hücre canlılığının en yüksek olduğu belirlendi ($p<0,05$) (Tablo 4-10) (Şekil 4-12).

Tablo 4-10: Aloinin 2,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

Aloin 2,5 µg/ml		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	51,3	$p<0,05^*$
1. gün - 3. gün	83,85	$p<0,05^*$
1. gün - 7. gün	72,22	$p<0,05^*$
2. gün - 3. gün	32,59	$p<0,05^*$
2. gün - 7. gün	20,96	$p>0,05$
3. gün - 7. gün	-11,64	$p>0,05$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-12: Aloinin 2,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

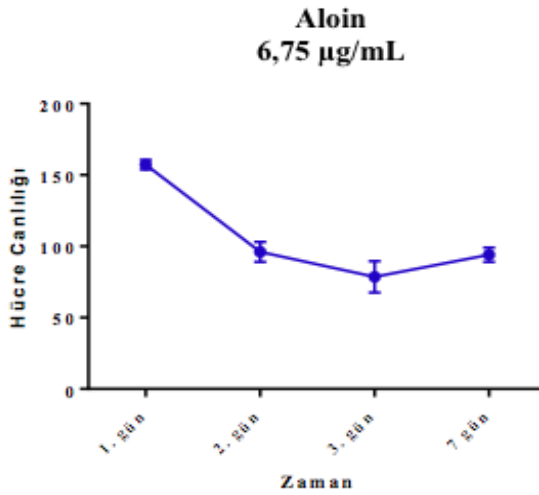
6,75 ve 12,5 µg/ml dozunun absorbans değerlerinde, 1. günün tüm günler arasında anlamlı farklılıklar belirlenirken diğer gün karşılaştırmalarında istatistiksel anlamlılık gözlenmedi (Tablo 4-11, Tablo 4-12) (Şekil 4-13, Şekil 4-14).

Tablo 4-11: Aloinin 6,75 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

Aloin 6,75 µg/ml		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	61,24	p<0,05*
1. gün - 3. gün	78,7	p<0,05*
1. gün - 7. gün	63,13	p<0,05*
2. gün - 3. gün	17,47	p>0,05
2. gün - 7. gün	1,894	p>0,05
3. gün - 7. gün	-15,57	p>0,05

*İstatistiksel olarak anlamlı (p<0,05)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



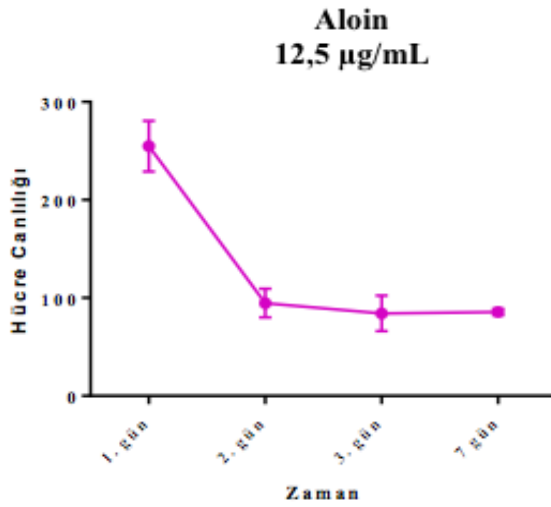
Şekil 4-13: Aloinin 6,75 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

Tablo 4-12: Aloinin 12,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

Aloin 12,5 µg/ml		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	159,2	p<0,05*
1. gün - 3. gün	169,5	p<0,05*
1. gün - 7. gün	168,2	p<0,05*
2. gün - 3. gün	10,47	p>0,05
2. gün - 7. gün	9,108	p>0,05
3. gün - 7. gün	-1,365	p>0,05

*İstatistiksel olarak anlamlı, (p<0,05).

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-14: Aloinin 12,5 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

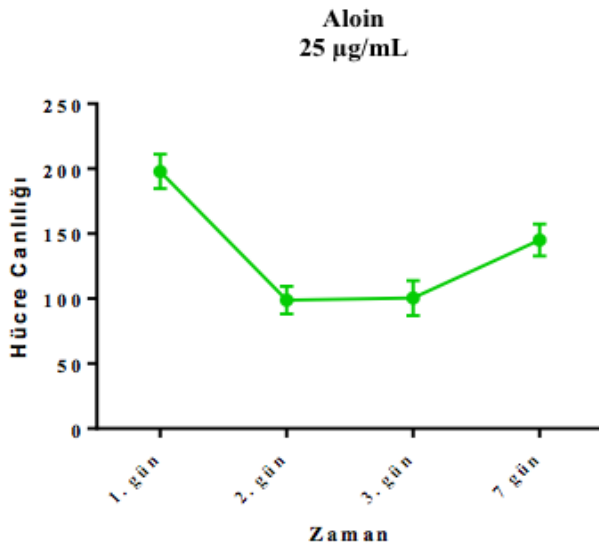
25 ve 50 µg/ml’de ise 2. ve 3. gün karşılaştırması haricindeki tüm hücre canlılığı değerlerinde anlamlı farklılıklar saptandı (Tablo 4-13, Tablo 4-14) (Şekil 4-15, Şekil 4-16).

Tablo 4-13: Aloinin 25 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

Aloin 25 µg/ml		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	98,98	p<0,05*
1. gün - 3. gün	97,41	p<0,05*
1. gün - 7. gün	52,8	p<0,05*
2. gün - 3. gün	-1,73	p>0,05
2. gün - 7. gün	-46,18	p<0,05*
3. gün - 7. gün	-44,61	p<0,05*

*İstatistiksel olarak anlamlı (p<0,05)

Tek Yönlü Anova Testi kullanıldı. Post hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı



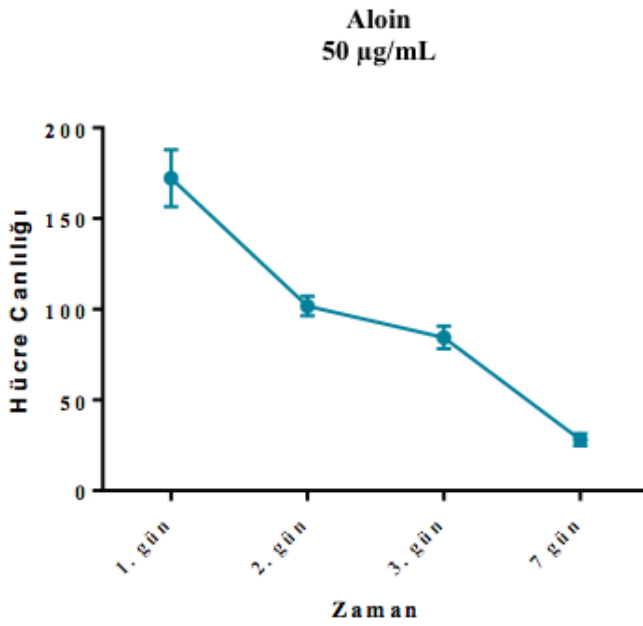
Şekil 4-15: Aloinin 25 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

Tablo 4-14: Aloinin 50 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

Aloin 50 µg/ml		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	69,2	p<0,05*
1. gün - 3. gün	87,75	p<0,05*
1. gün - 7. gün	144,2	p<0,05*
2. gün - 3. gün	18,45	p>0,05
2. gün - 7. gün	75,72	p<0,05*
3. gün - 7. gün	56,71	p<0,05*

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tek Yönlü Anova Testi kullanıldı. Post hoc analizinde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-16: Aloinin 50 µg/ml dozunun günlere göre karşılaştırılması

4.1.7. Antioksidan Karışım Grubunda Elde Edilen Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

Antioksidan karışımın hazırlanan konsantrasyonlarının sitotoksikite etkisi değerlendirildiğinde; elde edilen bulgular Tablo 4-15 ve Şekil 4-17’de gösterilmektedir.

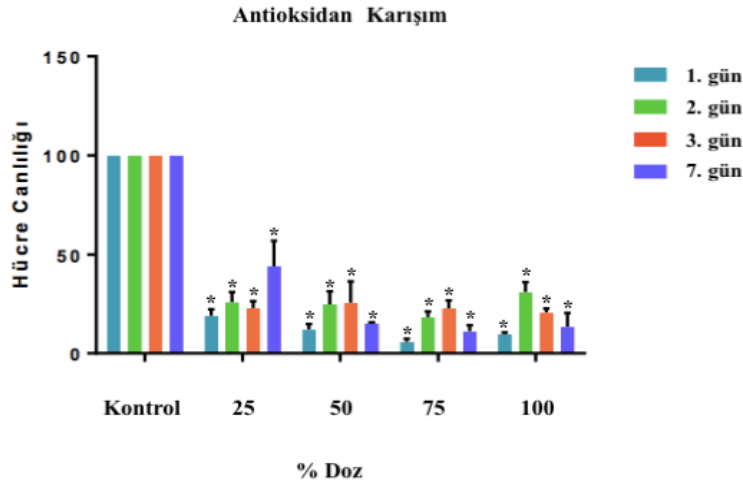
Kontrol grubuna göre, hazırlanan tüm konsantrasyonlar, tüm zaman aralıklarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sitotoksik etki gösterdiği belirlendi ($p < 0,05$).

Tablo 4-15: Antioksidan karışım konsantrasyonlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbans değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

Antioksidan karışım Konsantrasyonları	1. gün			2. gün		
	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p
%25	20,29 (14,37-21,36)	19,08 ± 3,186	< 0,0001*	26,47 (19,29-31,53)	25,94 ± 5,112	0,0002*
%50	12,01 (8,799-15,22)	12,01 ± 2,847	< 0,0001*	23,54 (18,44-33,63)	24,79 ± 6,607	0,0005*
%75	6,015 (4,087-7,371)	5,872 ± 1,382	< 0,0001*	17,27 (16,41-22,5)	18,36 ± 2,790	< 0,0001*
%100	9,941 (8,656-0,37)	9,727 ± 0,7777	< 0,0001*	30,71 (26,08-36,69)	31,05 ± 5,072	0,0003*
Antioksidan karışım konsantrasyonları	3. gün			7. gün		
	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p
%25	22,83 (18,91-27,32)	22,97 ± 3,438	< 0,0001*	45,34 (27,2-58,37)	44,06 ± 12,81	0,0081*
%50	20,51 (20,07-41,81)	25,72 ± 10,73	0,0021*	15,2 (14,43-15,71)	15,13 ± 0,566	< 0,0001*
%75	24,57 (16,88-25,29)	22,83 ± 3,992	0,0001*	10,47 (8,557-15,2)	11,17 ± 3,054	< 0,0001*
%100	21,38 (17,75-22,1)	20,65 ± 1,994	< 0,0001*	14,81 (3,959-20,31)	13,47 ± 6,915	0,0004*

* İstatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



*İstatistiksel olarak anlamlı, $p < 0,05$

Şekil 4-17: Antioksidan karışım konsantrasyonlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbands değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

4.1.8. Antioksidan Karışım Grubunda Konsantrasyonlara İlişkin Bulguların Karşılaştırılması

Antioksidan karışım konsantrasyonlarının karşılaştırmalarına ilişkin bulgular Tablo 4-16’da gösterilmiştir.

1. gün absorbands değerlerinin incelenmesinde yalnızca %25 ve %75 antioksidan karışım konsantrasyonları arasında anlamlı farklılık olduğu, %75’lik konsantrasyonun ise hücreler üzerine daha sitotoksik olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

2. güne ilişkin bulguların değerlendirilmesinde, %75’lik antioksidan karışımın anlamlı derecede daha fazla hücre ölümüne neden olduğu saptandı ($p < 0,05$).

3. gün antioksidan karışım absorbands değerlerinde dozlar arasında anlamlı derecede farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

7. günde %25’lik antioksidan karışımın diğer tüm konsantrasyonlar arasında anlamlı düzeyde daha az sitotoksik özellik gösterdiği gözlemlendi ($p < 0,05$).

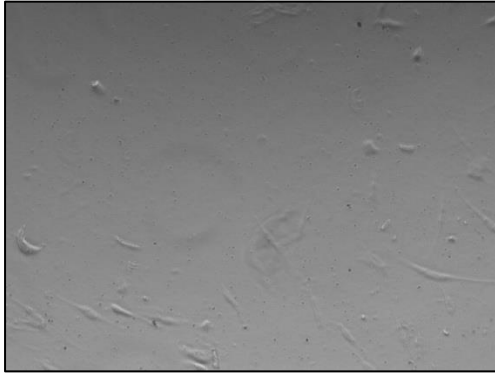
Antioksidan karışımın 1. günde %25 konsantrasyonunun ve 7. günde %100 konsantrasyonunun hücreler üzerine etkisi Şekil 4-18 ve Şekil 4-19’da gösterilmiştir.

Tablo 4-16: Antioksidan karışım konsantrasyon gruplarında saptanan ortalama absorbans değerlerinin karşılaştırılması

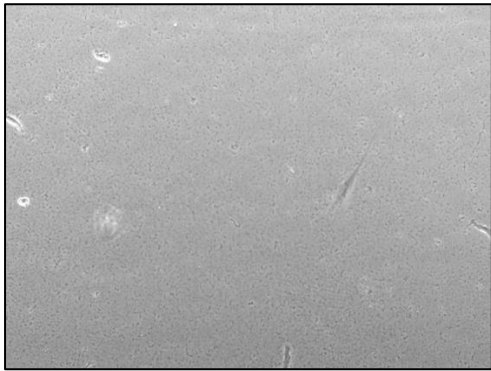
Antioksidan karışım konsantrasyonları	1. gün		2. gün		3. gün		7. gün	
	Ortalama fark	p	Ortalama fark	p	Ortalama fark	p	Ortalama fark	p
%25 - %50	7,068	p>0,05	1,155	p>0,05	-2,754	p>0,05	28,93	p<0,05*
%25 - %75	13,21	p<0,05*	7,579	p>0,05	0,1449	p>0,05	32,89	p<0,05*
%25 - %100	9,352	p>0,05	-5,105	p>0,05	2,319	p>0,05	30,59	p<0,05*
%50 - %75	6,14	p>0,05	6,424	p>0,05	2,899	p>0,05	3,959	p>0,05
%50 - %100	2,284	p>0,05	-6,26	p>0,05	5,072	p>0,05	1,66	p>0,05
%75 - %100	-3,855	p>0,05	-12,68	p<0,05*	2,174	p>0,05	-2,299	p>0,05

* İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-18: Antioksidan karışımın %25 konsantrasyonunun 1. günde hücreler üzerine etkisi



Şekil 4-19: Antioksidan karışımın %100 konsantrasyonunun 7. günde hücreler üzerine etkisi

4.1.9. Antioksidan Karışım Grubunda Konsantrasyonların Günlere Göre Karşılaştırılması

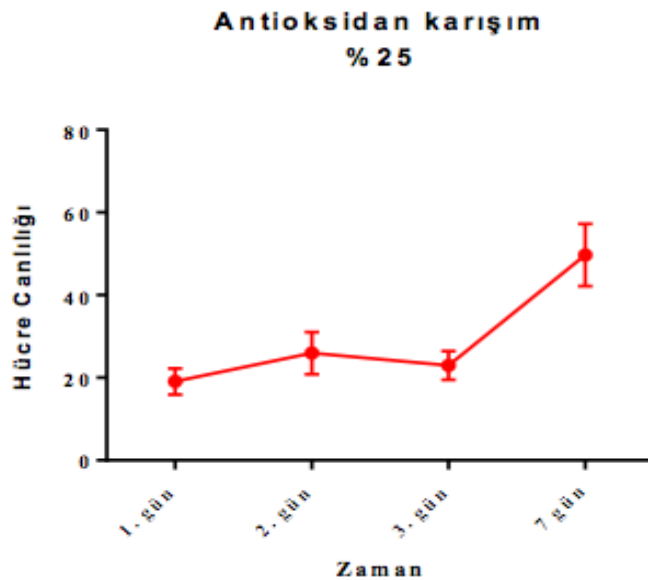
%25'lik antioksidan karışımın, yalnızca 7. gün değerlerinin diğer tüm günlere kıyasla anlamlı derecede daha yüksek hücre canlılığı gösterdiği saptandı ($p<0,05$) (Tablo 4-17) (Şekil 4-20).

Tablo 4-17: Antioksidan karışımın %25 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

Antioksidan karışım %25		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	-6,863	$p>0,05$
1. gün - 3. gün	-3,892	$p>0,05$
1. gün - 7. gün	-24,98	$p<0,05^*$
2. gün - 3. gün	2,971	$p>0,05$
2. gün - 7. gün	-18,12	$p<0,05^*$
3. gün - 7. gün	-21,09	$p<0,05^*$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-20: Antioksidan karışımın %25 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

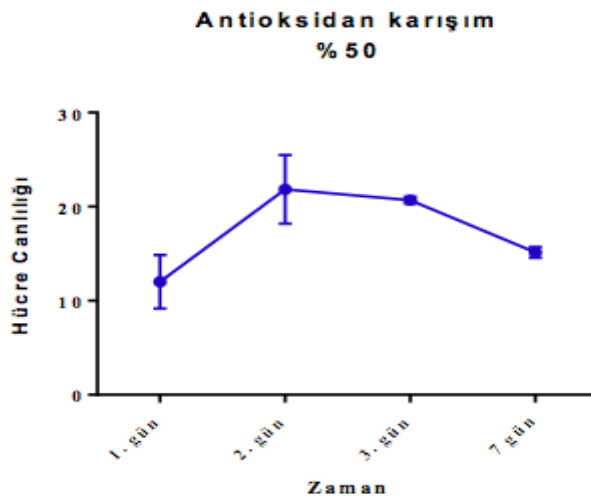
%50'lik antioksidan karışımın absorbans değerleri incelendiğinde, 1. ve 7. gün ile, 2. gün ve 3. gün arasındaki karşılaştırmalar dışında, diğer tüm karşılaştırmalarda anlamlı farklılıklar saptandı. 2. ve 3. günlerde materyalin 1. güne göre anlamlı olarak daha az sitotoksiste gösterdiği gözlemlendi. 7. günün 2. ve 3. gün kıyaslamalarında da, 7. gün absorbans değerleri anlamlı derecede daha düşük olarak analiz edildi ($p<0,05$) (Tablo 4-18, Şekil 4-21).

Tablo 4-18: Antioksidan karışımın %50 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

Antioksidan karışım %50		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	-12,78	$p<0,05^*$
1. gün - 3. gün	-13,71	$p<0,05^*$
1. gün - 7. gün	-3,123	$p>0,05$
2. gün - 3. gün	-0,9381	$p>0,05$
2. gün - 7. gün	9,652	$p<0,05^*$
3. gün - 7. gün	10,59	$p<0,05^*$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-21: Antioksidan karışımın %50 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

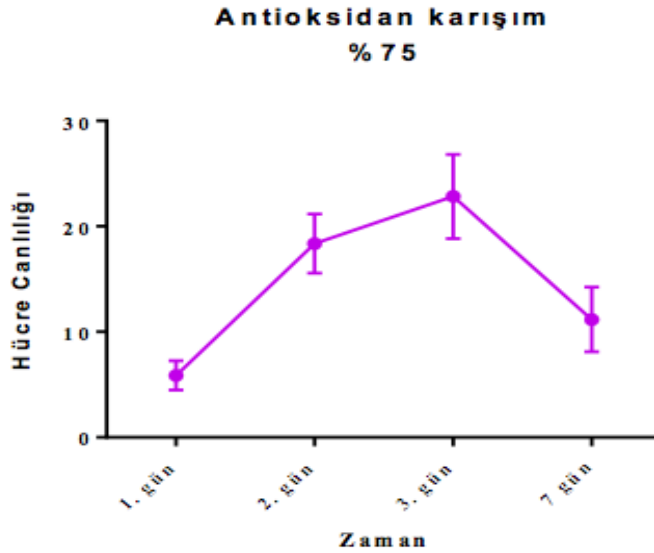
%75'lik antioksidan karışım konsantrasyonunun analiz sonuçlarında, 1. gün sitotoksosite değerleri 2. ve 3. güne oranla anlamlı derecede daha yüksek olarak saptandı. 7 günlük etkileşim süreleri analizleri yapıldığında, 3. günden 7. güne doğru hücre canlılığının anlamlı derecede düşmüş olduğu saptandı ($p<0,05$) (Tablo 4-19) (Şekil 4-22).

Tablo 4-19: Antioksidan karışımın %75 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

Antioksidan karışım %75		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	-12,49	$p<0,05^*$
1. gün - 3. gün	-16,95	$p<0,05^*$
1. gün - 7. gün	-5,299	$p>0,05$
2. gün - 3. gün	-4,464	$p>0,05$
2. gün - 7. gün	7,187	$p>0,05$
3. gün - 7. gün	11,65	$p<0,05^*$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tek Yönlü Anova Testi kullanıldı. Post hoc analizinde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-22: Antioksidan karışımın %75 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

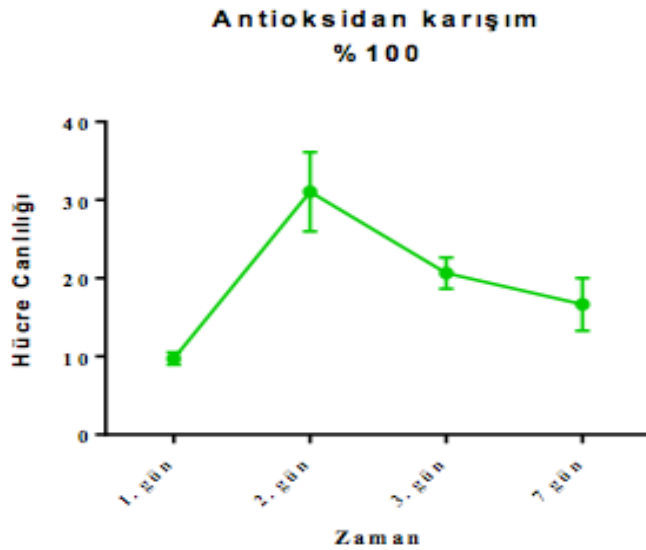
%100'lük antioksidan karışımın absorbans değeri analizlerinde ise, 3. gün sonuçlarının diğer tüm zaman aralıkları ile arasında anlamlı farklılıklar olduğu gözlemlendi. 3. gün absorbans değeri, 2. güne göre daha düşük bulunurken, 1. ve 7. günlere göre daha yüksek olarak belirlendi ($p<0,05$) (Tablo 4-20) (Şekil 4-23).

Tablo 4-20: Antioksidan karışımın %100 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

Antioksidan karışım %100		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	-21,32	$p<0,05^*$
1. gün - 3. gün	-10,93	$p<0,05^*$
1. gün - 7. gün	-3,747	$p>0,05$
2. gün - 3. gün	10,39	$p<0,05^*$
2. gün - 7. gün	17,57	$p<0,05^*$
3. gün - 7. gün	7,178	$p>0,05$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tek Yönlü Anova Testi kullanıldı. Post hoc analizinde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-23: Antioksidan karışımın %100 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

4.1.10. MTA Grubunda Elde Edilen Bulgular Ve Kontrol Grubu ile Karşılaştırılması

Dört farklı konsantrasyon şeklinde hazırlanan MTA'nın hücre insan dental pulpa kök hücreleri üzerinde hücre proliferasyonuna etkisi Tablo 4-21 ve Şekil 4-24'te görülmektedir.

1. günde, %25 ($p:0,0051$) ve %50 ($p:0,0086$) MTA konsantrasyonlarının hücre canlılığını istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı; %100 konsantrasyonunun ($p:0,0034$) ise sitotoksik etki gösterdiği gözlemlendi.

2. gün MTA absorbans değerlerinde yalnızca %100 konsantrasyonun ($p<0,0001$) anlamlılık derecesinde kontrol grubuna göre sitotoksik etki gösterirken diğer konsantrasyonların, kontrol grubuna oranla, hücre canlılığında anlamlı düzeyde artış ya da azalışa neden olmadığı görüldü ($p>0,05$).

3. ve 7. gün değerlendirmelerinde %75 ($p:0,0020$, $p<0,0001$) ve %100 ($p<0,0001$, $p:0,0006$) MTA konsantrasyonlarının benzer şekilde yüksek sitotoksik etki gösterirken %25 konsantrasyonunun 7. günde hücre sayısını anlamlı düzeyde arttırdığı saptandı ($p:0,0007$).

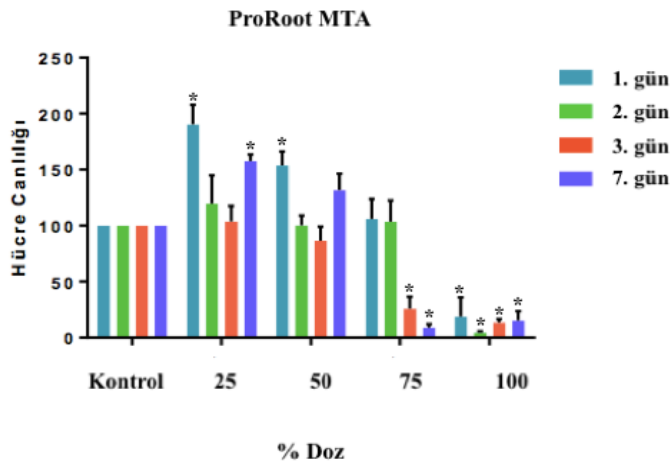
Tablo 4-21: MTA konsantrasyonlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbans değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

MTA konsantrasyonları	1. gün			2. gün		
	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p
%25	190,3 (170,3-211,8)	190,3 ± 17,69	0,0051*	112 (98,91-156,1)	119,7 ± 25,21	0,4633
%50	153,8 (137,6-166,4)	153,8 ± 12,58	0,0086*	98,35 (92,4-112,1)	100,3 ± 8,839	> 0,9999
%75	106,1 (83,47-124,5)	106,1 ± 17,47	0,8831	106,6 (82,22-115,8)	102,8 ± 15,31	0,9838
%100	18,57 (6,65-38,21)	18,57 ± 13,84	0,0034*	4,596 (4,04-5,92)	4,788 ± 0,875	< 0,0001*

MTA konsantrasyonlar	3. gün			7. gün		
	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama	p
%25	100,9 (91,67-121,8)	103,8 ± 13,78	0,9377	155,8 (153,4-165,9)	157,7 ± 5,843	0,0007*
%50	84,42 (73,41-103,6)	86,45 ± 12,71	0,2820	135,6 (110,5-144,4)	131,5 ± 14,71	0,0580
%75	22,68 (17,46-40,36)	25,80 ± 10,63	0,0020*	9,068 (5,492-12,39)	9,004 ± 2,885	< 0,0001*
%100	13,64 (10,8-16,88)	13,74 ± 2,647	< 0,0001*	14,94 (6,003-25,67)	15,39 ± 8,113	0,0006*

* İstatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizinde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-24: MTA konsantrasyonlarının hücre proliferasyonuna etkisi ve saptanan grup ortalama absorbans değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

4.1.11. MTA Grubunda Konsantrasyonlara İlişkin Bulguların Karşılaştırılması

MTA'nın 1., 2., 3. ve 7. günde konsantrasyonlarının karşılaştırması sonucu elde edilen bulgular Tablo 4-22'de gösterilmiştir.

1. gün sitotoksosite bulguları incelendiğinde, tüm konsantrasyonlar arasında anlamlı derecede farklılık saptandı. Konsantrasyon arttıkça sitotoksik etkinin de arttığı gözlemlendi ($p<0,05$).

2. günde, %100'lük konsantrasyonun diğer tüm konsantrasyonlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede sitotoksosite gösterdiği belirlendi ($p<0,05$).

3. günde düşük MTA konsantrasyonları (%25 ve %50) ve yüksek konsantrasyonları (%75 ve %100) arasında anlamlı farklılıklar saptandı. Konsantrasyon arttıkça hücre canlılığı düzeyinin anlamlı olarak azaldığı belirlendi ($p<0,05$).

7. günde ise %75 ve %100 konsantrasyonları arasındaki ilişki hariç, diğer tüm konsantrasyonların karşılaştırmasında hücre canlılığında anlamlı derecede düşüşler olduğu belirlendi ($p<0,05$).

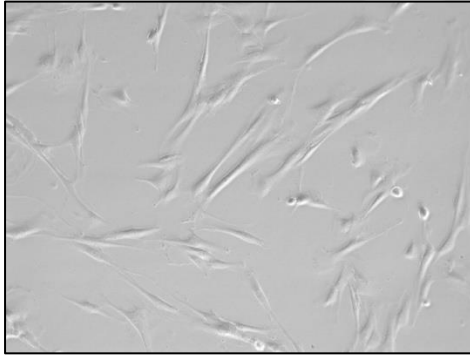
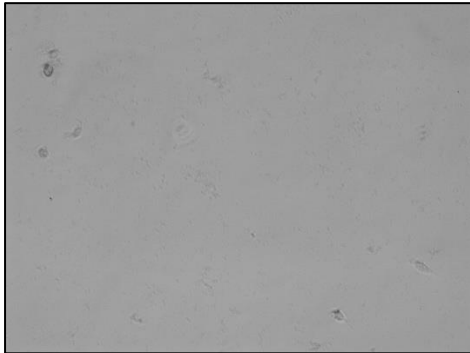
MTA'nın hücreler üzerinde en yüksek canlılık gösterdiği 1. gün %25 konsantrasyonunun ve sitotoksosite gösterdiği 7. gün %100 konsantrasyonlarının hücreler üzerine etkisi Şekil 4-25 ve Şekil 4-26'da görülmektedir.

Tablo 4-22: MTA gruplarında saptanan ortalama absorbans değerlerinin karşılaştırılması

MTA konsantrasyonları	1. gün		2. gün		3. gün		7. gün	
	Ortalama fark	p	Ortalama fark	p	Ortalama fark	p	Ortalama fark	p
%25 - %50	36,44	p<0,05*	19,43	p>0,05	17,39	p>0,05	26,18	p<0,05*
%25 - %75	84,17	p<0,05*	16,9	p>0,05	78,04	p<0,05*	148,7	p<0,05*
%25 - %100	171,4	p<0,05*	114,9	p<0,05*	90,06	p<0,05*	142,3	p<0,05*
%50 - %75	47,72	p<0,05*	-2,5	p>0,05	60,65	p<0,05*	122,5	p<0,05*
%50 - %100	135,2	p<0,05*	95,51	p<0,05*	72,04	p<0,05*	116,2	p<0,05*
%75 - %100	87,52	p<0,05*	98,01	p<0,05*	12,06	p>0,05	-6,386	p>0,05

* İstatistiksel olarak anlamlı (p<0,05)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.

**Şekil 4-25: MTA'nın %25 konsantrasyonunun 1. günde hücreler üzerine etkisi****Şekil 4-26: MTA'nın %100 konsantrasyonunun 7. günde hücreler üzerine etkisi**

4.1.12. MTA Grubunda Konsantrasyonların Günlere Göre Karşılaştırılması

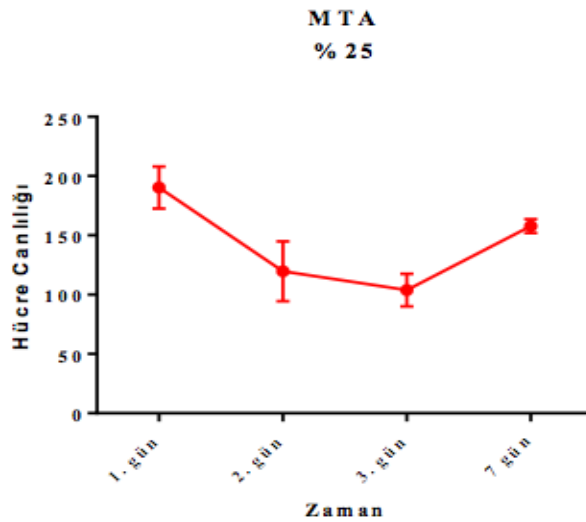
%25'lik MTA konsantrasyonuna ilişkin bulgular analiz edildiğinde, 2. ve 3. günlerin birbirleri ile karşılaştırması dışında diğer tüm gün değerlerinin aralarında anlamlı farklılıklar belirlendi. 1. günden 3. güne doğru hücre canlılığı anlamlı bir düşüş gösterirken 7. günde hücre proliferasyonunda artış saptandı ($p<0,05$) (Tablo 4-23) (Şekil 4-27).

Tablo 4-23: MTA'nın %25 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

MTA %25		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	70,55	$p<0,05^*$
1. gün - 3. gün	86,43	$p<0,05^*$
1. gün - 7. gün	32,55	$p<0,05^*$
2. gün - 3. gün	15,89	$p>0,05$
2. gün - 7. gün	-38	$p<0,05^*$
3. gün - 7. gün	-53,89	$p<0,05^*$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-27: MTA'nın %25 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

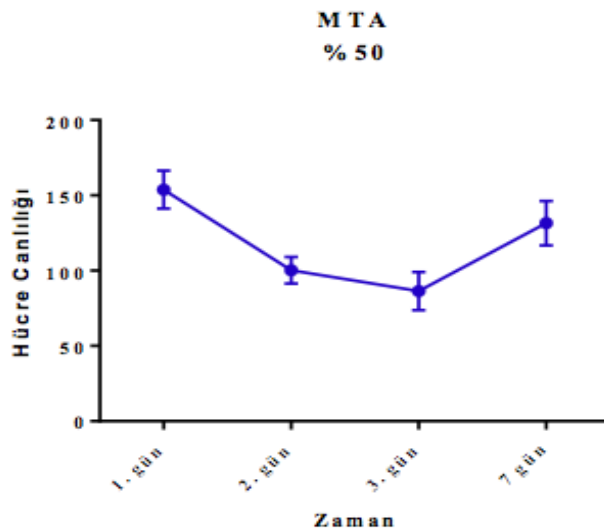
MTA'nın %50'lik konsantrasyonunda, 1. günden 3. güne doğru hücre proliferasyonunda anlamlı bir düşüş saptanırken ($p<0,05$), 7. günde hücre canlılığının artış gösterdiği; 1. ve 7. gün absorbans değerlerinin 2. ve 3. günler ile karşılaştırmasında anlamlı farklılıklar saptandı. 1. ve 7. gün sonuçlarının ise benzer olduğu belirlendi ($p<0,005$) (Tablo 4-24) (Şekil 4-28).

Tablo 4-24: MTA'nın %50 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

MTA %50		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	53,53	$p<0,05^*$
1. gün - 3. gün	67,38	$p<0,05^*$
1. gün - 7. gün	22,28	$p>0,05$
2. gün - 3. gün	13,85	$p>0,05$
2. gün - 7. gün	-31,25	$p<0,05^*$
3. gün - 7. gün	-45,1	$p<0,05^*$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tek Yönlü Anova Testi kullanıldı. Post hoc analizinde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-28: MTA'nın %50 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

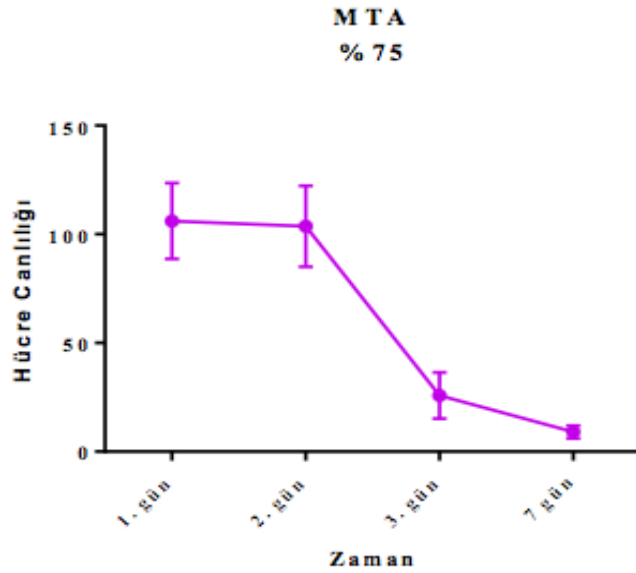
MTA'nın %75'lik konsantrasyonunda 2. günden sonra etkileşim süresi arttıkça sitotoksitenin de arttığı belirlendi. 1. ve 2. günler arasında hücre canlılığı üzerine anlamlı bir artış ya da azalış gözlenmezken, 3. ve 7. günlerde 1. ve 2. günlere oranla anlamlı bir sitotoksik etki saptandı ($p<0,05$) (Tablo 4-25) (Şekil 4-29).

Tablo 4-25: MTA'nın %75 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

MTA %75		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	3,34	$p>0,05$
1. gün - 3. gün	80,31	$p<0,05^*$
1. gün - 7. gün	97,1	$p<0,05^*$
2. gün - 3. gün	77,88	$p<0,05^*$
2. gün - 7. gün	93,79	$p<0,05^*$
3. gün - 7. gün	16,79	$p>0,05$

*İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Tek Yönlü Anova Testi kullanıldı. Post hoc analizinde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-29: MTA'nın %75 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

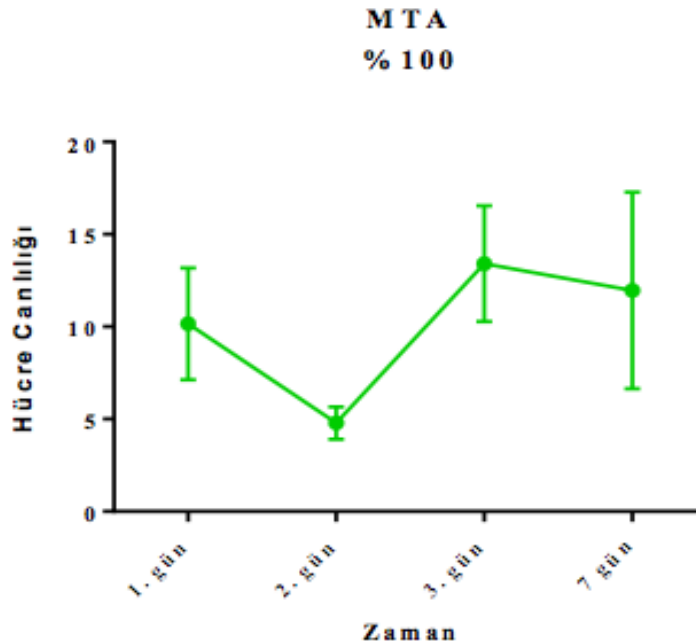
%100'lük MTA konsantrasyonunda ise tüm zaman aralıklarında sitotoksosite gözlemlendi ve günler arasında anlamlı farklılıklar saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4-26) (Şekil 4-30).

Tablo 4-26: MTA'nın %100 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

MTA %100		
Günler	Günler/Ortalama fark	p
1. gün - 2. gün	13,78	$p>0,05$
1. gün - 3. gün	4,83	$p>0,05$
1. gün - 7. gün	3,18	$p>0,05$
2. gün - 3. gün	-8,95	$p>0,05$
2. gün - 7. gün	-10,6	$p>0,05$
3. gün - 7. gün	-1,65	$p>0,05$

İstatistiksel olarak anlamlı değil ($p>0,05$)

Tek Yönlü Anova Testi kullanıldı. Post hoc analizinde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-30: MTA'nın %100 konsantrasyonunun günlere göre karşılaştırılması

4.2. Alkalen Fosfataz Enzim Düzeyi Testine İlişkin Bulgular

Deney materyallerinden kurkumin ve aloin için sitotoksosite deneyinde en yüksek hücre canlılığı gösteren 2, 5 µg/ml ve 6,75 µg/ml dozlarının, antioksidan karışım ve MTA için ise %25 ve %50 konsantrasyonlarının ALP aktivitesi açısından 7. ve 14. günde ELISA testi ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular aşağıda belirtilmektedir:

4.2.1. Kurkumin Grubunda ALP Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

Kurkuminin 2,5 µg/ml ve 6,75 µg/ml dozlarının 7. ve 14. günlerdeki ALP düzeyine ilişkin bulgular Tablo 4-27 ve Şekil 4-31’de görülmektedir. Her iki dozun 7. ve 14. günlerde kontrol grubu ile arasında anlamlı farklılıkların ($p>0,05$) bulunmadığı, kurkuminin ALP enzim aktivitesinde rol almadığı belirlendi.

Tablo 4-27: Kurkumin dozlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması

7. gün					
Kurkumin dozları	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama ^a	Ortalama ^b	Ortalama farkı ^c	p ^d
2,5 µg/ml	0,048 (0,034-0,072)	0,05133	0,04833	-0,003	0,9653
6,75 µg/ml	0,038 (0,038-0,058)	0,04467	0,04833	0,003667	0,9486
14. gün					
Kurkumin dozları	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama ^a	Ortalama ^b	Ortalama farkı ^c	p ^d
2,5 µg/ml	0,034 (0,034-0,038)	0,03533	0,03767	0,002334	0,9788
6,75 µg/ml	0,062 (0,027-0,065)	0,05133	0,03767	-0,01366	0,5003

^a Kurkumin dozlarının 3 tekrarlı değerlerinin ortalaması

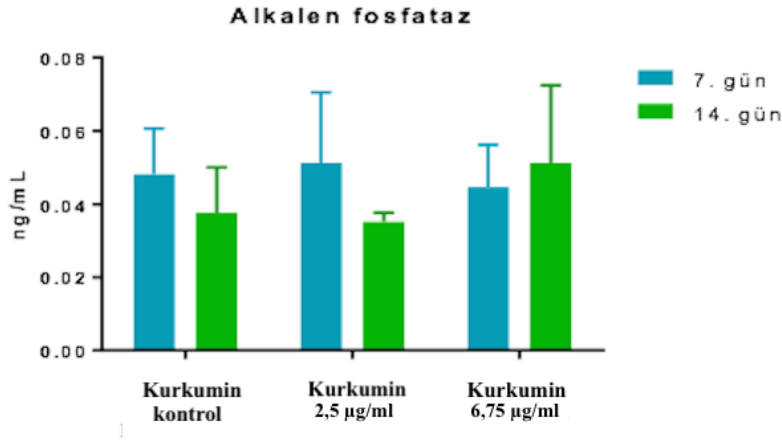
^b Kontrol grubunun 3 tekrarlı değerlerinin ortalaması

^c Kurkumin dozları ile kontrol grubunun ortalama farkları

^d Kontrol grubu ile kurkumin dozlarının karşılaştırılması

İstatistiksel olarak anlamlı değil, $p>0,05$

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-31: Kurkumin dozlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması

Materyal dozlarının günlere göre karşılaştırılmasında, 2,5 µg/ml ve 6,75 µg/ml dozlarının, günlere göre alkalen fosfataz enzim düzeyi açısından anlamlı farklılıklar oluşturmadığı belirlendi ($p>0,05$) (Tablo 4-28).

Tablo 4-28: Kurkumin dozlarının ALP aktivitesinin 7. ve 14. gün ortalama değerlerinin karşılaştırılması

Kurkumin/Doz	7. gün ortalaması	14. gün ortalaması	Ortalama farkı	p
2,5 µg/ml	0,05133	0,03533	0,016	0,49
6,75 µg/ml	0,04467	0,05133	-0,0066	0,9277

İstatistiksel olarak anlamlı değil, $p>0,05$

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Sidak Testi kullanıldı.

Kurkuminin 2, 5 µg/ml ve 6,75 µg/ml dozlarının birbirleri ile karşılaştırılmasında anlamlı farklılıklar olmadığı saptandı ($p>0,05$) (Tablo 4-29).

Tablo 4-29: Kurkumin dozlarının ALP aktivitesine etkisinin karşılaştırılması

Kurkumin/Doz	7. gün ortalama farkı	p	14. gün ortalama farkı	p
2,5 - 6,75 µg/ml	0,00666	0,8415	-0,016	0,3948

İstatistiksel olarak anlamlı değil, $p>0,05$

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Sidak Testi kullanıldı.

4.2.2. Aloin Grubunda ALP Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

Aloinin 2,5 µg/ml ve 6,75 µg/ml dozlarının 7. ve 14. günlerdeki ALP düzeyine ilişkin bulguları Tablo 4-30 ve Şekil 4-32’de gösterilmektedir. Her iki dozun 7. ve 14. günlerde kontrol grubu ile arasında anlamlı farklılığın bulunmadığı, aloinin ALP aktivitesinde anlamlı etkiler oluşturmadığı ($p>0,05$) saptandı.

Tablo 4-30: Aloin dozlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması

7. gün					
Aloin/Doz	Ortanca(Min-Mak)	Ortalama ^a	Ortalama ^b	Ortalama farkı ^c	P ^d
2,5 µg/ml	0,048 (0,017-0,048)	0,03767	0,057	0,01933	0,3051
6,75 µg/ml	0,048 (0,024-0,062)	0,04467	0,057	0,01233	0,5987
14. gün					
Aloin/Doz	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama ^a	Ortalama ^b	Ortalama farkı ^c	P ^d
2,5 µg/ml	0,031 (0,027-0,041)	0,033	0,05367	0,02067	0,2623
6,75 µg/ml	0,038 (0,027-0,048)	0,03767	0,05367	0,016	0,4323

^a Aloin dozlarının 3 tekrarlı değerlerinin ortalaması

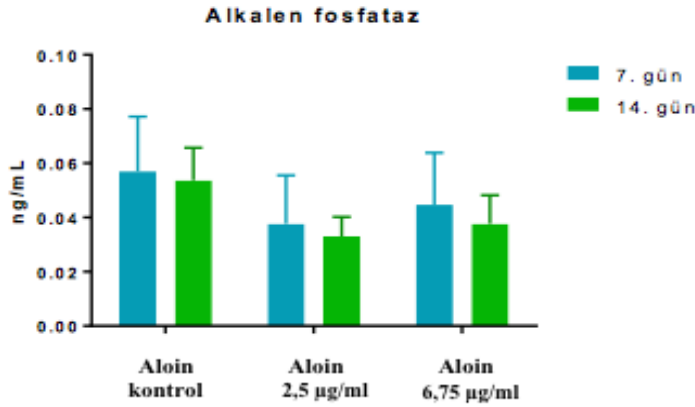
^b Kontrol grubunun 3 tekrarlı değerlerinin ortalaması

^c Aloin dozları ile kontrol grubunun ortalama farkları

^d Kontrol grubu ile aloin dozlarının karşılaştırılması

İstatistiksel olarak anlamlı değil, $p>0,05$

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-32: Aloin dozlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması

Aloin deney grubunda; kontrol grubu, 2,5 µg/ml ve 6,75 µg/ml dozlarının, 7. ve 14. gün karşılaştırmalarında günler arasında alkalen fosfataz enzim düzeyi açısından anlamlı farklılıklar saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4-31).

Tablo 4-31: Aloin dozlarının ALP aktivitesinin 7. ve 14. gün değerlerinin karşılaştırılması

Aloin dozları	7. gün ortalaması	14. gün ortalaması	Ortalama farkı	p
2,5 µg/ml	0,03767	0,033	0,0046	0,977
6,75 µg/ml	0,04467	0,03767	0,007	0,9289

İstatistiksel olarak anlamlı değil, $p>0,05$

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Sidak Testi kullanıldı.

Aloinin iki dozunun birbirleri ile karşılaştırılmasında ise, iki doz arasında anlamlı farklılıklar olmadığı saptandı ($p>0,05$) (Tablo 4-32).

Tablo 4-32: Aloin dozlarının ALP aktivitesine etkisinin karşılaştırılması

Aloin dozları	7. gün ortalama farkı	P	14. gün ortalama farkı	P
2,5 µg/ml - 6,75 µg/ml	-0,007	0,8434	-0,00467	0,9265

İstatistiksel olarak anlamlı değil, $p>0,05$

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post hoc analizde Sidak Testi kullanıldı.

4.2.3. Antioksidan Karışım Grubunda ALP Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

Antioksidan karışım materyalinin %25 ve %50 konsantrasyonlarının 7. ve 14. günlerde ALP düzeyine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılmasına ilişkin bulgular Tablo 4-33 ve Şekil 4-33'te görülmektedir.

Tablo 4-33: Antioksidan karışım konsantrasyonlarının ALP enzim aktivitesine ilişkin bulguları ve bulguların kontrol grubu ile karşılaştırılması

7. gün					
Antioksidan karışım/ Konsantrasyon	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama ^a	Ortalama ^b	Ortalama farkı ^c	p ^d
%25	0,027 (0,021-0,038)	0,02867	0,032	0,00333	0,9232
%50	0,034 (0,01-0,041)	0,02833	0,032	0,00367	0,908
14. gün					
Antioksidan karışım/ Konsantrasyon	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama ^a	Ortalama ^b	Ortalama farkı ^c	p ^d
%25	0,014 (0,0001-0,014)	0,0093	0,007	-0,0023	0,9615
%50	0,027 (0,021-0,048)	0,032	0,007	-0,025	0,0552

^a Antioksidan karışım konsantrasyonlarının 3 tekrarlı değerlerinin ortalaması

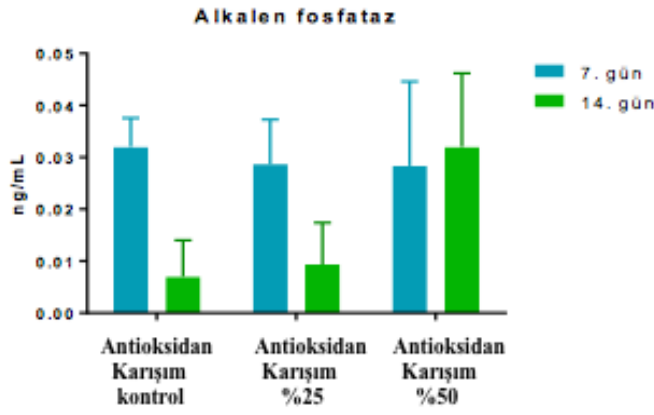
^b Kontrol grubunun 3 tekrarlı değerlerinin ortalaması

^c Antioksidan karışım konsantrasyonlarının ortalaması ile kontrol grubunun ortalamasının farkları

^d Kontrol grubu ile Antioksidan karışım konsantrasyonlarının karşılaştırılması

İstatistiksel olarak anlamlı değil, p>0,05

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-33: Antioksidan karışım konsantrasyonlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve bulguların kontrol grubu ile karşılaştırılması

Antioksidan karışım grubunda konsantrasyonların günlere göre absorban değerlerinin karşılaştırılmasında ALP aktivitesi düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar ($p>0,05$) belirlenmedi (Tablo 4-34).

Tablo 4-34: Antioksidan karışım konsantrasyonlarının ALP aktivitesinin 7. ve 14. gün değerlerinin karşılaştırılması

Antioksidan karışım konsantrasyonları	7. gün ortalaması	14. gün ortalaması	Ortalama farkı	p
%25	0,02867	0,00933	0,01934	0,1338
%50	0,02833	0,032	-0,00367	0,9678

İstatistiksel olarak anlamlı değil, $p>0,05$

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Sidak Testi kullanıldı.

%25 ve %50'lik antioksidan karışımın karşılaştırılmasında iki doz arasında anlamlı farklılıklar olmadığı saptandı ($p>0,05$) (Tablo 4-35).

Tablo 4-35: Antioksidan karışım konsantrasyonlarının ALP aktivitesine etkisinin karşılaştırılması

Antioksidan karışım konsantrasyonları	7. gün ortalama farkı	P	14. gün ortalama farkı	P
%25 - %50	0,00034	0,9992	-0,02267	0,0565

İstatistiksel olarak anlamlı değil, $p>0,05$

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Sidak Testi kullanıldı.

4.2.4. MTA Grubunda ALP Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular Ve Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

MTA grubunda ALP aktivitesine ilişkin bulgular ve bulguların kontrol grubu ile karşılaştırılması Tablo 4-36’te ve Şekil 4-34’te görülmektedir. Konsantrasyonların, materyal uygulanmamış kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar oluşturmadığı ($p>0,05$) belirlendi.

Tablo 4-36: MTA konsantrasyonlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması

7. gün					
MTA/ Konsantrasyonlar	Ortanca(Min-Mak)	Ortalama ^a	Ortalama ^b	Ortalama farkı ^c	P ^d
%25	0,014 (0,007-0,031)	0,01733	0,025	0,00767	0,7336
%50	0,034 (0,017-0,055)	0,03533	0,025	-0,01033	0,5764
14. gün					
MTA/ Konsantrasyonları	Ortanca (Min-Mak)	Ortalama ^a	Ortalama ^b	Ortalama farkı ^c	P ^d
%25	0,021 (0,001- 0,024)	0,015	0,02967	0,01467	0,3462
%50	0,038 (0,034-0,045)	0,039	0,02967	0,009333	0,6355

^a MTA konsantrasyonlarının 3 tekrarlı değerlerinin ortalaması

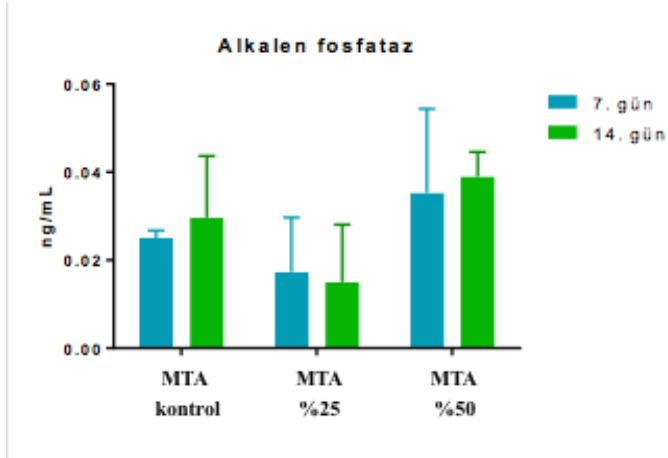
^b Kontrol grubunun 3 tekrarlı değerlerinin ortalaması

^c MTA konsantrasyonlarının ile kontrol grubunun ortalama farkları

^d Kontrol grubu ile MTA konsantrasyonlarının karşılaştırılması

İstatistiksel olarak anlamlı değil, $p>0,05$

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-34: MTA konsantrasyonlarının ALP enzim aktivitesine etkisi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması

MTA konsantrasyonlarının günlere göre karşılaştırmalarında anlamlı farklılıklar saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4-37).

Tablo 4-37: MTA konsantrasyonlarının ALP aktivitesinin 7. ve 14. gün ortalama değerlerinin karşılaştırılması

MTA/ Konsantrasyonlar	7. gün ortalaması	14. gün ortalaması	Ortalama farkı	p
%25	0,01733	0,015	0,00233	0,9943
%50	0,03533	0,039	-0,00366	0,9787

İstatistiksel olarak anlamlı değil, $p>0,05$

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Sidak Testi kullanıldı.

MTA'nın iki dozunun birbirleri ile karşılaştırılmasında ise, iki doz arasında anlamlı farklılıklar olmadığı saptandı ($p>0,05$) (Tablo 4-38).

Tablo 4-38: MTA konsantrasyonlarının ALP aktivitesine etkisinin karşılaştırılması

MTA/ Konsantrasyonlar	7. gün ortalama farkı	p	14. gün ortalama farkı	p
%25 - %50	-0,018	0,2162	-0,024	0,0825

İstatistiksel olarak anlamlı değil, $p>0,05$

Tüm değerler için Tek Yönlü Anova Testi, Post-hoc analizde Sidak Testi kullanıldı.

5. TARTIŞMA

Vital pulpa tedavilerinde temel amaç, pulpa canlılığının korunarak dişin fonksiyonda kalmasının sağlanmasıdır. Bu amaçla yapılan tedavilerin klinik, radyografik ve histolojik başarısını etkileyen birçok faktörün olduğu bildirilmektedir. Pulpada kanamanın niceliği ve niteliği, bakteri kontaminasyonu ve pulpa dokusu üzerine uygulanan materyal seçimi bu etkenler arasında önemli rol oynamaktadır (Bayırlı 1999 pp. 41-84; Murray ve Windsor 2002; Xuedong ve ark. 2017).

Pulpa ekspozu; derin dentin çürüklerinin pulpaya ulaşması, travma sonucu kırık hattının pozisyonu ya da diş tedavisi sırasında mekanik işlemler sonucu gözlenebilmektedir. Pulpa dokusunun klinik ve radyografik bulgularına göre uygulanacak indirekt ya da direkt kuafaj, parsiyel pulpotomi ya da pulpotomi tedavilerinde kullanılacak ideal vital pulpa tedavi ajanlarının ise biyouyumlu, antiinflamatuvar ve antibakteriyel özellikte olması, pulpanın kök hücrelerini uyarması, iyileşme potansiyelini arttırması, odontoblast farklılaşmasını indüklemesi gibi özelliklere sahip olması gerekliliği vurgulanmaktadır (Morareszadeh ve ark. 2012; Cohenca ve ark. 2013; Komabayashi ve ark. 2016).

Materyallerin biyolojik ve toksikolojik özelliklerinin klinik kullanımda öneminin yüksek olduğu bildirilmektedir. Yeni geliştirilen materyallerin, canlı dokular üzerinde oluşturacağı etki, in vitro doku testleri, in vivo hayvan deneyleri ve klinik deneyler ile incelenmektedir. Diş hekimliğinde kullanılacak materyallerin ise sıklıkla biyouyumluluk ve sert doku oluşturma potansiyeli açısından değerlendirildiği görülmektedir (Craig ve ark. 2006; Tuncer ve Demirci 2011, Aslantürk 2017).

Geliştirilen materyallerin, başlangıç aşamasında hayvan ve insan deneylerinde kullanılmasının etik ve yasal yükümlülükler oluşturması nedeni ile materyal biyouyumluluğunun öncelikle hücre kültür testlerinde belirlenmesi gerekmektedir (Odabas ve ark. 2011; Adan ve ark. 2016). İn vitro hücre kültür testlerinde, canlı dokuların fizyolojik aktiviteleri taklit edilebilmekte ve hücresel düzeyde doku yanıtları incelenebilmektedir. İn vitro çalışmaların avantajları; deneylerin tekrarlanabilir ve kolay uygulanabilir olması, deney ortamının istenilen şekilde hazırlanabilmesi, hızlı sonuç alınabilmesi ve maliyetinin yüksek olmaması olarak bildirilmektedir (Craig ve ark. 2006, Tuncer ve Demirci 2011). Bu tez çalışmasında da, materyallerin sitotoksikite ve

alkalen fosfataz enzim aktivitesinin belirlenmesinde in vitro hücre kültür testleri kullanılmıştır.

Hücre kültürü yönteminin çalışma prensibi; insan, maymun, tavşan, fare gibi canlılardan alınan doku parçalarının, in vitro koşullarda, besleyici sıvılar içerisinde, yaşama ve çoğalma özelliklerinin devam ettirilmesidir. Hücre kültürü çalışmalarında, primer hücre ya da devamlı hücre hatları olmak üzere iki çeşit hücre tipi kullanılmaktadır. Primer hücre kültüründe, canlı dokudan alınan hücreler 24 saatten daha uzun süre ile kültür edilerek üretilmektedir. Diş hekimliği çalışmalarında diş eti ve pulpa fibroblastlarının primer hücre kültürü olarak tercih edilebildiği görülmektedir. Primer hücrelerin kültür işlemiyle çoğaltılması sonrası elde edilen hücreler, farklı kültürlerle ekilerek aynı hücre tipinin alt kültürleri oluşturulmakta ve elde edilen ilk alt kültür hücreleri, sekonder hücre kültürü olarak adlandırılmaktadır. Primer hücre kültürünün insandan alınıp üretilmesi zorlu bir süreci içermektedir ve farklı bireylerden alınması fonksiyonel durumların yansıtılmasında çeşitlilik göstermektedir. Devamlı hücre hatları ise bir seri kültür işleminin sonucunda oluşturulan hücreler olarak tanımlanmaktadır. Devamlı hücre hatları, sayısız çoğalabilme yeteneğine sahip ve transformasyona uğramış hücreler olduğundan in vivo koşulları tamamen sağlayamadığı ancak primer hücre kültürüne göre daha stabil bir yapıya sahip oldukları belirtilmektedir (Helgason ve Miller 2005 pp 1-12; Ian Freshney 2006 pp. 1-216; Powers ve Saguchi 2006 pp. 97-125; Schmalz ve Arenholdt-Bindslev 2009 pp. 13-40; Aslantürk 2017). Devamlı hücre hatlarının primer hücrelere göre daha üstün çoğalma yeteneği göstermesi ve iki hücre kültürü arasında bulgular açısından anlamlı farklılıklar gözlenmemesi nedeni ile standart sitotoksikite deneylerinde devamlı hücre hatlarının kullanımının önerildiği görülmektedir (Schmalz 1997; Schmalz ve Arenholdt-Bindslev 2009 pp. 13-40).

İn vitro hücre kültür deneylerinde kullanılacak hücre tipinin seçimi, materyalin kullanılması planlanan bölgeye uygun olarak yapılması gerekmektedir. Dental materyallerin toksisite çalışmalarında, ISO 10993-5 standartları da göz önünde bulundurularak hücre hattı olarak sıklıkla fare fibroblastları (L-929, 3T3), insan epitelyal hücreleri, insan ya da hayvan pulpa hücreleri tercih edilmektedir (ISO 2009; Schmalz ve Arenholdt-Bindslev 2009 pp.1-12). Farklı hücre tiplerine aynı materyaller uygulandığında farklı yanıtlar oluşabilmektedir. Örneğin; fibroblast hücreleri, L929 hücre hattından daha hassas özellik gösterirken; fibroblastlar ve osteoblastların

materyallere tepkilerinin ise farklı olduğu belirtilmektedir. Doku mühendisliğine ilişkin bilgiler doğrultusunda, klinik kullanım amacı ile dental materyal deneylerinde pulpa hücrelerinden elde edilmiş mezenkimal kök hücrelerin kullanılması önerilmektedir (Yoo ve ark. 2013).

Bu tez çalışmasında, vital pulpa tedavi ajanı olarak klinikte uygulanması amaçlanan materyallerin, in vitro sitotoksosite ve alkalen fosfataz enzim aktivitesi deneyleri, insan dental pulpa kök hücre hattı (Lonza Group, İsviçre) üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Hücre kültür çalışmalarında hücre pasajlama sayısının artması ile hücrelerin karakteristik özelliklerinin değişmeye başladığı bildirilmektedir (Karimjee ve ark. 2006). Bu çalışmada hücrelerin karakteristik özelliklerinin korunduğu düşünülerek, benzer çalışmalarda da olduğu gibi 3. pasaj hücreler kullanılmıştır.

İn vitro sitotoksosite testlerinde, dental materyallerin ya da bileşenlerinin, kullanılan hücreler ile direkt ya da indirekt teması olması gerekmektedir. Direkt temas testlerinde, dental materyal ya da bileşenleri, hücreler üzerinde fiziksel temas halinde bulunurken, indirekt temas testinde ise arada bariyer bulunmaktadır. Suda çözünen materyaller, hücre medyumunda içerisinde de çözünebilmekte ve başarılı bir hücre-materyal ilişkisi sağlanmaktadır. Suda çözünmeyen materyaller için tercih edilen ‘ekstrakt yolu ile temas testi’nde ise, materyalin çözücü sıvı içerisinde konarak bileşenlerinin elde edilmesi ve hücreler üzerine uygulanması prensibine dayanmaktadır. Ekstraksiyon sıvısı olarak serum içeren/içermeyen medyum, fizyolojik tuz solüsyonu ya da uygun farklı çözücüler tercih edilebilmektedir (Moharamzadeh ve ark. 2009; Adan ve ark. 2016).

Bu tez çalışmasında, toz halinde bulunan kurkumin ve aloin materyalleri %60’lık etanol içerisinde çözdürülmüş ve kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak için sterilizasyon filtrelerinden geçirilmiştir. Antioksidan karışım ve MTA materyalleri ise ISO 10993-5 standartlarında belirtildiği ve benzer çalışmalarda görüldüğü gibi (Yoshino ve ark. 2013; Cintra ve ark. 2017) yüzey/besiyeri oranı 0,5 - 6 cm²/ml olacak şekilde DMEM içerisinde 37°C’de 24 saat bekletilmiş, materyalden salınan üst sıvı ile materyal bileşenleri elde edilmiştir. Hücreler üzerine uygulamaya hazır hale getirilen deney materyalleri direkt temas yöntemi ile hücreler üzerine uygulanmıştır.

Diş hekimliğinde kullanılan materyaller, sert ya da yumuşak dokular ile temasta olmaktadır. Materyalin kullanım alanına uygun olarak, temasta olacağı dokular üzerinde

sistemik ya da lokal etkileri değerlendirilmelidir. Materyallerin doku üzerindeki etkileri, aşınma ya da çözünme sonucunda açığa çıkan bileşenleri ile görülmektedir (Schmalz ve Arenholdt-Bindslev 2009 pp. 1-12; Tuncer ve Demirci 2011; De Melo ve ark. 2013).

Materyallerin sitotoksitesini değerlendirmede kullanılan yöntemler; hücrelerde canlılığı, proliferasyonu ya da metabolik sitotoksiteyi değerlendiren testler olarak tanımlanmaktadır (Schmalz ve ark. 2001).

Canlılık değerlendiren testler, kısa dönemde oluşan toksik etkilerin sonucunda hücre kültüründe canlı kalan hücre oranını belirlemekte kullanılmaktadır. Bu testler, uygulanışı hızlı ve kolay olmasına karşın yalnızca test sırasındaki ölü hücre sayısını belirlemektedir; ancak test sırasındaki toksisitesinin ardından hücrelerde uzun dönemde geri dönüşüm olabileceği için uzun dönem testlerin kullanılması önerilmektedir (Ian Freshney 2005 pp. 1-216). Proliferasyon değerlendirme testlerinde, materyalin çeşitli bileşenlerinin hücreler üzerine uygulanmasından birkaç gün sonrasında hücrelerin sayılması ve proliferasyon miktarının hesaplanması prensibine dayanmaktadır. Test süresince belirli anlarda yapılan ölçümler belirgin bir sonuç veremediği için büyüme eğrilerinin yapılması gerekmektedir. Metabolik değerlendirme testlerinde ise, tetrazolyum tuzunun formazan kristaline indirgenmesi ya da DNA ve protein sentezinin saptanmasına bağlı değerlendirmeler yapılmaktadır. Metabolik değerlendirme testlerinde, uzun dönemde oluşacak sitotoksik etkilerin gözlenmesi, proliferasyon ve metabolik kapasitelerin anlaşılması mümkün olmaktadır. Bu gruba ilişkin testler; MTT (3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), XTT (2,3-Bis(2-metoksi 4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolyum), MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3karboksi metoksifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolyum), WST-1(2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitro fenil) - 5-(2,4-disulfofenil)- 2H-tetrazolyum) testleri olarak bildirilmektedir (ISO 2009; Adan ve ark. 2016).

Bu testlerde, mitokondriyal solunum zinciri enzimlerinden biri olan ve yalnızca canlı hücrelerde çalışabilen süksinat tetrazolyum redüktaz enzimi ile, tetrazolyum tuzları formazana çevrilmektedir. Bu şekilde canlı hücrelerin sayısı arttıkça formazan oluşumu da artmakta ve kültür içerisinde hücre sayısındaki artışla doğru orantıya sahip olmaktadır. Artan enzim aktivitesiyle test ortamında test türüne göre renk değişikliği gözlenmekte ve absorbans değerleri spektrofotometre ile ölçülmektedir (Terzioğlu 2013). MTT kültür ortamında çözünememekte ve indirgenme ürünlerinin çözülmesi için dimetil sülfoksit

kullanılmaktadır. XTT daha yavaş indirgenmekte ve ilave faktörlerin eklenmesi gerekmektedir. WST-1, diğer testlere göre daha hızlı renk değiştirmekte ve daha verimli kullanılabilir. Bu testler içerisinde avantajları nedeniyle çalışmalarda WST-1 kullanımı önerilmektedir (Biocompare, Tezioğlu 2013). Bu tez çalışmasında, materyallerin biyoyumluluklarının, hücre proliferasyon ve canlılık düzeylerinin değerlendirilmesi amacıyla, metabolizma değerlendiren testler içerisinde avantajlarıyla öne çıkan WST-1 testi kullanılmış; test sonucu açığa çıkan absorbans değerleri spektrofotometre ile saptanmıştır.

Güncel sitotoksite çalışmaları incelendiğinde, materyallerin hücreler üzerindeki etkisinin genellikle, 1. 2., ve 3. günlerde değerlendirildiği belirlenmiştir (Mandrol ve ark. 2016; Tsai ve ark. 2018; Tomás-Catalá ve ark. 2018). Bu çalışmada ise, materyallerin biyoyumluluklarının incelenmesinde kullanılan WST-1 testinde değerlendirmeler 1., 2., 3., ve 7. günlerde gerçekleştirilmiştir.

Alkalen fosfataz, insan vücudunda hazır olarak bulunan, vücutta sert doku oluşumunda görevli, iskelet ve karaciğer hastalıklarında belirteç olarak kullanılabilen bir enzimdir. Diş hekimliği çalışmalarında incelenecek materyallerin diş sert doku oluşturma potansiyelinin incelenmesi amacıyla alkalen fosfataz aktivitesinin belirlendiği görülmektedir. ALP enzim aktivitesi, hazır bulunan ölçüm kitleri ile değerlendirilmektedir (Pengjam ve ark. 2016; Youssef ve ark. 2019).

Güncel diş hekimliğinde yeni materyallere ilişkin literatür incelemesinde, materyallerin öncelikle biyoyumluluk ve sert doku oluşumunu indükleme kapasitesi açısından değerlendirilmesinin önemli olduğu vurgulanmaktadır. Sert doku oluşumu erken belirteçlerinden biri olan ALP aktivitesinin incelendiği çalışmalarda, enzim miktarının ölçüm günlerinin sıklıkla materyal hücrelere uygulandıktan sonraki 3., 7., 10., ve 14. günler olduğu görülmektedir (Hou ve ark. 2016; da Rosa ve ark. 2018; Li ve ark. 2019; Youssef ve ark. 2019). Bu tez çalışmasında da, materyallerin sert doku oluşumunu indükleme kapasitesinin incelenmesinde materyallerin alkalen fosfataz enziminin salgılanmasına etkisi değerlendirilmiş; ALP düzeylerinin saptanmasında uygulama kolaylığı ve uygun maliyet özellikleri nedeni ile İnsan Alkalın Fosfataz ELISA Kiti (Elabsience, ABD) kullanılmış ve materyallere ilişkin ALP aktivitesi düzeyleri 7. ve 14. günlerde gerçekleştirilmiştir.

Vital pulpa tedavilerinin başarısında terapötik materyal seçimi önemli rol almaktadır. İyi bir terapötik ajan, olumsuz yan etki göstermeksizin iyileşmeyi tetiklemelidir. Çocuk diş hekimliğinde, sıklıkla kullanılan geleneksel materyallerden kalsiyum hidroksitin sert doku oluşturma başarısının tartışılır olması, formokrezolün sitotoksik ve mutajenik olarak belirtilmesi, MTA ve diğer kalsiyum silikat içerikli materyallerinin yüksek maliyeti gibi dezavantajları nedenleri ile vital pulpa tedavilerinde kullanılacak ideal materyal arayışları devam etmektedir (Akbik ve ark. 2014; Bogovic ve ark. 2011; Jefferies 2016).

Günümüzde klinikte kullanılan materyal çalışmaları incelendiğinde bitkisel ve antioksidan içerikli ajanların hem tıp hem de diş hekimliği alanında kullanımının arttığı; çocuklarda özellikle süt dişi vital pulpotomi tedavisinde başarı ile uygulandığı belirtilen bitkisel ajanlardan kurkumin ve aloin (Mohan ve Gundappa 2013; Mandrol ve ark. 2016; Hewlings ve Kalman 2017; Carvalho ve ark. 2018; Prabhakar ve ark. 2019; Sinjari ve ark. 2019) ya da antioksidan esaslı ajanlara (Reddy ve ark. 2014; Kathal ve ark. 2017) ilişkin klinik kullanım öncesi yapılması gerekli in vitro çalışmaların bulunmaması ya da yetersiz olması bu ajanlara ilişkin deneysel çalışmalara olan gereksinimi artırdığı görülmektedir.

Bu çalışmada, tıp ve diş hekimliği klinik uygulamalarında kullanıldığı gözlenen bitkisel ajanlardan kurkumin ve aloin, bir antioksidan karışım, yüksek klinik başarı oranları gösterdiği belirtilen MTA, deney materyalleri olarak; materyal uygulanmamış ve besiyeri içinde çoğaltılmış insan dental pulpa kök hücreleri kontrol grubu olarak değerlendirilmiş; deney gruplarında saptanan bulgular kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

Materyallerin sitotoksisite ve ALP aktivitesi testleri için hazırlanmasında farklılıklar oluşabilmektedir. Kurkumin ve aloinin çözücü içerisinde hazırlanması, antioksidan karışım ve MTA'nın ise üst sıvılarının elde edilmesi gerekli olduğundan; kurkumin ve aloin doz ($\mu\text{g/ml}$), antioksidan karışım ve MTA ise konsantrasyon (%) olarak hazırlanmıştır. Farklı birimlerin istatistiksel olarak karşılaştırılmasının mümkün olamaması nedeni ile materyallerin birbirleri ile karşılaştırılması yapılamamış, her materyal kendi grubu içinde doz/konsantrasyon ve günlere göre karşılaştırılmıştır.

Kurkumin:

Vital pulpa tedavilerinde, pulpa üzerine uygulanacak materyal pulpa iyileşmesi ile doğrudan ilişki içerisindedir. Tıp ve diş hekimliğinde gerçekleştirilen çalışmalarda, kurkuminin uygulandığı dokuda oluşan iyileştirici etkinin, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri sonucu oluştuğu düşünülmektedir (Meng ve ark. 2013). Günümüzde bu nedenle kurkuminin bazı klinik çalışmalarda vital pulpa tedavi ajanı olarak başarı ile uygulandığı bildirilmekte (Hugar ve ark. 2017; Purohit ve ark. 2017; Prabhakar ve ark. 2019), ancak kurkuminin insan dental pulpa kök hücreleri üzerine etkisinin ve sert doku oluşturma potansiyeline ilişkin yeterli bulguların ve in vitro çalışmaların bulunmadığı gözlenmektedir. Bu tez çalışmasında, kurkuminin, pulpa hücrelerinin canlılığı üzerine etkilerinin, uygun doz aralığının, sert doku oluşturma potansiyelinin belirlenmesi için, farklı dozları in vitro koşullarda insan dental pulpa kök hücre hattı üzerine uygulanmış; sitotoksikite 1., 2., 3., ve 7. günde; ALP aktivitesi 7. ve 14. günde incelenmiştir.

Hou ve ark., 1, 5, ve 10 μ M dozlarında kurkumini ratların vasküler düz kaslarının üzerine uygulamışlar ve Western Blot Analizi, PCR, Alizarin Red Boyama yöntemleri ile etkinliğini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, doza bağlı olarak kurkuminin hücrelerde apoptozu ve kalsifikasyonu anlamlı ölçüde azalttığını; ALP, Runx2 ve BMP-2 gibi sert doku oluşumu ile ilişkili faktörlerin ise azaldığını bildirmişlerdir (Hou ve ark. 2016).

Mandrol ve ark., süt dişi pulpa fibroblastları üzerine sitotoksitesinin incelenmesi amacı ile üst süt kesici dişlerin pulpası üzerine %25-50-100'lük kurkumin uygulamışlar ve 48 saat sonunda hücre canlılığını değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda; kurkuminin tüm dozlarının süt dişi pulpa fibroblastlarının çoğalmasını sağladığı, hücre yaşayabilirliğini arttırdığı, kurkuminin pulpa tedavileri için ekonomik ve güvenilir bir ilaç haline gelme potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir (Mandrol ve ark. 2016).

Kurkuminin, fare mezenkimal hücre hattı (C3H10T1/2) üzerinde sert doku oluşturma yeteneğinin incelendiği çalışmada, kurkuminin 1, 3, 10, 100 μ M dozlarının sitotoksik etkileri 1., 3., 7. ve 10. günde MTT testi ile incelenmiştir. Çalışmada hücre canlılığının yanı sıra, materyalin aynı doz ve süreyle uygulandığında osteojenik etkisi ve endoplazmik retikulum stress belirteçlerinin salınımindaki etkisi değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, kurkuminin 10 μ M dozuna kadar olan düşük dozlarının sitotoksik etki göstermediği, 100 μ M dozunun hücre canlılığını düşürdüğü, kurkuminin Runx2 ve osteokalsin ile birlikte ALP aktivitesini de arttırdığı belirtilmiştir (Son ve ark. 2018).

Prabhakar ve ark. 2019 yılında yaptıkları hayvan deneylerinde, kurkumin ve MTA'nın pulpotomi materyali olarak kullanılmasının etkilerinin incelenmesi amacı ile MTA ve kurkumini 3:1 oranında steril salin ile karıştırarak dişlere uygulamışlardır. 7., 14. ve 30. günlerde yapılan incelemelerde kurkumin grubunda pulpa bütünlüğünün iyi korunduğunu, ancak dentin köprüsü oluşturma açısından iki grup arasında anlamlı farklılıkların saptandığını belirtmişler; Purohit ve ark.'nın (2017) öne sürdüğü gibi, kurkuminin gelecekte geliştirilmesi ile vital pulpa tedavilerinde etkili bir materyal olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Prabhakar ve ark. 2019).

Sinjari ve ark., serbest rezin monomeri olan HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate) ve kurkuminin, pulpa kök hücreleri üzerinde oluşturduğu değişiklikleri incelemişler ve çalışmanın sonucunda 3 ve 5 mmol/L⁻¹ HEMA'nın dental pulpa kök hücreleri üzerinde morfolojik değişimlere yol açtığını, proinflatuar sitokin salınımını arttırdığını ve hücre proliferasyonunu azalttığını belirtmişlerdir. Lipozom ile kombine edilmiş kurkuminin 10 mmol L⁻¹ ve 0,4 mmol L⁻¹ dozlarının ise hücre proliferasyonunu arttırdığını, inflamatuvar sitokin salınımını durdurduğunu; bu nedenle, doğal bir nanotaşıyıcı görevi üstlenen lipozomla kombine edilmiş kurkuminin biyokimsayal ve moleküler olaylarda etkinliğinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Sinjari ve ark. 2019).

Bu tez çalışmasında, kurkuminin 2,5 µg/ml, 6,75µg/ml, 12,5 µg/ml, 25 µg/µl, 50 µg/ml dozlarında oluşturduğu proliferatif ve sitotoksik etkiler incelenmiştir. Kurkuminin sitotoksikite testlerinde elde edilen bulgular kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; insan dental pulpa kök hücrelerinde doza ve süreye bağlı olarak kurkuminin farklı etkiler gösterdiği belirlenmiştir. En düşük doz olan 2,5 µg/ml'in 1. günde hücre canlılığını anlamlı olarak arttırdığı, etkileşim süresi arttıkça anlamlı değişiklikler göstermediği; 6,75 µg/ml dozunun ise hiçbir zaman aralığında sitotoksik etki göstermediği; 12,5 µg/ml dozundan itibaren daha yüksek dozlarda tüm zaman aralıklarında kurkuminin anlamlı derecede sitotoksik etki gösterdiği saptanmıştır.

Kurkuminin sitotoksikitesine ilişkin saptanan tüm bulgular incelendiğinde; en düşük iki kurkumin dozu olan 2,5 µg/ml ve 6,75 µg/ml'in insan dental pulpa hücreleri üzerinde hiçbir zaman aralığında sitotoksik etki göstermediği; 12,5, 25 ve 50 µg/ml dozlarının ise tüm zaman aralıklarında hücre canlılığını azalttığı; sitotoksik etki gösteren ve göstermeyen dozlar arasında anlamlı farklılıklar bulunduğu belirlenmiştir.

Kurkuminin sitotoksitesine ilişkin elde edilen bu bulgular, kurkuminin düşük dozlarının proliferasyonu arttırdığını, yüksek dozlarının ise sitotoksik etki gösterdiğini belirten Son ve ark. (2018), Sinjari ve ark.'nın (2019) bulguları ile paralellik göstermekte, Mandrol ve ark.'nın kurkuminin %100 konsantrasyonu da dahil olmak üzere düşük ve yüksek tüm konsantrasyonlarının hücre canlılığını arttırdığına ilişkin bulgularını ise desteklememektedir.

Klinik çalışmalarda, kurkuminin vital pulpa tedavilerinde başarılı olduğu belirtilmekte, ancak in vitro deneylerde histolojik olarak, hücre canlılıkları açısından farklı sonuçlar açığa çıktığı görülmektedir. Ayrıca in vitro çalışmalarda elde edilen farklı bulguların seçilen hücre tipi ve test yöntemine de bağlı olabileceği vurgulanmaktadır.

Bu çalışmada, kurkuminin sitotoksite testinde en yüksek hücre canlılığının 2,5 ve 6,75 µg/ml dozlarında elde edilmesi nedeni ile, kurkuminin alkalen fosfataz enzim aktivitesi testinde 2,5 ve 6,75 µg/ml'lik dozlarının kullanılması tercih edilmiştir. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, 7. ve 14. günlerde her iki dozun da materyal uygulanmamış kontrol grubuna göre ALP oluşumunda anlamlı bir farklılık ($p>0,05$) oluşturmadığı saptanmış; ALP etkinliğinin uzun dönemde analiz edilmesine gereksinim olduğu gözlenmiştir.

Prabhakar ve ark. (2019) da yaptıkları çalışmada, MTA'ya kıyasla kurkuminin sert doku oluşturmada yetersiz kaldığını bildirirken; Hou ve ark. (2016) da yüksek dozların sert doku belirteçlerini azalttığını belirtmiştir. Bu tez çalışmasında, kurkuminin ALP aktivitesine ilişkin olarak elde edilen bulguların, Hou ve ark. ile Prabhakar ve ark.'nın bulgularını destekler nitelikte olduğu görülmektedir.

Aloe Vera:

Aloe vera, bir diğer adıyla *Aloe barbadensis* bitkisel ajanına ilişkin yapılan çalışmalar, *Aloe vera*'nın antiinflamatuvar, antibakteriyel, antioksidan, antiviral, antifungal özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Mohan ve Gundappa 2013).

Aloe vera bitkisinin özütü olan aloinin diş hekimliğinde kullanım alanlarına ilişkin çalışmalar incelendiğinde kurkumin ile benzer şekilde yeterli sayıda in vitro çalışmanın bulunmadığı görülmektedir.

Aloe vera bitkisinin, antiinflamatuvar özellikler göstererek, pulpada fibroblast gelişimini indükleyerek iyileşme prosesini başlattığı, dokular üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu belirtilmektedir (Faleiro ve ark. 2009).

Aloe vera’nın dental pulpa fibroblastları üzerinde hücre canlılığına etkisinin 1, 2 ve 3 gün süreyle MTT testi ile incelendiği çalışmada, *Aloe vera*, kalsiyum hidroksit ve lazer, çeşitli kombinasyonlar yapılarak gruplandırılmış, distile su ile seyreltilen %4’lük *Aloe vera*’nın lazer fotobiyomodulasyon ile kombinasyonunun hücre canlılığını arttırdığı, *Aloe vera* bitkisinin genellikle düşük sitotoksiste, yüksek genotoksiste gösterdiği bildirilmiştir (Carvalho ve ark. 2018).

Sholehvar ve ark., *Aloe vera* jelinin dental pulpa kök hücrelerinin canlılığı üzerine etkisini in vitro koşullarda incelemişler, tavşan dişlerinden elde edilen hücrelere 45 dk, 90 dk, 3 saat ve 6 saat süre ile uygulanan %10, %25, %50 ve %100’lük *Aloe vera* jelin etkinliğini kontrol grubu HBSS (Hank’s Balanced Salt Solution) ile karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar *Aloe vera* grubunda hücre canlılığının HBSS grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunduğunu ve %50’lik konsantrasyonun en yüksek hücre canlılığı gösterdiğini; ayrıca *Aloe vera*’nın avülse ya da kırık dişlerin transferinde uygun koşullar sağlayan bir solüsyon olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (Sholehvar ve ark. 2016).

Jittapiromsak ve ark., *Aloe vera*’nın polisakkarit kısmı olan acemannan ve kalsiyum hidroksitin ratların dental pulpa hücreleri üzerinde oluşturduğu etkiyi 28 gün sonra enflamasyon varlığı, dentin köprüsü oluşumu, pulpa dokusu bütünlüğü açısından inceleyerek değerlendirmişler; çalışma sonucunda, *Aloe vera*’nın biyoyumlu bir materyal olduğunu, dentin formasyonunu stimule ettiğini, ALP aktivitesi ile birlikte BMP-2 ve DSP oluşumunu arttırdığını, hücrelerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını indüklediğini belirtmişlerdir (Jittapiromsak ve ark. 2010).

Gala-Garcia ve ark., *Aloe vera* ve kalsiyum hidroksitin sıçan pulpa dokusu üzerindeki etkisini karşılaştırmak amacı ile, *Aloe vera*’nın özütü aloini bitkiden ayrıştırarak direkt pulpa kuafaj tedavilerinde uygulamışlar; 1., 7., 14. ve 30. günlerde hayvanlar kurban edilerek dişleri histolojik olarak incelemişlerdir. Araştırmacılar, *A. vera*’nın kabul edilebilir bir biyoyumluluğa sahip olduğunu, dişlerde tersiyer dentin ve dentin köprüsü oluşumunun gözlemlendiğini bildirmişlerdir (Gala-Garcia ve ark. 2008).

Songsiripradubboon ve ark. çalışmalarından *Aloe vera* bitkisinin polisakkarit kısmı olan acemannan, MTA ve formokrezolü pulpotomi ajanları olarak uygulamışlar; 6. günde çekilen dişlerin pulpa dokularını histolojik olarak incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, acemannanın pulpa hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını uyardığı, faktör salınımını arttırdığı, dentin köprüsü oluşumuna yardımcı olduğu bildirilmiştir (Songsiripradubboon ve ark. 2017).

Pengjam ve ark. aloin ve antrakinon glikozidin sert doku oluşumunu indüklemeye potansiyelini ve sitotoksik etkilerini MC3T3-E1 (Fare Musculus Calvaria kas hücresi) ve hADSC (insan yağ dokusu mezenkimal hücresi) hücreleri üzerinde incelemişlerdir. Sitotoksikite analizinde aloinin 0,025, 0,05 ve 0,1µM dozları; ALP analizinde 0,05 µM ve 0,1 µM dozları kullanılmıştır. Sitotoksikite analizinde kullanılan dozların, hücreler üzerinde anlamlı bir etki göstermediği belirtilmiştir. ALP analizinde, MC3T3-E1 hücrelerinde 0,05 µM, hADSC hücrelerinde ise 0,1 µM aloin dozunun ALP aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir. Aloinin osteoklastogeneziste güçlü bir baskılayıcı olduğu ve ALP aktivitesinin BMP2 salınımında olumlu rol alabileceği belirtilmiştir; ayrıca aloinin iki farklı hücre üzerinde etki göstermesinin hücre spesifik özelliğinin olmadığına göstergesi olarak belirtilmiştir (Pengjam ve ark. 2016).

Aloe vera'nın hücre proliferasyonu, canlılığı, migrasyonu ve yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmada; insan primer epidermal keratinosit ve dermal fibroblast hücreleri üzerine uygulanan %1, %2, ve %3'lük *Aloe vera*'nın etkisi 1, 2, 3 ve 5. günde incelenmiştir. %2'lik ve %3'lük *Aloe vera*'nın fibroblast hücrelerinde tüm zaman aralıklarında *Aloe vera* uygulanmamış kontrol grubuna göre canlılığı anlamlı derecede arttırdığı, %2'lik *Aloe vera*'nın daha yüksek hücre canlılığı gösterdiği 1. gün dışındaki günlerde, %2 ve %3'lük *Aloe vera*'nın anlamlı farklılık oluşturmadığı belirtilmiştir. Çalışmada, *Aloe vera*'nın fibroblastlarla benzer şekilde keratinositler üzerinde de proliferatif etki gösterdiği görülmüştür. Tüm konsantrasyonların kontrol grubuna göre daha yüksek hücre canlılığı gösterdiği, %1 ve %2'lik konsantrasyonların ise %3'lük *Aloe vera*'ya göre anlamlı derecede daha yüksek canlılık gösterdiği bildirilmiştir. Sonuç olarak, *Aloe vera*'nın fibroblast ve keratinosit hücrelerinde proliferasyonu tetiklediği, orta derecede etki ile migrasyona neden olduğu belirtilmiştir (Teplicki ve ark. 2018). Takashi ve ark. *Aloe vera* jel ve lipozomal *Aloe vera* jel ekstraktlarının keratinosit ve fibroblastlarda Teplicki ve ark.'nın çalışmada elde edilen

bulgularına benzer şekilde proliferasyonu arttırdığını bildirmişlerdir (Takahashi ve ark. 2009).

Rasoulıan ve ark., *Aloe vera*'nın MG-63 insan osteosarkom hücreleri üzerindeki etkisini ve kemik defektlerinin iyileşmesindeki rolünü ratlarda araştırmışlardır. 25, 50, 100, and 200 µl/ml dozlarda hazırlanan *Aloe vera* jelinin sitotoksitesi 48 saat sonunda MTT yöntemi ile değerlendirilmiş ve 200 µl/ml *Aloe vera* dozunun oluşturduğu Runx2, ALP, osteokalsin, BMP2 değerleri real time RT-PCR ile incelenmiştir. 25 µl/ml dozu, MG-63 hücrelerinde hücre canlılığını düşürürken daha yüksek *Aloe vera* dozlarının kontrol grubuna göre anlamlı derecede hücre canlılığını arttırdığı bildirilmiştir. Çalışmada *Aloe vera*'nın osteojenik bir besiyeri olmadan, hücreler üzerinde osteoblastik aktivite oluşturmadığı, osteojenik besiyeri ile beraber kullanıldığında osteofarklılaşmaya bağlı olarak kalsiyum depolanmasının, ALP, osteokalsin ve BMP2 genlerinin arttığı; bu bulguların ise *Aloe vera*'nın osteokondüktif ya da osteoindüktif olmadığını gösterdiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada *Aloe vera* bitkisinin aloin, aloesin, γ-sitosterol gibi komponentleri, ratların kemik defekterine uygulanarak çeşitli moleküler testler ile değerlendirilmiş ve *Aloe vera*'nın tip 1 kemik morfogenetik protein reseptörüne yüksek ilgisi olduğu belirtilmiştir (Rasoulıan ve ark. 2019).

Li ve ark., aloinin ERK1/2-Runx2 sinyal yolunu kullanarak, kemik iliği kaynaklı mezenkimal hücrelerde osteojenik farklılaşmaya neden olabileceği hipotezi ile gerçekleştirdikleri çalışmada, öncelikle aloinin 10, 20 ve 50 µM dozlarının hücreler üzerindeki sitotoksik etkileri 1, 2 ve 3 gün süreyle CellTiter 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay Kit (Promega, ABD) ile değerlendirilmiş ve hücre canlılığı üzerinde anlamlı farklılıklar oluşmadığı belirtilmiştir. Hücrelere 10 ve 50 µM aloin dozları, kalsiyum birikiminin incelenmesi amacı ile 14 gün, ALP aktivitesinin değerlendirilmesi için 3 gün süre ile uygulanmıştır. Çalışmada aloin ile etkileşim sağlanan her grupta osteojenik besiyeri kullanılmış, aloin içermeyen besiyeri ise kontrol grubu olarak değerlendirilmiş ve incelemeler ALP Detection kit (NJBI, Çin), Real time PCR, Western Blot, immunofloresans yöntemleri ile yapılmıştır. Çalışma sonucunda, aloinin hücre içi ALP aktivitesini ve Runx2, osteopontin, osteokalsin, mRNA salınımını ERK1/2-Runx2 yoluyla arttırdığı bildirilmiştir (Li ve ark. 2019).

Bu tez çalışmasında, *Aloe vera* bitkisinin özütü olan aloin içeriği, literatürde belirtilen dozlara ve uygulama sürelerine benzer olarak 2,5, 6,75, 12,5, 25, 50 µg/ml

dozlarda hazırlanmış ve dental pulpa kök hücreleri üzerine 1, 2, 3 ve 7 gün süre ile uygulanmıştır.

Çalışmada; 1. gün sonunda aloinin tüm dozlarının, materyal uygulanmamış kontrol grubuna göre, hücre canlılığını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığı gözlenmiştir. Bu bulguların, *Aloe vera*'ya ilişkin gerçekleştirilmiş çalışmalarda elde edilen bulgulara paralellik gösterdiği görülmektedir (Faleiro ve ark. 2009; Takahashi ve ark. 2009; Jittapiromsak ve ark. 2010; Sholehvar ve ark. 2016; Songsiripraduboon ve ark. 2017; Teplicki ve ark. 2018).

2. günde hiçbir aloin dozun, kontrol grubuna göre hücreler üzerinde anlamlı bir farklılık oluşturmadığı saptanmıştır. 3. gün yalnızca 50 µg/ml aloin dozu hücre canlılığını anlamlı derecede azaltırken diğer dozlarda anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir. 7. günde 2,5 µg/ml ve 6,75 µg/ml hücre proliferasyonunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış oluşturmadığı, 25 µg/ml aloinin hücre canlılığını arttırdığı, en yüksek sitotoksik etkinin ise 7. günde 50 µg/ml aloin dozunda ($p < 0,05$) olduğu gözlenmiştir.

Pengjam ve ark. (2016) düşük aloin dozların hücrelerde proliferatif etki göstermediğini, yüksek dozların ise sitotoksik etki yarattığını bildirmişlerdir. Li ve ark. (2019) Pengjam ve ark. (2016) ile benzer şekilde, aloinin 10, 20 ve 50 µM dozlarının, hücre proliferasyonunda etki oluşturmadığını; Rasoulion ve ark. (2019), aloinin 25 µg/ml dozunun 48 saat sonucunda hücre canlılığını azalttığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada, 2. ve 3. günde aloinin kontrol grubuna göre hücreler üzerinde anlamlı bir proliferatif etki oluşturmadığı, doz ve sürenin artması ile sitotoksik etki meydana getirdiğine ilişkin olarak saptanan bulguların *Aloe vera*'ya ilişkin gerçekleştirilmiş çalışmalarda elde edilen bulguları destekler nitelikte olduğu görülmektedir.

Aloe vera'nın sitotoksitesinin incelendiği bu çalışmada, aloinin düşük dozlarının kısa zaman aralıklarında hücre canlılığını arttırdığı, Gala-Garcia ve ark. (2008), Li ve ark.'nın (2018) belirttikleri gibi kabul edilebilir biyouyumluluğa sahip olduğu görülmüştür.

Aloinin alkalen fosfataz enzim aktivitesinin belirlenmesinde, sitotoksiste testinde yüksek canlılık gösteren 2,5 ve 6,75 µg/ml aloin dozları kullanılmıştır. ALP test bulguları analiz edildiğinde, aloinin 7. ve 14. günde alkalen fosfataz enzim düzeyinde anlamlı değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır.

Jittapromsak ve ark. (2010), Gala-Garcia ve ark. (2008), Songsiripradubboon ve ark. (2017), Pengjam ve ark. (2016), Li ve ark. (2019) *Aloe vera* 'nın sert doku oluşumunu indüklediğini belirtmişlerdir. Rasoulia ve ark. (2019) ise aloinin tek başına yeterli düzeyde ALP salınımını sağlayamadığını bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında aloinin ALP düzeyine ilişkin olarak elde edilen bulguların, Rasoulia ve ark. ile benzerlik gösterdiği görülmektedir. Çalışmalarda farklı sonuçların elde edilmesi, kullanılan hücre tipinin ve *Aloe vera* içeriklerinin farklı olmasına; farklı alkalen fosfataz aktivitesi yöntemlerinin kullanılmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Antioksidan Karışım:

Vital pulpa tedavilerinde güncel yaklaşımlar incelendiğinde, pulpotomi tedavisinde antioksidan karışım adı altında vitamin ve mineral içerikli ticari preparatların kullanıldığı iki çalışmanın gerçekleştiği görülmektedir (Kathal ve ark. 2017; Reddy ve ark. 2014). Bu çalışmalarda kullanılan antioksidan içerikli preparatlar incelendiğinde ise bu preparatlara ilişkin in vitro deneysel çalışmaların bulunmadığı gözlenmektedir.

Reddy ve ark. 1:6 oranında salin ile hazırlanan tablet formundaki bir antioksidan karışımı (OXIn-Xttm, Hindistan) süt dişi pulpotomi tedavilerinde uygulamışlar ve dişleri 3, 6 ve 9. aylarda değerlendirmişlerdir. Dişlerin histolojik olarak incelenmesinde konveks şekilli sert doku bariyeri gözlendiğini, kullanılan bu antioksidan karışımın sert doku oluşumunu indükleyebildiğini ve pulpa iyileşmesinde etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (Reddy ve ark. 2014).

Kathal ve ark., Reddy ve ark. ile benzer şekilde farklı bir antioksidan karışımı (Oxyfruit 40) ve MTA'yı süt dişi pulpotomi tedavisinde pulpotomi ajanı olarak uygulamışlar ve 1 yıllık klinik takip sonucunda MTA ile benzer başarı oranları elde edildiğini bildirmişlerdir (Kathal ve ark. 2017).

Bu çalışmada, antioksidan karışım materyali olarak literatürdeki OXIn-Xttm ve Oxyfruit 40 isimli preparatların içeriğine en çok benzeyen, aynı vitamin ve minerallere sahip preparat olan Supradyn (Bayer AG, Almanya) kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılmış antioksidan karışımlar ile bu tez çalışmasında kullanılan Supradyn'in benzer içerikleri ve karşılaştırmaları Tablo 5-1'de gösterilmiştir.

Tablo 5-1: Antioksidan karışım ‘Supradyn’ ve diğer antioksidan karışımların vitamin ve mineral içerikleri

Supradyn	OXIn-Xttm	Oxyfruit 40
C Vitamini – 80 mg	Vitamin C – 100 mg	Vitamin C – 50 mg
Niasin – 16 mg	Niacin (niacinamide) – 50 mg	Niacinamid – 20 mg
E Vitamini – 12 mg	Vitamin E – 25 IU	Vitamin E – 5 IU
Pantotenik Asit – 6 mg	Pantotenik asit – 12,5 mg	-
B6 Vitamini – 1,4 mg	Piridoksin (Vitamin B6) – 3 mg	Vitamin B6 – 1 mg
B2 Vitamini – 1,4 mg	Riboflavin (Vitamin B2) – 10 mg	Vitamin B2 – 1,5 mg
B1 Vitamini – 1,1 mg	Tiamin (Vitamin B1) – 10 mg	Vitamin B1 – 1mg
A Vitamini – 800 mcg	Vitamin A – 5000 IU	Vitamin A – 2500 IU
Folik Asit – 200 mcg	Folate (folic acid) – 1 mg	Folik asit – 150 mcg
D Vitamini – 200 IU	Vitamin D3 – 500 IU	Vitamin D3 – 200 IU
B12 Vitamini – 2,5 mcg	Vitamin B12 – 5 mcg	Vitamin B12 – 1mcg
Kalsiyum – 120 mg	-	Dibazik kalsiyum fosfat – 75 mg
Demir – 14 mg	Demir	Ferröz fumarat – 30 mg
Çinko – 10 mg	Çinko oksit – 15 mg	Çinko sülfat monohidrat – 10 mg
Mangan – 2 mg	Manganaz – 1,4 mg	-
Bakır – 1 mg	Bakır – 2,5 mg	Bakır sülfat – 500 mcg
Selenyum – 50 mcg	Selenyum – 60 mcg	Selenyum dioksit – 40 mcg

Antioksidan karışım Supradyn’in hazırlanan %25, %50, %75 ve %100’lük konsantrasyonlarından elde edilen üst sıvıları direkt temas yöntemiyle insan dental pulpa kök hücreleri üzerine uygulanmış; sitotoksisite ve ALP aktivitesi düzeyleri incelenmiştir.

Bu çalışmada, antioksidan karışım Supradyn’in sitotoksisite ve ALP aktivitesi düzeylerine ilişkin olarak elde edilen bulgular kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; antioksidan karışımın tüm konsantrasyonlarının tüm zaman aralıklarında hücreler üzerinde sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

Hücre yaşamını sonlandıran materyalin ALP oluşturma kapasitesinin de düşük olacağı öngörülerek, en düşük iki konsantrasyon olan %25 ve %50’lik konsantrasyonda ELISA testi gerçekleştirilmiş ve test sonucunda, bu antioksidan karışım materyalinin ALP aktivitesine etkisinin bulunmadığı saptanmıştır.

Antioksidan karışım Supradyn’in sitotoksisite ve ALP aktivitesi düzeylerinin incelendiği bu tez çalışmasında elde edilen bulguların Kathal ve ark.’nın klinik çalışması, Reddy ve ark.’nın klinik ve histolojik çalışmasında belirttikleri, antioksidan karışımın sert doku oluşumunu indükleyebildiğine ilişkin bulguları desteklemediği görülmektedir. Bu farklılıkların çalışmalarda kullanılan yöntemlere ve materyallerin içerik ve dozlarına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Mineral Trioksit Agregat:

Diş hekimliği literatüründe MTA materyaline ilişkin olarak gerçekleştirilmiş çok sayıda in vitro ve in vivo çalışmaların olduğu; yüksek klinik başarı gösteren klinik çalışmaların yanısıra MTA'nın dezavantajlarını belirten çalışmaların olduğu da görülmektedir. Bazı çalışmalarda MTA'nın içeriğinde bulunan SiO_2 , CaO , MgO , K_2SO_4 ve Na_2SO_4 bileşikleri nedeniyle biyolojik yanıtta negatif etkiler saptanabildiği bildirilmektedir. Ayrıca günümüzde çocuk diş hekimliğinde vital pulpa tedavilerinde sıklıkla uygulandığı görülen MTA'nın ekonomik bir materyal olmadığı, yeni vital pulpa ajanlarının arayışına devam edilmesi gerekliliği vurgulanmaktadır (Camilleri ve ark. 2013; Dammaschke ve ark. 2010; Kulan ve ark. 2018; Youssef ve ark. 2019).

Günümüzde MTA materyaline ilişkin farklı ticari preparatların olduğu ve bu materyallerin ise dokuda farklı yanıtlar oluşturabileceği belirtilmektedir (Yoshino 2013; Jiménez-Sánchez ve ark. 2019). Bu tez çalışmasında, MTA olarak ProRoot MTA (Dentsply, ABD) materyali kullanılmış ve materyalin insan dental pulpa kök hücrelerinde oluşturduğu sitotoksosite ve ALP aktivitesi düzeyleri değerlendirilmiştir.

Doz-yanıt ilişkisinin belirlenmesi için çalışmalarda farklı dozların dahil edilmesinin önem taşıdığı vurgulanmaktadır. MTA kullanılan in vitro çalışmalarda MTA'nın farklı dozlarının kullanıldığı ve materyalin sertleşmesini tamamlaması için 24 saat beklendiği gözlenmektedir (Ma ve ark. 2011; Bin ve ark. 2012; Yoshino ve ark. 2013; Tsai ve ark. 2018).

Ma ve ark. MTA'nın sertleşme süresinin biyouyumluluğa etkisini farklı materyaller ile karşılaştırmalı olarak dişeti fibroblastları üzerinde değerlendirmişlerdir. 2 ya da 7 günde sertleşen MTA, hücreler ile 3 ve 7 gün süre ile inkübe edilmiş ve hücreler ile inkübasyon süresi arttıkça hücre canlılığını azalttığı; doza ve inkübasyon süresine bağlı olarak materyallerin biyouyumluluk özelliklerinin değişebildiği vurgulanmıştır (Ma ve ark. 2011).

Bu tez çalışmasında MTA'nın sertleşme süresini tamamlayabilmesi için 24 saat aseptik koşullarda bekletilmiş; MTA üst sıvısı elde edildikten sonra dilüe etmek için besi yeri kullanılarak %25, %50, %75 ve %100'lük MTA konsantrasyonları hazırlanmıştır.

Kulan ve ark., ProRoot MTA'nın, %2,5 disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), %5 kalsiyum klorit (CaCl_2) ve distile su ile karıştırılması sonrası dental pulpa kök

hücrelerinde oluşan odontoblastik aktiviteyi incelemişlerdir. MTA'nın sertleşmesini hızlandıran Na_2HPO_4 ve CaCl_2 ile hazırlanan MTA'lar deney grupları, distile su ile hazırlanan MTA'nın ise kontrol grubu olarak belirlendiği çalışmada, hücre canlılığı MTS testi ile, hücre proliferasyonu ve odontoblast farklılaşma belirteçleri real time PCR yöntemi ile saptanmış, osteojenik/odontojenik farklılaşma alkalen fosfataz aktivitesinin (ALP) ölçümü ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, 5% CaCl_2 ve 2,5% Na_2HPO_4 ile karıştırılarak hazırlanan MTA'nın, distile su ile hazırlanan kontrol grubuna göre hücreler üzerinde optimal düzeyde proliferatif özellik gösterdiği ve ALP aktivitesinde de artışa neden olduğu belirtilmiştir (Kulan ve ark. 2018).

ProRoot MTA (Dentsply, ABD), Retro MTA (BioMTA, Kore), Biodentin (Septodont, Fransa), ve Dycal (Dentsply, ABD) materyallerinin insan üçüncü büyükazı dışından elde edilen pulpa kök hücreleri üzerindeki etkisinin in vitro olarak değerlendirilmesi amacı ile gerçekleştirilen çalışmada; vital pulpa tedavi endikasyonu sırasında değerlendirilen inflamasyon kriterlerinin klinik ve histolojik olarak farklı aşamalarda olabileceği göz önünde bulundurularak elde edilen pulpa hücrelerinde inflamasyon oluşturulması amacıyla hücreler 1 $\mu\text{g/ml}$ *P.gingivalis* lipopolisakkariti (Invitrogen, ABD) ile 24 saat kültür edilmiştir. Materyallerin tam sertleşmesi için 24 saat beklendikten sonra elde edilen MTA üst sıvıları hücreler üzerine 24 ve 48 saat süre ile uygulanmış ve hücrelerdeki canlılık Cell Counting Kit-8 (Dojindo Molecular Technologies, ABD), hücrelerin enflamasyon yanıtı ELISA testi, alkalen fosfataz, osteokalsin ve RUNX2 için mRNA ekspresyonu RT-PCR ile incelenmiştir. Çalışma sonucunda, Dycal dışındaki tüm materyallerin hücre canlılığı üzerinde anlamlı bir farklılık göstermediği, Dycal'ın ise hücre canlılığını inhibe ettiği belirtilmiş; materyallerin ALP ekspresyonuna katkıda bulunmadığı, Biodentin'in 12 saatte, Retro MTA'nın 12 ve 24 saatte osteokalsin düzeylerinde artışa neden olduğu, tüm materyallerin ise 12 saatte RUNX2'de artışa neden olduğu bildirilmiştir (Chung ve ark. 2019).

Maher ve ark., ProRoot MTA (Dentsply, ABD), Biodentin (Septodont, Fransa) ve yeni üretilmiş saf portland sement Med-PZ'nin (Medcem, İsviçre) 3. ve 7. günlerde hücre canlılığına etkisini MTT testi, 7. ve 10. günlerde ALP aktivitesini alkalen fosfataz belirleme kiti (Millipore, ABD) ile incelemişler; ayrıca materyallere ilişkin kalsiyum birikimi ve mRNA analizlerini gerçekleştirmişlerdir (Maher ve ark. 2018).

Önay ve ark., Micro Mega MTA (Micro-Mega, Fransa) ve ProRoot MTA'nın (Dentsply, ABD) insan dental pulpa hücreleri üzerinde oluşturduğu odontoblastik aktiviteyi 1., 7. ve 14. günlerde incelemişler, kontrol grubu olarak materyal uygulanmamış besiyeri içerisinde çoğaltılmış hücreleri kullanmışlardır. Çalışmada odontoblastik ve ALP aktivitesi, runt-related transcription factor2 (RUNX2), dentin sialofosfoprotein (DSPP), distal-less homeobox 3 (DLX3) real time PCR ile analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda, Micro Mega MTA ve ProRoot MTA'nın ALP aktiviteleri, RUNX2, DSPP, DLX3 mRNA düzeyleri birbirleri ile benzer, kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Önay ve ark. 2018).

ProRoot MTA, Bioagregat ve Micro Mega MTA materyallerinin dental pulpa hücreleri üzerindeki odontoblastik farklılaşma etkilerinin 7. ve 14. günde incelendiği çalışmada, hücre proliferasyonunun değerlendirilmesinde MTT testi kullanılmış, odontoblastik aktivitenin incelenmesi için ALP aktivite düzeyi kolorimetrik test ile değerlendirilmiştir. Ayrıca mineralize nodül birikimi alizarin kırmızısı test, mRNA ekspresyonu RT-PCR ile incelenmiştir. Çalışma sonucunda, materyallerin hücrelerde benzer proliferasyon oluşturduğu ve tüm materyal gruplarında ALP aktivitesinin ve mineralize nodül birikiminin ve mRNA ekspresyonunun zamana bağlı olarak arttığı gözlenmiştir (Chang ve ark. 2015).

MTA, biyoyumluluğu ile günümüzde sıklıkla altın standart kabul edilmesinin yanı sıra MTA'nın sitotoksik olduğunu vurgulayan çalışmaların da literatürde yer aldığı görülmektedir.

Yoshino ve ark.'nın, MTA Fillapex (Angelus, Brezilya), MTA (Angelus, Brezilya) ve portland sement (Cia. de Cimento Portland Itaú, Brezilya) materyallerinin insan periodontal ligament fibroblastları üzerinde sitotoksik etkilerini incelemek amacı MTA materyallerini tam konsantrasyonda ve 1:2, 1:4, 1:8 ve 1:16 oranlarında dilüe ederek kullanmışlardır. Hücrelerin materyaller ile 24 saat inkübasyonu sonucunda tam konsantrasyon MTA'nın sitotoksikite gösterdiği ($p < 0,05$), 48 saat sonucunda MTA'nın hücreler üzerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı, 72 saat sonucunda ise, MTA'nın tam konsantrasyonunun anlamlı derecede hücre canlılığını azalttığı ($p < 0,001$) bildirilmiştir (Yoshino ve ark. 2013).

Tsai ve ark., ProRoot MTA'nın (Dentsply, ABD) hücre canlılığına etkisini süt dişi pulpası üzerinde değerlendirdikleri çalışmada, hazırlanan MTA diskleri hücrelere

uygulanmadan önce 1 hafta süreyle bekletilmiş ve direkt ve indirekt temas yöntemleri ile 1, 3 ve 7 gün süreyle uygulanmış; sitotoksisite WST-1 testi ile analiz edilmiştir. Hücreler ile direkt temasta bulunan MTA'nın tüm zaman aralıklarında, hücre canlılığını hem materyal uygulanmamış kontrol grubuna hem de indirekt temas grubuna göre anlamlı derecede azalttığı belirtilmiş ve MTA'nın pulpa ile direkt temasında sitotoksik etki gösterdiği vurgulanmıştır (Tsai ve ark. 2018).

Youssef ve ark., ProRoot MTA (Dentsply, ABD), kalsiyum hidroksit, Biodentin ve Emdogain materyallerinin insan dental pulpa kök hücreleri üzerindeki hücre canlılığı, osteogenezis, anjiyogenezis ve odontogenezis oluşturma potansiyellerini değerlendirmek amacı ile hücre canlılığını MTT, osteojenik, anjiyojenik ve odontojenik belirteçlerin gen ekspresyonunu real-time PCR ile incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, MTA'nın, materyal uygulanmayıp besiyerinde çoğaltılan hücrelerden oluşan kontrol grubuna göre, 3. günde hücre canlılığını %53 oranına indirerek anlamlı düzeyde ($p<0,001$) sitotoksik etki gösterdiği, ve MTA'nın 14. günde ALP düzeyini arttırdığı bildirilmiştir (Youssef ve ark. 2019).

Bu çalışmada, doz ve sitotoksisite ilişkisinin incelenmesi amacı ile %25, %50, %75 ve %100'lük konsantrasyonlarda hazırlanan ve direkt temas yöntemi ile hücrelere uygulanan ProRoot MTA (Dentsply, ABD) materyalinin sitotoksisitesi 1., 2., 3. ve 7. günlerde WST-1 testi (Tsai ve ark. 2018) ile incelenmiştir.

MTA grubunda elde edilen sitotoksisite test bulgularının değerlendirilmesi sonucunda, MTA'nın tam konsantrasyonunun tüm zaman aralıklarında insan dental pulpa kök hücreleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede sitotoksik etki gösterdiği gözlenmiştir. Çalışmada saptanan bu bulguların MTA konsantrasyonlarının farklı zaman aralıklarında hücre proliferasyonuna etkisinin karşılaştırıldığı Yoshino ve ark. (2013) ve Tsai ve ark.'nın (2018) çalışmalarında elde edilen bulgular ile paralellik gösterdiği görülmektedir.

MTA sitotoksisitesine ilişkin olarak 1. günde elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, en düşük iki konsantrasyon olan %25 ve %50'lik MTA'ın hücre canlılığını kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttırdığı, %75 konsantrasyonun ise kontrol grubuna göre anlamlı bir artış oluşturmadığı saptanmıştır. Bu bulgular, MTA'nın hücre proliferasyonu indüklediğini belirten çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (Chang ve ark. 2015; Kulan ve ark. 2018; Maher ve ark. 2018).

MTA'nın 2. günde saptanan sitotoksosite test bulgularının incelenmesinde %25,%50 ve %75'lik MTA konsantrasyonların hücre canlılığını kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde arttırmadığı belirlenmiştir. 3. günde ise %25 ve %50'lik konsantrasyonların kontrol grubuna göre hücre proliferasyonunda anlamlı etki oluşturmadığı, %100'lük MTA'nın yanısıra %75'lik MTA'nın da yüksek sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgular, 48 saat süre ile MTA ile inkübe edilen hücrelerde anlamlı etkiler gözlenmediğini bildiren Yoshino ve ark. (2013), ProRoot MTA'nın proliferatif etki göstermediğini belirten Chung ve ark. (2019), yüksek dozların sitotoksitede artışa neden olduğunu belirten Youssef ve ark.'nın (2019) bulgularını desteklemektedir.

7. güne ilişkin sitotoksik bulgular değerlendirildiğinde, %75 ve %100'lük MTA'nın kontrol grubuna göre anlamlı derecede sitotoksosite oluşturduğu, %25'lik MTA'nın ise hücre proliferasyonunu ve canlılığını kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttırdığı saptanmıştır. Bu bulgular, MTA'nın doza bağlı olarak sitotoksik etki gösterebileceğini belirten çalışmaları desteklediği görülmektedir (Yoshino ve ark. 2013; Tsai ve ark. 2019; Youssef ve ark. 2019).

Bu tez çalışmasında, MTA'nın ALP düzeyine etkisinin ELISA testi ile incelenmesinde, hücre canlılığı üzerinde diğer konsantrasyonlara göre olumlu sonuçlar gösteren MTA'nın %25 ve %50'lik konsantrasyonları kullanılmış ve MTA'nın ALP düzeyine etkisi 7. ve 14. günlerde analiz edilmiştir.

MTA'nın %25 ve %50'lik konsantrasyonlarında 7. ve 14. günde saptanan ALP aktivitesi düzeyleri incelendiğinde, elde edilen değerlerin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir. Bu bulguların, MTA'nın hem hücre proliferasyonunda hem de ALP aktivitesinde anlamlı farklılıklar oluşturmadığını belirten Chung ve ark. (2019) bulgularını desteklediği; MTA'nın ALP düzeyini artırdığını bildiren çalışmaların (Chang ve ark. 2015; Kulan ve ark. 2018; Maher ve ark. 2018; Önay ve ark. 2018) bulgularını ise desteklemediği gözlenmektedir.

Bu çalışmada, %25 ve %50'lik MTA gruplarında 7. ve 14. günlerde ALP aktivitesi değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar oluşturmaması, odontoblastik diferansiyasyonun erken dönemde olması nedeniyle hücrelerde diferansiyatif etkinin henüz oluşmamış olabileceğini düşündürmekte; MTA

materyallerinin ALP aktivitesine olan etkilerinin uzun dönemlerde analiz edileceği in vitro çalışmaların yapılmasına gereksinim olduğu görülmektedir.

ISO (10993-5), in vitro çalışmaların standardizasyonu için yönergeler oluşturmuş olsa da, çalışmalar arasında yöntem ve prosedürlere ilişkin farklılıkların olabildiği gözlenmektedir. Çeşitli çalışmalarda materyallerin sitotoksiteleri ve ALP aktivitesi düzeyine ilişkin elde edilen farklı sonuçların, kullanılan hücre tipi, test yöntemleri, materyallerin dozları ve incelenme sürelerine bağlı olabileceği de vurgulanmaktadır.

Sonuç olarak, kurkumin, aloin, antioksidan karışım ve MTA'nın farklı doz/konsantrasyon ve sürelerde, insan dental pulpa kök hücre hattı üzerinde oluşturduğu sitotoksite ve alkalin fosfataz (ALP) aktivitesi düzeylerinin WST-1 ve ELISA testleri ile değerlendirildiği bu tez çalışmasında; 2,5-6,75 µg/ml kurkumin ve aloin, %25-50'lik MTA'nın insan dental pulpa kök hücrelerinde hücre proliferasyonunu ve canlılığını kısa zaman periyodunda arttırdığı, antioksidan karışımın ise tüm konsantrasyon ve sürelerde pulpa hücrelerinde yüksek sitotoksite gösterdiği belirlendi. Kurkumin, aloin, antioksidan karışım ve MTA'nın tüm doz/konsantrasyonlarda ALP aktivitesi düzeylerinde 14 günde anlamlı artışlar oluşturmadığı saptandı.

Günümüzde, pulpa hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını indükleyerek iyileşme prosesini başlatması, hücre canlılığını arttırarak pulpa bütünlüğünü koruması, sert doku indüklemeye potansiyeli ve antienflamatuar, antimikrobiyal, antioksidan özellikleri bulunması nedenleri ile özellikle süt dişleri pulpotomi tedavilerinde alternatif pulpa tedavi ajanı olarak kullanılmasının önerildiği kurkumin ve aloinin, bu çalışmada sitotoksik etki göstermediği belirlenen düşük dozlarının (2,5 µg/ml ve 6,75 µg/ml) insan dental pulpa kök hücrelerinin sitotoksite ve ALP aktivitesi düzeylerine etkisinin uzun dönemde inceleneceği in-vitro deneysel çalışmalara gereksinim olduğu; gelecekte formulasyon içeriklerinin geliştirilmesi ile kurkumin ve aloin esaslı bitkisel prepatların çocuklarda vital pulpa tedavi ajanı olarak kullanılabileceği sonucuna varıldı.

SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, kurkumin, aloin, antioksidan karışım ve MTA'nın farklı doz/konsantrasyon ve sürelerde, insan dental pulpa kök hücre hattı üzerinde oluşturduğu sitotoksisite ve alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi düzeylerinin WST-1 ve ELISA testleri ile değerlendirilmesi sonucunda aşağıdaki bulgular elde edildi:

- Kurkuminin 2,5 µg/ml dozunun 1. günde hücre proliferasyonunu ve canlılığını kontrol grubuna göre anlamlı derecede ($p<0,05$) arttırdığı; 2., 3., 7. günlerde ise kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar ($p>0,05$) oluşturmadığı belirlendi.
- 6,75 µg/ml kurkuminin tüm zamanlarda hücre proliferasyonu ve canlılığında kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar ($p>0,05$) oluşturmadığı saptandı.
- 2,5 ve 6,75 µg/ml kurkumin dozlarının 12,5, 25, 50 µg/ml dozları ile karşılaştırılmasında, hücre proliferasyonu ve canlılığında anlamlı farklılıklar ($p<0,05$) olduğu belirlendi.
- 12,5, 25, 50 µg/ml kurkumin dozlarının tüm zaman periyodlarında hücre canlılığını kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalttığı ve sitotoksik etkiler ($p<0,05$) oluşturduğu saptandı.
- 2,5 µg/ml kurkuminin 6,75 µg/ml'lik doza göre hücre proliferasyonunda daha fazla etki gösterdiği; en yüksek hücre canlılığının gözlemlendiği 2,5 µg/ml kurkumin ile 6,75 µg/ml kurkumin arasında 1. günde anlamlı farklılık olduğu ($p<0,05$), diğer günlerde ise anlamlı farklılıkların olmadığı ($p>0,05$) belirlendi.
- Aloinin tüm dozlarının 1. günde hücre proliferasyonunu kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttırdığı ($p<0,05$) belirlendi. 2. günde hiçbir aloin dozunun hücre proliferasyonunda kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar ($p>0,05$) oluşturmadığı saptandı. 3. günde 2,5, 6,75, 12,5 ve 25 µg/ml aloin dozlarının kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar ($p>0,05$) oluşturmadığı gözlemlendi.
- Aloinin 7. günde 12,5 ve 50 µg/ml dozunun kontrol grubuna göre sitotoksik etki ($p<0,05$) gösterdiği; 25 µg/ml aloinin ise hücre canlılığını arttırdığı ($p<0,05$) saptandı.
- Aloin grubunda en fazla hücre canlılığının 1. günde 12,5 µg/ml dozunda, en yüksek sitotoksik etkinin ise 7. günde 50 µg/ml dozunda ($p>0,05$) olduğu belirlendi.

- %25 ve %50'lik MTA'nın 1. günde hücre proliferasyonunu kontrol grubuna göre anlamlı derecede ($p<0,05$) arttırdığı; %25'lik MTA'nın 2., 3. günlerde kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar ($p>0,05$) oluşturmadığı, 7. günde ise hücre canlılığını anlamlı derecede arttırdığı ($p<0,05$) belirlendi. %50 lik MTA'nın 2., 3., 7. günlerde kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar ($p>0,05$) oluşturmadığı gözlemlendi.
- %100'lük MTA'nın tüm zamanlarda hücre canlılığını anlamlı derecede azalttığı ve sitotoksik etki ($p<0,05$) gösterdiği; %75'lik MTA'nın 3. ve 7. günlerde kontrol grubuna göre anlamlı derecede sitotoksik etki ($p<0,05$) oluşturduğu saptandı.
- MTA'nın yüksek dozda uygulanmasının anlamlı derecede sitotoksik etki ($p<0,05$) oluşturduğu, düşük dozlarının ise kısa zaman aralıklarında hücre canlılığını anlamlı derecede arttırdığı ($p<0,05$) gözlemlendi.
- Antioksidan karışımın tüm konsantrasyon/zaman aralıklarında insan dental pulpa kök hücrelerinde anlamlı derecede sitotoksik etki ($p<0,05$) oluşturduğu saptandı.
- Kurkumin ve aloin dozlarının, pulpa hücreleri ile etkileşim süresinin artması ile hücre canlılığının azaldığı ve sitotoksik etkilerinin arttığı belirlendi.
- Kurkumin, aloin ve MTA'nın düşük dozlarının kısa zaman periyodlarında insan dental pulpa kök hücrelerinde hücre proliferasyonunu arttırdığı saptandı.
- Materyallerin ALP aktivitesi düzeylerinin değerlendirilmesinde; kurkumin, aloin, antioksidan karışım ve MTA'nın insan dental pulpa kök hücreleri ALP aktivitesi düzeylerinde 7. ve 14. günlerde anlamlı etkiler oluşturmadığı ($p>0,05$) belirlendi.
- Günümüzde pulpa hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını indüklemesi, pulpa bütünlüğünü koruması, antienflamatuar, antimikrobiyal, antioksidan özellikleri bulunması nedenleri ile özellikle süt dişi vital pulpotomi tedavilerinde alternatif vital pulpa tedavi ajanı olarak önerildiği görülen kurkumin ve aloinin düşük dozlarının (2,5-6,75 $\mu\text{g/ml}$) insan dental pulpa kök hücrelerinin sitotoksikite ve ALP aktivitesi düzeylerine etkisinin uzun dönemde inceleneceği in-vitro deneysel çalışmalara gereksinim olduğu; gelecekte formülasyon içeriklerinin geliştirilmesi ile kurkumin ve aloin esaslı bitkisel prepatların çocuk dişhekimliğinde vital pulpa tedavi ajanı olarak kullanılabileceği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

Accorinte, L., Loguercio, A.D., Reis, A., Muench, A., Araujo, V.C. (2005). Adverse effects of human pulps after direct pulp capping with the different components from a total-etch, three-step adhesive system. *Dent Mater*, **21(7)**, 599-607.

Adabi, M., Naghibzadeh, M., Zarrinfard, M.A., Esnaashari, S.S., Seifalian, A.M., Faridi-Majidi, R., Tanimowo, A.H., Ghanbari, H. (2017). Biocompatibility and nanostructured materials: Applications in nanomedicine. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, **45(4)**, 833-842.

Adan, A., Kiraz, Y., Baran, Y. (2016). Cell proliferation and cytotoxicity assays. *Curr Pharm Biotechnol*, **17(14)**, 1213-1221.

Aguilar, P., Linsuwanont, P. (2011). Vital pulp therapy in vital permanent teeth with cariously exposed pulp: a systematic review. *J Endod*, **37(5)**, 581-587.

Akbik, D., Ghadiri, M., Chrzanowski, W., Rohanizadeh R. (2014). Curcumin as a wound healing agent. *Life Sci*, **116(1)**, 1-7.

Akhlaghi, N., Khademi, A. (2015). Outcomes of vital pulp therapy in permanent teeth with different medicaments based on review of the literature. *Dent Res J*, **12(5)**, 406-417.

Aktören, O. (1988). *Süt dişi amputasyon tedavisinde çeşitli madde ve tekniklerin karşılaştırılması*. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora tezi. İstanbul.

Alaçam, T. (2012). *Endodonti*. Ankara: Özyurt Matbaacılık; pp. 41-70.

Aldridge, W.N. (1993). The biochemical principles of toxicology. *Exp. Toxicol*, **5(2)**, 56-78.

Araujo, F.B., Barata, J.S., Garcia-Godoy, F. (1996). Clinical and radiographic evaluation of the use of an adhesive system over primary dental pulps. *J Dent Res*, **75**, 280.

Araujo, F.B., Barata, J.S., Costa, C.A.S., Garcia-Godoy, F. (1997). Clinical, radiographical and histological evaluation of direct pulp capping with a resin in primary teeth. *J Dent Res*, **76**, 179.

Asgary, S., Nazarian, H., Khojasteh, A., Shokouhinejad, N. (2014). Gene expression and cytokine release during odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells induced by two endodontic biomaterials. *J Endod*, **40**(3), 387-92.

Ashok, R., Ganesh, A., Deivanayagam, K. (2017). Bactericidal effect of different antimicrobial agents on fusobacterium nucleatum biofilm. *Cureus*, **9**(6), e1335.

Asl Aminabadi, N., Satrab, S., Najafpour, E., Samiei, M., Jamali, Z., Shirazi, S. (2016). A randomized trial of direct pulp capping in primary molars using MTA compared to 3Mixtatin: a novel pulp capping biomaterial. *Int J Paediatr Dent*, **26**(4), 281–90.

Aslantürk, Ö.S. (2017). In vitro cytotoxicity and cell viability assays: principles, advantages, and disadvantages. Erişim 15.01.2020. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.71923>.

Atalayın, Ç., Tezel, H., Ergücü, Z. (2016). Rezin esaslı dental materyallerin sitotoksitesine genel bir bakış. *EÜ Dişhek Fak Derg*, **37**(2), 47-53.

Atiba, A., Nishimura, M., Kakinuma, S., Hiraoka, T., Goryo, M., Shimada, Y., Ueno, H., Uzuka, Y. (2011). *Aloe vera* oral administration accelerates acute radiation-delayed wound healing by stimulating transforming growth factor-beta and fibroblast growth factor production. *Am J Surg*, **201**(6), 809–818.

Bandi, M., Mallineni, SK, Nuvvula, S. (2017). Clinical applications of ferric sulfate in dentistry: A narrative review. *J Conserv Dent*, **20**(4), 278-281.

Basir, L., Kalhori, S., Zare Javid, A., Khaneh Masjedi, M. (2018). Anticaries activity of curcumin on decay process in human tooth enamel samples (In vitro study). *J Natl Med Assoc*, **110(5)**, 486-490.

Basnet, P., Skalko-Basnet, N. (2011). Curcumin: An antiinflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. *Molecules*, **16(6)**, 4567–4598.

Bayırlı, G. (1999). *Diş pulpası ve ağrı*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi; pp. 41-84.

Becker, V., Lang, H. (2019). Pulpotomy in permanent teeth. *Dtsch Zahnärztl Z Int*, **1(1)**, 103–105.

Belobrov, I., Weis, M.V., Parashos, P. (2008). Conservative treatment of a cervical horizontal root fracture and a complicated crown fracture: a case report. *Aust Dent J*, **53(3)**, 260-264.

Berzins, D.W. (2014). Chemical properties of MTA. İçinde: M. Torabinejad (Ed.) *Mineral trioxide aggregate. Properties and clinical applications*. ABD: Wiley Blackwell Publishing; 17–36.

Bianco, P., Riminucci, M., Gronthos, S., Robey, P. (2001). Bone marrow stromal stem cells: Nature, biology and potetial applications. *Stem Cells*, **19(3)**, 180-192.

Bin, C.V., Valera, M.C, Camargo, S.E., Rabelo, S.B., Silva, G.O., Balducci, I. (2012). Cytotoxicity and genotoxicity of root canal sealers based on mineral trioxide aggregate. *J Endod*, **38(4)**, 495-500.

Biocompare ATCC. Erişim 10.12.2019.
<http://www.atcc.org/attachments/2273.pdf>.

Bleicher, F. (2014). Odontoblast physiology. *Exp Cell Res*, **325(2)**, 65-71.

Bogen, G., Kim, J.S., Bakland, L.K. (2008). Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate: an observational study. *J Am Dent Assoc*, **139(3)**, 305-315.

Bogovic, A., Nizetic, J., Galic, N., Zeljezic, D., Micek, V., Mladinic, V. (2011). The effects of hyaluronic acid, calcium hydroxide and dentin adhesive on rat odontoblast and fibroblast. *Arh Hig Rada Toksikol*, **62(2)**, 155-161.

Brännström, M. (1986). The cause of postrestorative sensitivity and its prevention. *J Endod*, **12(10)**, 475- 481.

Browne, R.M. (1988). The in vitro assesment of the cytotoxicity of dental materials, does it have a role? *Int Endod J*, **21(2)**, 50-8.

Buchaille, R., Couble, M., Magloire, H.B. (2000). Expression of the small leucine-rich proteoglycan osteoadherin/osteomedullin in human dental pulp and developing rat teeth. *Bone*, **27(2)**, 265-270.

Buckley, J.P. (1904). A rational treatment for prutrescent pulps. *Dent Rev*, **18**, 1193-1197.

Byers, M., Narchi, M. (1999). The dental injury model: experimental tools for understanding neuroinflammatory interactions and poly-modal nociceptors functions. *Crit Rev Oral Biol Med*, **10(1)**, 4–39.

Camilleri, J., Laurent, P., About, I. (2014). Hydration of Biodentine, Theracal LC, and a prototype tricalcium silicate-based dentin replacement material after pulp capping in entire tooth cultures. *J Endod*, **40(11)**, 1846–1854.

Camilleri, J., Sorrentino, F., Damidot, D. (2013). Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dent Mater*, **29(5)**, 580-593.

Camp, J.H., Fuks, A.B. (2006). Pediatric endodontics: Endodontic treatment for the primary and young permanent dentition. İçinde S. Cohen, K.S. Hargreaves (Ed.), *Pathways of the pulp*. (9th ed.) St.Louis: Mosby Elsevier; 834-59.

Cantekin, K., Gümüş, H. (2014). Success rates of ankaferd blood stopper and ferric sulfate as pulpotomy agents in primary molars. *Int Sch Res Notices*, **819605**.

Cao, Y., Bogen, G., Lim, J., Shon, W.J., Kang, M.K. (2016). Bioceramic materials and the changing concepts in vital pulp therapy. *J Calif Dent Assoc*, **44(5)**, 278–290.

Carvalho, N.C., Guedes, S.A.G., Albuquerque-Júnior, R.L.C., de Albuquerque, D.S., de Souza Araújo, A.A., Paranhos, L.R., Camargo, S.E.A., Ribeiro, M.A.G. (2018). Analysis of *Aloe vera* cytotoxicity and genotoxicity associated with endodontic medication and laser photobiomodulation. *J Photochem Photobiol B*, **178(1)**, 348-354.

Chaitanya, B.V., Somisetty, K.V., Diwan, A., Pasha, S., Shetty, N., Reddy, Y., Nadigar, S. (2016). Comparison of antibacterial efficacy of turmeric extract, *Morinda citrifolia* and 3% sodium hypochlorite on *Enterococcus faecalis*: An in-vitro study. *J Clin Diagn Res*, **10(10)**, ZC55-ZC57.

Chang, S.W., Bae, W.J., Yi, J.K., Lee, S., Lee, D.W., Kum, K.Y., Kim, E.C. (2015). Odontoblastic differentiation, inflammatory response, and angiogenic potential of 4 calcium silicate-based cements: Micromega MTA, ProRoot MTA, RetroMTA, and experimental calcium silicate cement. *J. Endod*, **41(9)**, 1524–1529.

Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U., Banerjee, R.K. (2004). Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Curr Sci*, **87(1)**, 44-53.

Chousein, A., Durutürk, L. (2014). Derin dentin çürüklü süt ve genç daimi dişlerde direkt ve indirekt pulpa tedavisi. *A.Ü. Diş Hek. Fak. Derg*, **41(3)**, 183-190.

Chueh, L.H., Chiang, C.P. (2010). Histology of irreversible pulpitis premolars treated with mineral trioxide aggregate pulpotomy. *Oper Dent*, **35(3)**, 370-4.

Chung, M., Lee, S., Chen, D., Kim, U., Kim, Y., Kim, S., Kim, E. (2019). Effects of different calcium silicate cements on the inflammatory response and odontogenic differentiation of lipopolysaccharide-stimulated human dental pulp stem cells. *Materials*, **12(8)**.

Cintra, L.T.A., Benetti, F., De Azevedo Queiroz, Í.O., De Araújo Lopes, J.M., Penha de Oliveira, S.H., Sivieri Araújo, G., Gomes-Filho, J.E. (2017). Cytotoxicity, biocompatibility, and biomineralization of the new high-plasticity MTA material. *J Endod*, **43**(5), 774–778.

Cohen, S., Burns, R. (2002). *Pathways of the pulp*. St. Louis: CV Mosby; pp 5-39.

Cohenca, N., Paranjpe, A., Berg, J. (2013). Vital pulp therapy. *Dent Clin North Am*, **57**(1), 59-73.

Cox, C.F. (2002). Repair of pulpal injury by dental materials. İçinde K.M. Hargreaves (Ed.) *Seltzer's and Bender's Dental Pulp*. Chicago: Quintessence Publishing; 325-43.

Cox, C.F., Keall, C.L., Keall, H.J., Ostro, E., Bergenholtz, G. (1987). Biocompatibility of surface-sealed dental materials against exposed pulps. *J Prosthet Dent*, **57**(1), 1-8.

Craig, R.G., Powers, J.M., Sakaguchi, R.L. (2006). *Craig's Restorative Dental Materials*. (12th Ed). St. Louis: Mosby; 97-125.

Cusicanqui Méndez, D.A., Gutierrez, E., José Dionisio, E., Afonso, R.B.M., Cardoso Oliveira, R., Andrade Moreira Machado, M.A., Cruvinel, T. (2018). Curcumin-mediated antimicrobial photodynamic therapy reduces the viability and vitality of infected dentin caries microcosmos. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, **24**(Dec), 102-108.

Cvek, M.A. (1978). Clinical report on partial pulpotomy and capping with calcium hydroxide in permanent incisors with complicated crown fracture. *J Endod*, **4**(8), 232-7.

Çalışkan K. (2006). Dentin hastalıklarının pulpaya etkisi ve vital endodontik tedaviler, Bölüm 2, İçinde *Endodontik Tanı ve Tedaviler*, Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 31-82.

Çalışkan, M.K., Güneri, P. (2017). Prognostic factors in direct pulp capping with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide: 2- to 6-year follow-up. *Clin Oral Invest*, **21(1)**, 357–367.

Da Rosa, W.L.O., Da Rosa, Cocco A.R., Da Silva T.M., Mesquita, L.C., Galarca, A.D., Da Silva, A.F. Evandro Piva. (2018). Current trends and future perspectives of dental pulp capping materials: A systematic review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, **106(3)**, 1358-1368.

Da Rosa W.L.O., Piva, E., Da Silva, A.F. (2018). Disclosing the physiology of pulp tissue for vital pulp therapy. *Int Endod J*, **51(8)**, 829-846.

Dammaschke, T., Galler, K., Krastl, G. (2019). Current recommendations for vital pulp treatment. *DZZ International*, **1(1)**, 43-52.

Dammaschke, T., Stratmann, U., Fischer, R.J., Sagheri, D., Schäfer, E. (2010). A histologic investigation of direct pulp capping in rodents with dentin adhesives and calcium hydroxide. *Quint Int*, **41(4)**, e62–71.

Darvell, B.W., Wu, R.C. (2011). MTA-a hydraulic silicate cement: review update and setting reaction. *Dent Mater*, **27(5)**, 407-422.

De Melo, W.M, Maximiano, W.M.A., Antunes, A.A., Beloti, M.M., Rosa, A.L., de Oliveira, P.T. (2013). Cytotoxicity testing of methyl and ethyl 2-cyanoacrylate using direct contact assay on osteoblast cell cultures. *J Oral Maxillofac Surg*, **71(1)**, 35-41.

De Souza Costa, C.A, Lopes do Nascimento, A.B, Teixeira, H.M, Fontana, U.F. (2001). Response of human pulps capped with a selfetching adhesive system. *Dent Mater*, **17(3)**, 230-240.

Dhariwal, N.S., Hugar, S.M., Harakuni, S., Sogi, S., Assudani, H.G., Mistry, L.N. (2016). A comparative evaluation of antibacterial effectiveness of sodium hypochlorite, *Curcuma longa*, and *Camellia sinensis* as irrigating solutions on

isolated anaerobic bacteria from infected primary teeth. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, **34(2)**, 165-7.

Dinç, D., Aktören, O. (2019). Vital pulpa tedavilerinde güncel yaklaşımlar. *TDB Dişhekimliğinde Klinik Dergisi*, **12(12)**, 1-7.

Dissanayaka, W.L., Zhang, C. (2017). The role of vasculature engineering in dental pulp regeneration. *J Endod*, **43(9S)**, 102-106.

Dobrovolskaia, M.A, McNeil, S.E. (2007). Immunological properties of engineered nanomaterials. *Nat Nanotechnol*, **2(8)**, 469–478.

Eidelman, E., Holan, G., Fuks, A.B. (2001). Mineral trioxide aggregate vs. formocresol in pulpotomized primary molars: a preliminary report. *Pediatr Dent*, **23(1)**, 15-8.

Elmsmari, F., Ruiz X.F., Miró, Q., Feijoo-Pato, N., Durán-Sindreu, F., Olivieri, J.G. (2019). Outcome of partial pulpotomy in cariously exposed posterior permanent teeth: a systematic review and meta-analysis. *J Endod*, **45(11)**, 1296-1306.e3.

Erdem, A.P., Guven Y., Ballı B., İlhan B., Sepet E., Ulukapı I., Aktoren O. (2011). Success rates of mineral trioxide aggregate, ferric sulfate, and formocresol pulpotomies: A 24 month study. *Pediatr Dent*, **33(2)**, 65-70.

Ergün, G., Sağsen, L.M., Doğan, A., Özkul, A., Demirel, E. (2006). Examination of cytotoxicity of denture base resins, by agar diffusion and filter diffusion test methods. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **23**, 31-7.

European Society for Biomaterials (1986, 3-5 Mart). *Definition in biomaterials: proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials*. Erişim: 10.02.2020, <https://www.worldcat.org/title/definitions-in-biomaterials-proceedings-of-a-consensus-conference-of-the-european-society-for-biomaterials-chester-england-march-3-5-1986/oclc/16351683>.

Faleiro, C.C., Elias S.T.H., Cavalcanti, L.C., Cavalcanti, A.S.S. (2009). The extract of medicinal aloe leaves, *Aloe vera*, on the healing of experimental wounds in the rat skin, placebo controlled essay, *Nat on Line*, **7(2)**, 56–60.

Falster, A.C., Araujo, F.B., Straffon, L.H., Nor, J.E. (2002). Indirect pulp treatment: in-vivo outcomes of an adhesive resin system vs. calcium hydroxide. *Pediatr Dent*, **24(3)**, 241-256.

Fang, F.F., Chang, K.Y., Lin, T.Y., Lin, T.Y. (2019). Comparison of long term outcomes between ferric sulfate pulpotomy and indirect pulp therapy in primary molars. *J Dent Sci*, **14(2)**, 134-137.

Farooq, N.S., Coll, J.A., Kuwabara, A., Shelton, P. (2000). Success rates of formocresol pulpotomy and indirect pulp therapy in the treatment of deep dentinal caries in primary teeth. *Pediatr Dent*, **22(4)**, 278-86.

Ferris, D.M, Baumgartner, J.C. (2004). Perforation repair comparing two types of mineral trioxide aggregate. *J Endod*, **30(6)**, 422-424.

Fox, A.G., Heeley, J.D. (1980). Histological study of pulps of human primary teeth. *Arch Oral Biol*, **25(2)**, 103-10.

Fuks AB., Kupietzky, A., Guelmann M. (2019). *Pediatric Dentistry Infancy Through Adolescence*. (6 Ed.). Iowa: Elsevier Inc; 483-493.

Fuks, A., Hebling, J., Costa, C.A.S. (2016). The primary pulp: developmental and biomedical background. İçinde A.B. Fuks, B. Feretz (Ed.) *Pediatric Endodontics*. Switzerland: Springer International Publishing; 149-152.

Fuks, A.B. (2008). Vital pulp therapy with new materials for primary teeth: new directions and treatment perspectives. *J Endod*, **34(7)**, 18–S24.

Fuks, A.B. Current concepts in vital primary pulp therapy. (2002). *Eur J Paediatr Dent*, **3(3)**, 115-20.

Fuks, A.B. Pulp therapy for the primary and young permanent dentitions. (2000). *Dent Clin North Am*, **44(3)**, 571-96.

Gala-Garcia, A., Teixeira K.I.R., Mendes, L.L., Sobrinho, A.R., Santos, V.R., M., Cortes, M.E. (2008). Effect of *Aloe vera* on rat pulp tissue. *Pharm Biol*, **46**, 302-8.

Galler, K.M., Schweikl, H., Hiller, K.A. (2011). TEGDMA reduces mineralization in dental pulp cells. *J Dent Res*, **90(2)**, 257–262.

Galluzzi, L. ve ark. (2009). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death Differ*, **16(8)**, 1093-1107.

Gelman, R., Park, H. (2012). Pulp revascularization in an immature necrotic tooth: a case report. *Pediatr Dent*, **34(7)**, 496–499.

Gloe, T., Pohl, U. (2002). Laminin binding conveys mechanosensing in endothelial cells. *News Physiol Sci*, **17**, 166-9.

Golub, E.E., Battaglia, K.B. (2007). Alkalen fosfataz enziminin mineralizasyondaki rolü. *Curr Opin Orthop Turkish Edition*, **2(3)**, 157-163.

Gökçek, M., Bodrumlu, E.H. (2016). Vital pulpa tedavilerinde güncel yaklaşımlar. *J Dent Fac Atatürk Uni*, **14**, 118-129.

Graham, L., Cooper, P.R., Cassidy, N., Nor, J.E., Sloan, A.J., Smith, A.J. (2006). The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. *Biomaterials*, **27(14)**, 2865–2873.

Greeley, M. (1981). Pulp therapy for the primary and the young permanent dentition. İçinde D. Forrester (Ed.) *Pediatric Dental Medicine*. Philadelphia: Lea&Febiger; 456-460.

Gronthos, S., Brahimi, J., Li, W., Fisher, L., Cherman, N., Boyde, A. (2002). Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res*, **81(8)**, 531-535.

Grupta, N., Bhat, M., Devi, P. (2010). Aloe-vera: A nature's gift to children. *Int J Clin Pediatr Dent*, **3(2)**, 87-92.

Guo, X., Mei, Nan. (2016). *Aloe vera*: A review of toxicity and adverse clinical effects. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*, **34(2)**, 77–96.

Gupta, S.C., Patchva, S., Aggarwal, B.B. (2013). Therapeutic roles of curcumin: Lessons learned from clinical trials. *AAPS J*, **15(1)**, 195–218.

Guyen, Y., Aksakal, S.D., Avcu, N., Unsal, G., Tuna, E.B., Aktoren, O. (2017). Success rates of pulpotomies in primary molars using calcium silicate-based materials: A randomized control trial. *Biomed Res Int*, **2017:4059703**.

Hanks, C.T, Wataha, J.C, Sun, Z. (1996). In vitro models of biocompatibility: A review. *Dent Mater*, **12(3)**, 186–193.

Helgason, C.D., Miller, C.L. (2005). *Methods in molecular biology*. (3rd ed.) Tatowa: Humana Press; 1-12.

Hewlings, S.J., Kalman, D.S. (2017). Curcumin: a review of its' effects on human health. *Foods*, **6(10)**, 92.

Hilton, T.J. (2009). Keys to clinical success with pulp capping: a review of the literature. *Oper Dent*, **34(5)**, 615-625.

Hou, M., Song, Y., Li, Z., Luo, C., Ou, J.-S., Yu, H., Lu, L. (2016). Curcumin attenuates osteogenic differentiation and calcification of rat vascular smooth muscle cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **420(1-2)**, 151–160.

Hu, C.C., Zhang, C., Qian, Q., Tatum, N.B. (1998). Reparative dentine formation in rat molars after direct pulp capping with growth factors. *J Endod*, **24(11)**, 744-51.

Hugar, S.M., Kukreja, P., Hugar, S.S., Gokhale, N., Assudani. H. (2017). Comparative evaluation of clinical and radiographic success of formocresol, propolis,

turmeric gel, and calcium hydroxide on pulpotomized primary molars: a preliminary study. *Int J Clin Pediatr Dent*, **10(1)**, 18-23.

Ian Freshney IR. (2005). *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*, (5th ed.) Hoboken: John Wiley & Sons; p.1-216.

International Agency for Research on Cancer. (2004). *IARC classifies formaldehyde as carcinogenic to humans 2004*. Erişim 30.01.2020. <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono100F-29.pdf>

International Agency for Research on Cancer. (2015). *Aloe vera* In: Some Drugs and Herbal Products (Volume 108), International Agency for research on Cancer, Lyon, France. Erişim: 25.01.2020 <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol108/mono108.pdf> ().

International Standardization Organisation 7405: 1997. Dentistry Preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry -Test methods for dental materials. Erişim 01.02.2020 <https://www.iso.org/standard/14134.html>

International Standardization Organisation. ISO 10993-5:2009. Dentistry Biological evaluation of medical devices. Tests for in vitro cytotoxicity. Erişim 01.02.2020 <https://www.iso.org/standard/36406.html>.

Ioannidis, K., Mistakidis, I., Beltes, P., Karagiannis, V. (2013). Spectrophotometric analysis of coronal discolouration induced by grey and white MTA. *Int Endod J*, **46(2)**, 137-14.

Itoh, Y., Sasaki, J.I., Hashimoto, M., Katata, C., Hayashi, M., Imazato, S. (2018). Pulp regeneration by 3-dimensional dental pulp stem cell constructs. *J Dent Res*, **97(10)**, 1137-1143.

Jefferies, S.R. (2016). Critical Appraisal. Comparative performance of mineral trioxide aggregate versus calcium hydroxide as a direct pulp capping agent. *J Esthet Restor Dent*, **28(2)**, 131-5.

Jimenez-Sanchez, M.D.C, Segura-Egea, J.J., Diaz-Cuenca, A. (2019). Higher hydration performance and bioactive response of the new endodontic bioactive cement MTA HP Repair compared with ProRoot MTA White and Neo MTA Plus. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, **107(6)**, 2109-2120.

Jittapiromsak, N., Sahawat, D., Banlunara, W., Sangvanich, P., Thunyakitpisal, P. (2010). Acemannan, an extracted product from *Aloe vera*, stimulates dental pulp cell proliferation, differentiation, mineralization, and dentin formation. *Tissue Eng Part A*, **16(6)**, 1997-2006.

Kahl, J., Easton, J., Johnson, G., Zuk, J., Wilson, S., Galinkin, J. (2008). Formocresol blood levels in children receiving dental treatment under general anesthesia. *Pediatr Dent*, **30(5)**, 393-399.

Kalra M. (2017). Comparative evaluation of fresh Aloe Barbadensis plant extract and mineral trioxide aggregate as pulpotomy agents in primary molars: a 12-month follow-up study. *Contemp Clin Dent*. **8(1)**, 106-111.

Kandemir, D.G., Güneri, P., Çalışkan, M.K. (2020). Regenerative endodontic therapy with platelet rich fibrin: Case series. *J Clin Pediatr Dent*, **44(1)**, 15-19.

Karayılmaz, H., Kırzioğlu, Z. (2011). Mineral trioksit agregat ve pedodontideki önemi. *Süleyman Demirel Üniv Diş Hek Fak Derg*, **3(1)**, 30-46.

Karimjee, C.K., Koka., S, Rallis, D.M., Gound, T.G. (2006). Cellular toxicity of mineral trioxide aggregate mixed with an alternative delivery vehicle. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, **102(4)**, E115-E120.

Karuppiah, P., Rajaram, S. (2012). Antibacterial effect of Allium sativum cloves and Zingiber officinale rhizomes against multiple-drug resistant clinical pathogens. *Asian Pac J Trop Biomed*, **2(8)**, 597-601.

Kathal, S., Gupta, S., Bhayya, D.P., Rao, A., Sabhlok, A. (2017). A comparative evaluation of clinical and radiographic success rate of pulpotomy in primary molars

using antioxidant mix and mineral trioxide aggregate: An in vivo 1-year follow-up study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, **35(4)**, 327-331.

Kiji, T. (2002). Pulp as a connective tissue. İçinde K. Hargreaves, H. Goodis (Ed.) *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. Chicago: IL: Quintessence; 460-513.

Kim, S., Schuessler, G., Chien, S. (1983). Measurement of blood flow in the dental pulp of dogs with the ¹³³xenon washout method. *Arch Oral Biol*, **28(6)**, 501-5.

Komabayashi, A., Zhu, Q., Eberhart, R., Imai, Y. (2016). Current status of direct pulp-capping materials for permanent teeth (review). *Dent Mater Journal*, **35(1)**, 1–12.

Koutsis, V. (1994). The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent*, **16(1)**, 29-35.

Kulan, P., Karabiyik, O., Kose, GT., Kargul, B. (2018). The effect of accelerated mineral trioxide aggregate on odontoblastic differentiation in dental pulp stem cell niches. *Int Endod J*, **51(7)**, 758-766.

Kunnumakkara, A.B., Bordoloi, D., Harsha, C., Banik, K., Gupta, S.C., Aggarwal, B.B. (2017). Curcumin mediates anticancer effects by modulating multiple cell signaling pathways. *Clin. Sci*, **131(15)**, 1781–1799.

Kupietzky, A., Holan, G. (2003). Treatment of crown fractures with pulp exposure in primary incisors. *Pediatr Dent*, **25(3)**, 241-247.

Lambrichts, I., Driesen, R.B., Dillen, Y., Gervois, P., Ratajczak, J., Vangansewinkel, T., Wolfs, E., Bronckaers, A., Hilken, P. (2017). Dental pulp stem cells: Their potential in reinnervation and angiogenesis by using scaffolds. *J Endod*, **43(9)**, 12-16.

Lao, C.D., Ruffin, M.T., Normolle, D., Heath, D.D., Murray, S.I., Bailey, J.M., Boggs, M.E., Crowell, J., Rock, C.L., Brenner, D.E. (2006). Dose escalation of a curcuminoid formulation. *BMC Complement. Altern. Med*, **6**, 10.

Leirskar, J., Helgeland, K. Mechanism of toxicity of dental materials. (1981). *Int Endod J*, **14(1)**, 42-8.

Lewis B. (2009). The obsolescence of formocresol. *Br Dent J*, **207(11)**, 525-528.

Li, P., Kong, J., Chen, Z., Huang, S., Lv, G., Wei, B., Wei, J., Jing, K., Quan, J., Chu, J. (2019). Aloin promotes osteogenesis of bone-marrow-derived mesenchymal stem cells via the ERK1/2-dependent Runx2 signaling pathway. *J Nat Med*, **73(1)**, 104-113.

Lim, K.C., Kirk, E.E.J. (1987). Direct pulp capping: a review. *Endod Dent Traumatol*, **3(5)**, 213-219.

Lin, P.S., Chang, M.C., Chan, C.P., Lee, S.Y., Lee, J.J., Tsai, Y.L., Tseng, H.C., Tai, T.F., Lin, H.J., Jeng, J.H. (2011). Transforming growth factor β 1 down-regulates Runx-2 and alkaline phosphatase activity of human dental pulp cells via ALK5/Smad2/3 signaling. *Pathol Oral Radiol Endod*, **111(3)**, 394-400.

Linde, A., Goldberg, M. (1993). Dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med*, **4(5)**, 679-728.

Ma, J., Shen, Y., Stojicic, S., Haapasalo, M. (2011). Biocompatibility of two novel root repair materials. *J Endod*, **37(6)**, 793-798.

Maher, A., Núñez-Toldrà, R., Carrio, N., Ferres-Padro, E., Ali, H., Montori, S., Al Madhoun, A. (2018). The effect of commercially available endodontic cements and biomaterials on osteogenic differentiation of dental pulp pluripotent-like stem cells. *Dent J*, **6(4)**, E48.

Mallineni, S.K., Nuvvula, S., Matinlinna, J.P., Yiu, C.K., King, N.M. (2013) Biocompatibility of various dental materials in contemporary dentistry; a narrative insight. *J Investig Clin Dent*, **4(1)**, 9-19.

Mandrol, P.S., Bhat, K., Prabhakar, A.R. (2016). An in vitro evaluation of cytotoxicity of curcumin against human dental pulp fibroblasts. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, **34(3)**, 269-72.

Mejare, I., Cvek, M. (1993). Partial pulpotomy in young permanent teeth with deep carious lesions. *Endod Dent Traumatol*, **9(6)**, 238-42.

Meng, B., Li, J., Cao, H. (2013). Antioxidant and antiinflammatory activities of curcumin on diabetes mellitus and its complications. *Curr Pharm Des*, **19(11)**, 2101-13.

Mjör, I.A., Ferrari, M. (2002). Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 6: Reactions to restorative materials, tooth-restoration interfaces, and adhesive techniques. *Quintessence Int*, **33(1)**, 35-63.

Modena, K.C., Casas-Apayco, L.C., Atta, M.T. (2009). Cytotoxicity and biocompatibility of direct and indirect pulp capping materials. *J Appl Oral Sci*; **17(6)**, 544–554.

Mohan, R., Gundappa, M. (2013). *Aloe vera* in dentistry – The herbal panacea. *Indian J Dent Sci Res*, **29(1)**, 15-20.

Moharamzadeh, K., Brook, I.M., Noort, R.V. (2009). Biocompatibility of resin-based dental materials. *Materials*, **2(2)**, 514-54.

Morareszadeh, M.R., Di Fiore, P.M., Tipton, D.A., Salamat, N. (2012). Cytotoxicity and alkaline phosphatase activity evaluation of endosequence root repair material. *J Endod*, **38(8)**, 1101-1105.

Murray, P.E., Garcia Godoy, C., Garcia Godoy, F. (2007). How is the biocompatibility of dental materials evaluated? *Med Oral Patol Cir Bucal*, **12**, E258-66.

Murray, P.E., Hafez, A.A., Windsor, L.J., Smith, A.J., Cox, C.F. (2002). Comparison of pulp responses following restoration of exposed and non-exposed cavities. *J Dent*, **30(5)**, 213-22.

Murray, P.E., Windsor, L.J., Smyth, T.W., Hafez, A.A., Cox, C.F. (2002). Analysis of pulpal reactions to restorative procedures, materials, pulp capping, and future therapies. *Crit Rev Oral Biol Med*, **13(6)**, 509–520.

Najeeb, S., Kurshid, Z., Zafar, M., Siddiqui, F. (2017). Efficacy of enamel matrix derivative in vital pulp therapy: A review of literature. *Iran Endod J*, **12(3)**, 269-275.

Nakashima, M. (1994). Induction of dentine in amputated pulp of dogs by recombinant human bone morphogenetic proteins 2 and 4 with collagen matrix. *Arch Oral Biol*, **39(12)**, 1085-9.

Neelakantan, P., Cheng, C.Q., Ravichandran, V., Mao, T., Sriraman, P., Subbarao, C., Sharma, S., Kishen, A. (2015). Photoactivation of curcumin and sodium hypochlorite to enhance antibiofilm efficacy in root canal dentin. *Photodyn Ther*, **12(1)**, 108–114.

Nosrat, A., Seifi, A., Asgary, S. (2013). Pulpotomy in caries-exposed immature permanent molars using calcium-enriched mixture cement or mineral trioxide aggregate: a randomized clinical trial. *Int J Paediatr Dent*, **23(1)**, 56–63.

Nowicka, A., Lipski, M., Parafiniuk, M., Sporniak-Tutak, K., Lichota, D., Kosierkiewicz, A., Kaczmarek, W., Buczkowska Radlińska, J. (2013). Response of human dental pulp capped with biodentine and mineral trioxide aggregate. *J Endod*, **39(6)**, 743-747.

Odabas, M.E., Ertürk, M., Çınar, Ç., Tüzüner, T., Tulunoglu, Ö. (2011). Cytotoxicity of a new hemostatic agent on human pulp fibroblasts in vitro. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, **16**, e584-7.

Olatasi, O.O., Sote, E.O., Orenuga, OO. (2015). Effect of mineral trioxide aggregate and formocresol pulpotomy on vital primary teeth: A clinical and radiographic study. *Niger J Clin Pract*, **18(2)**, 292-6.

Outhwaite, W.C., McKenzie, D.M, Pashley, D.H. (1974). A versatile split chamber device for studying dentin permeability. *J Dent Res*, **53(6)**, 1503.

Önay, E.O., Yurtcu, E., Terzi, Y.K., Üngör, M., Oguz, Y., Şahin, F.I. (2018). Odontogenic effects of two calcium silicate-based biomaterials in human dental pulp cells. *Clin Exp Med*, **27(11)**, 1541–1547.

Özçobanoğlu, G., Durutürk., L. (2013). Süt dişlerinde pulpa ve dentinin histolojik yapısal özellikleri. *Acta Odontol Turc*, **30(2)**, 99-109.

Pameijer, C.H., Stanley, H.R. (1998). The disastrous effects of the "total etch" technique in vital pulp capping in primates. *Am J Dent*, **11**, S45-54.

Parirokh, M., Torabinejad, M. (2010). Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review–Part III: Clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *J Endod*, **36(3)**, 400–413.

Pashley, D.H. Hargreaves K.M, Goodis H.E, Seltzer S. (2002). Pulpodentin complex. İçinde Seltzer,S and Bender,I (Eds.) *Dental Pulp*. (1st ed). Chicago: Quintessence Pub. Co.; 63-94.

Pashley, D.H., Liewehr, F.R. (2006). Structure and functions of the dentin pulp complex. İçinde S, Cohen., K.M., Hargreaves (Eds.) *Pathways of the pulp*. (9th ed) St. Louis: Mosby Elsevier; 460-513.

Pengjam, Y., Madhyastha, H., Madhyastha, R., Yamaguchi, Y., Nakajima, Y., Maruyama, M. (2016). Anthraquinone glycoside aloin induces osteogenic initiation

of MC3T3-E1 Cells: Involvement of MAPK mediated Wnt and Bmp signaling. *Biomol Ther (Seoul)*, **24(2)**, 123-31.

Piva, E., Tarlé, S.A., Nör, J.E., Zou, D., Hatfield, E., Guinn, T., Eubanks, E.J., Kaigler, D. (2017). Dental pulp tissue regeneration using dental pulp stem cells isolated and expanded in human serum. *J Endod*, **43(4)**, 568-574.

Pizzoferato, A., Ciapetti, G., Stea, S., Cenni, E., Arciola, C., Granchi, D. (1994). Cell culture methods for testing biocompatibility. *Clin Mater*, **15(3)**, 173-90.

Polyzois, G.L. (1994). In vitro evaluation of dental materials. *Clin Mater*, **16(1)**, 21-60.

Powers, J.M., Sakaguchi, R.L. (2006). *Craig's restorative dental materials*. (12th ed.) St. Louis: Mosby Elsevier; 97-125.

Prabhakar, AR., Mandroli, PS., Bhat., K. (2019). Pulpotomy with curcumin: Histological comparison with mineral trioxide aggregate in rats. *Indian J Dent*, **30(1)**, 31-36.

Primosch, R.E., Glomb, T.A., Jerrell, R.G. (1997). Primary tooth pulp therapy as taught in predoctoral pediatric dental programs in the United States. *Pediatr Dent*, **19(2)**, 118-122.

Purohit, RN., Bhatt, M., Purohit, K., Acharya, J., Kumar, R, Garg, R. (2017). Clinical and radiological evaluation of turmeric powder as a pulpotomy medicament in primary teeth: an in vivo study. *Int J Clin Pediatr Dent*, **10(1)**, 37-40.

Rao, A., Shenoy, R. (2009). Mineral trioxide aggregate-A review. *J Clin Pediatr Dent*, **34(1)**, 1-8.

Rapp, R. (1992). Vascular pathways within pulpal tissue of human primary teeth. *J Clin Pediatr Dent*, **16(3)**, 183-201.

Rasoulilian, B., Almasi, A., Hoveizi, E., Bagher, Z., Hayat, P., Joghataei, MT., Rezayat, SM., Tavakol, S. (2019). Strong binding active constituents of phytochemical to BMPR1A promote bone regeneration: In vitro, in silico docking, and in vivo studies. *J Cell Physiol*, **234**(8), 14246-14258.

Reddy, MA., Niharika, P., Reddy N.V., Kumar M.G., Pranitha, V. (2014). Antioxidant mix: A novel pulpotomy medicament: A scanning electron microscopy evaluation. *Contemp Clin Dent*, **5**(4), 428-33.

Ricketts, D. (2001). Management of the deep carious lesion and the vital pulp dentine complex, *Br Dent J*, **191**(11), 606-610.

Rutheford, R.B., Spanberg, L., Tucker, M., Rueger, D., Charette, M. (1994). The time-course of the induction of reparative dentine formation in monkeys by recombinant human osteogenic protein. *Arch Oral Biol*, **39**(10), 833-888.

Sadeghirishi, A., Yazdanparast, R. (2007). Plasma membrane homing of tissue nonspecific alkaline phosphatase under the influence of 3-hydrogenkwadaphnin, an antiproliferative agent from *Dendrostellera lessertii*. *Acta Biochim Pol*, **54**(2), 323–9.

Saghiri, M.A., Asatourian, A., Sorenson, C.M., Sheibani, N. (2015). Role of angiogenesis in endodontics: Contributions of stem cells and proangiogenic and antiangiogenic factors to dental pulp regeneration. *J Endod*, **41**(6), 797–803.

Saw, T.Y., Cao, T., Yap, A.U.J., Ng, M.M.L. (2005). Tooth slice organ culture and established cell line culture models for cytotoxicity assesment of dental materials. *Toxicol In Vitro*, **19**(1), 145-54.

Schmalz, G. (1994). Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials advantages and limitations. *J Dent*, **22**(2), 6-11.

Schmalz, G. (1997). Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Invest*, **1**(4), 154-162.

Schmalz, G., Arenholdt-Bindslev, D. (2009). Basic Aspects. İçinde G. Schmalz, D. Arenholdt-Bindslev. (Ed.) *Biocompatibility of Dental Materials*. (1st Ed.) Verlag Berlin Heidelberg: Springer; 1-12.

Schmalz, G., Hiller, K., Nunez, L., Stoll, J., Weis, K. (2001). Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. *J Endod*, **27(1)**, 23–30.

Schroder, U. (1985). Effects of calcium hydroxide containing pulp capping agents on pulp cell migration, proliferation and differentiation. *J Dent Res*, **64**, 541-548.

Schwendicke, F., Frencken, J.E., Bjørndal, L., (2016). Managing carious lesions: consensus recommendations on carious tissue removal. *Adv Dent Res*, **28(2)**, 5- 67.

Sharma, U., Pal, D., Prasad, R. (2014). Alkaline phosphatase: An overview. *Ind J Clin Biochem*, **29(3)**, 269–278.

Sharma, U., Singh, S.K., Pal, D., Khajuria, R., Mandal, A.K., Prasad, R. (2012). Implication of bbm lipid composition and fluidity in mitigated alkaline phosphatase activity in renal cell carcinoma. *Mol Cell Biochem*, **369(1)**, 287–93.

Sholehvar, F., Mehrabani, D., Yaghmaei, P., Vahdati, A. (2016). The effect of *Aloe vera* gel on viability of dental pulp stem cells. *Dent Traumatol*, **32(5)**, 390-6.

Siller, A.F., Whyte, M.P. (2018). Alkaline phosphatase. Discovery and naming of our favorite enzyme. *J Bone Miner Res*, **33(2)**, 362-364.

Simon, S.; Goldberg, M. (2014). *The Dent Pulp*. Springer; 267-276.

Sinjari, B., Pizzicannella, J., D'Aurora, M., Zappacosta, R., Gatta, V., Fontana, A., Trubiani, O., Diomede, F. (2019). Curcumin/Liposome nanotechnology as delivery platform for antiinflammatory activities via NFkB/ERK/pERK pathway in human dental pulp treated with 2-HydroxyEthyl MethAcrylate (HEMA), *Front Physiol*, **11**,10:633.

Smith, A.J., Smith, G. (1998). Solubilization of TGF- β 1 by dentine conditioning agents. *J Dent Res*, **77**, 1034.

Soares, I.M.V., Fernandes, G.V.O., Larissa Cordeiro, C., Leite Y.K.P.C., Bezerra, D.O., Carvalho, M.A.M., Carvalho, C.M.R.S. (2019). The influence of *Aloe vera* with mesenchymal stem cells from dental pulp on bone regeneration: characterization and treatment of non-critical defects of the tibia in rats. *J Appl Oral Sci*, **27**, e20180103.

Son, H.E., Kim, E.J., Jang, W.G. (2018). Curcumin induces osteoblast differentiation through mild-endoplasmic reticulum stress-mediated such as BMP2 on osteoblast cells. *Life Sciences*, **193**, 34–39.

Songsiripradubboon, S., Kladkaew, S., Trairatvorakul C., Sangvanich, P., Soontornvipart, K., Banlunara, W., Thunyakitpisal, P. (2017). Stimulation of dentin regeneration by using acemannan in teeth with lipopolysaccharide-induced pulp inflammation. *J Endod*, **43**(7), 1097-1103.

Stockton, L.W. (1999). Vital pulp capping: A worthwhile procedure. *J Can Dent Assoc*, **65**(4), 328-331.

Straffon, L.H., Loos, P. (2000). The indirect pulp cap: A review and commentary. *J Israel Dent Assoc*, **17**, 7-14.

Subramaniam, P., Konde, S., Prashanth, P. (2006). An in vitro evaluation of pH variations in calcium hydroxide liners. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, **24**(3), 144–145.

Suzuki, U., Yoshimura, K., Takashi, M. (1907). Über ein enzyme phytasek das anhydro-oxy-methylen-diphosphorsaure spaltet. *Bull Coll Agri Tokyo Imp Univ*, **7**, 503–12.

Şen, T.A., Derman, O., Kınık, E., (2002). Erkek adolesanslarda cinsel gelişme evrelerine göre alkalin fosfataz düzeyleri. *Türk Pediatri Arşivi*, **37**, 33-38.

Takahashi, M., Kitamoto, D., Asikin, Y., Takara, K., Wada, K. (2009). Liposomes encapsulating *Aloe vera* leaf gel extract significantly enhance proliferation and collagen synthesis in human skin cell lines. *J Oleo Sci*, **58(12)**, 643-50.

Tekeli, S., Arısu-Naghavi, E., Gökçe, B., Sır, G., Yiğittürk, G., Çavuşoğlu, G., Uyanıkgil, Y. (2016). Kök hücreler; mezenkimal kök hücreler ve güncel klinik uygulamaları. *FNG & Bilim Tıp Transplantasyon Dergisi*, **1(2)**, 72-83, 2016.

Teplicki, E., Ma, Q., Castillo, D.E., Zarei, M., Hustad, A.P., Chen, J., Li, J. (2018). The effects of *Aloe vera* on wound healing in cell proliferation, migration, and viability. *Wounds*, **30(9)**, 263-268.

Terzioğlu, G., Keskin, A.Ü., Demirel, G.Y. (2013). Hücre proliferasyonu ölçüm yöntemleri ve çeşitli ticari proliferasyon kitlerinin karşılaştırılması. *Turk J Immunol*, **1(3)**, 74-89.

Tokur, O., Aksoy, A. (2017). In vitro sitotoksikite testleri. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, **6(1)**, 112-118.

Tomás-Catalá, C.J., Collado-González, M., García-Bernal, D., Oñate-Sánchez, RE., Forner, L., Llena, C., Lozano, A., Moraleda, J.M., Rodríguez-Lozano, F.J. (2018). Biocompatibility of new pulp-capping materials NeoMTA Plus, MTA Repair HP, and Biodentine on human dental pulp stem cells. *J Endod*, **44(1)**, 126-132.

Torabinejad M., Walton R. (2011). *Endodonti Temel ilkeler ve Uygulamalar*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1-20.

Torabinejad, M., Chivian N. (1999). Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod*, **25(3)**, 197-205.

Torabinejad, M., Parirokh, M. (2010). Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review Part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod*, **36(2)**, 190-202.

Trowbridge, H.O. Pathogenesis of pulpitis resulting from dental caries. *J Endod*, **7(2)**, 52-60.

Tsai, C.L, Ke, M.C., Chen, Y.H., Kuo, H.K., Yu, H.J., Chen, C.T., Tseng, Y.C, Chuang, P.C., Wu, PC. (2018). Mineral trioxide aggregate affects cell viability and induces apoptosis of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *BMC Pharmacol Toxicol*, **19(1)**, 21.

Tselnik, M., Baumgartner, J.C., Marshall, J.G. (2004). Bacterial leakage with mineral trioxide aggregate or a resin-modified glass ionomer used as a coronal barrier. *J Endod*, **30(11)**, 782-784.

Tuncer, S., Demirci, M. (2011). Dental materyallerde biyoyumluluk değeriendirilmeleri. *Atatürk Üniv. Diş. Hek. Fak. Derg*, **21(2)**, 141-149.

Tziafas, D. (2010). Dynamics for pulp-dentin tissue engineering in operative dentistry. İçinde M. K. Marei (Ed.) *Regenerative Dentistry*. Morgan & Claypool; 111-137.

Tziafas, D., Alvanou, A., Papadimitriou, S., Gasic, J., Komnenou, A. (1998). Effects of recombinant basic fibroblast growth factor, insulin-like growth factor-II and transforming growth factor-beta 1 on dog dental pulp cells in vivo. *Arch Oral Biol*, **43(6)**, 431-44.

Tziafas, D., Kodonas, K. (2010). Differentiation potential of dental papilla, dental pulp, and apical papilla progenitor cells. *J Endod*, **36(5)**, 781-789.

Tziafas, D., Smith, A.J., Lesot, H. (2000). Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. *J Dent*, **28(2)**, 77-92.

Uzun, İ.H., Bayındır, F. (2011). Dental materyallerin biyoyumluluk test yöntemleri. *GÜ Diş Hek Fak Derg*, **28(2)**, 115-22.

Wang, W., Mani, A.M., Wu, Z.H. (2017). DNA damage-induced nuclear factor-kappa B activation and its roles in cancer progression. *J Cancer Metastasis Treat*, **3**, 45-59.

Wataha, J.C. (2001). Principles of biocompatibility for dental practioners. *J Prosth Dent*, **86(2)**, 203-9.

Whyte, M.P. (2010). Physiological role of alkaline phosphatase explored in hypophosphatasia. *Ann N Y Acad Sci*, **1192**, 190–200.

Xuedong, Z., Dingming, H., Jianguo, L., Zhengwei, H., Xin, W., Deqin, Y., Jin, Z., Liming, C., Lin, Z., Yanhong, L., Jiyao, L. (2017). Vital pulp therapy of damaged dental pulp. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, **35(4)**, 339-347.

Yaman, E., Gorken, F., Pinar, E.A., Sepet, E., Aytepe, Z. (2012). Effects of folk medicinal plant extract ankaferd blood stopper® in vital primary molar pulpotomy. *Eur Arch Paediatr Dent*, **13(4)**, 197-202.

Yıldırım, Z.S., Bakır, E.P., Bakır, Ş., Aydın, M.S. (2017). Diş hekimliğinde biyoyumluluk ve değerlendirme yöntemleri. *Selcuk Dent J*, **4(3)**, 162-9.

Yoo, E., Paganessi, L.A., Alikhan, W.A., Paganessi, E.A., Hughes, F., Fung, H.C., Rich, E., Seong, C.M., Christopherson, K.W., (2013). Loss of cd26 protease activity in recipient mice during hematopoietic stem cell transplantation results in improved transplant efficiency. *Transfusion*, **53(4)**, 878–887.

Yoshino, P., Nishiyama, C.K., Modena, K.C., Santos, C.F., Sipert, C.R. (2013). In vitro cytotoxicity of white mta, mta fillapex® and portland cement on human periodontal ligament fibroblasts. *Braz Dent J*, **24(2)**, 111-6.

Youssef, AR., Emara R., Taher MM., Al-Allaf FA., Almalki M., Almasri MA., Siddiqui SS. (2019). Effects of mineral trioxide aggregate, calcium hydroxide, biodentine and Emdogain on osteogenesis, odontogenesis, angiogenesis and cell viability of dental pulp stem cells. *BMC Oral Health*, **19(1)**, 133.

Zhu, T., Gan, Y.H., Liu, H. (2012). Functional evaluation of mutations in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene. *Chin J Dent Res*, **15(2)**, 99–104.

Zilberman, U., Mass, E., Sarnat, H. (1989). Partial pulpotomy in carious permanent molars. *Am J Dent*, **2(4)**, 147-50.



HAM VERİLER

Tablo 1: Plaka düzenine göre WST-1 testi 1. gün ham verileri

Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
0,240	1,498	1,069	0,710	0,451	0,461	1,727	1,365	1,039	0,330
Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
1,212	1,265	1,114	0,724	0,433	0,521	1,433	1,206	0,827	0,519
Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
1,008	1,367	1,290	0,676	0,481	0,392	1,609	1,409	0,965	0,242
Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
0,637	1,175	1,129	0,753	0,517	0,509	1,526	1,299	1,114	0,293
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
1,240	1,225	1,336	3,684	1,562	1,325	0,388	0,353	0,306	0,328
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
0,785	1,328	1,324	1,904	1,615	1,391	0,386	0,314	0,292	0,332
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
1,212	1,683	1,338	2,234	1,762	1,515	0,393	0,344	0,300	0,324
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
1,181	1,816	1,376	1,960	1,568	1,565	0,346	0,323	0,281	0,326

Tablo 2: Plaka düzenine göre WST-1 testi 2. gün ham verileri

Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
1,006	1,035	0,999	0,331	0,363	0,346	1,130	0,997	0,307	0,222
Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
1,071	1,059	0,842	0,332	0,353	0,371	1,154	1,038	0,787	0,222
Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
1,176	1,090	0,928	0,346	0,395	0,378	1,032	1,082	1,021	0,229
Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
1,155	1,489	0,906	0,337	0,369	0,310	1,361	0,977	0,968	0,219
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
1,139	1,439	0,977	0,944	1,016	0,233	0,369	0,311	0,315	0,328
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
0,997	1,126	1,112	1,046	1,044	0,226	0,379	0,369	0,291	0,320
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
1,152	1,040	1,098	1,120	1,002	0,231	0,402	0,332	0,294	0,311
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
0,928	1,134	1,025	0,810	1,119	1,076	0,340	0,317	0,291	0,344

Tablo 3: Plaka düzenine göre WST-1 testi 3. gün ham verileri

Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
0,137	0,410	0,491	0,368	0,219	0,231	0,485	0,471	0,278	0,174
Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
0,145	0,401	0,555	0,511	0,238	0,236	0,492	0,421	0,238	0,228
Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
0,156	0,570	0,469	0,476	0,246	0,251	0,534	0,527	0,246	0,207
Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
0,160	0,582	0,467	0,457	0,244	0,259	0,584	0,449	0,310	0,210
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
0,162	0,737	0,393	0,385	0,548	0,489	0,264	0,271	0,261	0,253
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
0,177	0,508	0,471	0,457	0,446	0,448	0,234	0,338	0,272	0,255
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
0,151	0,484	0,539	0,460	0,415	0,442	0,264	0,258	0,238	0,277
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
0,151	0,451	0,462	0,438	0,420	0,434	0,273	0,727	0,336	0,255

Tablo 4: Plaka düzenine göre WST-1 testi 7. gün ham verileri

Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
0,129	0,452	0,471	0,441	0,135	0,194	0,769	0,721	0,178	0,180
Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
0,153	0,592	0,568	0,543	0,168	0,201	0,755	0,706	0,226	0,231
Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
0,149	0,578	0,587	0,547	0,174	0,199	0,803	0,694	0,228	0,233
Kontrol	Kurkumin 2,5 µg/ml	Kurkumin 6,75 µg/ml	Kurkumin 12,5 µg/ml	Kurkumin 25 µg/ml	Kurkumin 50 µg/ml	MTA %25	MTA %50	MTA %75	MTA %100
0,158	0,560	0,526	0,544	0,174	0,202	0,754	0,598	0,242	0,287
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
0,157	0,529	0,548	0,530	0,510	1,112	0,391	0,241	0,240	0,248
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
0,150	0,568	0,595	0,530	0,484	0,284	0,351	0,238	0,216	0,272
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
0,153	0,591	0,548	0,558	0,497	0,253	0,346	0,241	0,230	0,234
Kontrol	Aloin 2,5 µg/ml	Aloin 6,75 µg/ml	Aloin 12,5 µg/ml	Aloin 25 µg/ml	Aloin 50 µg/ml	Supradyn %25	Supradyn %50	Supradyn %75	Supradyn %100
0,157	0,514	0,513	0,516	0,503	0,266	0,361	0,250	0,207	0,184

Tablo 5: Plaka düzenine göre ELISA testinin ham verileri

Kontrol	Kurkumin 2,5µg/ml 7. gün	Kurkumin 2,5µg/ml 7. gün	Kurkumin 2,5µg/ml 7. gün	Kurkumin 6,75µg/ml 7. gün	Kurkumin 6,75µg/ml 7. gün	Kurkumin 6,75µg/ml 7. gün	Kurkumin Kontrol 7. gün	Kurkumin Kontrol 7. gün	Kurkumin Kontrol 7. gün
0,877	0,101	0,105	0,112	0,102	0,102	0,108	0,109	0,102	0,104
Kontrol	Kurkumin 2,5µg/ml 14. gün	Kurkumin 2,5µg/ml 14. gün	Kurkumin 2,5µg/ml 14. gün	Kurkumin 6,75µg/ml 14. gün	Kurkumin 6,75µg/ml 14. gün	Kurkumin 6,75µg/ml 14. gün	Kurkumin Kontrol 14. gün	Kurkumin Kontrol 14. gün	Kurkumin Kontrol 14. gün
0,464	0,101	0,102	0,101	0,099	0,109	0,110	0,103	0,105	0,098
Kontrol	Aloin 2,5µg/ml 7. gün	Aloin 2,5µg/ml 7. gün	Aloin 2,5µg/ml 7. gün	Aloin 6,75µg/ml 7. gün	Aloin 6,75µg/ml 7. gün	Aloin 6,75µg/ml 7. gün	Aloin Kontrol 7. gün	Aloin Kontrol 7. gün	Aloin Kontrol 7. gün
2,939	0,096	0,105	0,105	0,105	0,098	0,109	0,110	0,112	0,101
Kontrol	Aloin 2,5µg/ml 14. gün	Aloin 2,5µg/ml 14. gün	Aloin 2,5µg/ml 14. gün	Aloin 6,75µg/ml 14. gün	Aloin 6,75µg/ml 14. gün	Aloin 6,75µg/ml 14. gün	Aloin Kontrol 14. gün	Aloin Kontrol 14. gün	Aloin Kontrol 14. gün
1,532	0,100	0,099	0,103	0,099	0,105	0,102	0,107	0,110	0,103
Kontrol	Supradyn %25 7. gün	Supradyn %25 7. gün	Supradyn %25 7. gün	Supradyn %50 7. gün	Supradyn %50 7. gün	Supradyn %50 7. gün	Supradyn Kontrol 7. gün	Supradyn Kontrol 7. gün	Supradyn Kontrol 7. gün
0,136	0,097	0,099	0,102	0,103	0,094	0,101	0,102	0,099	0,100
Kontrol	Supradyn %25 14. gün	Supradyn %25 14. gün	Supradyn %25 14. gün	Supradyn %50 14. gün	Supradyn %50 14. gün	Supradyn %50 14. gün	Supradyn Kontrol 14. gün	Supradyn Kontrol 14. gün	Supradyn Kontrol 14. gün
0,091	0,091	0,095	0,095	0,099	0,097	0,105	0,091	0,095	0,120
Kontrol	MTA %25 7. gün	MTA %25 7. gün	MTA %25 7. gün	MTA %50 7. gün	MTA %50 7. gün	MTA %50 7. gün	MTA Kontrol 7. gün	MTA Kontrol 7. gün	MTA Kontrol 7. gün
0,255	0,100	0,093	0,095	0,096	0,107	0,101	0,098	0,099	0,098
Kontrol	MTA %25 14. gün	MTA %25 14. gün	MTA %25 14. gün	MTA %50 14. gün	MTA %50 14. gün	MTA %50 14. gün	MTA Kontrol 14. gün	MTA Kontrol 14. gün	MTA Kontrol 14. gün
0,163	0,097	0,089	0,098	0,102	0,104	0,101	0,103	0,101	0,095

FORMLAR**İzin Formu**

05.06.2018

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı'na,

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti AD öğretim üyelerinden Prof. Dr. Oya Aktören'nin danışmanlığında Dt. Dilara Dinç'in gerçekleştireceği "Bitkisel ve Antioksidan İçerikli Güncel Vital Pulpa Tedavi Ajanlarının Sitotoksiste ve Alkalen Fosfataz Düzeylerinin Değerlendirilmesi" başlıklı çalışm ada Doktor Öğretim Üyesi Dr. Mehmet Fatih Seyhan bilgim dâhilinde yer almakta olup, İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Yaşam Bilimleri ve Teknolojileri Laboratuvarı'nda hücre kültürü, sitotoksiste ve alkalen fosfataz, işlemlerinin gerçekleştirilecek olması bilgim dahilindedir.

Bilgilerinize arz ederim.



Prof. Dr. Ayşegül Topal Sarıkaya

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölüm Başkanı

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

BİTKİSEL VE ANTİOKSİDAN İÇERİKLİ VİTAL PULPA TEDAVİ
AJANLARININ SİTOTOKSİSİTE VE ALKALEN FOSFATAZ
DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

% 7	% 4	% 2	% 7
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 2
2	Submitted to Cumhuriyet University Öğrenci Ödevi	% 1
3	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
4	acikarsiv.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	docs.neu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	acikerisim.selcuk.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
7	Submitted to Ondokuz Mayıs Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
8	dfd.atauni.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	DİLARA	Soyadı	DİNÇ
Doğ.Yeri	İSTANBUL	Doğ.Tar.	07.02.1991
Email	dilarabektas@yandex.com	Uyruğu	TC.

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı	2020
Yük.Lis.	Yeditepe Üniversitesi	2014
Lisans		
Lise	Hüseyin Avni Sözen Anadolu Lisesi	2009

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	İyi	İyi		YDS /75

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	78,4	79,6	71,8
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office (Word, Powerpoint, Excel)	İyi
Graphpad Prism 6	Zayıf

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

1. Bektaş, D., Aktören, O. (2017). Çocuklarda obstruktif uyku apne sendromu. *Dişhekimliğinde Klinik Dergisi*, 5(5), 35-41.
2. Bektaş, D., Aksakal, D., Aktören, O. (2017). Alveolar Kemik Fraktürü: Olgu Sunumu. *Türkiye Klinikleri J Dental Sci*, 23 (Suppl 1): S246, P-083.
3. Bektaş, D., Güven, Y., Aktören, O. (2017). Apert sendromu: Olgu sunumu. *Türk Pedodonti Derneği 24. Bilimsel Kongresi Bildiri Kitabı*, 310, P-103.
4. Koruyucu, M., Birant, S., Özcan, H., İlisulu, C., Kasımoğlu, Y., Üstün, N., Kocaaydın, S., Dinç, D., Usta, G., Akay, C., Bekiroğlu, N., Seymen, F. (2018). Investigation the level of knowledge of the community about oral and dental health. *International Congress On Preventive Dentistry Abstract Book*; 39, O-55.
5. Güven, Y., Aksakal, D., Dinç, D., Keskindemirci, G., Gökçay, G., Aktören, O. (2018). Effect of parents' education and occupation on early childhood caries. *Turkish Dental Association 24th International Dental Congress Abstract Book*, 453, P-192.
6. Dinç, D., Aktören, O. (2019). Vital pulpa tedavilerinde güncel yaklaşımlar. *TDB Dişhekimliğinde Klinik Dergisi*, 12, 1-7.
7. Güven, Y., Aksakal, D., Dinç, D., Keskindemirci, G., Gökçay, G., Aktören, O. (2019). Effects of feeding patterns and oral health habits on ECC in Turkish children. *CED-IADR Oral Health Research Congress Abstract Book*, O-219.
8. Dinç, D., Seyhan, MF., Aktören O. (2019). Kurkumin, aloin, MTA'nın insan dental pulpa kök hücrelerinde sitotoksitelerinin incelenmesi. *Türk Dişhekimleri Birliği 25. Uluslararası Dişhekimliği Kongresi Sözel Bildiriler Kitabı*. S-084.

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Binicilik, Yoga, Badminton, Şiir.