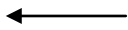


Adınızı soyadınızı giriniz

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 .



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



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

DOKTORA TEZİ

**ÇOCUK DIŞ MACUNLARININ DIŞ ETİ HÜCRELERİNİN
CANLILIĞINA VE MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİNİN
FARKLILAŞMA POTANSİYELİNE ETKİLERİNİN İN
VİTRO OLARAK İNCELENMESİ**

SİNEM BİRANT

**DANIŞMAN
PROF. DR. FİGEN SEYMEN**

**PEDODONTİ ANABİLİM DALI
PEDODONTİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI**DOKTORA TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı, Pedodonti Doktora Programında Doktora öğrencisi Sinem BİRANT tarafından Prof.Dr. Figen SEYMEN'in danışmanlığında hazırlanan "Çocuk Diş Macunlarının Diş Eti Hücrelerinin Canlılığına ve Mezenkimal Kök Hücrelerinin Farklılaşma Potansiyeline Etkilerinin İn Vitro Olarak İncelenmesi"başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 22.05.2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Zeynep AYTEPE
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Pedodonti Anabilim Dalı

**Jüri-Danışman**

Prof.Dr. Figen SEYMEN
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Pedodonti Anabilim Dalı

**Jüri**

Prof.Dr. Koray GENÇAY
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Pedodonti Anabilim Dalı

**Jüri**

Prof. Dr. Tunç AKKOÇ
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Has. Allerji ve İmmü. Anabilim Dalı

**Jüri**

Doç. Dr. Buğra ÖZEN
Altınbaş Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Pedodonti Anabilim Dalı



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.

Sinem Birant



İTHAF

Benim için herşeyden kıymetli olan; ***annem Resmiye Uz'a, babam Faik Uz'a;***
kardeşim Çiğdem Günaydın'a ve ***sevgili eşim Can Birant'a*** ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince, engin bilgi ve tecrübelerinden her daim faydalandığım, beni her zaman destekleyen, doktora tez çalışmamın her aşamasında anlayışlı ve fedakar tavrıyla bana yol gösteren, akademik hayattaki duruşunu her zaman örnek aldığım çok değerli danışman hocam **Sayın Prof. Dr. Figen Seymen'e**;

Doktora tezimin Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'nda yapılmasına imkan sağlayan ve çalışmalar sırasında iletişim, yardım ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli hocam **Sayın Prof. Dr. Tunç Akkoç'a**, deneysel çalışmalarım sırasında büyük bir özveriyle bana yardımcı olan sevgili **Yazgül Duran** ve **Muazzez Gökalp'e**;

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda, Pedodonti doktora eğitimim boyunca kendilerinden çok şey öğrendiğim değerli hocalarım **Prof. Dr. Gamze Aren, Prof. Dr. Tefik Akıncı, Prof. Dr. Zeynep Aytepe, Prof. Dr. Koray Gençay, Prof. Dr. Oya Aktören, Prof. Dr. Elif Sepet, Prof. Dr. Elif Bahar Tuna İnce** ve **Doç. Dr. Arzu Pınar Erdem'e**, öğretim görevlileri **Dr. Yeliz Güven, Dr. Mine Koruyucu, Dr. Yelda Kasımoğlu, Dr. Dicle Aksakal'a**;

Doktora ve lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, tüm zorlukları beraber aştığımız, tüm mutlulukları beraber paylaştığımız ve hayat boyu yan yana olmak istediğim canım dostlarım **Özgecan Bakış Çaynak** ve **Sedef Gökçe'ye**;

Doktora eğitimim süresince her zaman birlikte olduğum, desteklerini benden esirgemeyen, sıkıntılı ve yorucu zamanlarda birlikte dertleşip güldüğümüz, her zaman varlıklarını yanımda hissetmek istediğim **Elif Şeyda Ürkmez, Doğa İlbeyli Çetintaş, Hazal Özcan, Merve Çayırıcı, Ceren İlisulu'ya** ve fakültede geçirdiğim yıllar boyunca birlikte çalıştığımız tüm **sevgili asistan arkadaşlarıma**;

Doktora eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nın hemşireleri **Necla Keskin, Yeliz Karataş Özer'e** ve **tüm çalışanlarına**;

Üzerimde çok büyük emeklere sahip olan, bugünlere gelmem için her daim bana destek olup hiçbir fedakarlıktan çekinmeyen, her zaman benim en büyük güç kaynağım olan annem **Resmiye Uz**, babam **Faik Uz** ve kardeşim **Çiğdem Günaydın'a**;

Doktora eğitim süresince desteklerini ve yardımlarını her zaman yanımda hissettiğim, tüm kalpleriyle bana inanan canım ailem **Selma Birant, Yaşar Birant** ve dış macunları konusunda benim için yurt dışından sayısız macun alıp bana gönderen **Ayşe Birant'a**;

Hayatıma girdiği andan itibaren her zaman anlayışı, sabrı ve özverisiyle bana destek olan, tüm zor anlarımda tüm kalbiyle yanımda olan ve sevgisiyle bana güç veren, doktora eğitimim süresince de her zaman elinden gelen yardımı ortaya koyan sevgili eşim **Can Birant'a**;

tüm kalbimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sinem BİRANT

İstanbul, 2019

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 25696

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİİ
TABLolar LİSTESİ.....	Xİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	XVİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XXİ
ÖZET	XXİİİ
ABSTRACT.....	XXİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Dental Plak.....	3
2.1.1. Dental Plak Oluşum Mekanizması.....	3
2.1.2. Dental Plağın Mikrobiyal Kompozisyonu ve Formasyon Fazları	4
2.2. Diş Çürüğü	5
2.2.1. Diş Çürüğü Etiyolojisi	6
2.3. Diş Çürüğü ve Dental Plak İlişkisi.....	6
2.4. Plak Kontrolü	7
2.5. Diş Macunları.....	8
2.5.1. Diş Macunlarının Yapısı	8
2.5.1.1. Aşındırıcılar.....	9
2.5.1.2. Nemlendiriciler	10
2.5.1.3. Bağlayıcılar	10
2.5.1.4. Tatlandırıcılar.....	10
2.5.1.5. Terapötik Ajanlar	10
2.5.1.6. Renklendirici ve Koruyucular	11
2.5.1.7. Sabunlar ve Deterjanlar.....	11
Deterjanların Tanımı ve Kimyasal Özellikleri.....	11
Deterjanların Sınıflandırılması.....	12

➤ Anyonik Yüzey Aktif Maddeler.....	12
➤ Katyonik Yüzey Aktif Maddeler.....	13
➤ Amfoterik Yüzey Aktif Maddeler.....	15
➤ Non-İyonik Yüzey Aktif Maddeler.....	16
2.5.2. Diş Macunu İçerisindeki Deterjanlar	16
2.5.2.1. Sodium Lauryl Sulfate (SLS).....	17
2.5.2.2. Sodium Lauryl Sarcosinate ve Sodium C14-16 Olefin Sulfonate	18
2.5.2.3. Cocoamidopropyl Betaine (CAPB).....	18
2.5.3. Çocuk Diş Macunları İçerisindeki Deterjanlar	19
2.6. Kök Hücre	21
2.6.1. Kök Hücrelerin Tarihçesi.....	21
2.6.2. Kök Hücrelerin Özellikleri.....	22
2.6.3. Farklılaşma Kapasitesine Göre Kök Hücreler	23
2.6.3.1. Totipotent Kök Hücreler	23
2.6.3.2. Pluripotent Kök Hücreler	23
2.6.3.3. Multipotent Kök Hücreler	24
2.6.3.4. Oligopotent Kök Hücreler.....	24
2.6.3.5. Unipotent Kök Hücreler	24
2.6.4. Kaynaklarına Göre Kök Hücreler	24
2.6.4.1. Embriyonik Kök Hücreler (EKH).....	24
2.6.4.2. Yetişkin Kök Hücreler	24
2.6.4.3. Hematopoetik Kök Hücreler	25
2.6.4.4. Mezenkimal Kök Hücreler (MKH).....	25
2.7. Dental Dokulardan Elde Edilen MKH'ler	26
2.7.1. Dental Pulpa Kök Hücreleri.....	27
2.7.2. Eksfoliyte Süt Dişlerindeki Kök Hücreler	27
2.7.3. Periodontal Ligament Mezenkimal Kök Hücreleri (PDLMKH)	28
2.7.4. Dental Folikül Kök Hücreleri	28
2.7.5. Dental Apikal Papilla Kökenli Kök Hücreler	28
2.7.6. Diş Eti Mezenkimal Kök Hücreleri	29
2.8. Diş Eti Epitel Hücreleri.....	29
2.9. Biyouyumluluk ve Sitotoksosite.....	30
2.9.1. İn Vitro Sitotoksosite Değerlendirme Yöntemleri.....	30

2.9.1.1. Canlılık Değerlendirme Testleri.....	31
2.9.1.2. Yaşam Değerlendirme Testleri	32
2.9.1.3. Hücre Proliferasyonunu Değerlendirme Testleri	32
2.9.1.4. Metabolizma Değerlendirme Testleri	32
2.9.2. Apoptozun Saptanmasında Kullanılan Yöntemler ve Akım Sitometri.....	33
2.9.3. Flow Sitometri.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1. Gereçler.....	39
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Materyaller	39
3.1.2. Hücre Kültür Çalışmasında Kullanılan Cihazlar, Sarf ve Kimyasal Malzemeler	40
3.1.2.1. Sarf Malzemeler	40
3.1.2.2. Kimyasal Malzemeler	41
3.1.2.3. Kullanılan Cihazlar	42
3.2. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi	42
3.3. Yöntem.....	44
3.3.1. BİRİNCİ AŞAMA: Hücre Kültürü, PDLMKH, GMKH ve Diş Eti Epitel Hücrelerinin İzolasyonu ve Karakterizasyonu	44
3.3.1.1. PDLMKH ve GMKH İzolasyonu ve Ekimi.....	44
3.3.1.2. Diş Eti Epitel Hücrelerinin İzolasyonu ve Ekimi.....	45
3.3.1.3. İzole edilen Hücrelerin Pasajlanması	46
3.3.1.4. PDLMKH ve GMKH'lerin Karakterizasyonu	48
➤ İzole Edilen PDLMKH ve GMKH'lerin Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi	48
➤ İzole Edilen Kök Hücrelerin Akım Sitometri ile Hücre Marker Ekspresyonunun Saptanması	50
3.3.1.5. Diş Eti Epitel Hücrelerinin Karakterizasyonu.....	50
3.3.1.6. PDLMKH, GMKH ve Diş Eti Epitel Hücrelerinin Dondurularak Saklanması	51
3.3.2. İKİNCİ AŞAMA: Farklı Deterjan İçerikli Diş Macunu Solüsyonlarının Hücrelerin Canlılığı Üzerine Olan Etkilerinin Değerlendirilmesi	51
3.3.2.1. Hücrelerin 48 Kuyucuklu Kültür Plaklarına Ekilmesi	51
3.3.2.2. Farklı Konsantrasyondaki Diş Macunu Solüsyonlarının Hazırlanması	52

3.3.2.3. Hücrelerin Farklı Konsantrasyonlardaki Farklı Diş Macunu Solüsyonlarına Maruz Bırakılması.....	53
3.3.2.4. Hücre Canlılığının Akım Sitometri ile Değerlendirilmesi	53
3.3.3. ÜÇÜNCÜ AŞAMA: Farklı Deterjan İçerikli Diş Macunu Solüsyonlarının MKH'lerin Osteojenik ve Kondrojenik Farklılaşma Potansiyeli Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi.....	55
3.3.3.1. Osteojenik Farklılaşma Deneyi	55
MKH'lerin farklı içerik ve konsantrasyondaki diş macunu solüsyonlarına maruz bırakılması.....	55
Osteojenik Farklılaşma Ortamının Uygulanması.....	55
Osteojenik Farklılaşmanın Morfolojik Olarak Değerlendirilmesi	56
3.3.3.2. Kondrojenik Farklılaşma Deneyi	57
MKH'lerin farklı içerik ve konsantrasyondaki diş macunu solüsyonlarına maruz bırakılması.....	57
Kondrojenik Farklılaşma Ortamının Uygulanması.....	57
Kondrojenik Farklılaşmanın Morfolojik Olarak Değerlendirilmesi	58
3.4. İstatistiksel Analiz.....	58
4. BULGULAR.....	59
4.1. BİRİNCİ AŞAMA: Gömük Yirmi Yaş Dışından PDLMKH, GMKH ve GEC İzolasyonu ve Karakterizasyon	59
4.1.1. İzole Edilen GMKH'lerin Pasajlanması	59
4.1.2. İzole Edilen PDLMKH'lerin Pasajlanması.....	61
4.1.3. İzole Edilen GEC'lerin Pasajlanması.....	64
4.1.4. İzole Edilen GMKH'lerin Osteojenik, Adipojenik ve Kondrojenik (Trilineaj Farklılaşma) Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi.....	66
4.1.4.1. Osteojenik Farklılaşma.....	66
4.1.4.2. Kondrojenik Farklılaşma.....	67
4.1.4.3. Adipojenik Farklılaşma.....	67
4.1.5. GMKH'lerin Akım Sitometri Analizi	68
4.1.6. İzole Edilen PDLMKH'lerin Osteojenik, Adipojenik ve Kondrojenik (Trilineaj Farklılaşma) Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi.....	69
4.1.6.1. Osteojenik Farklılaşma.....	69
4.1.6.2. Kondrojenik Farklılaşma.....	70
4.1.6.3. Adipojenik Farklılaşma.....	71

4.1.7. PDLMKH’lerin Akım Sitometri Analizi	72
4.1.8. İzole Edilen Diş Eti Epitel Hücrelerinin Karakterizasyonu	73
4.2. İKİNCİ AŞAMA: FARKLI KONSANTRASYONLARDAKİ ÇOCUK DİŞ MACUNLARININ HÜCRE CANLILIĞI ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ.....	74
4.2.1. GMKH Canlılığının Akım Sitometri ile Analizi.....	74
4.2.2. PDLMKH Canlılığının Akım Sitometri ile Analizi.....	86
4.2.3. Diş Eti Epitel Hücrelerinin Canlılığının Akım Sitometri ile Analizi.....	97
4.3. Aynı Deney Grubundaki Farklı Konsantrasyon ve Farklı Hücre Tiplerindeki Canlı Hücre Oranlarının Değerlendirilmesi.....	108
4.4. Farklı Konsantrasyonlardaki Deney Gruplarında Erken Apoptotik Hücre Oranları	118
4.5. Farklı Konsantrasyonlardaki Deney Gruplarında Geç Apoptotik Hücre Oranları	128
4.6. Farklı Konsantrasyonlardaki Deney Gruplarında Nekrotik Hücre Oranları.....	137
4.7. Farklı Deney Grupları Arasında Canlı Hücre Oranlarının Konsantrasyonlara Göre Karşılaştırılması	146
4.8. Gruplar Arası Erken Apoptotik Hücre Oranlarının Karşılaştırılması	150
4.9. Gruplar Arası Geç Apoptotik Hücre Oranlarının Karşılaştırılması	155
4.10. Gruplar Arası Nekrotik Hücre Oranlarının Karşılaştırılması.....	160
4.11. Ölü Hücre Oranlarının (Erken Apoptoz + Geç Apoptoz + Nekroz) Çoklu Karşılaştırılması	164
4.12. ÜÇÜNCÜ AŞAMA: OSTEOJENİK VE KONDROJENİK FARKLILAŞMA BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	167
4.12.1. GMKH’lerin Osteojenik Farklılaşma Deney Sonuçları (ALR Boyama Görüntüleri).....	167
4.12.2. GMKH’lerin Kondrojenik Farklılaşma Deney Sonuçları (Alcian Blue Boyama Görüntüleri).....	172
4.12.3. PDLMKH’lerin Osteojenik Farklılaşma Deney Sonuçları (ALR Boyama Görüntüleri).....	178
4.12.4. PDLMKH’lerin Kondrojenik Farklılaşma Deney Sonuçları (Alcian Blue Boyama Görüntüleri)	183
5. TARTIŞMA	189
KAYNAKLAR	218

FORMLAR	243
ETİK KURUL KARARI	249
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	250
ÖZGEÇMİŞ	251

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Diş macunu yapısındaki bileşenler.....	9
Tablo 2-2: Çocuk diş macunlarında bulunan deterjan içerikleri.....	20
Tablo 3-1: Çalışmada kullanılan materyaller, içerikleri ve üretici firma bilgileri.....	39
Tablo 4-1: Colgate deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre canlılık değerlerinin karşılaştırılması.....	108
Tablo 4-2: Splat deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre canlılık değerlerinin karşılaştırılması.....	110
Tablo 4-3: Sensodyne deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre canlılık değerlerinin karşılaştırılması.....	112
Tablo 4-4: Nenedent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre canlılık değerlerinin karşılaştırılması.....	114
Tablo 4-5: Perlodent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre canlılık değerlerinin karşılaştırılması.....	116
Tablo 4-6: Colgate deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	118
Tablo 4-7: Splat deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	120
Tablo 4-8: Sensodyne deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	122
Tablo 4-9: Nenedent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	124
Tablo 4-10: Perlodent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	126
Tablo 4-11: Colgate deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	128
Tablo 4-12: Splat deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	130
Tablo 4-13: Sensodyne deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	131

Tablo 4-14: Nenedent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	133
Tablo 4-15: Perlodent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	135
Tablo 4-16: Colgate deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması.....	137
Tablo 4-17: Splat deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması.....	139
Tablo 4-18: Sensodyne deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması.....	140
Tablo 4-19: Nenedent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması.....	142
Tablo 4-20: Perlodent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması.....	144
Tablo 4-21: PDLMKH tipinde gruplar arası canlılık değerlerinin karşılaştırılması.....	146
Tablo 4-22: GMKH tipinde gruplar arası canlılık değerlerinin karşılaştırılması	147
Tablo 4-23: Diş eti epiteli hücre tipinde gruplar arası canlılık değerlerinin karşılaştırılması.....	149
Tablo 4-24: PDLMKH tipinde gruplar arası erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması	150
Tablo 4-25: GMKH tipinde gruplar arası erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması	152
Tablo 4-26: Diş eti epiteli hücre tipinde gruplar arası erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	153
Tablo 4-27: PDLMKH tipinde gruplar arası geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması	155
Tablo 4-28: GMKH tipinde gruplar arası geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması ..	156
Tablo 4-29: Diş eti epiteli hücre tipinde gruplar arası geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	158
Tablo 4-30: PDLMKH tipinde gruplar arası nekroz değerlerinin karşılaştırılması.....	160
Tablo 4-31: GMKH tipinde nekroz oranlarının gruplar arası değerlendirilmesi.....	161
Tablo 4-32: Diş eti epiteli hücre tipinde gruplar arası nekroz değerlerinin karşılaştırılması.....	163

Tablo 4-33: Tablo 4-33: Grup, hücre tipi ve konsantrasyona göre toplam ölü hücre oranlarının değerlendirilmesi.....	164
Tablo 4-34: Ölü hücre oranlarına ait tanımlayıcı istatistikler.....	165
Tablo 4-35: Grup - hücre tipi etkileşimine ait ölü hücre oranlarının çoklu karşılaştırma test sonuçları	166

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1: Çalışma Planı	38
Şekil 3-2: Canlılık deneyi için çalışma grupları	43
Şekil 3-3: Doku izolasyonu ve dokuların mikromekanik parçalanma işlemi.....	44
Şekil 3-4: Dokuların kollejanaz enzimi ile enzimatik parçalanma işlemi	45
Şekil 3-5: Hücrelerin DMEM ile yıkanması, santrifüj işlemi, flasklara ekim.....	46
Şekil 3-6: Thoma lamı üzerinde hücre sayımının ışık mikroskobu ile yapılması	48
Şekil 3-7: Hücrelerin 48 kuyucuklu plaklara ekilmesi	51
Şekil 3-8: %80'lik diş macunu solüsyonlarının elde edilmesi.....	52
Şekil 3-9: Hazırlanan homojen diş macunu solüsyonları	53
Şekil 3-10: Anneksin V/ Propidium İodide	54
Şekil 3-11: MKH'ler üzerine diş macunu solüsyonlarının uygulanması.....	55
Şekil 3-12: Hücrelerin ALR ile boyanması	56
Şekil 3-13: Hücrelerin Alcian Blue ile boyanması	58
Şekil 4-1: P0 GMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X.....	59
Şekil 4-2: P1 GMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X.....	60
Şekil 4-3: P2 GMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X.....	60
Şekil 4-4: P3 GMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X.....	61
Şekil 4-5: P0 PDLMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG),10X	61
Şekil 4-6: P1 PDLMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X	62
Şekil 4-7: P2 PDLMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X	62
Şekil 4-8: P3 PDLMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X	63
Şekil 4-9: P0 GEC'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 20X	64
Şekil 4-10: P1 GEC'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 20X	64
Şekil 4-11: P2 GEC'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 20X	65
Şekil 4-12: P2 GEC'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 20X	65
Şekil 4-13: GMKH'lerde osteojenik farklılaşma potansiyelinin ALR boyama ile saptanması, 10X.....	66
Şekil 4-14: GMKH'lerde kondrojenik farklılaşma potansiyelinin Alcian Blue boyama ile saptanması, 40X.....	67
Şekil 4-15: GMKH'lerde adipojenik farklılaşma potansiyelinin Oil Red O boyama ile saptanması, 40X.....	68

Şekil 4-16: GMKH'lerin immunofenotipik özelliklerinin akım sitometri ile analizi.....	69
Şekil 4-17: PDLMKH'lerde osteojenik farklılaşma potansiyelinin ALR boyama ile saptanması, 10X.....	70
Şekil 4-18: PDLMKH'lerde kondrojenik farklılaşma potansiyelinin Alcian Blue boyama ile saptanması, 40X.....	71
Şekil 4-19: PDLMKH'lerde adipojenik farklılaşma potansiyelinin Oil Red O boyama ile saptanması, 40X.....	72
Şekil 4-20: PDLMKH'lerin immunofenotipik özelliklerinin akım sitometri ile analizi	73
Şekil 4-21: Diş eti epitel hücreleri, Binoküler Araştırma Mikroskopu (Olympus BH2-RFCA) 400X.....	74
Şekil 4-22: CDMEM kontrol grubunun GMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE).....	75
Şekil 4-23: Splat diş macunu solüsyonlarının GMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE).....	77
Şekil 4-24: Sensodyne diş macunu solüsyonlarının GMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)	79
Şekil 4-25: Nenedent diş macunu solüsyonlarının GMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)	81
Şekil 4-26: Perlodent diş macunu solüsyonlarının GMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)	83
Şekil 4-27: Colgate diş macunu solüsyonlarının GMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE).....	85
Şekil 4-28: CDMEM kontrol grubunun PDLMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE).....	86
Şekil 4-29: Splat diş macunu solüsyonlarının PDLMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)	88
Şekil 4-30: Sensodyne diş macunu solüsyonlarının PDLMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)	90
Şekil 4-31: Nenedent diş macunu solüsyonlarının PDLMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)	92
Şekil 4-32: Perlodent diş macunu solüsyonlarının PDLMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)	94

Şekil 4-33: Colgate diş macunu solüsyonlarının PDLMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)	96
Şekil 4-34: CDMEM kontrol grubunun diş eti epitel hücreleri üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)	97
Şekil 4-35: Splat diş macunu solüsyonlarının diş eti epitel hücreleri üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)	99
Şekil 4-36: Sensodyne diş macunu solüsyonlarının diş eti epitel hücreleri üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE).....	101
Şekil 4-37: Nenedent diş macunu solüsyonlarının diş eti epitel hücreleri üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE).....	103
Şekil 4-38: Perlodent diş macunu solüsyonlarının diş eti epitel hücreleri üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE).....	105
Şekil 4-39: Colgate diş macunu solüsyonlarının diş eti epitel hücreleri üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE).....	107
Şekil 4-40: CDMEM kontrol grubundaki GMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A:4X, B:10X	167
Şekil 4-41: 2 dk boyunca % 0,4'lük Splat diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X	168
Şekil 4-42: 2 dk boyunca % 0,4'lük Sensodyne diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B:10X	169
Şekil 4-43: 2 dk boyunca % 0,4'lük Perlodent diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A:4X, B:10X	170
Şekil 4-44: 2 dk boyunca % 0,4'lük Nenedent diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A:4X, B:10X	171
Şekil 4-45: 2 dk boyunca % 0,4'lük Colgate diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A:4X, B:10X	172
Şekil 4-46: CDMEM kontrol grubundaki GMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue boyama görüntüleri. A: 4X, B:10X.....	173

Şekil 4-47: 2 dk boyunca % 0,4'lük Splat diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue boyama görüntüleri. A: 4X, B:10X	174
Şekil 4-48: 2 dk boyunca % 0,4'lük Sensodyne diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue boyama görüntüleri. A: 4X, B:10X	175
Şekil 4-49: 2 dk boyunca % 0,4'lük Perlodent diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue boyama görüntüleri. A: 4X, B:10X	176
Şekil 4-50: 2 dk boyunca % 0,4'lük Nenedent diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue boyama görüntüleri. A: 4X, B:10X	176
Şekil 4-51: 2 dk boyunca % 0,4'lük Colgate diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue boyama görüntüleri. A: 4X, B:10X	177
Şekil 4-52: CDMEM kontrol grubundaki PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A:4X, B:10X.....	178
Şekil 4-53: 2 dk boyunca % 0,4'lük Splat diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A:4X, B:10X	179
Şekil 4-54: 2 dk boyunca % 0,4'lük Sensodyne diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B:10X	180
Şekil 4-55: 2 dk boyunca % 0,4'lük Perlodent diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X	181
Şekil 4-56: 2 dk boyunca % 0,4'lük Nenedent diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X	182
Şekil 4-57: 2 dk boyunca % 0,4'lük Colgate diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X	183

Şekil 4-58: CDMEM kontrol grubundaki PDLMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue ile boyama görüntüleri. A:4X, B:10X.....	184
Şekil 4-59: 2 dk boyunca % 0,4'lük Splat diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue ile boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X	185
Şekil 4-60: 2 dk boyunca % 0,4'lük Sensodyne diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue ile boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X	186
Şekil 4-61: 2 dk boyunca % 0,4'lük Perlodent diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue ile boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X	187
Şekil 4-62: 2 dk boyunca % 0,4'lük Nenedent diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue ile boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X	187
Şekil 4-63: 2 dk boyunca % 0,4'lük Colgate diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue ile boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X	188

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

SLS (Sodium Lauryl Sulfate)
 CAPB (Cocoamidopropyl Betaine)
 mm (milimetre)
 GTF (Glikozil transferaz)
 IPS (İntrasellüler polisakkarit)
 EPS (Ekstrasellüler polisakkarit)
 LDH (Laktat dehidrogenaz)
 MSC (Mesenchymal Stem Cell)
 MKH (Mezenkimal Kök Hücre))
 DNA (Deoksiribo Nükleik Asit)
 EKH (Embriyonik Kök Hücre)
 HKH (Hematopoetik Kök Hücre)
 DPSCs (Dental Pulp Stem Cells)
 SHEDs (Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth)
 PDLSCs (Periodontal Ligament Stem Cells)
 PDLMKH (Periodontal Ligament Mezenkimal Kök Hücre)
 DFSCs (Dental Follicle Stem Cells)
 SCAPs (Stem Cells from Apical Papilla)
 DMSC (Dental Mesenchymal Stem Cell)
 GMSC (Gingiva Mesenchymal Stem Cells)
 GMKH (Diş Eti Mezenkimal Kök Hücre)
 GEC (Diş Eti Epitel Hücresi)
 MTT (Metiltiazol difenil tetrazolyum)
 BrdU (5-bromodeoxyuridine)
 UV (Ultraviyole)
 PS (fosfatidilserin)
 FITC (Fluoresan izotiyosiyonat)
 DPBS (Dulbecco's phosphate buffered saline)
 DMEM (Dulbecco'nun Modifiye Eagle Medyumu)
 ALR (Alizarin Red)
 PBS (Phosphate Buffered Saline)

Rpm (devir/dakika)

FBS (Fetal Bovine Serum)

ml (mililitre)

μ l (mikrolitre)

ng (nano gram)

mm^3 (milimetreküp)

mM (milimol)

PI (Propidium İodide)

P0 (0.pasaj)

P1 (1. Pasaj)

P2 (2. Pasaj)

P3 (3. Pasaj)

PDL (Periodontal Ligament)

mRNA (mesajcı Ribo Nükleik Asit)

EI (elektriksel empedans)

BOMP (marjinal sondalamada kanama)

LC50 (yarı letal doz konsantrasyonu)

EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetik Asit)

TCS (Triklosan)

PCR (Polymerase Chain Reaction)

ÖZET

Birant, S. (2019). Çocuk Diş Macunlarının Diş Eti Hücrelerinin Canlılığına ve Mezenkimal Kök Hücrelerinin Farklılaşma Potansiyeline Etkilerinin İn Vitro Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pedodonti ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Amaç: Bu çalışmada, farklı deterjan içeriğine sahip çocuk diş macunlarının diş eti epitel hücrelerinin, diş eti mezenkimal kök hücrelerinin ve periodontal ligament mezenkimal kök hücrelerinin canlılığı, osteojenik ve kondrojenik farklılaşma potansiyeli üzerine etkisinin incelenmesi amaç olarak belirlenmiştir. **Gereç ve Yöntem:** Gömük üçüncü büyük azı dişlerinin cerrahi çekimi sırasında elde edilen diş eti dokusu ve bu dişlere ait PDL dokusundan elde edilen hücrelerin karakterizasyonu yapıldı. 2dk süreyle 4 farklı konsantrasyonda hazırlanan Colgate, Sensodyne, Splat, Nenedent, Perlodent diş macunu solüsyonları ve CDMEM kontrol grubu ile stimüle edilen hücrelerin 3. Gün sonunda Annexin-V ile akım sitometri cihazında canlılığı değerlendirildi. Ayrıca diş macunu solüsyonlarına maruz bırakılan GMKH ve PDLMKH'lerin osteojenik ve kondrojenik farklılaşma potansiyelindeki değişiklikler de morfolojik olarak incelendi. Veriler, IBM SPSS V23 programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. **Bulgular:** Tüm deney gruplarında, konsantrasyon artışına bağlı olarak canlı hücre oranlarında azalma, ölü hücre oranlarında artış saptandı. En iyi canlılık değerleri kontrol grubundan sonra, Splat diş macunu solüsyonlarında saptanırken, canlılık değerlerinin en düşük olduğu grup Colgate grubu olarak belirlendi. Mezenkimal kök hücreler üzerindeki osteojenik farklılaşma potansiyeli en iyi kontrol ve splat grubunda saptanırken, colgate deney grubunda farklılaşmaya uğrayan hücre varlığına rastlanmadı. Kondrojenik farklılaşma potansiyeli üzerindeki etkiler değerlendirildiğinde ise Kontrol, Splat ve Sensodyne deney grubunda farklılaşmış hücre toplulukları tespit edilirken, Perlodent, Nenedent ve Colgate deney grubunda farklılaşmaya uğramış hücre grubuna rastlanmadı. Tüm deneylerde en olumsuz bulgulara Colgate grubunda rastlanırken, bunu Nenedent, Perlodent grupları takip etti. En iyi bulgular ise Kontrol grubundan sonra Splat ve Sensodyne deney gruplarında gözlemlendi. **Sonuç:** Çalışmadan elde edilen bulgular sonucu, SLS içerikli Colgate diş macununun hücrelerin canlılığına ve farklılaşma potansiyeli üzerine olan etkisinin diğer gruplardan daha olumsuz etki yarattığı görülmüştür. Diş macunu deterjan içeriğinin hücreler üzerinde meydana gelen toksik değişiklikler ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: SLS, Deterjan, Hücre canlılığı, Osteojenik farklılaşma, Kondrojenik farklılaşma

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:25696

ABSTRACT

Birant, S. (2019). In vitro investigation of the effects of children's dentifrices on the viability of gingival cells and the differentiation potential of mesenchymal stem cells. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pedodontics. Doctoral Thesis. İstanbul.

Aim: This study aimed to investigate the effect of children's toothpastes with different detergent content on the viability of gingival epithelial cells, gingival and periodontal ligament mesenchymal stem cells, the potential of osteogenic and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. **Material and Methods:** Characterization of the cells obtained from the gingival tissue obtained from the surgical extraction of the embedded third molars and the PDL tissue from these teeth was performed. The viability of the stimulated cells for 2 minutes with Colgate, Sensodyne, Splat, Nenedent, Perlodent toothpaste solutions were prepared in 4 different concentrations and CDMEM control group were evaluated on the flow cytometry device with Annexin-V at the end of the 3rd day. In addition, changes in the osteogenic and chondrogenic differentiation potential of GMCH and PDL-MCHs exposed to toothpaste solutions were also examined morphologically. Data were statistically evaluated using the IBM SPSS V23 program. **Results:** In all experimental groups, there was a decrease in live cell rates and an increase in dead cell rates due to increased concentration. The best cell viability values were determined in Splat's toothpaste solutions after the control group and the group with the lowest viability values was determined in Colgate group. While the best osteogenic differentiation potential on mesenchymal stem cells was determined in the control and Splat group, there was no cell differentiation in the Colgate experimental group. When the effects on the chondrogenic differentiation potential were evaluated, different cell groups were determined in the control, Splat and Sensodyne experimental groups. Perlodent, Nenedent and Colgate experimental group did not find any differentiated cell group. The most negative findings in all experiments were found in the Colgate group, followed by Nenedent and Perlodent groups. The best findings were observed in the Splat and Sensodyne experimental groups after the control group. **Conclusions:** As a result of the findings obtained, it was observed that Colgate toothpaste with SLS content had a more negative effect on the viability of the cells and the potential for differentiation than the other groups. It is thought that the detergent content of toothpaste may be related to toxic changes occurring on cells.

Key Words: SLS, detergent, cell viability, osteogenic differentiation, chondrogenic differentiation

This present work was supported by the İstanbul University Department of Scientific Research Projects. Project No: 25696

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Periodontal hastalıklar ve diş çürüğü yaygın görülen bakteriyel enfeksiyonlardır. Bu hastalıkların en önemli etiyolojik faktörü ise diş yüzeyindeki plak birikimidir. (Sadeghi ve ark. 2009; Prasanth 2011). Bu nedenle bu hastalıkların önlenmesinde dental plağın kaldırılarak oral hijyenin sağlanması kritik bir öneme sahiptir (Nakoneczna-Rudnicka ve ark. 2010). Diş macunları, ağız hijyeninin sürdürülmesinde sıklıkla kullanılan oral hijyen ürünleri arasında yer almaktadır. Diş macunlarının iki temel fonksiyonu dental plağın dişlerden uzaklaştırılmasını ve diş çürüğünün önlenmesini sağlamaktır (Lippert 2013). Diş macunlarının yapısında görevleri birbirinden farklı bileşenler bulunmaktadır (Stovell ve ark. 2013). Aşındırıcılar, nemlendiriciler, deterjanlar, bağlayıcı ajanlar, tatlandırıcılar, terapötik ajanlar, renklendiriciler ve koruyucular diş macunları içerisinde en sık kullanılan bileşenler arasındadır (Davies R ve ark. 2010).

Diş macunları bileşenleri arasında silika, alüminyum hidroksit ve kalsiyum karbonat gibi aşındırıcılar dental plağın kaldırılmasından sorumlu olarak, en sık kullanılan terapötik ajan olan florür ise diş çürüğünden korunmadan sorumlu olarak yer almaktadır (Lippert 2013).

Deterjanlar ise köpürmeyi desteklemek amacıyla diş macunları içerisinde yer almaktadır (Cvikl ve ark. 2015). Köpürtücü etkilerinin yanı sıra diş macunlarının intraoral dağılımına da katkı sağlamaktadırlar. Ayrıca dental plağın inhibisyonunda da rol aldıkları belirtilmektedir (Buma ve ark. 2006;). Deterjanlar sürfaktanlar olarak da adlandırılıp hidrofilik kısımlarının kimyasal yapısına göre anyonik, katyonik, noniyonik ve amfoterik olarak sınıflandırılmaktadır. Anyonik ve katyonik grupta olan sürfaktanların amfoterik ve noniyonik gruba göre daha tahriş edici özellikte olduğu bildirilmektedir (Lippert 2013; Cvikl ve ark. 2015).

Sürfaktanlar genellikle % 0,5 konsantrasyondan % 2 konsantrasyona kadar diş macunları içerisinde kullanılmaktadır (Herlofson ve Barkvoll 1996). Bir kaç farklı deterjan türeği hem maliyetinin düşük olması hem de tatlarının hastalar tarafından daha iyi tolere edilmesi nedeniyle diş macunu üreticileri tarafından sıklıkla tercih edilmektedir (Shah ve ark. 2012; Smulders ve ark. 2002).

Diş macunları içerisinde en sık kullanılan sürfaktan anyonik sürfaktan grubuna ait olan sodium lauryl sulfate (SLS)'dir. Sıklıkla kullanılan diğer anyonik sürfaktanlar ise sarcosinate grubuna ait olan sodium lauryl sarcosinate ve sodium cocoyl sarcosinate'dır (Lippert 2013).

Amfoterik sürfaktanların en önemli grubu amidopropyl betaine sınıfıdır. Ayrıca bu grubun içerisinde de özellikle cocoamidopropyl betaine (CAPB) bileşimidir. Hafif doğası ve toksik etkilerinin olmaması nedeniyle genellikle çocuklar için olan kişisel bakım ürünlerinde yaygın olarak bulunmaktadır (Herrwerth ve ark. 2008). Özellikle antibakteriyel ve antiplak etkileri ile bilinen triklosan ve diş macunları içinde köpürtücü olarak yaygın kullanılan sodium lauryl sulfate'ın (SLS) oral mukozadaki istenmeyen etkileri çalışmalarda gösterilmiştir (Ghapanchi ve ark. 2015; Skaare ve ark.1997).

Sodium lauryl sulfate insan oral mukoza bariyer özelliklerini in vivo ve in vitro olarak değiştirebilmekte, aynı zamanda gingival kan akımını arttırabilmektedir (Healy ve ark. 2000). SLS içeren diş macunlarının diğer diş macunlarına oranla daha fazla sıklıkta aftöz ülserlere sebebiyet verdiği belirtilmiştir (Shim ve ark. 2012). İn vitro çalışmalarda SLS'nin TERT-1 keratinositler, insan oral epitel hücreleri ve gingival fibroblastlar gibi oral mukozal hücrelerin canlılığını azalttığı gösterilmiştir (Cvikl ve ark. 2015; Moore ve ark. 2008).

Bu çalışmada, farklı deterjan içerikli çocuk diş macunlarının insan primer diş eti epitel hücrelerinin, diş eti mezenkimal kök hücrelerinin ve periodontal ligament kök hücrelerinin canlılığına etkilerinin incelenmesinin yanısıra, mezenkimal kök hücrelerin osteojenik ve kondrojenik farklılaşma potansiyeli üzerine etkilerinin incelenmesi amaç olarak belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dental Plak

Dental plak, diş yüzeyleri üzerinde biriken, yüzden fazla bakteri türünden oluşan, deskuamasyona uğramış epitel hücrelerini, tükürük glikoproteinlerini, lökositleri, makrofajları ve gıda artıklarını içeren dinamik bir biyofilm ekosistemi olarak tanımlanmaktadır (Çoğulu ve ark. 2009; Rosan ve Lamont 2000; Takeshita ve ark. 2015). Diş yüzeyleri üzerindeki dental plağın formasyonu incelendiğinde normalde mine ve sementin pelikül adı verilen bir tabaka ile örtülü olduğu görülmektedir (Türkmen ve ark. 2016). Pelikül, tükürük glikoproteinlerinin diş veya yumuşak dokulara tutunmasıyla oluşan; su ile uzaklaştırılamayan, diş fırçalama gibi mekanik işlemlerle ağız ortamından uzaklaştırılabilen ancak uzaklaştırıldıktan çok kısa süre sonra tekrar oluşabilen ince bir protein tabakasıdır (Özkoçak ve ark. 2017). Diş yüzeylerinden mikroorganizmaların ve organik materyallerin kaldırılmasından sonra tükürük içerisindeki komponentlerin seçici olarak çökmesiyle oluşan organik ve hücreli bir film tabakası olan pelikülün, diş minesini asit ataklarına karşı korumak, remineralizasyon prosesi sürecinde florür rezervuarı için matriks sağlamak, oklüzal temaslardaki diş grupları arasındaki sürtünmeyi azaltmak gibi çeşitli biyolojik yararları bulunmaktadır (Kolenbrander 2000; Yalçın Çakır ve ark. 2010; Cameron ve Widmar 2008 p. 39). Ancak bu olumlu fonksiyonlarının yanı sıra bazı spesifik mikroorganizmaların diş yüzeyine tutunmasını sağlamakta ve diş yüzeyine kolonize olan mikroorganizmalar için besin kaynağı olarak da görev yapmaktadır (Yalçın Çakır ve ark. 2010; Cameron ve Widmar 2008 p. 40).

2.1.1. Dental Plak Oluşum Mekanizması

Diş yüzeyleri üzerine pelikül adı verilen ince, düz, renksiz, hücreli film tabakasının yapışması dental plak oluşum aşamasının erken evresini oluşturmaktadır. Pelikül üzerine yapışan öncü dominant bakteriler streptokok türleri olup bunu actinomyces türleri izlemektedir (Rosan ve Lamont 2000; Foster ve Kolenbrander 2004). *S. sanguis*, *Actinomyces naeslundii*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces viscosus* gibi türler üstün bağlanma kapasiteleri nedeniyle pelikül tabakasına bağlanan öncü spesifik bakteriler arasında yer almaktadır. Bu bağlanma güçlü bir bağlanma olmayıp,

bakterilerin pelikıldan kolay bir şekilde ayrılması ile geri dönüşümlü bir bağlanma olarak tanımlanmaktadır. Pelikıl tabakasına bu öncü mikroorganizmaların yapışması ile dental plak oluşumunun ikinci aşaması başlamaktadır (Huang ve ark. 2011; Kolenbrander ve ark. 2002). Yapışan bu mikroorganizmaların çoğalması ile bakteri popülasyonu büyümekte ve diş yüzeylerine yayılarak plağın yerleşik elemanlarını oluşturmaktadırlar (Bernimoulin 2003; Ximenez-Fyvie ve ark. 2000). İlk bakteri kolonizasyonundan sonra ekstrasellüler polisakkarit üretimi başlamakta, yeni bakteriler ilk kolonize olan öncü bakterileri hücre zarlarındaki polisakkarit ve protein reseptörlerinden tanıyıp, plak yüzeyine tutunarak plak yapısına eklenmektedir (Foster ve Kolenbrander 2004; Kolenbrander ve ark. 2002). Bu mikroorganizmaların çoğalıp diş yüzeylerine yayılmasıyla bakteri plağı giderek olgunlaşmakta, plak mikroflorasındaki çeşitlilik artmakta olup plağın ekolojik olarak bu şekilde gelişmesi sonucu diş çürüğü ve periodontal hastalıkların oluşmasından sorumlu tutulmaktadır. Plağın erken evreleri genellikle patolojik olmamakla birlikte, gelişen bakteri topluluğu ve çeşitliliği ile olgunlaşan plak patolojik potansiyele sahip olmaktadır (Allison 2003; Türkmen ve ark. 2016; Yalçın Çakır ve ark. 2010).

2.1.2. Dental Plağın Mikrobiyal Kompozisyonu ve Formasyon Fazları

Plak oluşum mekanizmasının başlangıcında sağlıklı diş eti yüzeyinde çok az sayıda bakteri bulunmaktadır. Ağız hijyeni ihmal edildiği zaman plak mikroflorasındaki çeşitlilik artmakta ve plağın yapısının değişmeye başladığı gözlenmektedir.

Plak formasyonu 3 farklı fazdan oluşmaktadır.

I. Faz: Plak birikimini takip eden ilk iki gün içerisinde plağın gelişmesiyle I. faz plak formasyonu oluşmaktadır. 24 saatten 48 saate kadar olan sürede gingival marjinlerdeki plak şekillenmeye devam etmektedir ve plak içerisinde gram (+) kok ve basiller dominant hale gelmektedir.

II. Faz: Bu fazda plağın gelişmesiyle küçük plak kolonileri meydana gelmektedir. *Actinomyces viscosus* gibi gram (+) basiller ile *Neisseria* ve *Veillonella* türlerini içeren gram (-) kokların sayısında artış gözlenmektedir. 2, 3 ve 4. günlerden sonra plak kalınlığında ilk iki gün ile karşılaştırıldığında aşırı bir artış olmaktadır. Bu artış ile beraber plak olgun hale gelmekte ve farklı mikroorganizmalar arasında homeostaz kurulmaktadır.

III. Faz: 5 ile 7. günde plak subgingival olarak gelişmeye başlamakta, bakteri ve bakteri ürünlerinin de bu bölgeye nüfuz ederek diş eti cebinde dolaşabilecek hale geldiği görülmektedir (Kinane 2001; Ximenez-Fyvie ve ark. 2000). *Porphyromonas gingivalis* (P. gingivalis), *Fusobacterium nucleatum* (F. nucleatum), *Prevotella intermedia* (P. intermedia) gibi bakteri türleri bu aşamada pelikül üzerinde bulunan diğer bakterilere tutunarak sekonder kolonizasyonu ve plağın olgunlaşmasını sağlamaktadır (Peterson ve ark. 2014; Takeshita ve ark. 2015).

2.2. Diş Çürüğü

Dişlere kolonize olan oral bakteriler, konakçı savunmasıyla denge durumunda olan ve genellikle diş dokularının bütünlüğüyle uyum sağlayan diş biyofilm topluluğu olarak da adlandırılan dental plağı oluşturmaktadır (Marsh 2006).

Diş dokuları üzerindeki çürük lezyonların gelişimi, diyet ile alınan karbonhidratların bakteriyel fermentasyonu sonucu üretilen asitlerin diş dokularının inorganik kısımlarının demineralizasyonunu etkilediği dinamik bir biyolojik işlemi içermektedir. Asit atakları devam ettikçe, asit toleransı yüksek olan mikroorganizmalar ortaya çıkmakta ve pH dengesini bozarak demineralizasyon-remineralizasyon siklusünde demineralizasyonun üstün gelmesine neden olmaktadır. Bu durum, dişin mineral yapısı ve oral mikrobiyal biyofilm arasındaki fizyolojik denge bozulduğu için dişin mineral içeriğinin kaybına neden olmaktadır (Bradshaw ve Marsh 1998; Van Ruyven ve ark. 2000).

Diş yüzeylerindeki dental plakta bulunan mikroorganizmalar karbonhidrat fermentasyonu sonucu laktik asit, asetik asit, propiyonik asit gibi yan ürün olan organik asitler üretebilmektedirler. Bu organik asitler normal şartlarda 7.0 olan pH değerinin, kritik pH değeri olan 5.5'in altına düşmesine neden olmaktadır. Düşen pH değeri ile birlikte diş minesinin inorganik kısmının büyük çoğunluğunu oluşturan hidroksiapatit kristallerinden kalsiyum ve fosfat iyonlarının çözünmesiyle diş dokularında demineralizasyon süreci başlamaktadır. Ancak düşen pH değerinin yükselmesini sağlayacak şartlar var olduğunda çözünen mineral tekrar diş yüzeyinde çökelebilmekte ve bu da remineralizasyon sürecini oluşturmaktadır. Diş çürüğü mekanizması demineralizasyon ve remineralizasyon süreçleri arasındaki dengeye bağlı olarak gelişmektedir (Yalçın Çakır ve ark. 2010; Caufield ve ark. 2005; Garcia-Godoy ve Hicks 2008; Matsui ve Cvitkovitch 2010; Touger-Decker ve Van Loveren 2003).

2.2.1. Diş Çürüğü Etiyolojisi

Diş çürüğü pek çok faktörün neden olduğu multifaktöriyel bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Çürük oluşumu için konak (diş), çürük yapıcı mikroflora (*Streptococcus mutans*, *Laktobasiller* gibi), fermente olabilen karbonhidratlar ve zaman gerekmektedir. Bunların dışında dental plak formasyonunu hızlandıran ya da yavaşlatan, dental plaktaki asit üretiminin şiddetini etkileyen, tükürük, diş morfolojisi, ağız hijyeni, beslenme alışkanlıkları, immün sistem, eğitim seviyesi, yaşam tarzı, sosyoekonomik durum ve florür kullanımı (F) çürük oluşum mekanizmasını dolaylı olarak etkileyen ikincil faktörler olarak belirtilmektedir (Harris ve ark. 2004; Richards ve ark. 2017; Pretty ve ark. 2003; Touger-Decker ve Van Loveren 2003).

2.3. Diş Çürüğü ve Dental Plak İlişkisi

Dental plak, tükürüğün yıkayıcı ve tamponlayıcı etkisini azaltmasının yanı sıra içerisinde asidojenik mikroorganizmaları bulundurması ve diş dokularının uzun süre oluşan asitle etkileşime girmesine izin vermesinden dolayı diş çürüğünün başlamasında rol alan faktörlerin başında gelmektedir (Wang ve ark. 2018). Ayrıca diş çürüğü oral kavitenin biyofilm kaynaklı enfeksiyöz hastalığı olarak tanımlanmaktadır (Ahn ve ark. 2018; Pitts ve ark. 2017).

Diş dokuları üzerinde seçici adsorbsiyon ile çökelmiş olan tükürük proteinleri ve glikoproteinler organik bir birikim olan pelikül oluşturmaktadır. Oluşan bu membran 0,1-1,0 milimetre (mm) kalınlığa sahip olup, ağız sıvılarında çözünmemektedir. Temizlenen diş yüzeylerine tükürük yapısında bulunan müsin proteinlerin çökmesiyle hızlı bir şekilde oluşmaktadır (Hicks ve ark. 2003). İçerisinde IgA, amilaz, lizozim, histatin, sistatin, statherin, bakteri türevli glokozil transferazlar ve prolinden zengin proteinler bulunmaktadır. Pelikül, mine yüzeyinin korunması ve remineralizasyonun sağlanmasında çeşitli mekanizmalarla birçok biyolojik yararlar sahiptir. Ancak bu olumlu özelliklerinin yanı sıra pelikül, ağızda bulunan mikroorganizmaların diş yüzeylerine elektrostatik, hidrofobik iyon ve van der Waals kuvvetleri ile tutunmasında etkili olmaktadır. Bakterilerin bu pelikül tabakasına tutunması ve tükürükteki diğer bakteriler ile proteinlerin çökmesi ile birlikte plak kalınlığı ve kitlesinde artış olmaktadır. Plakın ilk bileşeni fizyolojik olarak oluşan müsin tabakasıdır. Bunun

ardından oluşan ikincisi ise bakterilerin çökmesi ile meydana gelen patolojik özellik taşıyan mikrobiyal bileşendir (Lenander-Lumikari ve Loimaranta 2000; Hicks ve ark. 2003). Bu durum plağın iki bileşeni olduğunu ortaya koymaktadır. Yeni bakterilerin mikrobiyal bileşene adhezyonu sonucu plak mikroflorasındaki çeşitlilik artmakta, geç dönem bakteri kolonizasyonunun gerçekleşmesi ile stabil biyofilm tabakası oluşmaya başlamaktadır (Garcia-Godoy ve Hicks 2008). Biyofilm içinde yer alan bakterilerin karbonhidrat metabolizması sırasında asit üretimi, laktat dehidrogenazın (LDH) kritik olarak rol aldığı ana virülans faktörlerden biridir (Banas 2004; Beloin ve Ghigo 2005). Bir başka virülans faktör de bu bakterilerin glikozil transferaz (GTF) üretebilme kapasiteleridir (Paes Leme ve ark. 2006). Bu enzim sayesinde bakteriler sükrözdan intrasellüler polisakkarit (IPS) ve ekstrasellüler polisakkarit (EPS) sentezini katalize etmektedirler (Banas 2004; Lemos ve Burne 2008; Bowen ve Koo 2011). Ekstrasellüler polisakkaritlerden (EPS), özellikle suda çözünmeyen glukanlar biyofilm oluşumuna ve biyofilmin yapısal bütünlüğüne önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Ayrıca glukanlar sayesinde bakterilerin dış yüzeyine yapışması ve bakteriler arasındaki adezyon sağlanmaktadır (Ahn ve ark. 2018). Bu nedenle biyofilm içerisindeki bakterilerin karyojenik virülans faktörlerinin baskılanması için dental plağın dış yüzeylerinden uzaklaştırılması diş çürüğünün önemlenmesinde en etkili yaklaşım olarak görülmektedir (Garcia-Godoy ve Hicks 2008; Bowen ve Koo 2011, Wang ve ark. 2018).

2.4. Plak Kontrolü

Diş çürüğü ve periodontal hastalıkların etiyolojisi birçok faktöre bağlı olmakla birlikte, dental plak diş çürüğü ve periodontal hastalıkların gelişiminde önemli bir etken olarak kabul edilmektedir. Bazı literatürlerde ana faktörün dental plakta bulunan bakteriler olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle bu hastalıkların prevelansının azaltılmasında koruyucu önlemler esas alınarak dental plağın elimine edilmesi veya azaltılması üzerine odaklanılması gerekmektedir (Walsiluk 2017; Sakanaka ve ark. 2017).

Dental plağın birikiminin önlenmesi ve diş yüzeylerinden uzaklaştırılması diş hekimliği koruyucu tedavilerinin en önemlisi olmaktadır. Etkili plak kontrol yöntemleri, diş çürüklerinin ve periodontal hastalıkların önlenmesinde önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Günümüzde kimyasal ve mekanik yöntemler gibi çeşitli plak kontrol yöntemleri mevcut olmasına karşın plağın uzaklaştırılmasındaki en etkili yöntemin

mekanik yöntem olduğu vurgulanmaktadır. Mekanik temizleme ile fermentasyona elverişli maddeler ağızdan uzaklaştırılabilmekte ve bakteri sayısının artmasının önüne geçilebilmektedir. Bireysel mekanik plak kontrolünde en sık kullanılan ağız bakım ürünleri diş fırçası ve diş macunlarıdır (Claydon 2008; Trubey ve ark. 2014). Bireylerin günlük yaşamlarında kullandıkları diş fırçalama alışkanlıkları plağın uzaklaştırılmasında ve plak kontrolünün sağlanmasında kullanılan en etkili ve en güvenli yöntem olarak bilinmektedir (Deery ve ark. 2004; Wilder ve Bray 2016). Diş fırçalama alışkanlıkları dental plağın uzaklaştırılarak toplumun ağız hijyeninin sağlanmasında birincil yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (Deery ve ark. 2004).

2.5. Diş Macunları

Diş macunları uzun yıllardır kullanılan ve ağız diş sağlığının oluşumunda önemli role sahip olan maddelerdir. Diş yüzeylerinin etkin şekilde temizlenmesinde diş fırçaları ile birlikte kullanılan jel ya da macun kıvamındaki maddeler olarak tanımlanmaktadır (Addy ve Hunter 2003).

Diş macunlarının bireysel günlük kullanımda en etkili terapötik ve kozmetik ajanlardan oldukları ve tüketiciler tarafından yaygın şekilde kullanıldıkları bildirilmektedir (Harris ve ark. 2004).

1857 yılında ilk diş fırçasının geliştirilmesinden sonra ticari diş macunlarının gelişimi sağlanmıştır. İlk üretilen ve diş temizlik tozu olarak adlandırılan diş macunlarında su, tatlandırıcı ve köpürtücü ajan olmak üzere sadece 3 bileşen kullanılmıştır. Daha sonra bu bileşenlere farklı bileşenler eklenerek içerikleri zenginleştirilmeye çalışılmıştır (Harris ve ark. 2004; Cury ve Tenuta 2014). Bu bileşenlerin diş macunları yapısındaki varlığı veya bulundukları konsantrasyondaki farklılıkların istenmeyen bazı yan etkilere neden olabileceği bildirilmektedir (Addy ve Hunter 2003).

2.5.1. Diş Macunlarının Yapısı

Diş çürüğü ve diş eti hastalıklarının önlenmesinde dental plağın diş yüzeylerinden uzaklaştırılıp, streptococcus mutans gibi karyojenik bakterilerin azaltılmasında ve böylece oral hijyenin sağlanmasında en sık kullanılan antimikrobiyal ağız bakım ürünleri diş macunlarıdır (Addy ve Hunter 2003; Seow ve ark. 2003). Diş macunları dental plak oluşumunu en aza indirmenin yanı sıra diş yapısının çürüğe

karşı güçlendirilmesinde, bakteri son ürünlerinin sebep olduğu yeşil ve/veya sarıdan siyaha kadar olan renklemelerin dışında, yiyecek ve içeceklerin sebep olduğu renklemelerin de kaldırılmasında rol oynamaktadır (Harris ve ark. 2004). Diş macunları günlük bireysel kullanımlarda bu faydaları sağlarken, oral dokulara zarar vermeden maksimum temizlik sağlamalı, oral mukoza üzerinde fırçalama sırasında yan etkiler yaratmamalıdır (Moore ve Addy 2005).

Diş macunlarının yapısında her birinin etkisi ve görevi farklı olan birçok bileşen bulunmaktadır (Stovell ve ark. 2013). En sık kullanılan bileşenler aşındırıcılar, nemlendiriciler, deterjanlar, bağlayıcı ajanlar, tatlandırıcılar, terapötik ajanlar, renklendiriciler ve koruyucular (Tablo 2-1) olarak sıralandırılabilmektedir (Davies R ve ark. 2010). Bu komponentlerin bazılarının varlığının ya da diş macunları içerisindeki konsantrasyonlarının istenmeyen yan etkilere sebebiyet verdiği ve oral dokularda irritasyon yaratabileceği bildirilmiştir (Barbier ve ark. 2010; Cury ve Tenuta 2014).

Tablo 2-1: Diş macunu yapısındaki bileşenler

<i>Diş macunu içerisindeki bileşenler</i>	<i>%</i>
Aşındırıcılar	20-40
Su	20-40
Nemlendiriciler	20-40
Deterjanlar	1-2
Bağlayıcı Ajanlar	2
Tatlandırıcılar	2
Terapötik Ajanlar	5
Renklendiriciler ve Koruyucular	1

2.5.1.1. Aşındırıcılar

Diş lekelerini çıkarmada fiziksel yolla fonksiyon gören bileşenlerdir. Diş kaynaklı diş renklemelerinin kontrolünde kullanılmaktadır. Diş macunu yapısında sıklıkla kullanılan aşındırıcılar kalsiyum karbonat, sodyum bikarbonat, silika, alümina dikalsiyum fosfat dihidrattır (Souza Rodrigues ve ark. 2015).

2.5.1.2. Nemlendiriciler

Diş macunu yapısında oluşabilecek nem kaybını önlemektedirler. Böylece macunun sertleşme riskinin önüne geçilmiş olur ve ağızda daha iyi hissedilmesini sağlamaktadır. Sorbitol, gliserin, mannitol ve propilen glikol en yaygın kullanılan nemlendiriciler olarak bilinmektedir. Nemlendiriciler varlığında küf ve bakterilerin üremesi söz konusu olabileceğinden yapıya koruyucu bileşenlerin eklenmesi gerekmektedir (Forward ve ark. 2000; Harris ve ark. 2004).

2.5.1.3. Bağlayıcılar

Diş macunu kıvamını ve stabilitesini kontrol etmeyi, diş macununun ağız ortamında kolay bir şekilde dağılmasını sağlamaktadırlar. Sıklıkla kullanılan bağlayıcılar carrageenates, sodyum karboksimetilselüloz, aljinat, sodyum magnezyum silikat, magnezyum alüminyum silikat, kolloidal silika olarak bildirilmektedir (Dağ ve Özalp 2013).

2.5.1.4. Tatlandırıcılar

Diş macunu yapısına kullanım sırasında ağızda ferahlık, tazelik hissi bırakması için tatlandırıcılar ilave edilmektedir. Sakkarin diş macunu yapısına en sık eklenen tatlandırıcı olmakla birlikte nane, limon, anason, okaliptüs gibi tatlandırıcılar da diş macunu yapısına katılmaktadır (Stovell ve ark. 2013).

2.5.1.5. Terapötik Ajanlar

Diş macunlarının yapısına pek çok farklı terapötik ajan eklenebilmektedir. Bu ajanlar şu şekilde sınıflandırılabilir:

- Çürük önleyici ajanlar,
- Plak oluşumunu önleyen, antibakteriyel özelliğe sahip ajanlar,
- Diş taşı oluşumunu azaltıcı ajanlar,
- Hassasiyet giderici ajanlar,
- Beyazlatıcı ajanlar (Forward ve ark. 2000).

2.5.1.6. Renklendirici ve Koruyucular

Renklendiricileri diş macununa mavi, yeşil ve beyaz rengi veren maddeler olarak bilinmektedir. Özellikle titanyum dioksit ile diş macunlarına beyaz renk verilmektedir.

Diş macunu içerisindeki koruyucu maddeler, organik bağlayıcılar ve nemlendiricilerin üzerinde bakteri büyümesini engellemek amacı ile eklenen alkol, benzoat, formaldehit ve iki klorürlü fenol türü maddelerdir (Dağ ve Özalp 2013).

2.5.1.7. Sabunlar ve Deterjanlar

Diş macunları dişleri temizlemek için kullanıldığından sabunlar da temizleme ajanı olarak diş macunlarına ilave edilmiştir. Diş fırçası ile diş fırçalama sırasında sabunların köpürücü etkisi yardımı ile debris ve plağın diş yüzeyinden uzaklaştırılması sağlanmıştır. Ancak sabunların bazı dezavantajları olduğu bildirilmiştir. Bu dezavantajlar; müköz membranı irrite etmeleri, tatlarının maskelenmesinin zor olması nedeniyle sıklıkla mide bulantısına sebep olmaları ve diş macunu içerisinde bulunan kalsiyum gibi maddelerle uyumsuz olmaları şeklinde bildirilmektedir (Dağ ve Özalp 2013).

Sabunlar dezavantajlarından dolayı diş macunlarının içerisinde çıkarılmış yerini deterjanlar almıştır. Deterjanlar köpürtücü etkilerinin yanı sıra antibakteriyel ve plak önleyici etkilerinden dolayı diş macunlarında kullanılmaktadır (Buma ve ark. 2006).

Deterjanların Tanımı ve Kimyasal Özellikleri

Deterjanlar, yüzey gerilimini azaltan yüzey aktif maddeler olarak da adlandırılan maddelerdir. Suda veya sulu bir çözelti içerisinde çözündüğünde yüzey gerilimini etkileyen (çoğunlukla azaltan) kimyasal bileşiklerdir. Yüzey aktif maddenin ingilizce karşılığı olan **surface active agent** sözcüklerinin harflerinden oluşan bir kısaltma olan **surfactant (sürfaktan)** kelimesi de yüzey aktif madde yerine kullanılmaktadır (Chambers 2007 pp. 803-811; Özyurt 2005 pp. 180-199).

Bu maddeler kimyasal olarak hidrofilik ve hidrofobik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Uzun hidrokarbon zinciri molekülün suyu sevmeyen (hidrofobik) apolar kısmını oluştururken aynı zamanda moleküle yüzey aktif özelliği de sağlamaktadır.

Polar grup ise molekülün suyu seven (hidrofilik) kısmını oluşturmakta ve suda çözünmeyi sağlamaktadır (Ananthapadmanabhan ve ark. 2004; Chambers 2007 pp. 803-811; Özyurt 2005 pp. 180-199).

Bu polar ve apolar grupların bileşimi amfifil olarak tanımlanmaktadır. Amfifil yapının sayesinde sürfaktanlar hem polar hem de apolar çözücülerde çözünmektedirler. Bu özellikleri sayesinde katı-sıvı veya sıvı-sıvı arasındaki yüzey gerilimini azaltıcı etkiye sahip olmaktadır. Deterjanlar bu kimyasal özelliklerinden dolayı polar kısımları ile su moleküllerine tutunurken, apolar kısımları ile kirlere tutunarak kirlerin ortamdan uzaklaştırılmasını sağlamaktadırlar (Schramm 2000 pp. 5-16; Walters ve ark. 1993).

Deterjanların Sınıflandırılması

Deterjanlar hidrofilik (suyu seven) gruplarının yükleri açısından, molekülün yüzey aktif kısmıyla taşınan yüke göre anyonik (negatif yüklü), katyonik (pozitif yüklü), amfoterik (aynı molekülde hem negatif hem pozitif yük) ve non-iyonik (iyonik olmayan), olarak sınıflandırılmaktadırlar (Effendy ve Maibach 1996).

➤ Anyonik Yüzey Aktif Maddeler

Anyonik sürfaktanlar; sülfat, sülfonat, fosfat ya da karboksilat gibi anyonik bir grup içeren bileşikler olarak belirtilmektedirler. Suda çözündüklerinde hidrofilik grup negatif yük taşımaktadır. Köpürme ve temizleme yetenekleri yüksek olduğu için temizleyici ajanlarda sıklıkla kullanılmaktadırlar. Temizleyici ajanlar dışında kişisel bakım ürünlerinde, şampuanlarda, duş jellerinde, makyaj temizleme solüsyonlarında, yüz yıkama jellerinde ve diş macunlarının çoğunda bulunan bileşiklerdir (Shah ve ark. 2012; Smulders ve ark. 2002 pp. 38-98).

Düşük üretim maliyetine sahip olmaları nedeniyle yüzey aktif maddelerin % 49'unu oluşturmaktadırlar. Anyonik yüzey aktif maddeler önemli biyolojik aktiviteler göstermektedirler. Nişasta, proteinler, peptitler ve DNA gibi çeşitli biyolojik olarak aktif makromoleküllere bağlanarak ya da çeşitli hücre öğelerinin (fosfolipit hücre zarları gibi) içerisine girerek bu hücrel yapıların fonksiyonlarını yerine getirememelerine neden oldukları belirtilmektedir (Marques ve ark. 2000; Nielsen ve ark. 2000).

Kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde sıklıkla kullanılan anyonik yüzey aktif maddeler;

- Ammonium lauryl sulfate
- Sodium lauryl sulfate (Sodium dodecyl sulfate (SDS))
- Sodium laureth sulfate (Sodium lauryl ether sulfate (SLES))
- Sodium myreth sulfate
- Dioctyl sodium sulfosuccinate
- Sodium dodecyl benzene sulfonate
- Potassium lauryl sulfate
- Sodium stearate (Sodium octadecanoate)
- Sodium lauryl sarcosinate
- Sodium C12-14 olefin sulfonate
- Sodium C14-16 olefin sulfonate
- Sodium C14-18 olefin sulfonate
- Sodium C16-C18 olefin sulfonate

➤ **Katyonik Yüzey Aktif Maddeler**

Suda çözündüklerinde hidrofilik grup pozitif yük taşımaktadır. Katyonik sürfaktanlar kir tutma kapasiteleri zayıf ve pahalı maddelerdir. Anyonik aktif maddeler ile bir arada kullanılamazlar çünkü birbirlerini nötralize etmektedirler. Katyonik yüzey aktif maddeler dezenfektan özellik göstermektedirler.

Antiseptik ve dezenfektan olarak katyonik deterjanların en çok kullanılanları aşağıda belirtilmektedir (Söğüt 2013).

- Benzalkonyum klorür
- Setrimid
- Setrimonyum bromür
- Setilpridinyumklorür

Antiseptik olarak mukoza ve cilt üzerine, mesane, vajina ve diğer vücut boşlukları irrigasyonunda, yanık tedavisinde ve peritonit tedavisinde, ağız ve el antisepsisinde kullanılmaktadırlar (Söğüt 2013).

Aynı zamanda dezenfektan olarak iyi bir temizlik ajanı olan katyonik deterjanlar, hastane ortamında kritik olmayan (sağlam deri ile temas eden) araçların dezenfeksiyonunda kullanılabilmektedirler (Özbakkaloğlu 2003).

Katyonik yüzey aktif maddeler düşük konsantrasyonlarda bakteriyostatik, fungostatik ve sporastatik etki gösterirken yüksek konsantrasyonda ise bakterisid etki oluşturmaktadırlar (Söğüt 2013; Chambers 2007 pp. 803-811). Konsantrasyon artışına bağlı olarak bakteri hücrelerinde glukoz ve laktoz metabolizmasının inhibe olmasına, yapısal proteinlerin bozulmasına, metabolik bozukluklara, enzim inaktivasyonuna ve çok yüksek konsantrasyonlarda proteinlerin denatüre olmasına neden olmaktadır. Protein ve nükleik asitleri degrade etmekte ve sonucunda otolitik enzimler tarafından hücre lizisi meydana gelmektedir. Kısacası bakteri yapısını ve membran bütünlüğünü bozmaktadırlar (Chambers 2007 pp. 803-811; Gordin ve ark. 2005; Söğüt 2013; Özyurt 2005 pp. 180-199; Rutala ve Weber 2001).

Antimikrobiyal etki spektrumlarına bakıldığında bakteriler, virüsler, mantarlar ve algelere etkili olduğu görülmektedir. E. coli, Pseudomonas gibi gram negatif bakterilere zayıf olarak etki göstermektedirler. Gram pozitif bakteriler üzerine gösterdikleri etki gram negatif bakterilere olan etkilerden daha güçlü olmaktadır. Antimikrobiyal olarak kullanılan kimyasal ajanlardan olan düşük alkol konsantrasyonları ile karşılaştırıldığında onlar gibi 'tüberkülosidal' etkiye sahip oldukları ancak tek başlarına 'tüberkülosid' etkilerinin bulunmadığı gösterilmiştir. Bu bileşikler germinasyonu değil sporulasyonu etkilediklerinden dolayı sporasidal değil sporastatik etkiye sahip olmaktadır (Söğüt 2013; Chambers 2007 pp. 803-811; Gordin ve ark. 2005; Özbakkaloğlu 2003; Özyurt 2005 pp. 180-199; Rutala ve Weber 2001).

Kandida türleri dışında diğer mantar türlerine olan fungistatik etkinliklerinin fazla olmadığı belirtilmiştir. Vaccinia, adenovirüsler ve herpes simplex gibi lipofilik (zarflı) virüsleri inaktive etmelerine rağmen, hidrofilik (zarfsız) virüslere etkili olmadıkları bildirilmektedir (Söğüt 2013; Özyurt 2005 pp. 180-199).

Katyonik deterjanlardan ticari olarak ilk kullanıma giren ve en sık kullanılan benzalkonyum klorür'dür. Benzalkonyum klorür, kanıtlanmış antimikrobiyal etkinliği nedeni ile oftalmik ürünlerde koruyucu olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (McLachlan ve Marangoni 2006).

Setilpridinyum klorür % 0,05 veya 0,1'lik konsantrasyonlarda, cilt solüsyonu veya ağız yıkama suyu ya da pastil şeklinde antiseptik olarak kullanılmaktadır. Gingivitis tedavisinde ve dişlerde plak oluşumunun engellenmesi için setilpridinyum solüsyonları oral olarak uygulanmaktadır (Söğüt 2013).

➤ **Amfoterik Yüzey Aktif Maddeler**

Hidrofobik hidrokarbon zincirine hem pozitif hem de negatif yüklü grup içeren hidrofilik grup bağlanmıştır. Anyonik grup olarak karboksilat veya fosfat gruplarını, katyonik grup olarak amino veya kuarterner amonyum gruplarını içeren bileşiklerdir. pH'ya duyarlı amfoterik yüzey aktif maddeler, yüksek pH'larda anyonik özelliklere, düşük pH'larda ise katyonik özelliklere sahip olmaktadır. Amfoterik yüzey aktif maddelerin anyonik yüzey aktif maddelerin deterjan özelliklerine ve katyonik yüzey aktif maddelerin dezenfektan özelliklerine sahip olduğu bildirilmektedir. Asidik ortamda katyonik, bazik ortamda anyonik olarak hareket ederler (Schnuch ve ark. 2011).

Amfoterik sürfaktanlar biyoyoumlulukları ve tahriş edici özelliklerinin az olması sayesinde yapılan akademik çalışmalarda ilgi odağı olmuşlardır (Nicander ve ark. 2003). Anyonik ve katyonik kısımların molekülde denge halinde olduğu durumlarda deriyi tahriş edici ve göz yakıcı özellikleri bulunmamaktadır. Bu nedenle özellikle şampuanlarda ve deriyi koruyucu preparatlarda kullanılmaktadırlar (McLachlan ve Marangoni 2006).

Kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde sıklıkla kullanılan anyonik yüzey aktif maddeler;

- Amidodimethyl betaine
- Cocoamidopropyl betaine
- C₈-C₁₆ amido betaine
- Cocobetaine

- Lauryl amidopropyl betaine
- Acetic acid betaine

➤ **Non-İyonik Yüzey Aktif Maddeler**

Molekülün hidrofilik kısmı iyonik yüke sahip olmamaktadır. Sulu ortamda çözündükleri ve dağıldıkları zaman yüklü tanecik oluşturmamaktadırlar. Hidrofilik eğilimleri, su molekülleri ile hidrojen bağı yapıp yapmadıklarına bağlı olmaktadır. Uzun bir hidrofobik alkil grup ile yüksek polariteli nötral grup veya grupların birleştirilmesiyle oluşurlar (Merta ve Stenius 1999).

Bu grupta en geniş kullanım alanı olan maddeler alkol etoksilatlarıdır. Örnek olarak;

- Sodyum dodesil sülfat (SDS),
- Poli oksietilen alkol
- Alkilfenol etoksilat
- Penta etilenglikolmonodesil eter

Bu bileşikler temizlik ajanı, tekstilde antistatik etki, köpük ve viskoziteyi artırma gibi uygulamalarda kullanılmaktadırlar (Merta ve Stenius 1999).

2.5.2. Diş Macunu İçerisindeki Deterjanlar

Diş macunları plak kontrolünde kullanılan ideal kişisel bakım ürünlerindendir. Formülasyonunda her biri farklı role sahip olan bir çok bileşen bulunmaktadır. Deterjanlar köpürtücü ve temizleyici özelliklerinden dolayı diş macunlarında en sık kullanılan bileşiklerdir (Forward ve ark. 2000; Petersen ve ark. 2006). Anyonik ve amfoterik deterjan sınıfı diş macunları içerisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Diğer deterjan grupları ise diş macunları içerisinde çok az kullanılmaktadır. Deterjanlar ayrıca aktif bileşenlerin çözülmesine yardımcı olan bileşiklerdir. Köpürtücü özelliklerinin yanı sıra antibakteriyal ve plak inhibisyon özellikleri nedeniyle de diş macunları içerisine rutin olarak eklenmektedirler (Buma ve ark. 2006). Diş macunları içerisinde en sık kullanılan ve anyonik deterjan grubunda yer alan sodium lauryl sulfate bileşiğidir (Healy ve ark. 2000).

2.5.2.1. Sodium Lauryl Sulfate (SLS)

SLS, sülfat grubuna 12 karbonlu kuyruğun eklenmesiyle oluşan bir organosülfat tuzudur. Diş macunları içerisinde en sık kullanılan konsantrasyonlar % 0.5-2 arasında değişmektedir (Herlofson ve Barkvoll 1996; Herlofson ve ark. 1996).

SLS bir takım mikroorganizmaların büyümesini engellemektedir. SLS'nin antimikrobiyal etkisi, adsorpsiyon ve gözenekli hücre duvarı içerisinden nüfuz etmesi, bunu takiben hücre zarı, lipidler ve proteinlerin bileşenleri ile etkileşime girmesi ile ilgilidir. SLS'nin zar içine nüfuz etmesi, bakterilerin hücre geçirgenliğinde bir artışa neden olmakta, bu da hücre içi bileşenlerin sızıntısına ve hücre lizisine neden olabilmektedir (Law ve Seow 2006; Nordstrom ve ark. 2009). Bu "in vitro" veriler, % 1-1.5 SLS içeren ağız çalkalama solüsyonları üzerine yapılan klinik çalışmalar ile desteklenmiştir. Günde iki kez SLS içerikli ağız bakım sularının kullanılmasından sonra hastalarda plak inhibisyonu gözlemlendiği belirtilmektedir (Moran ve ark. 1989; Moran ve ark. 1988). Yapılan çalışmalarda, SLS'nin biyofilmlere derinden nüfuz edebileceği belirtilmiştir (Evans ve ark. 2015; Landa ve ark. 1999; Law ve Seow 2006).

Bu olumlu özelliklere karşın SLS'nin bazı toksik etkileri de araştırmalarda bildirilmiştir. Klinik çalışmalarda, SLS'nin neden olduğu oral epitel yıkımı, ülserasyonlar ve inflamasyon gözlenmiştir (Macdonald ve ark. 2015). Diş macunu içerisindeki SLS'nin müsin katmanının glikoproteinlerini denatüre ederek oral mukozanın bariyer fonksiyonunun bozulması, diş eti ve bukkal mukozanın eksojen antijen gibi tahriş edicilere karşı daha hassas olmasına yol açabileceği çalışmalarda bildirilmiştir (Neppelberg ve ark. 2007; Siegel ve Gordon 1986). Ayrıca SLS'nin insan oral epitelinin keratinizasyon düzeyinde bir azalmadan sorumlu olabileceği belirtilmiştir. SLS'nin, müsin tabakasının parçalanması, epitel hücrelerindeki proteinlerin denatürasyonu, hücrelerin yapısal lipidlerinin çözünürlüğü ile canlı dokunun fonksiyonlarının zedelenebileceği mukozanın daha derin tabakalarına nüfuz edebileceği de gösterilmiştir (Healy ve ark. 1999; Macdonald ve ark. 2015; Siegel ve Gordon 1986). Düşük konsantrasyonlu SLS'ye duyarlılık, yapılan hayvan deneylerinde oral mukozada ciltten daha yüksek bulunmuştur (Ahlfors ve Lyberg 2001).

2.5.2.2. Sodium Lauryl Sarcosinate ve Sodium C14-16 Olefin Sulfonate

Sodium lauryl sulfate dışında ağız bakım ürünlerinde karşımıza çıkan diğer anyonik yüzey aktif maddeler ise sodium lauryl sarcosinate ve sodium C14-16 olefin sulfonate bileşikleridir. Bu bileşikler diş macunu bileşeni olarak da çocuk ve yetişkin diş macunları içerisinde yer almaktadır (Shah ve ark. 2012).

Sodium lauryl sarcosinate, bir yağ asidi ile bir amino asidin kondansasyonu ile oluşan anyonik bir yüzey aktif madde olarak belirtilmektedir. Yüksek yüzey aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Smulders ve ark. 2002 pp. 38-98).

Sodium C14-16 olefin sulfonate ise alfa olefin'lerin sülfonatlanmasıyla hazırlanan uzun zincirli sülfonat tuzlarının bir karışımıdır. Molekülde yer alan sayılar, alfa olefinlerin karbon zincirlerinin ortalama uzunluklarını göstermektedir (Smulders ve ark. 2002 pp. 38-98).

2.5.2.3. Cocoamidopropyl Betaine (CAPB)

Dünya genelinde diş macunları içerisinde en sık kullanılan yüzey aktif madde SLS olmasına rağmen betainler gibi daha az yan etkiye sahip yüzey aktif maddeler de diş macunları içerisinde kullanılmaktadır.

Betain, ciltte rahatsız edici özelliklere sahip olmayan bir kuarterner amonyum bileşiğidir (Cvikl ve ark. 2015; Schnuch ve ark. 2011). Genel olarak kozmetiklerin ciltte rahatsız edici özelliklerini azaltmakta ve cilt uyumluluğunu ve nemlendirme özelliklerini geliştirmektedir. Betainin sodium lauryl sulfate'ın tahriş edici özelliklerini azalttığı da gösterilmiştir (Cvikl ve ark. 2017). Diş macununda kullanılan en yaygın deterjan olan sodium lauryl sulfate'ın, diğer olumsuz özelliklerinin yanında ağız kuruluğu olan hastalarda oral mukozanın tahriş olmasına neden olduğu da bildirilmektedir. Kullanımının tekrarlayan aftöz ülserlerle de bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Herlofson ve Barkvoll 1996; Herlofson ve ark. 1996). Bu nedenle diş macunları içerisinde kullanılabilecek daha az rahatsız edici deterjanlar tercih edilmeye başlanmıştır. Son zamanlarda zwitteriyonik (hem iyonik hem noniyonik deterjan özelliği gösteren) bir deterjan olan cocoamidopropyl betaine'in, sodium lauryl sulfate'tan daha az mukozal iritasyona neden olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Cvikl ve ark. 2017; Cvikl ve ark. 2015; Herlofson ve Barkvoll 1996).

Cocoamidopropyl betaine, hafif doğası ve düşük derecede cilt tahrişi nedeniyle, çocuklar için hazırlanan diş macunlarında yetişkin macunlarına göre daha sık bulunmaktadır. Cocobetaine, piyasada bulunan ürünlerde diğer yüzey aktif maddeler (anyonik, noniyonik) ile birlikte de bulunmaktadır. Bu kombinasyon yüzey özelliklerini değiştirmek için tasarlanmıştır. Böyle bir kombinasyonun bir örneği, birincil sürfaktan olarak cocobetaine ve sodyum lauryl sulfate'ın (SLS) bir karışımıdır; bu cildin ve mukozanın tahrişini azaltmaktadır (Danov ve ark. 2004; Herrwerth ve ark. 2008; McLachlan ve Marangoni 2006; Wydro ve Paluch 2005).

2.5.3. Çocuk Diş Macunları İçerisindeki Deterjanlar

Süpfaktanlar fırçalama sırasında diş yüzeylerinin ıslanmasına, diş macununun ağızda dağılımına ve ağız dokularından döküntülerin ve plakların gevşemesine yardımcı olan köpürtücü ajanlardır. Diş macunlarının içeriğinde bulunan süpfaktan türü ve konsantrasyonu, oral yumuşak dokuları tahriş etme olasılığını ve florür varlığı üzerindeki olumsuz etkileri en aza indirmek için önemli olmaktadır. Diş macununda sıklıkla kullanılan yüzey aktif maddeler sodium lauryl sulfate (SLS), cocamidopropyl betaine (tego betain) ve sodium metil cocoil taurat (adinol)'dir. Bunlardan tego betain, toplam yükü olmayan zwitterionik bir yüzey aktif maddedir ve bu nedenle, diğer yüzey aktif maddelerle karşılaştırıldığında betainin daha az miktarda köpük üretmesinden dolayı küçük çocuklar için tasarlanmış diş macunu formülasyonlarında kullanımının en uygun olduğu belirtilmiştir. Duyu testine dayanarak yapılan çalışmalarda, tego betain biraz acı bir tat bırakmıştır. Özellikle küçük çocukların yetişkinlerden daha fazla duyarlı oldukları göz önüne alındığında, bu tadın kabul edilebilirliği açısından bir sorun teşkil edebileceği bu sorunun da tatlandırıcılar yoluyla giderilebileceği bildirilmiştir. Tablo 2-2'de bazı çocuk diş macunlarının deterjan içerikleri gösterilmektedir. Yüzey aktif maddelerin kombinasyonları, formülasyonda farklı yüzey aktif maddelerin özelliklerini ve konsantrasyonlarını dengelemek için sıklıkla kullanılmaktadır; bu nedenle çocuk diş macunlarında SLS'nin olumsuz özelliklerini dengelemek ve azaltmak amacı ile bu sorunun çözümü olarak farklı gruptaki deterjanların birlikte kullanılması söz konusu olabilmektedir (Churchley ve Schemehorn ark. 2013; Manella ve ark. 2005; Moore ve Addy 2005).

Tablo 2-2: Çocuk diş macunlarında bulunan deterjan içerikleri

<u>Diş macunu</u>	<u>Deterjan İçeriği</u>
Splat Juicy	-
ROCS Baby (0-3yaş)	-
Alterra (0-6 yaş)	-
ROCS Kids (3-7 yaş)	CABP
İpana Çocuk (0-6 yaş)	CABP
Oral- B Pro Expert (0-6 yaş)	SLS
Nenedent Baby	Sodium Lauryl Sarcosinate
Nenedent Mit Xylit (2-4 yaş)	Sodium Lauryl Sarcosinate
Nenedent (4-9 yaş)	Sodium Lauryl Sarcosinate
Perlodent (0-6 yaş)	Sodium C14-16 Olefin Sulfanate
Perlodent Junior 6+	Sodium C14-16 Olefin Sulfanate
Colgate 6+	SLS
Signal Kids	SLS
Banat	SLS
Etos (0-5 yaş)	Sodium C14-16 Olefin Sulfanate
Etos (5-12 yaş)	SLS
Ultradent (0-4 yaş)	Sodium C14-16 Olefin Sulfanate
Ultradent 5+	Sodium C14-16 Olefin Sulfanate
Theramed (1-6 yaş)	CABP
Theramed Junior 6+	Sodium C14-16 Olefin Sulfanate
Elmex (0-5 yaş)	CABP
Elmex (6-12 yaş)	CABP
HEMA everclean (0-5 yaş)	CABP

HEMA everclean (5-12 yaş)	CABP
Logodent Kids	-
ah (0-5 yaş)	Sodium C14-16 Olefin Sulfanate
ah (5-12 yaş)	SLS
Urtekram Organik Çocuk Diş macunu	-
Jack N'Jill	-

2.6. Kök Hücre

Kök hücreler, özelleşmemiş hücreler olup spesifik hücre fonksiyonları ile özelleşmiş hücrelere dönüşme potansiyeline sahip olan hücrelerdir (Spangrude 2003). Canlı organizmaya ait olan bütün doku ve organları oluşturan , uygun ortam ve şartlar altında sınırsız bölünebilme, kendilerini yenileyebilme, doku onarımında, rejenerasyonunda ve homeostazda çok önemli rol oynayan en az bir farklı hücre tipine dönüşebilme yeteneği olan ve hasarlı dokuya nakledildiği zaman dokuyu işlevsel olarak çoğaltabilme özelliği olan hücreler olarak bilinmektedirler (Nadig 2009; Bishop ve ark. 2002; Fuchs ve Serge 2000; Gronthos ve ark. 2000; Gronthos ve ark. 2002; Huang ve ark. 2009).

2.6.1. Kök Hücrelerin Tarihçesi

Kök hücreler, sürekli kendini yenileme ve çok etkili farklılaşma yetenekleri ile karakterize olan hücreler olarak bilinmektedir. Kök hücrelerin varlığı ilk olarak hematopoietik sistemde kemik iliği kökenli hücrelerin kendi kendini yenileme kabiliyetlerinin ortaya konulduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Carl Rudolph Wirschow isimli Alman bilim adamı 1800'lü yılların başında 'Omnis cellula e cellula' (Tüm hücreler başka hücrelerden gelişir) yaklaşımında bulunmuştur (Pittenger ve ark. 1999). 1900'lü yıllarda ise Rus histiolojist Alexander Maksimov tarafından kök hücre teriminin kullanılması önerilmiştir. Alexander Maksimov bir lenfositin morfolojik görünümünü incelemesiyle hematopoetik kök hücre varlığını göstermeye çalışmıştır (Konstantinov 2000). O yıllarda yapılan bir çok çalışma ile kemik iliğinde bulunan bir

grup hücrenin kan sistemini oluşturan hücrelere farklılaşmasına öncülük etmesinin belirlenmesi ile kök hücre terimi ortaya çıkmıştır (Santos ve Willebring 2007).

Bu öncü çalışmalardan sonra, kök hücreler, hasarlı dokuyu yenilemeye ve bazı hastalıkları tedavi etmeye yönelik yetenekleri nedeniyle, araştırmacılar için popüler bir konu haline gelmiştir. Farklı organlarda çeşitli dokulara ait spesifik kök hücreler tanımlanmıştır. Hematopoetik ve mezenkimal kök hücreler (MKH) ilk olarak yaklaşık 40 yıl kadar önce tanımlanmış olmasına rağmen, diş ve kraniyofasiyal alandaki kök hücreler ile ilgili çalışmalar diğer dokulardaki kök hücrelerle ilgili çalışmaların gerisinde kalmıştır. Dental kök hücrelerin varlığı ilk kez 21. yüzyılın başlarında ortaya konmuştur (Gronthos ve ark. 2000; Zhao ve Chai 2015; Nakajima ve ark. 2014).

2.6.2. Kök Hücrelerin Özellikleri

Kök hücreler farklı dokulardan izole edilebilen, farklı hücre tiplerine dönüşebilen ve kendileriyle aynı özellikteki hücrelere kendilerini eşleyerek prolifer olabilen hücrelerdir. Ayrıca bu hücreler herhangi bir doku görevi için özelleşmemiş hücreler olup, ancak sinyal molekülleri ile özelleşmiş hücrelere dönüşebilmektedirler (Herzog ve ark. 2003). Bir hücrenin kök hücre olarak tanımlanabilmesi için bazı özellikleri taşıması gerekmektedir.

Bu özellikler şu şekilde belirtilmektedir;

1. Kök hücreler uzun süre kendilerini yenileyebilme ve bölünerek prolifer olma özelliğine sahiptirler. Hücrelerin bölünme yeteneklerinden hücre kromozomlarının yapısında bulunan telomer isimli DNA zincirleri sorumlu olmaktadır. Telomerler kromozom yapısının bütünlüğünün korunmasında görev yapmaktadırlar. Ancak telomerik uçlardan bir miktar DNA her bölünme sırasında kaybedilebilmektedir. Telomeraz enzimi bu durumu tolere etmek için telomer tekrar dizilerinin ‘kromozom 3’ ucuna takılmasını sağlayarak kısalmayı önlemeye çalışmaktadır. Somatik hücrelerde ise birçok bölünmeden sonra kısaltmalar önlenemediğinden bu hücreler bölünme aktivitelerini kaybetmektedirler. Kök hücrelerde ise bölünmeler sırasında telomer boyunun aynı kalmasına yetecek kadar telomeraz üretildiği bildirilmiştir (Yıldırım ve ark. 2015).

2. Kök hücreler herhangi bir dokuya özgün olmayan özelleşmemiş hücreler olup, belirli sinyal molekülleri ile farklı dokulara özelleşebilme kapasitelerine sahiptirler.
3. Kök hücreler farklılaşma yeteneğine sahip hücrelerdir. Bu hücrelerin farklılaşmalarını büyüme faktörleri, sitokin, kemokin benzeri uyarıcı mediatörler, genetik faktörler ve temasta oldukları komşu hücre gibi faktörler etkilemektedir (Southall ve ark. 2008).
4. Hasarlı doku ve organlara nakledildiklerinde çevre dokuların uyarılarak çoğalmasını sağlayabilmektedirler (Huang ve ark. 2008).
5. Kök hücreler doku hasarının bulunmadığı durumlarda bile nakledikleri dokularda farklılaşmamış diğer hücrelere de yardımcı olabilmektedirler (Loeffler ve Roeder 2002).

2.6.3. Farklılaşma Kapasitesine Göre Kök Hücreler

2.6.3.1. Totipotent Kök Hücreler

Döllenmenin gerçekleşerek sperm ve yumurta hücresinin birleşmesi ile oluşan zigot tek başına tüm organizmayı meydana getirebilecek genetik bilgiye sahiptir. Sınırsız farklılaşma yeteneğine sahip olan bu hücrelerin tüm hücre tiplerine dönüşebilme yetenekleri bulunmaktadır. Tüm bu özelliklere sahip ilk embriyonel hücreye ‘totipotent’ adı verilmiştir. Zigot evresinde 8 hücreli blastomerde bulunan hücreler totipotent hücreler olarak bilinmektedir. Embriyonik kök hücrelerin bu yetenekleri döllenmeden sonraki 5. güne kadar devam etmektedir (Blau ve ark. 2001; Rao ve Mattson 2001; Sandhu ve Nair 2009).

2.6.3.2. Pluripotent Kök Hücreler

Zigot oluşumunun ilk 5 gününden itibaren hücreler küresel bir şekil oluşturmaya başlamaktadırlar. Hücrelerin oluşturduğu bu küresel şekle blastosit adı verilmektedir. Blastosit denilen hücre kitlesinin iç tabakasında yer alan hücrelerin vücuttaki diğer tüm hücrelere dönüşebilme kapasiteleri vardır. Ancak totipotent hücreler gibi tek başlarına tüm organizmayı oluşturma potansiyeline sahip değildirler. Vücutta yaklaşık 200 kadar hücre çeşidine farklılaşabilen bu hücrelere pluripotent hücreler denilmektedir. Bu hücreler endodermal, ektodermal ve mezodermal tabakalarından

türeyen tüm hücre tiplerine farklılaşabilmektedirler (Fortier 2005; Nadig 2009; Martin-Rendon ve Watt 2003).

2.6.3.3. Multipotent Kök Hücreler

Daha sonraki aşamada hücreler daha özel fonksiyonlara sahip olmaktadır. Biraz daha özelleşmiş bu kök hücelere ‘multipotent’ hücre denilmektedir. Multipotent hücreler erişkin dokularda kısmi farklılaşma potansiyeline sahip hücrelerdir ve farklılaşma yetenekleri sınırlıdır (Freshney ve ark. 2007 pp. 5-18).

2.6.3.4. Oligopotent Kök Hücreler

Bir dokudaki yalnızca birkaç hücre tipine farklılaşma potansiyeli olan hücrelerdir (Rao ve Mattson 2001).

2.6.3.5. Unipotent Kök Hücreler

Tek bir hücre tipine farklılaşabilen, sadece kendilerini oluşturan hücreler olarak tanımlanmaktadır (Rao ve Mattson 2001).

2.6.4. Kaynaklarına Göre Kök Hücreler

2.6.4.1. Embriyonik Kök Hücreler (EKH)

Döllenmeden sonraki embriyonik süreçlerde ortaya çıkan ve blastositin iç hücre kitlesinden kaynak alan hücrelerdir. Pluripotent özellikteki bu hücreler endodermal, mezodermal ve ektodermal tabakalarına ya da vücuttaki çeşitli hücre tiplerine dönüşebilirler (Pera ve ark. 2000, Bongso ve Lee 2005 pp. 1-13). Embriyonik kök hücreler ayrıca organizmanın tüm doku tiplerini oluşturabilme potansiyeline sahip hücrelerdir (deri, kan, pankreas, sinir, karaciğer hücresi gibi) (Oyar 2016; Hatoya ve ark. 2006).

2.6.4.2. Yetişkin Kök Hücreler

Gelişim sürecinin ilerleyen evrelerinde görülen kendilerini yenileyebilme potansiyeli olan, özelleşmiş hücelere farklılaşma yeteneği bulunan, doku ve organlardaki farklılaşmamış kök hücrelerdir. Embriyonik kök hücelere göre farklılaşma potansiyelleri daha azdır. Bu hücreler çoğunlukla kemik iliğinde bulunmaktadır. Ayrıca

bu tür kök hücrelerin plastik yüzeylere yapışabilme özelliklerinin fazla olduğu bildirilmiştir (Fuchs ve ark. 2004; Prentice 2006).

2.6.4.3. Hematopoetik Kök Hücreler

Hematopoetik kök hücreler (HKH) kanın hücre elemanlarını ve immün sistem hücrelerini oluşturan ve şekillendiren hücrelerdir. Kendilerini yenileyebilme özelliklerinin yanında myeloid ve lenfoid dokulardan tüm kan hücrelerine farklılaşabilmektedirler (Ratajczak 2008). HKL'ler farklılaşabilmelerini ve kendi kendilerini yenileyebilmelerini kontrol altında tutabilmektedirler. Mitotik aktiviteleri sayesinde bölünerek kendilerini yeniden üretme özelliği taşımaktadırlar. Bu sebepten dolayı kan hücreleri yaşam boyu üretilebilmektedir ve hücre sayılarında azalma olmamaktadır (Martinez-Agosto ve ark. 2007). Bu kök hücreler kordon kanı, periferik kan ve kemik iliği dokularından izole edilebilmektedir (Koçyiğit ve ark. 2008).

2.6.4.4. Mezenkimal Kök Hücreler (MKH)

Mezenkimal kök hücreler, çeşitli dokulardan izole edilebilen, çeşitli hücre tiplerine proliferere olabilen, diferansiye olabilme potansiyeli bulunan, hematopoetik özellikte olmayan, multipotent hücrelerdir. Bu hücreler ilk defa Dr. Friedenstein ve arkadaşları tarafından 48 yıl önce, kemik iliğinde spesifik hücre popülasyonu tanımı ile karakterize edilmiştir (Friedenstein ve ark. 1976). Gelişim döneminde nöral arkten köken aldığı bilinen bu kök hücreler başka dokulara göç ederek farklılaşmakta ve daha sonraki dönemlerde kıkırdak, kemik, periodonsiyum, ligamentler, kas sistemi, diş dokuları gibi hemen hemen tüm kraniyofasiyal yapıların morfogenezisinde mezodermal hücrelerle sinerjistik olarak birlikte çalışmaktadırlar (Mao ve ark. 2006). Mezenkimal kök hücreler morfolojik olarak iğ şeklinde olup fibroblast benzeri hücre toplulukları olarak belirtilmektedirler (Alhadlaq ve Mao 2004).

MKH tanımlanmasında ISCT (International Society of Cellular Therapy) tarafından öngürelen kriterler şu şekilde belirtilmektedir.

- Plastik doku kültürü yüzeylerine yapışma yeteneği
- Spesifik yüzey antijenlerinin ekspresyonu
- Multipotent farklılaşma potansiyelidir (Horwitz ve ark. 2005; Dominici ve ark. 2006).

Plastik Doku Kültürü Yüzeylerine Yapışma Yeteneği

MKH'ler plastik doku kültür kaplarına standart kültür koşulları altında yapışabilme özelliğine sahiptirler. Plastik kültür kaplarına yapışarak fibroblast benzeri hücre kolonileri oluşturarak çoğaldıkları bildirilmektedir (Baksh ve ark. 2003; Le Blanc ve Mougiakakos 2012).

Spesifik Yüzey Antijenleri Ekspresyonu

Yüzey antijenleri, hücre popülasyonunun hızlı bir şekilde tanımlanmasını sağlamaktadır. ISCT'nin belirttiği kriterlere göre MKH popülasyonun % 95 veya daha fazlasının, hücre membranında bulunan CD90, CD73, CD105, CD44 protein markerları için pozitif olması gerekirken, CD34, CD31; CD45 markerları için pozitiflik oranının % 2'yi geçmemesi gerekmektedir (Dominici ve ark. 2006). Multipotent kökenli olan MKH'lar osteoblast, nöroblast, kıkırdak, endotel, kas ve yağ hücrelerine farklılaşma özelliklerine de sahiptirler (Prockop 1997; Horwitz ve ark. 2005; Mabuchi ve ark. 2013; Kfoury ve Scadden 2015).

Çok Yönlü (Multipotent) Farklılaşma Potansiyeli

MKH'ler in vitro koşullar altında osteojenik, kondrojenik ve adipojenik farklılaşma potansiyeline sahip hücrelerdir. Osteojenik farklılaşma için deksametazon, beta-gliserofosfat ve askorbik asit gibi maddelerin ortama eklenmesiyle osteojenik farklılaşma uyarılmakta, daha sonra Alizarin Red veya Kossa boyaması ile kalsiyum odakları görünür hale gelmektedir. Adipojenik farklılaşma içinse ortama deksametazon, indometazin ve insülin gibi maddeler eklenip farklılaşma için uyarı sağlandıktan sonra 'Oil Red O' boyaması ile hücre içerisindeki lipid birikimi gözlemlenebilmektedir. Kondrojenik farklılaşmada ise yine deksametazon, TGF β 3 gibi maddeler eklenip kollajen tip 2 spesifik immünohistokimyasal ya da Alcian Blue boyama ile kıkırdak oluşumu belirlenebilmektedir (Pittenger ve ark. 1999; Owen ve Friedenstein 1988; Shizuko ve ark. 2005).

2.7. Dental Dokulardan Elde Edilen MKH'ler

Mezenkimal kök hücreler yağ dokusu, amniyon sıvısı, iskelet kası, kordon kanı, göbek kordonunun yanı sıra diş dokularından da elde edilmektedir. Dental dokulardan izolasyonlarının kolay olması nedeniyle doku mühendisliği ve rejeneratif tıpta dental

mezenkimal kök hücreler üzerinde yaygın olarak çalışılmaktadır (Lymperi ve ark. 2013).

Dental dokulardaki mezenkimal kök hücreler konumlarına göre sınıflandırılabilir (Gronthos ve ark. 2000; Miura ve ark. 2003; Seo ve ark. 2004; Morsczeck ve ark. 2005; Sonoyama ve ark. 2007).

Dental pulpa kök hücreleri, DPSCs

Eksfoliye süt dişlerindeki kök hücreler, SHEDs

Periodontal ligament kök hücreleri, PDLSCs

Dental folikül kök hücreleri, DFSCs

Dental apikal papilla kökenli kök hücreleri, SCAPs

2.7.1. Dental Pulpa Kök Hücreleri

Dental pulpa kök hücreleri ilk olarak (DPSCs) 2000 yılında insan dişlerinden izole edilmiştir ve en yaygın dental mezenkimal kök hücre (DMSC) kaynağı olarak bilinmektedir (Gronthos ve ark. 2000). Spesifik DMSC markerlarının eksikliğinden dolayı, DMSC'lerin izolasyonu ve tanımlanması için STRO-1, CD146 ve CD44 gibi jenerik MSC markerları yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek proliferasyon özelliklerine sahip dental pulpa kaynaklı mezenkimal kök hücreler, çoğaltılabilen, yüksek farklılaşma yeteneğine sahip ve sürme sonrası dönemde varlıklarını sürdüren multipotent kökenli hücrelerdir (Pittenger ve ark. 1999). DPSC'ler, odontojenik (Gronthos ve ark. 2000; Hayashi ve ark. 2015; Miura ve ark. 2003), osteojenik (d'Aquino ve ark. 2009; de Mendonca Costa ve ark. 2008) kondrojenik, adipojenik (Waddington ve ark. 2009), miyojenik (Kerkis ve ark. 2008; Pisciotta ve ark. 2015) ve nörojenik (Martens ve ark. 2014) olarak in vitro ve in vivo olarak diferansiye olabilmektedir.

2.7.2. Eksfoliye Süt Dişlerindeki Kök Hücreler

İnsan dökülmüş süt dişlerindeki (SHEDs) kök hücreler, DPSC'lerle aynı prosedür kullanılarak izole edilmektedir. DPKH'ye göre daha fazla proliferere olma potansiyeline sahip oldukları bildirilmektedir. SHEDs, STRO-1 ve CD146 yüzey moleküllerini ve nestin ve β -III tubulin gibi çeşitli nöral ve glial markerları

içermektedirler (Miura ve ark. 2003). SHEDs çok hızlı çoğalabilen, odontojenik, osteojenik, kondrojenik, adipojenik, miyojenik ve nörojenik hücrelere farklılaşabilen ve in vivo olarak kemik ve dentin oluşumunu indükleyebilen hücrelerdir. Ancak kompleks pulpa-dentin yapısı oluşturmada DPKH'lerden yetersiz oldukları bildirilmiştir (Kerkis ve ark. 2008; Miura ve ark. 2003; Shi ve ark. 2005).

2.7.3. Periodontal Ligament Mezenkimal Kök Hücreleri (PDLMKH)

Periodontal ligament kök hücreler çekilmiş dişlerin kök yüzeylerinden elde edilen hücrelerdir. PDLSCs hücre yüzeyi markerları STRO-1, CD146 ve CD44'ü eksprese etmektedirler ve adipojenik ve osteojenik hücrelere, farklı in vitro kültür koşulları altında farklılaşabilmektedirler (Seo ve ark. 2004). PDLSC'ler, in vivo ortamda sementum ve periodontal ligament (PDL) dokularının oluşumunda rol oynayarak periodonsiyumun rejenerasyonuna katkıda bulunmaktadır (Seo ve ark. 2004; Wang L ve ark. 2011; Zhou ve ark. 2008).

2.7.4. Dental Folikül Kök Hücreleri

Dental folikül, gelişmekte olan üçüncü büyük azı dişi çekimi sırasında izole edilebilen diş germi dokusudur (Yalvaç ve ark. 2009). Dişin etrafında kese şeklinde bulunan, dişin dental papilla ve mine organlarını çevreleyen kaynağı ektomezekim olan gevşek bağ dokusudur. Bu dokudan elde edilen kök hücreler (DFSCs) PDL, alveolar kemik ve sementum için progenitör hücreler olup ve STRO-1 ve CD44 markerlarını eksprese etmektedirler (Morsczech ve ark. 2005). DFSCs in vitro ve in vivo şartlar altında sement ve kemik dokuları oluşturabilmektedirler (Kemoun ve ark. 2007; Yokoi ve ark. 2006).

2.7.5. Dental Apikal Papilla Kökenli Kök Hücreler

Diş papilinin apikal kısmındaki kök hücreler gelişmekte olan dişlerin kök ucundan izole edilebilmektedir. Yüksek oranda proliferasyon özelliğine sahip olup, farklı dokulara göç etme ve rejenerasyona katkı sağlama potansiyelleri bulunmaktadır (Sonoyama ve ark. 2006; Sonoyama ve ark. 2008). SCAPs, DMSCs ile aynı yüzey markerlarının yanında DPSCs'in negatif olduğu CD24'ü içermekte ve in vivo olarak dentin oluşturabilme kapasitesine sahip olan hücreler olarak bilinmektedir (Huang ve ark. 2009; Sonoyama ve ark. 2006).

2.7.6. Diş Eti Mezenkimal Kök Hücreleri

Diş eti dokusu, çenelerin alveoler proseslerini örten ve alveol kemiği içindeki dişleri köle bölgelerinden çevreleyen oral mukozanın bir parçası olmakla birlikte periodonsiyumun önemli bir bileşenini de oluşturmaktadır. Aynı zamanda yüksek yara iyileşme potansiyeline sahip bir doku olma özelliğini de taşımaktadır. Diş eti mezenkimal kök hücreler (GMSC/GMKH) ilk olarak gingival lamina propriadan izole edilmiş olup regeneratif ve immünodülatör özellikleri ile gelecek vaat eden hücreler olmaktadır. Aynı zamanda bu hücreler, diğer mezenkimal kök / progenitor hücre (MSC) kaynaklarının aksine, bol miktarda bulunan, kolay erişilebilen ve minimal invaziv hücre izolasyon teknikleriyle de kolayca elde edilebilen hücreler oldukları için kök hücre çalışmalarında büyük bir öneme sahiptirler (Marynka- Kalmani ve ark. 2010; Zhang ve ark. 2009; Zhang ve ark. 2011; Zhang ve ark. 2012; Venkatesh ve ark. 2017).

Gingival lamina propriadan izole edilen mezenkimal kök / progenitor hücreler (MSC), gingival mezenkimal kök hücreler, gingival dokudan elde edilen kök hücreler, gingival multipotent progenitor hücreler, gingival marjinal kaynaklı kök / progenitor hücreler, insan oral mukoza kök hücreleri ve oral mukoza lamina propria progenitor hücreleri gibi farklı terimler kullanılarak adlandırılmışlardır (Zhang ve ark. 2009; Tomar ve ark. 2010; Zhang ve ark. 2012; Fawzy ve ark. 2016).

GMSC'ler standart olarak kendi kendilerini yenileyebilme ve plastik adherens özelliklerine sahiptirler. GMSC'ler, PDLSC'lere kıyasla daha yüksek bir proliferasyon oranı göstermektedirler. Bu hücreler, standart in vitro şartlar altında en az üç doku soyuna (örneğin; osteoblastik, adipositik ve kondroblastik) farklılaşma kabiliyeti bulundurmaktadır. Diş eti mezenkimal kök hücreler yüzey işaretleri olarak CD73, CD90 ve CD105 markerlarını içerirlerken, CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79 ve HLA-DR yüzey markerları yönünden negatif olarak bilinmektedirler (Dominici ve ark. 2006; Fawzy ve ark. 2016; Davies LC ve ark. 2010; Nombela Arrieta ve ark. 2011; Zhang ve ark. 2012).

2.8. Diş Eti Epitel Hücreleri

Oral epitel hücreler olarak da adlandırılan diş eti epitel hücreleri ektodermal embriyonik germ tabakasından köken almaktadırlar (Kolltveit ve ark. 2010; Queiroz ve ark. 2010). Oral mukozada birçok role sahip olan epitel hücreleri, mikroorganizmalar ve

toksik maddelere karşı vücudun savunma bariyeri olarak görev yapmaktadır. Diş eti ve periodontal dokulardaki enfeksiyon sırasında bakterilerin karşılaştığı ilk hücrelerdir (Lundqvist ve ark. 1994; Yohannes ve ark. 2011; Squier ve Kremer 2001). Patojenik organizmaların istilasına karşı fiziksel bir bariyer olarak hareket etmelerinin yanı sıra, iltihaplı bölgelerdeki oral (gingival) epitelyal hücreler IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF gibi birçok proinflatuar sitokinler üretmektedirler (Huang ve ark. 1998; Yumoto ve ark. 1999; Laheij ve ark. 2013; Shiomi ve ark. 2015; Kullaa ve ark. 2014; Bedran ve ark. 2014).

2.9. Biyouyumluluk ve Sitotoksosite

Biyouyumluluk canlı dokular ile temas halinde olan bir materyalin lokal ve sistemik toksisitesinin yanında alerjik, karsinojenik ve mutajenik etkilerinin bulunmaması, vücuttaki sert ve yumuşak dokularda herhangi bir reaksiyona sebebiyet vermemesi olarak tanımlanmaktadır (Hanks ve ark. 1996).

Biyouyumluluk özelliği bulunmayan materyallerde ise meydana gelen doku reaksiyonları ‘toksisite’ olarak ifade edilmektedir. Sitotoksosite ise hücrenin yapısında ve fonksiyonlarında bozulmaların ve hasarların ortaya çıkması, hücrenin temel organellerinin yapısında toksik etkenin oluşturduğu yıkım olarak tanımlanmaktadır (Murray ve ark. 2007; Hanks ve ark.1996).

Sitotoksosite testleri hücre sayısı ve canlılığının değerlendirildiği yöntemler olup biyouyumluluk çalışmalarında materyallerin biyolojik özelliklerinin tespit edilmesinde sıklıkla kullanılan öncül testler olarak bilinmektedir. Hücrelerin büyümesini, üremesini ve morfolojik özelliklerini gözlemlemek amacıyla kullanılmakta olan biyolojik değerlendirme yöntemleri arasında yer almaktadır. Bu testlerin temeli herhangi bir materyale karşı hücredeki canlılık bulgularına dayanmaktadır. Hücre canlılığı ve hücre ölümünün yanı sıra, hücre membranı, hücre organelleri, protein ya da DNA sentezi ve hücre bölünmesi ile ilgili de detaylı bilgiler vermektedir (Nicholson 2007; Tuncer ve Demirci 2011; Schmalz 1997; Pizzoferrato ve ark. 1994).

2.9.1. İn Vitro Sitotoksosite Değerlendirme Yöntemleri

İn vitro sitotoksosite testleri, biyouyumluluğun değerlendirilmesinde kullanılan birinci basamak testler olarak bilinmektedir. Bu testler in vivo ortamı taklit edebilecek laboratuvar ortamında gerçekleştirilen ve memeli hücreleri, organelleri, bakteri ya da

belirli enzimleri biyolojik sistem olarak kullanan testlerdir. Hücre kültürü çalışmalarında ise sıklıkla primer kültür ve devamlı hücre soyları kullanılmaktadır. Fare fibroblastları (3T3 ve L929) ise çalışmalarda en çok kullanılan devamlı hücre soyu olarak ifade edilmektedir (Schmalz 1997; Tuncer ve Demirci 2011; Türkcan ve Nalbant 2016; Wataha 2001).

Sitotoksikite değerlendirme yöntemleri aşağıdaki 4 başlık altında incelenmektedir (Freshney 2005 pp. 359-373):

1. Canlılığı değerlendiren testler
2. Yaşamı değerlendiren testler
3. Hücre proliferasyonunu değerlendiren testler
4. Hücre metabolizmasını değerlendiren testler

2.9.1.1. Canlılık Değerlendirme Testleri

Toksik etkene maruz kalan hücreler üzerinde kısa dönemde oluşan sitotoksik reaksiyonları incelemek için kullanılmaktadır. Bu değerlendirme yöntemi, test edilen materyalin etkilerinin ortaya çıkmasından sonra kültürde kalan canlı hücre sayısının belirlenmesine dayanmaktadır. Bu test yönteminde iki farklı tipte boya kullanılmaktadır. Vital boyalar, aktif olarak canlı hücre membranından geçerek hücre içerisine girmekte ve herhangi bir sitotoksik etkiye bağlı olarak membran geçirgenliği artmadığı sürece hücre içerisinde tutulmaktadır. Vital olmayanlar boyalar ise, aktif olarak hücre membranından geçemezken ancak bir sitotoksik etki ile birlikte membran geçirgenliğinin arttığı durumlarda hücre içine alınabilmektedirler (Freshney 2005 pp. 359-373; Craig ve ark. 2006 pp. 97-125; Tuncer ve Demirci 2011).

Nötral kırmızı testi: Bu yöntem hücre kültüründeki canlı hücrelerin tespit edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Vital bir boya olan nötral kırmızı, hücre membran bütünlüğü bozulmamış hücreler tarafından hücre içerisine alınmakta ve hücrenin lizozom organelleri tarafından tutulmaktadır. Canlı hücrelerin lizozomlarına bağlanma esasına dayanarak hemosimetre ile canlı hücrelerin tespit edilmesine olanak sağlamaktadır (Repetto ve ark. 2008; Craig ve ark. 2006 pp. 97-125; Tuncer ve Demirci 2011)

Tripan mavisi testi: Tripan mavisi ise hücre membran geçirgenliği bozulmuş hücrelerde biriken non vital bir boya olarak sitotoksik etkilerin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Hücre membran bütünlüğü bozulmuş hücrelerin sitoplazmalarının maviye boyanarak değerlendirilmelerin yapılması esasına dayanmaktadır. Hücre membran bütünlüğü bozulmamış canlı hücrelerde ise sitoplazma şeffaf bir görüntü vermektedir. Elde edilen sonuçlar spektrofotometre ile değerlendirilmektedir (Craig ve ark. 2006 pp. 97-125; Tuncer ve Demirci 2011).

Floresan metodu: Bu yöntemde hücre canlılığını değerlendirmek için diasetil floresan ya da propidium iodide gibi floresan boyalar kullanılmaktadır. Boyanmış hücreler flow sitometri ya da floresan mikroskopunda değerlendirilmektedir (Craig ve ark. 2006 pp. 97-125; Tuncer ve Demirci 2011).

2.9.1.2. Yaşam Değerlendirme Testleri

Bu test yöntemiyle hücreler üzerinde uzun dönemde oluşabilecek toksik reaksiyonların etkileri değerlendirilmektedir. Canlılık değerlendirme testlerinin uygulanabilirliği daha kolay ve hızlı olmasına rağmen sadece değerlendirme anındaki ölü hücreleri tespit etmeleri bu testlerin bir dezavantajı olarak görülmektedir. Çünkü hücreler üzerindeki toksik etkilerinin geri dönüşülebilir olmasından dolayı kısa dönem testler yerine uzun dönem değerlendirmeyi sağlayan testlerin kullanılması yanlış değerlendirmelerin önüne geçilmesini sağlamaktadır (Freshney 2005 pp. 359-373; Moharamzadeh ve ark. 2009; Tuncer ve Demirci 2011).

2.9.1.3. Hücre Proliferasyonunu Değerlendirme Testleri

Yaygın olarak kullanılan bu test yöntemi ile materyallerin toksik bileşenlerinin hücrenin proliferasyonu üzerine olan etkilerinin incelenmesi sağlanmaktadır. Hücre proliferasyonun değerlendirilmesinde DNA sentezinin saptanmasını sağlayan H-timidin testi ve bromodeoksiuridin (BrdU) immünohistokimyasal teknikleri sıklıkla kullanılmaktadır (Moharamzadeh ve ark. 2009; Babich ve ark. 2000; Yıldırım ve ark. 2017).

2.9.1.4. Metabolizma Değerlendirme Testleri

Metabolik aktivite testleri ile toksik reaksiyonlar sonucu hücrenin enzim aktivasyon sisteminde meydana gelen bozulmalar değerlendirilmektedir (Sakaguchi ve

ark. 2012). Canlı hücrelerin metabolik aktivitelerinin değerlendirilmesinde ise sıklıkla kullanılan yöntem mitokondriyal enzimlerin aktivitesinin renk değişim reaksiyonları ile belirlendiği kolorimetrik deneylerdir (Keiser ve ark. 2000; Schmalz ve Arenholt-Bindslev 2009 pp. 1-12). MTT, alamar mavisi testi ve LDH testi metabolik sitotoksosite değerlendirme yöntemleri arasında sayılmaktadır. Bu yöntemler içinde en çok kullanılan ise hücrenin mitokondriyal dehidrojenaz enzim aktivitesinin ölçülmesini sağlayan ve birincil jenerasyon tetrazolyum tuzu olan MTT testidir. Bu yöntem, normalde sarı renkte olan ve suda çözünbilme özelliğine sahip olan tetrazolyum tuzlarının canlı hücreler tarafından hücre içine alınıp mitokondriyal enzim olan süksinat dehidrojenaz tarafından parçalanarak suda çözünmeyen mor renkli formazan yan ürünlerinin ortaya çıkması esasına dayanmaktadır (Sakaguchi ve ark. 2012, Bouillaguet ve ark. 2002; Freshney 2005 pp. 359-373). Sonuç olarak canlı ve metabolik fonksiyonu bozulmamış hücreler mor renkte boyanırken, ölü ya da metabolik aktivitesi bozulmuş hücreler boyanmadan kalmaktadır. Elde edilen formazan konsantrasyonu ise spektrofotometrik olarak belirlenmektedir. Bu yöntemin diğer test yöntemlerine göre daha hassas ve tekrarlanabilir sonuçlar verebileceği, ayrıca uygulama kolaylığının olduğu bildirilmektedir (Güven ve ark. 2011; Moharamzadeh ve ark. 2009).

2.9.2. Apoptozun Saptanmasında Kullanılan Yöntemler ve Akım Sitometri

Organizmanın sağlıklı bir şekilde gelişmesi için, hücre proliferasyonunun yanında hücre ölümleri ile hemostaz sağlanmaya çalışılmaktadır. Fizyolojik olarak organizmalar artık gereksinim duymadığı hücrelerini ortadan kaldırmak için ya da hücre sayılarını dengelemek için hücre içi sinyal moleküllerini aktive ederek belirlenmiş hücrelerin intihar sürecini başlatabilmektedirler. Bu olay programlanmış hücre ölümü ya da apoptoz olarak tanımlanmaktadır. Apoptoz, normal fizyolojik ortam koşullarında gerçekleştiği gibi aynı zamanda herhangi bir zararlı etkenden dolayı koruyucu bir mekanizma olarak da ortaya çıkabilmektedir. Hormonal faktörler, beslenme, çevresel faktörler, kimyasal ve mikrobiyolojik tüm faktörler apoptoz sürecinin oluşmasında etkili olabilmektedir. Bu süreçte hücre kendi ölüm sürecinde rol almaktadır (Trump ve ark. 1997; Edinger ve Thompson 2004; Caulin ve ark. 1997).

Apoptoz uyarısını almış olan hücre komşu hücrelerle bağlantısını keserek ortamdan uzaklaşmakta ve küçülmeye başlamaktadır. Çekirdek zarının erimesi ile çekirdek yapısında bozulmalar meydana gelmektedir. Çekirdek yapısındaki

kondansasyonlar ve bozulmalar ile birlikte çekirdek kromatin iplikçiklerinde de bozulmalar görülmektedir. Bu bozulmalar sonucu DNA kromatinleri çekirdek membranının iç yüzeyine itilerek tipik at nalı görüntüsü oluşmaktadır. Hücreler küçülmeye devam ettikçe hücre morfolojisinde ve hücrenin biyokimyasal yapısında bozulmalar devam etmektedir. Normalde sağlıklı hücre membranının iç yüzeylerinde yer alan negatif yüklü fosfatidilserin apoptoz sürecinde, bozulmuş hücre membranından kolayca dışarı çıkabilmektedir. Bu olayın sonucunda kollektin gibi çeşitli protein yapıları apoptoza uğramış hücre zarına bağlanabilmektedir. Fosfatidilserin gibi normal şartlarda hücre zarı dışında bulunmayan N-asetil glikozamin ve N,N-diasetilşitabroz gibi moleküller apoptoz sürecinde ortaya çıkarak makrofajlar tarafından tanınabilmektedirler. Hücre membranında görülen morfolojik değişimlerden biri de hücrenin plazma membranında yıkım olmaksızın, veziküller biçiminde olan hücre zarı ile çevrilmiş apoptotik cisimciklerin ortaya çıkmasıdır. Apoptotik cisimcikler fagositik hücreler tarafından tanınıp ortamdan uzaklaştırılmaktadır. Bu süreç içerisinde ölü hücreler çevresinde herhangi bir inflamasyon belirtisi bulunmamaktadır. Apoptotik hücrede meydana gelen tüm bu değişimler sağlıklı hücrelerden ayırt edilmesine olanak sağlamaktadır (Danial ve Korsmeyer 2004; Edinger ve Thompson 2004; Elmore 2007; Mak 2003; Güleş ve Eren 2008).

Hücrede apoptoz sürecinde en erken görülen morfolojik değişim hücre zarında meydana gelen kıvrımlar sonucu hücre zarının tomurcuklanmasıdır. Bu tomurcuklanma görüntüsünün özelliklerine göre apoptoz süreci erken ve geç evre olmak üzere iki fazda incelenebilmektedir. Erken apoptoz evresinde hücre zarında meydana gelen tomurcuklar küçük ve fazla sayıda olmakla birlikte bu evrede hücre ayrılması da gözlenmektedir. Geç apoptoz fazı ise tomurcukların daha büyük olduğu ve asimetric bir görüntünün izlendiği evredir (Şimşek ve Vatansever 2014; Öktem ve ark. 2001).

Diğer bir hücre ölüm tipi olan nekroz, fizyolojik ve histolojik özellikleri nedeniyle apoptozdan ayrılmaktadır. Genellikle nekrozda görülen etiyolojik sebepler hipoksi, fiziksel hasara yol açabilecek etkenler, hipertermi, UV ışık ve hücrenin toksik maddeler ya da ağır metallerle maruz kalması olarak bildirilmektedir. Bu etkenlerle karşılaşılın hücrede, hücre ve organel zarlarının geçirgenliği artmaktadır. Hücre plazma membranında bulunan lipidlerin peroksidasyonu sonucu hücre içeriği hücreler arası sıvıya geçmektedir. Bu olaylar sonucu nekroz sürecinde apoptozdan farklı olarak hücre

içeriğinin ortama dökülmesi ile inflamatuvar yanıt da olaya eşlik etmekte ve komşu hücreler de bu durumdan etkilenmektedir. Ayrıca apoptozda fizyolojik ve patolojik etkenler ile hücre gen yapısında ve hücre enzimlerinde bir aktivasyon meydana gelirken hücre komşu hücrelerle bağlantısını koparıp bulunduğu ortamdan uzaklaşmakta ve büzüşmektedir. Nekrozda ise toksik maddeler ya da ağır metaller gibi dışarıdan gelen uyaranlar hücrenin iyon dengesini bozmakta, hücre sıvı alarak organeller şişmekte, bozulan osmotik basınç dengesi sebebiyle hücre patlamaktadır (Elmore 2007; Coşkun ve Özgür 2011; Öktem ve ark. 2001).

Hücreler sitotoksik ajanlara maruz kaldıktan sonra etkenin tipi, şiddeti ve derecesine göre hücrelerin apoptoz ya da nekroz süreçlerinden birine gidebileceği bildirilmektedir. Genellikle düşük konsantrasyonda bulunan uyaranlar hücrenin apoptoz sürecine girmesini indüklerken, uyaran konsantrasyonu arttıkça nekroz süreçleri indüklenmektedir (Elmore 2007).

Toksik uyaranlarla etkileşim sonucunda hücre kültüründe arda kalan canlı hücre sayıları; erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroza uğramış hücrelerden ayırt edilerek uyaranın sitotoksitesi belirlenebilmektedir. Bu sebeple apoptozun belirlenmesinde kullanılan yöntemler şu şekilde sıralanabilmektedir (Galluzi ve ark. 2006).

1) Morfolojik görüntüleme yöntemleri

- a. Işık Mikroskobu
 - i. Hematoksilen Boyama
 - ii. Giemsa Boyama
- b. Floresan Mikroskobu
- c. Elektron Mikroskobu
- d. Faz Kontrast Mikroskobu

2) İmmünohistokimyasal yöntemler

- a. Anneksin V Yöntemi
- b. TUNEL Yöntemi
- c. M30 Yöntemi
- d. Kaspaz-3 Yöntemi

3) Biyokimyasal Yöntemler

- a. Agaroz Jel Elektroforezi
- b. Western Blotting
- c. Akım Sitometri

4) İmmunolojik Yöntemler

- a. ELİSA
- b. Fluorimetrik Yöntem

5) Moleküler biyoloji yöntemleri

Normal hücre yapısında hücre zarının iç yüzünde (sitoplazmik yüzünde) membran lipidlerinden fosfatidilserin (PS) yer almaktadır. Ancak apoptoza uğramış hücrelerde PS molekülleri hücre zarı dışına çıkmaktadırlar. PS'nin bu yer değiştirme olayı apoptoz sürecinin erken evresinde görülmektedir. Anneksin V hücre dışına çıkmış PS moleküllerine bağlanabilme özelliğine sahip bir protein olup, FITC gibi floresan bir madde ile işaretlenerek apoptotik hücreleri görünür hale getirmektedir. Anneksin V-FITC kompleksinin PS moleküllerine bağlanma oranı da flow sitometri cihazı ile ölçülebilmektedir. Anneksin V aynı zamanda nekrotik hücrelere de bağlanabilme özelliğine sahiptir. Apoptotik ve nekrotik hücre ayrımını yapmak için ise solüsyona non vital bir boya olan propidium iodide eklenmektedir. Böylece canlı hücreler, erken apoptotik hücreler, geç apoptotik hücreler ve nekrotik hücreler birbirinden ayırt edilebilir hale gelmektedir (Dinçel ve Oğuz 2016; Güleş ve Eren 2008).

2.9.3. Flow Sitometri

Flow sitometri, hücre ya da partiküllerin bir akışkan içerisinde iken özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan bir yöntem olarak bilinmektedir. Bu yöntem ile süspansiyon halinde bulunan hücre ya da partiküller lazer ışığı ile aydınlatılmış olan bir bölmeden geçerken, hücrelerin verdikleri sinyaller toplanarak analiz edilmektedir. Sinyal kaynağı hücrenin fiziksel özellikleri yanında hücre yapısına bağlanan fluorokromlar da olabilmektedir. Hücrelerin DNA içeriği, hücre membran potansiyeli, enzim aktiviteleri ve canlılık gibi çeşitli özellikleri hakkında bilgi elde edilebilmektedir (Dunphy 2004; Güleş ve Eren 2008).

Flow sitometri ile floresan madde ile işaretlenmiş olan antikorlar kullanılarak apoptozda açığa çıkan hücre yüzey proteinlerinin saptanması da mümkün olabilmekte ve apoptotik hücreler belirlenebilmektedir (Güleş ve Eren 2008).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma in vitro koşullarda Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiş olup, çalışma için İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Dosya No: 2017/19). Çalışmada kök hücre izolasyonu için gerekli olan dental dokular İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'na başvuran, 18-25 yaş aralığında olan, sistemik hastalığı bulunmayan bireylerden ortodontik ve cerrahi nedenler ile çekim endikasyonu konulmuş olan gömük üçüncü büyük azı dişlerinin çekimi ile elde edilmiştir. Çalışmaya katılan gönüllülerin çalışmanın amacını, içeriğini, yöntemini ve sorumluluklarını belirten 'Gönüllü Bilgilendirme ve Onam Formu'nu okumaları sağlanarak, imzalı onayları alınmıştır (EK-1).

Farklı deterjan içeriğine sahip çocuk diş macunlarının hücreler üzerine olan etkilerinin incelendiği bu çalışma 3 aşamada gerçekleştirilmiş olup çalışma planı Şekil 3-1'de gösterilmektedir.

1. AŞAMA: *Gömük yirmi yaş dişinin çekimi sırasında elde edilen dental dokulardan PDLMKH, GMKH ve diş eti epitel hücrelerinin izolasyonu ve karakterizasyonu*

2. AŞAMA: *Farklı konsantrasyonlardaki diş macunu solüsyonlarının hücrelerin canlılığı üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi*

3. AŞAMA: *Diş macunu solüsyonlarının PDLMKH ve GMKH'ların osteojenik ve kondrojenik farklılaşma potansiyelleri üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi*

Şekil 3-1: Çalışma Planı

3.1. Gereçler

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Materyaller

Çalışmada kullanılan materyallerin içerikleri ve üretici firma bilgileri Tablo 3-1 'de belirtilmiştir.

Tablo 3-1: Çalışmada kullanılan materyaller, içerikleri ve üretici firma bilgileri

Materyal	İçerik	Üretici Firma
Colgate 6+	Sorbitol, aqua, hydrated silica, PEG-12, Sodium Lauryl Sulfate , cellulose gum, sodium saccharin, sodium fluoride (1450 ppm F ⁻), aroma, hydroxypropyl methylcellulose, menthol, glycerin, cinnamal, eugenol, limonene, CI 77891, CI 42090	Colgate Palmolive Company, Belgium
Nenedent (4-9)	Aqua, hydrated silica, glycerin, xylitol, propylene glycol, xanthan gum, titanium dioxide, aroma, Sodium Lauryl Sarcosinate , disodium EDTA, sodiummonofluorophosphate (500 ppm F ⁻), sodium chloride	Dentinox, Berlin, Germany
Perlodent Junior 6+	Aqua, sorbitol, hydrated silica, propylene glycol, tetrapotassium pyrophosphate, xanthan gum, Sodium C14-16 Olefin Sulfonate , aroma, titanium dioxide, sodium fluoride (1450 ppm F ⁻), sodium saccharin, phenoxyethanol, ethylhexyl glycerin	Rossmann, Germany
Sensodyne Pronamel 6+	Aqua, sorbitol, hydrated silica, glycerin, PEG-6, Cocamidopropyl Betaine , xanthan gum, aroma, sodium fluoride(1450 ppm F ⁻), , sodium saccharin, sucralose, titanium dioxide, sodium hydroxide, limonene	Glaxo Smith Kline, ABD
Splat Juicy	Aqua*, dicalcium phosphate dihydrate*, hydrogenated starch hydrolsate*, glycerin*, hydroxyapatite, cellulose gum*, aroma, xanthan gum*, potassium thiocyanate, lactoferrin*, lactoperoxidase*, glucose oxidase*, glucose pentaacetate, aloe barbadensis leaf extract*, sodium methylparaben, hydrolyzed casein*, glycyrrhiza glabra root extract* (*natural origins)	SIA Splat Trading, Okulovka-Rusya
Complete DMEM (CDMEM)	%10 oranında FBS (Fötal sığır serumu), %1 penisilin/ streptomycin ilave edilmiş DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium)	Gibco, Grand Island, USA

3.1.2. Hücre Kültür Çalışmasında Kullanılan Cihazlar, Sarf ve Kimyasal Malzemeler

3.1.2.1. Sarf Malzemeler

- Steril pensler
- Steril bistüri uçları
- 0.22 µm steril medyum süzme filtresi (Sartorius, Goettingen, Germany; 16534)
- 15ml'lik steril falkon tüp (BD Biosciences Discovery Labware, CT, USA; 352096)
- 50 ml'lik steril falkon tüp (BD Biosciences Labware, CT , USA; 362098)
- 25 cm²'lik steril plastik hücre kültür flaskları (BD Biosciences Labware, Le Pont De Claix, France; 353108)
- 75 cm²'lik steril plastik hücre kültür flaskları (BD Biosciences Labware, Le Pont De Claix, France; 353110)
- 6 kuyucuklu steril hücre kültürü plakları (BD Biosciences Discovery Labware, USA; 353046)
- 48 kuyucuklu steril hücre kültürü plakları (Nest Biotech, China, 20140010415A)
- 5 ml polistiren tube (BD Biosciences, United States; 352052)
- Tip I kollajen kaplı lameller (BD Biosciences Discovery Labware, USA; 354089)
- 3 ml'lik pastör pipeti (Citotest labware Manufacturing, London; 31027003US)
- 3 ml'lik vial (kriyotüp) (Granier Bio-One GmbH; E090901J)
- Şarjlı pipet pompası (IsoLab, Germany)
- 2 µl- 20 µl'lik otomatik pipet (Axygen Scientific, USA)
- 20 µl-200 µl' lik otomatik pipet (Axygen Scientific, USA)
- 100 µl - 1000 µl'lik otomatik pipet (Axygen Scientific, USA)

- Hücre sayım kamerası (Thoma Lami)
- Lamel (22x22 mm)
- Distile su
- % 50 alkol
- % 70 alkol
- % 95 alkol
- Steril pudrasız cerrahi eldiveni

3.1.2.2. Kimyasal Malzemeler

- DPBS (Ca⁺⁺ Mg⁺⁺-free- Gibco, Grand Island, USA; 1419094)
- Penicillin/streptomycin (Gibco, Grand Island, USA; 15140122)
- DMEM (Gibco, Grand Island, USA; 31885023)
- Fötal sıgır serumu (FBS; Gibco, Grand Island, USA; 10500064)
- Tip I kollajenaz (Gibco, Grand Island, USA; 17100017)
- %0,25 tripsin-EDTA solusyonu (Gibco, Grand Island, USA; 25200056)
- % 0,5 tripan mavisi solusyonu (Gibco, Grand Island, USA; 15250061)
- Keratinocyte Medium Complete Kit (Dermalife K , USA; LL-0007)
- Dispase (5 U/mL) (Stemcells, Canada; 07913)
- CD45 FITC/CD34 PE (BD Biosciences, United States; 344563)
- CD90 PE (BD Biosciences, United States; 562385)
- CD73 PE (BD Biosciences, United States; 550257)
- CD105 PE (BD Biosciences, United States; 560839)
- CD28 PE (BD Biosciences, United States; 562323)
- CD14 PE (BD Biosciences, United States; 342408)
- CD146 FITC (BD Biosciences, United States; 560846)
- CD29 APC (BD Biosciences, United States; 559883)
- CD105 PE (BD Biosciences, United States; 560839)
- Hücre yıkama solüsyonu (Cell Wash, BD Biosciences, United States; 349524)
- Hematoksilen (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD)
- Eosin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD)

- Osteogenesis Differentiation Kit (StemPro, Life Tech, MA USA, A1007201)
- Adipogenesis Differentiation Kit (StemPro, Life Tech, MA USA, A1007001)
- Chondrogenesis Differentiation Kit (StemPro, Life Tech, MA USA; A1007101)
- Oil Red O (Sigma-Aldrich, USA; O0625-100G)
- Alizarin Red (Sigma-Aldrich, USA; A5533-25G)
- Alcian Blue (Sigma-Aldrich, USA; A5268-10G)
- Phosphate Buffered Saline (PBS), 1L (Bio-Rad; 1610780)
- Mouse Monoclonal Vimentin Antibody (Thermo Fisher, NB500- 512PE)
- İnsan Rekombinant Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (TGF- β ; Gibco Invitrogen, Grand Island, USA; PHG9204)
- Annexin V Human Apoptosis Detection Kit (EBIOSCIENCE- BMS500FI/100)

3.1.2.3. Kullanılan Cihazlar

- Laminar Hava Kabin (Biosafety Cabinet) Sınıf 2 Tip
- CO₂ İnkübatörü (Thermo, Series II Water Jacket)
- Invert Mikroskop (EVOS, AMG, Mill Creek, Washington)
- Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus-BH2-RFCA, Hamburg, Germany)
- Buzdolabı (+4 °C)(Uğur, Aydın / Türkiye)
- Derin Dondurucu (-20 °C) (Regal, Manisa, Türkiye)
- Santrifüj (Beckman Coulter, Allegra X-22, California, United States)
- Hassas Terazî (Chyo, JL-200, Japonya)
- Mikropipet Seti (Thermo, Massachusetts, ABD)
- Vorteks (Yellow line, TTS 2, Boutersem, Belgium)
- Su Banyosu (Techne, TE-10A, Staffordshire, UK)
- Akım Sitometri (BD, FACS Calibur, San Jose, CA)
- Işık Mikroskobu (Olympus, BX53, Tokyo, Japonya)

3.2. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi

Canlılık deneyleri için deterjan içerikleri farklı aynı yaş gruplarında kullanılan 5 farklı çocuk diş macunu seçildi. Belirlenen diş macunlarının her birinden 4 farklı konsantrasyonda hazırlanan diş macunu solüsyonları oluşturularak alt gruplar elde

edildi. Konsantrasyonlar örnek literatürlerden yola çıkarak % 0,4, % 20, % 50 ve % 80 olacak şekilde hazırlandı. Bu şekilde hazırlanan 20 adet diş macunu solüsyonu ile çalışma grupları elde edildi. Hücre kültürlerine sadece besiyeri eklenerek oluşturulan pozitif (+) kontrol grubu da dahil edilerek, toplam 21 adet deney grubu canlılık deneyleri için kullanıldı (Şekil 3-2).

DENEY GRUPLARI

C-DMEM	Colgate	Colgate	Colgate	Colgate
100%	80%	50%	20%	%0,4
C-DMEM	Nenedent	Nenedent	Nenedent	Nenedent
100%	80%	50%	20%	%0,4
C-DMEM	Perlodent Junior	Perlodent Junior	Perlodent Junior	Perlodent Junior
100%	80%	50%	20%	%0,4
C-DMEM	Sensodyne	Sensodyne	Sensodyne	Sensodyne
100%	80%	50%	20%	%0,4
C-DMEM	Pronamel	Pronamel	Pronamel	Pronamel
100%	80%	50%	20%	%0,4
C-DMEM	Splat Juicy	Splat Juicy	Splat Juicy	Splat Juicy
100%	80%	50%	20%	%0,4

Şekil 3-2: Canlılık deneyi için çalışma grupları

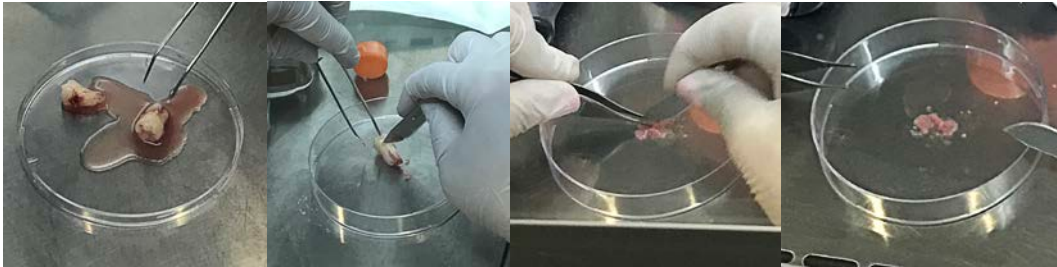
Farklılaşma deneyleri için yapılan ön çalışmalarda yüksek konsantrasyonlardaki diş macunu solüsyonlarında 21 gün sonunda hücre farklılaşması olmadan hücrelerin apoptoza uğradığı görüldü. Bu nedenle farklılaşma deneylerinde 5 farklı diş macununun en düşük konsantrasyonları (% 0,4) ve kontrol grubu (CDMEM) çalışma grubu olarak belirlendi.

3.3. Yöntem

3.3.1. BİRİNCİ AŞAMA: Hücre Kültürü, PDLMKH, GMKH ve Diş Eti Epitel Hücrelerinin İzolasyonu ve Karakterizasyonu

3.3.1.1. PDLMKH ve GMKH İzolasyonu ve Ekimi

Hücre kültürü için gerekli olan diş eti ve periodontal ligament doku örnekleri İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'nda çekim endikasyonu konmuş gömük üçüncü büyük azı dişlerinin cerrahi çekim işlemleri sırasında çürük ya da periodontal problem bulunmayan dişlerden ve sistemik hastalığı bulunmayan hasta gruplarından elde edildi. Çekimi tamamlanan gömük dişler ve diş eti dokusu içerisinde %1 Penicillin- Streptomycin ve PBS (phosphate buffered saline) bulunan 15 ml'lik steril konik kapaklı tüpler ile 2 saat içerisinde Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı, Allerji- İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'na taşındı.



Şekil 3-3: Doku izolasyonu ve dokuların mikromekanik parçalanma işlemi

Dişlerin kök yüzeylerinin orta kısımlarının laminar akışlı steril kabinde 22 numaralı bistüri ile kazınarak elde edilen periodontal ligament dokusu ve diş eti dokusu Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS) ile yıkanıp, bistüri ile mekanik ayrıştırma yöntemi uygulanarak 1mm³'lük parçalara ayrıldı (Şekil 3-3). Mikromekanik parçalama sonrasında 1 ml DPBS içerisinde 0,003 gr Tip1 kollajenaz olacak şekilde kollajenaz solüsyonu hazırlanarak mikromekanik olarak parçalanmış dokuların üzerine 2 ml ilave edilerek enzimatik parçalanma işlemine geçildi. Kollajenaz solüsyonu içerisinde toplanarak 15ml'lik steril tüplere alınan mekanik olarak parçalanmış dokular 45 dakika- 1 saat boyunca 37° C, % 5 CO₂ ortamı sağlayan inkübatörde rotatora bağlanarak

bekletildi. Rotatora bağlı tüpler sık aralıklarla vortekslenerek hücre süspansiyonu olana kadar kontrol edildi (Şekil 3-4).



Şekil 3-4: Dokuların kollejanaz enzimi ile enzimatik parçalanma işlemi

Yaklaşık 1 saat sonra tüplerde lifli bir yapı farkedildikten sonra tüpler inkübatörden çıkartılıp, hücre solüsyonunda homojenlik sağlanması için pipetaj işlemi yapılmasının ardından kollajenazın inaktive edilmesi için hücreler DMEM ile yıkanarak 1500 rpm (devir/dakika)'de 5 dk santrifüj (Beckman Coulter, Allegra X-22) edildi. Santrifüj sonrasında hücreler tüpün altına çökerek üstte kalan medyum uzaklaştırıldı. Ardından hücreler 2. kez DMEM ile yıkanıp 1500 rpm'de 5 dk boyunca tekrar santrifüj edildi.

Tüplerin üst kısmında kalan süpernatant 2. santrifüj işleminin tamamlanmasından sonra tekrar uzaklaştırılarak hücrelere önceden hazırlanmış 5ml kültür medyumunu ile (50 ml'lik santrifüj tüpüne 45 ml DMEM, 5 ml FBS, 500 µl penisilin eklenerek) T-25 cm²'lik flasklara ekim yapıldıktan sonra 37⁰ C'de % 5 CO₂ ortamı sağlayan inkübatöre konuldu (Şekil 3-5). Hücrelerin bulunduğu kültür medyumunu 2 günde bir değiştirilerek hücrelerin çoğalması ve flask üzerine yayılması invert mikroskop (EVOS-AMG) ile belli aralıklarla takip edildi.

3.3.1.2. Diş Eti Epitel Hücrelerinin İzolasyonu ve Ekimi

Diş eti epitel hücreleri (GEC) sağlıklı erişkin bireylerin cerrahi üçüncü molar ekstraksiyonu sırasında elde edilen diş eti dokularından izole edildi. Elde edilen diş eti dokuları streptomisin, penisilin ve fungizon içeren kalsiyum ve magnezyum içermeyen

PBS (phosphate buffered saline) ile yıkandıktan sonra, doku parçası 4°C'de % 0.4 dispase içinde gece boyunca inkübe edildi. Epitelyum şeritleri daha sonra mekanik olarak ayrıldı ve % 0.05 tripsin / 0.53 mM EDTA içinde 37°C'de 10-15 dakika süreyle tripsinize edildi. Kuvvetli pipetaj işleminden sonra, hücre süspansiyonu, 5 dakika boyunca 700 g (gravite)'de santrifüj edildi ve hücre pelleti, keratinosit büyüme ortamında (Dermalife Basal Medium; Lifeline, Walkersville, MD, ABD) tekrar süspanse edildi. Keratinosit büyüme ortamı, 10 ng / mL epidermal büyüme faktörü, 5 µg/mL insülin, 0.5 µg/mL hidrokortizon, 0.15 mM kalsiyum ve gentamisin/amfoterisin B ile desteklenmiş serumsuz bir ortamdır. Hücreler 37°C'de, % 5 CO₂ ortamı sağlayan inkübatöre 25 cm²'lik flaslara ekim yapılarak konuldu (Şekil 3-5). Hücrelerin bulunduğu kültür medyumunu 2 günde bir değiştirilerek hücrelerin çoğalması ve flask üzerine yayılması invert mikroskop (EVOS-AMG) ile belli aralıklarla takip edildi.



Şekil 3-5: Hücrelerin DMEM ile yıkanması, santrifüj işlemi, flaslara ekim

3.3.1.3. İzole edilen Hücrelerin Pasajlanması

T-25 cm²'lik flaslara ekim yapılarak inkübatörde bekletilen hücreler konfluent bir yapıya sahip olup çoğalmaya başlayınca pasajlama işlemine geçildi. İlk yapılan ekimde birinci kültür sıfırcı pasaj (P0) olarak kabul edilerek, birinci kültür işlemini takip ederek her kültür işlemi sonrası pasaj sayıları P1, P2 ve P3 olarak belirlendi. Canlılık ve farklılaşma deneyleri için 3. pasajdaki hücreler kullanıldı.

Yaklaşık 2 hafta sonunda hücreler flask üzerinde % 70 yoğunluk göstermeye başladığında birinci pasaj işlemine geçildi. Steril kabin içerisinde flaslarda bulunan hücre medyumunu steril pipetler ile uzaklaştırılarak flask içerisine 5ml DPBS konulup

hücrelerin DPBS ile yıkanması sağlandı. DPBS flasklardan uzaklaştırıldıktan sonra flasklardaki hücreler üzerine 500 µl Tripsin-EDTA eklenerek inkübatörde 4 dakika bekletildi. Böylece plastisite özellikleri olan kök hücrelerin Tripsin-EDTA ile yapıştıkları yüzeylerden kaldırılması sağlandı. İnkübatörden alınan flasklar içerisine tripsinin inaktivasyonu için 4 ml kültür medyumunu ilave edilip flask içerisindeki hücreler sıvı ile birlikte 15 ml’lik konik kapaklı tüplere aktarıldı. 1500 rpm’de 5 dk santrifüj yapıldıktan sonra tüplerin üst kısmında kalan süpernatant uzaklaştırıldı ve tüplerin alt kısmından kalan hücreler tekrar kültür medyumunu ile yıkanıp santrifüj işlemi tekrarlandı. Santrifüj işlemi sonrası tüplerin üstte kalan kısmındaki medyum uzaklaştırıldı ve çöken hücreler üzerine 1 ml kültür medyumunu eklenerek homojenizasyonu sağlamak için pipetaj işlemi yapıldı. Homojenizasyon sağlandıktan sonra hücre sayımı işlemine geçildi. Hücre sayımı için, 1ml homojenize edilmiş kültür medyumunu içerisinde bulunan hücre solüsyonundan 10 µl kısım eppendorf tüplere aktarılarak üzerine 10 µl tripan mavisi solüsyonu eklendi. Hücre sayımı için thoma lamı kullanıldı ve sayım yapılacak alan üzerine lamel kapatıldı. Eppendorf tüpünde hazırlanmış olan hücre süspansiyonundan pipet yardımıyla 10 µl alınarak thoma lamında sayım yapılacak alana lam ile lamelin birleştiği noktadan pipet ile yavaş bir şekilde konuldu. Hücre süspansiyonunun lama yerleştirilmesinden sonra ışık mikroskobu (40x objektif) altında hücre sayımı yapıldı (Şekil 3-6).

Hücre sayımı için;

‘Mikroskop altında sayılan toplam hücre sayısı x Seyreltme oranı x Sabit sayı (10000) = Toplam hücre sayısı’ formülü kullanıldı.

Sayım sonucunda belirlenen hücre sayısı, 2 olan seyreltme oranı ve 10^4 olan sabit sayı ile çarpılarak elde edilen sayı 1 ml’deki hücre sayısını yaklaşık olarak göstermektedir.



Şekil 3-6: Thoma lamı üzerinde hücre sayımının ışık mikroskobu ile yapılması

Hücre sayımı yapıldıktan sonra kalan hücre kültür süspansiyonları 10 ml hücre medyumu ile sulandırılıp T-75 cm²'lik flasklara ekildi. Böylece 1. pasajlama işlemi gerçekleştirilmiş olup hücre flaskları tekrar inkübatöre yerleştirildi. Kültür medyumu 2 gün aralıklarla değiştirilerek hücrelerin çoğalması ve konfluent olması takip edildi. Bu şekilde tekrarlayan pasajlama işlemleri 2. pasajlamanın ardından hücreler 3. pasaja gelene kadar tekrarlandı.

3.3.1.4. PDLMKH ve GMKH'lerin Karakterizasyonu

İzole edilen kök hücreler 3. pasaja ulaştıklarında karakterizasyon işlemleri için osteojenik, kondrojenik ve adipojenik farklılaşma potansiyelleri değerlendirildi. Ayrıca elde edilen kök hücrelerin immünofenotipik özelliklerinin belirlenmesi için akım sitometri cihazında yüzey belirteçlerine bakıldı.

➤ İzole Edilen PDLMKH ve GMKH'lerin Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi

Farklılaşma potansiyellerini belirlemek için 6 kuyucuklu plakların herbirinin içerisine tip I kollajen kaplı lameller yerleştirildi. 3. Pasajdaki PDL ve diş eti mezenkimal kök hücreleri her bir kuyuda 5×10^4 hücre olacak şekilde tip I kollajen kaplı lamellere ekildi. Tüm kuyucuklara 2 ml kültür medyumu eklenerek, hücreler inkübatöre konuldu. 3 gün arayla besiyerleri değiştirilerek hücrelerin konfluent olması sağlandı. 3. gün sonunda konfluent olan hücre plakları üzerine her bir kuyucukta 2 ml olacak şekilde farklılaşma besiyerleri (Osteogenesis Differentiation Kit, StemPro, Life Tech, MA USA, A1007201; Chondrogenesis Differentiation Kit, StemPro, Life Tech, MA USA, A1007101 ve Adipogenesis Differentiation Kit, StemPro, Life Tech, MA

USA,A1007001) eklendi. Eklenen farklılaşma besiyerleri her 3 günde bir uzaklaştırılarak yeni farklılaşma besiyerleri eklendi. 4 hafta sonunda boyama işlemlerine geçildi ve hücreler üzerindeki farklılaşma medyumları aspire edilerek kuyulara 2 ml DPBS eklenip 1 dakika bekletildi. 1 dakikadan sonra DPBS uzaklaştırılıp kuyulara 2 ml formalin eklendi ve 45 dakika karanlık bir ortamda oda sıcaklığında fiksasyonun sağlanması için beklenildi. 45 dakika sonrasında kuyulardan formalin uzaklaştırıldı ve hücreler distile su ile 2 kere yıkandı.

Osteojenik farklılaşma varlığının görüntülenmesi için ALR ile boyama gerçekleştirildi. Hücreler üzerine 2 ml ALR (Alizarin Red, Sigma- Aldrich, USA; A5533-25G) eklenerek 45 dk karanlık bir ortamda oda sıcaklığında inkübasyon sağlanması için bekletildi. 45 dakika sonunda boya aspire edilerek hücreler distile su ile 2 kez yıkandı. Yıkama işleminden sonra hücre ekiminin yapıldığı tip I kollajen kaplı lameller kuyucuklardan çıkartılarak lam üzerine kapatılıp mikroskop görüntülerinin incelenmesi için hazır hale getirildi ve kalsiyum depozitlerinin varlığı incelendi.

Kondrojenik farklılaşma varlığının görüntülenmesi için Alcian blue ile boyama gerçekleştirildi. Kuyucuklara 3 ml ‘Alcian Blue’ (Alcian Blue Sigma – Aldrich, USA; A5268-10G) eklenerek 45 dakika karanlık bir ortamda oda sıcaklığında inkübe edildi. 45 dakika sonunda kuyulardaki boya aspire edilerek 1,2 ml etil alkol ve 800 µl asetik asit eklenerek 15 dakika boyunca bekletildi. 15 dakikanın sonunda kuyulardaki solüsyon aspire edilerek kuyular iki defa DPBS ile yıkayıp kuyulardaki tip I kollajen kaplı lameller çıkartılıp lamalar üzerine kapatılarak mikroskopta proteoglikanların varlığı incelendi.

Adipojenik farklılaşma varlığının görüntülenmesi için ise ‘Oil Red O’ ile boyama gerçekleştirildi. Kuyucuklara 2 ml % 60’lık izopropanol eklendi ve 5 dakika boyunca inkübe edildi. Daha sonra kuyucuklara 2 ml ‘Oil Red O’ (Sigma-Aldrich, USA; O0625-100G) eklenerek 45 dakika karanlık ortamda oda ısısında bekletildi. İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki ‘Oil Red O’ aspire edildi ve kuyular distile su ile 2 kez yıkandı. Distile suyun aspirasyonundan sonra kuyular 1 dakika boyunca hematoksilin ile muamele edilerek 2 defa daha distile su ile yıkandı ve kuyulardaki kollajen kaplı lameller çıkartılıp lam üzerine kapatılarak mikroskopta yağ damlacıklarının varlığı incelendi.

➤ İzole Edilen Kök Hücrelerin Akım Sitometri ile Hücre Marker Ekspresyonunun Saptanması

İzole edilen hücrelerin immünofenotipik karakteristiklerinin belirlenmesi için akım sitometri ile analizler gerçekleştirildi.

İzolasyon işlemi tamamlanıp P3 aşamasına kadar pasajlanan hücrelerin tripsin ile yapışıkları yüzeylerden kaldırılmasının ardından, hücre sayımı yapıldı. Hücre sayısı belirlendikten sonra yaklaşık 5×10^6 hücre DPBS içerisinde homojenize edildi. Homojenize edilen hücreler polistiren tüplere aktarıldı. Sonrasında belirlenen hücre yüzey işaretleyicilerine özel floresan izotiyosiyonat (FITC), fikoeritrin (PE), allofikosiyanin (APC) konjuge monoklonal antikorlar; CD73 PE, CD90 PE, CD105 PE, CD146 FITC, CD29 APC, CD45 FITC, CD34 PE, CD25 APC, CD28 PE, CD14 PE ve izotip kontrollerinden (Mouse IgG1, κ) 10 μ l eklenerek 15 dakika boyunca oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 2 ml DPBS eklendi ve 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüplerin üst kısmında kalan medyum uzaklaştırıldı ve 500 μ l hücre yıkama solüsyonu (Cell Wash, BD Biosciences, United States; 349524) eklenip resüspanse edildi. Hazırlanan hücre süspansiyonu FACS Calibur akım sitometri cihazında okutulup hücrelerin marker ekspresyonları saptandı.

3.3.1.5. Dış Eti Epitel Hücrelerinin Karakterizasyonu

İzole edilen epitel hücrelerinin karakterizasyonu için hücreler steril kabin içerisine alınıp keratinosit kültür medyumunu aspire edildikten sonra hücrelerin 5 ml DPBS ile 3 defa yıkanmaları sağlandı. Ardından üzerlerine 500 μ l Tripsin-EDTA eklenerek hücrelerin flasklardan kaldırılması sağlandı. Tripsin-EDTA ile 4 dk boyunca inkübatörde bekletilen hücreler 4 dk sonrasında 5 ml kültür medyumunu ilave edilerek 15 ml'lik konik kapaklı steril tüplere alındı. Bu tüpler 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek hücrelerin tüpün alt kısmına çökmesi sağlandı. Üstte kalan medium atıldı ve tüpün dibinde kalan hücre birikintisi pipet yardımıyla temiz pozitif şarjlı lam üzerine alınarak lamel yardımıyla ince bir tabaka olacak şekilde yayma yapıldı. Hücreler oda sıcaklığında sırasıyla, % 95, % 70 ve % 50'lik alkol kullanılarak lam üzerine fikse edildi. Ardından lam distile suya daldırılarak fiksasyon işlemi tamamlandı. 8 dk boyunca hematoksilen (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) ile boyama

gerçekleştirildi. Boyama sonrası distile su ile yıkama yapıldı ve eosin (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, ABD) ile ikinci boyama işlemine geçildi. Eosin ile 90 sn boyama sonrası %95'lik alkol ile hücreler susuz hale getirildi ve ardından xylol içine 20 kere daldırma yapıldı. Mikroskop lamları Permount (Fischer Scientific, Pittsburgh, PA, ABD) kullanılarak sabitlendi ve ışık mikroskobu ile epitel hücrelerin analizi yapıldı.

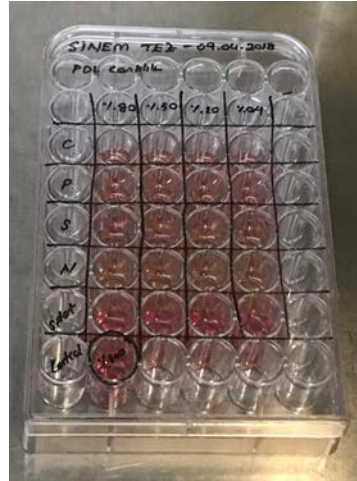
3.3.1.6. PDLMKH, GMKH ve Diş Eti Epitel Hücrelerinin Dondurularak Saklanması

Karakterizasyonları yapılan ve 3. pasaja gelen diş eti mezenkimal kök hücreleri, PDL mezenkimal kök hücreleri ve diş eti epitel hücreleri deneylerde kullanılmak üzere -196°C 'de sıvı nitrojen tankında dondurularak saklandı. Deneylerin başlanılacağı gün 37°C 'deki su banyosunda çözündürülüp, santrifüj edildikten sonra besiyeri ile kaplı kültür plaklarına alınıp 37°C 'de % 5 CO_2 'li ortamın sağlandığı etüve konuldu.

3.3.2. İKİNCİ AŞAMA: Farklı Deterjan İçerikli Diş Macunu Solüsyonlarının Hücrelerin Canlılığı Üzerine Olan Etkilerinin Değerlendirilmesi

3.3.2.1. Hücrelerin 48 Kuyucuklu Kültür Plaklarına Ekilmesi

3. pasaja kadar belirli yoğunluğa ulaşan hücreler thoma lamında sayıldıktan sonra 48 kuyucuklu plaklara her kuyucukta 5×10^5 hücre olacak şekilde her bir hücre grubu için ayrı ayrı ekim yapıldı. Üzerlerine 500 μl hücre kültür besiyeri eklenerek inkübatöre kaldırıldı (Şekil 3-7).



Şekil 3-7: Hücrelerin 48 kuyucuklu plaklara ekilmesi

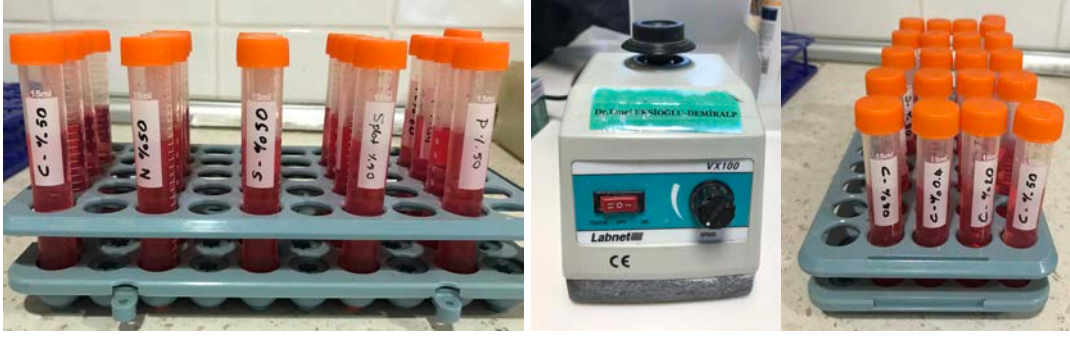
3.3.2.2. Farklı Konsantrasyondaki Diş Macunu Solüsyonlarının Hazırlanması

5 farklı çocuk diş macunu 4 farklı konsantrasyonda hazırlanarak 20 farklı diş macunu solüsyonu elde edildi. Bu işlem için diş macunları miktarları hassas terazide tartılarak serum içermeyen kültür medyumunu içinde steril konik kapaklı plastik tüplerde dilüe (80 w/v%) edildi. Öncelikle her bir diş macunundan % 80 konsantrasyonda diş macunu solüsyonları elde edildi (Şekil 3-8).



Şekil 3-8: % 80’lik diş macunu solüsyonlarının elde edilmesi

Daha sonra bu konsantrasyon üzerinden solüsyonlar DMEM ile dilüe edilerek % 50, % 20 ve % 0.4’lük konsantrasyonlar hazırlandı. Hazırlanan solüsyonlar vortekslenerek homojen bir diş macunu karışımı elde edildi (Şekil 3-9). Ardından her bir tüpe 4200 rpm’de 10 dk boyunca santrifüj işlemi uygulandı. Katı parçacıkların tüpün alt kısmında toplanması sağlanarak santrifüj işleminden sonra diş macunları solüsyonları 0.22 µm’lik filtreden 2 kere geçirilerek kalan küçük partiküllerden arındırıldı. 20 farklı diş macunu solüsyonu homojen bir hale geldikten sonra -20°C’de saklandı.



Şekil 3-9: Hazırlanan homojen diş macunu solüsyonları

3.3.2.3. Hücrelerin Farklı Konsantrasyonlardaki Farklı Diş Macunu Solüsyonlarına Maruz Bırakılması

3. pasajdaki MKH'ler 48 kuyucuklu plaklara ekildi. Ekimden 1 gün sonra Anneksin V deneyi için kuyucuklardaki besiyerleri aspire edildi. 20 farklı çocuk diş macunu solüsyonları ile birlikte kontrol grubunu oluşturan CDMEM 500 µl olacak şekilde kuyucuklara eklenerek 2 dakika boyunca hücrelerle stimülasyon sağlandı. 2 dakika sonunda deney gruplarının aspirasyonu sağlanıp, hücreler 500 µl DPBS (DPBS (Ca⁺⁺ Mg⁺⁺ -free- Gibco, Grand Island, USA; 1419094) ile yıkandı. Kuyucuklara 2 ml hücre kültür medyumunu eklenerek plaklar inkübatöre kaldırıldı. Her gün hücrelerin besiyeri değiştirilerek 72. saat (3. gün) sonunda kuyucuklardaki hücre canlılığı değerlendirildi.

3.3.2.4. Hücre Canlılığının Akım Sitometri ile Değerlendirilmesi

72. saat sonunda kuyucuklardaki CDMEM besiyerleri aspire edilerek tüm kuyucuklar 500 mikrolitre DPBS (DPBS (Ca⁺⁺ Mg⁺⁺ -free- Gibco, Grand Island, USA, 25200056) ile yıkandı. Anneksin V / Propidium İyodür Apoptoz deneyi için hücreler 20 µl trypsin (% 0,25 Trypsin-EDTA solüsyonu, Gibco, Grand Island, USA; 25200056) ile 4 dakika inkübe edilerek hücrelerin yapıştıkları plastik yüzeylerden kaldırılması sağlandı. 4 dakika sonunda trypsin uzaklaştırıldı ve kuyucuklara 1000 µl CDMEM eklenerek homojenizasyon için pipetaj işlemi yapıldı. Homojenizasyonu sağlanan hücre solüsyonlarının herbirinden 100 µl solüsyon çekilerek 5 ml'lik polistiren tüplere alındı ve 1500 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj sonunda üstte kalan medium atıldı ve tüplere 2 ml hücre yıkama suyu (Cell Wash, BD Biosciences,

United States; 349524) ilave edilerek tüpler vortekslendi. 1500 rpm’de 5 dakika boyunca tekrar santrifüj edildikten ve üstte kalan medium atıldıktan sonra tüm tüplere 200 µl bağlanma tamponu eklenerek tüpler tekrar vortekslendi. 4 µl Anneksin V (EBIOSCIENCE- BMS500FI/100) tüplere ilave edildi ve 10 dakika karanlık ortamda bekletildi. Ardından 200 µl bağlanma tamponu tekrar ilave edilip 1500 rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek üstte kalan medyum uzaklaştırıldı. Tüpler 200 µl bağlanma tamponu ile tekrar vortekslenip 10 µl propidium iodide (PI) eklenerek akım sitometri cihazında dış macunu solüsyonlarının canlı, nekroz, erken ve geç apoptotik hücre oranları üzerine olan etkileri okundu (Şekil 3-10). Bu hücre oranları Annexin V/ PI pozitif negatifliğine göre akım sitometri cihazında oluşan grafikler ile tespit edildi. Cihazın okuması sırasında Anneksin V (-) ve PI (-) canlı, Anneksin V (+) ve PI (-) erken apoptotoik hücre, Anneksin V (+) ve PI (+) geç apoptotik hücre, Anneksin V (-) ve PI (+) nekrotik hücre olarak belirlendi. Bu üç hücre grubu ve oranları grafiksel olarak kaydedildi. Canlılık analizleri için her bir hücre tipiyle olan deneyler 5 kez tekrarlandı ve sonuçların değerlendirilmesi için ortalama değerler kullanıldı.



Şekil 3-10: Anneksin V/ Propidium İodide

3.3.3. ÜÇÜNCÜ AŞAMA: Farklı Deterjan İçerikli Diş Macunu Solüsyonlarının MKH'lerin Osteojenik ve Kondrojenik Farklılaşma Potansiyeli Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi

3.3.3.1. Osteojenik Farklılaşma Deneyi

MKH'lerin farklı içerik ve konsantrasyondaki diş macunu solüsyonlarına maruz bırakılması

MKH'ler osteojenik farklılaşma deneyi için, 6 kuyucuklu plakların her birine tip I kollajen kaplı lameller yerleştirilerek kuyucuk başına 5×10^5 hücre gelecek şekilde lameller üzerine hücre ekimi yapıldı. 2-3 gün kadar hücrelerin konfluent olması beklendi. Hücrelerin konfluent olmasının ardından her bir kuyucuktaki besiyeri aspire edilerek her bir deney grubundan 2 ml olacak şekilde kuyucuklara ilave edildi. Deney grupları 2 dk boyunca hücrelerle stimüle edildikten sonra deney solüsyonları aspire edilerek hücreler DPBS ile 2 kez yıkandı (Şekil 3-11).



Şekil 3-11: MKH'ler üzerine diş macunu solüsyonlarının uygulanması

Osteojenik Farklılaşma Ortamının Uygulanması

MKH'lerin osteojenik farklılaşma potansiyelinin uyarılması için farklı diş macunları ile stimüle edilen her bir kuyucuğa β -gliserofosfat, askorbik asit, deksametazon ve bazal medyumdan oluşan osteojenik farklılaşma besiyeri (StemPro, Life Tech, MA USA, A1007201) 2 ml olacak şekilde ilave edildi. 6 kuyucuklu plaklar

besiyerlerinin ilave edilmesinden sonra inkübatöre kaldırılarak 2 günde bir besiyerleri değiştirildi. 21. gün sonunda farklılaşma deneyinin sonlandırılıp ALR ile boyama işlemine geçilebilmesi için her bir kuyucuktaki besiyerleri aspire edildi. Ardından kuyucuklara 2 ml DPBS eklenerek 1 dk boyunca beklenilip hücrelerin yıkanması ve partiküllerden arındırılması sağlandı. DPBS'in uzaklaştırılmasından sonra her bir kuyucuğa 2 ml formalin eklendi ve karanlık ortamda oda sıcaklığında 45 dakika beklenerek hücrelerin fikse olması sağlandı. Formalinin aspirasyonundan sonra hücreler 2 kez distile su ile yıkanarak kuyucuklara %2'lik 500 µl ALR boyası eklenerek oda ısısında 45 dakika kadar bekleme bırakıldı (Şekil 3-12).



Şekil 3-12: Hücrelerin ALR ile boyanması

Osteojenik Farklılaşmanın Morfolojik Olarak Değerlendirilmesi

45 dk sonunda ALR boyası kuyucuklardan aspire edilerek hücreler distile su ile 2 kez yıkanıp boya kalıntılarının ortamdan uzaklaştırılması sağlandı. Mikroskopta görüntülemek için kuyucuklara yerleştirilen kollajen kaplı lameller lamlar üzerine alınarak hücrelerin Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus, BH2-RFCA) ile 20x büyütmede görüntülenmesi sağlandı. Her bir kuyucuktaki farklı diş macunlarına maruz kalan hücre kültürlerinin görüntüleme sırasında kalsifikasyon yoğunluğu ve hücre morfolojileri değerlendirildi.

3.3.3.2. Kondrojenik Farklılaşma Deneyi

MKH'lerin farklı içerik ve konsantrasyondaki dış macunu solüsyonlarına maruz bırakılması

MKH'ler kondrojenik farklılaşma deneyi için, 6 kuyucuklu plakların her birine tip I kollajen kaplı lameller yerleştirilerek kuyucuk başına 5×10^5 hücre gelecek şekilde lameller üzerine hücre ekimi yapıldı. 2-3 gün kadar hücrelerin konfluent olması beklendi. Hücrelerin konfluent olmasının ardından her bir kuyucuktaki besiyeri aspire edilerek her bir deney grubundan 2 ml olacak şekilde kuyucuklara ilave edildi. Deney grupları 2 dk boyunca hücrelerle stimüle edildikten sonra deney solüsyonları aspire edilerek hücreler DPBS ile 2 kez yıkandı.

Kondrojenik Farklılaşma Ortamının Uygulanması

MKH'lerin kondrojenik farklılaşma potansiyelinin uyarılması için farklı dış macunları ile stimüle edilen her bir kuyucuğa kondrojenik farklılaşma besiyeri (StemPro, Life Tech, MA USA, A1007101) 2 ml olacak şekilde ilave edildi. 6 kuyucuklu plaklar besiyerlerinin ilave edilmesinden sonra inkübatöre kaldırılarak 2 günde bir besiyerleri değiştirildi. 14. gün sonunda farklılaşma deneyinin sonlandırılıp Alcian Blue ile boyama işlemine geçilebilmesi için her bir kuyucuktaki besiyerleri aspire edildi. Ardından kuyucuklara 2 ml DPBS eklenerek 1 dk boyunca beklenilip hücrelerin yıkanması ve partiküllerden arındırılması sağlandı. DPBS'in uzaklaştırılmasından sonra her bir kuyucuğa 2 ml formalin eklendi ve karanlık ortamda oda sıcaklığında 45 dakika beklenerek hücrelerin fikse olması sağlandı. Formalinin aspirasyonundan sonra hücreler 2 kez distile su ile yıkanarak kuyucuklara 3ml Alcian Blue (Alcian Blue Sigma – Aldrich, USA; A5268-10G) eklenerek 45 dakika karanlık bir ortamda oda sıcaklığında inkübe edildi (Şekil 3-13). 45 dakika sonunda kuyulardaki boya aspire edilerek 1,2 ml etil alkol ve 800 µl asetik asit eklenerek 15 dakika boyunca bekletildi.



Şekil 3-13: Hücrelerin Alcian Blue ile boyanması

Kondrojenik Farklılaşmanın Morfolojik Olarak Değerlendirilmesi

15 dakikanın sonunda kuyulardaki solüsyon aspire edilerek kuyucuklar iki defa DPBS ile yıkandı. Mikroskopta görüntülemek için kuyucuklara yerleştirilen lameller lamalar üzerine alınarak hücrelerin Binoküler Araştırma Mikroskop (Olympus, BH2-RFCA) ile 20X büyütmede görüntülenmesi sağlandı. Her bir kuyucuktaki farklı dış macunlarına maruz kalan hücre kültürlerinin görüntüleme sırasında proteoglikan varlığı değerlendirildi.

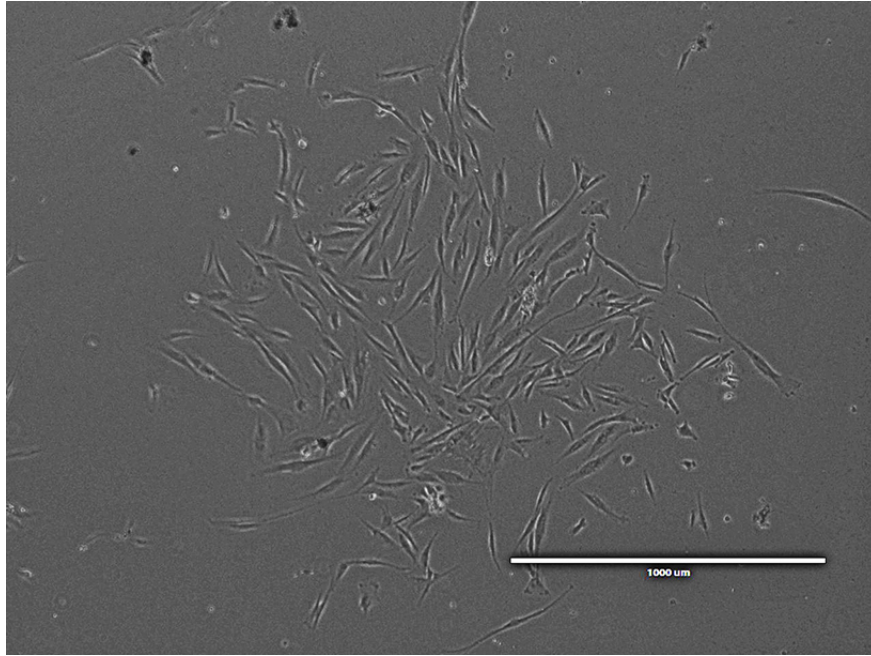
3.4. İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edildi. Çoklu karşılaştırmalar için gruplar arası farklılığın belirlenmesi için One Way ANOVA testi kullanılırken farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığının belirlenmesinde ise ikili karşılaştırmalar için Tukey post-hoc testi kullanıldı. Toplam ölü hücre oranlarının grup, hücre tipi ve konsantrasyona göre değişimleri üç yönlü varyans analizi testi ile incelendi. Analiz sonuçları ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunuldu. Önem düzeyi $p < 0,05$ olarak alındı.

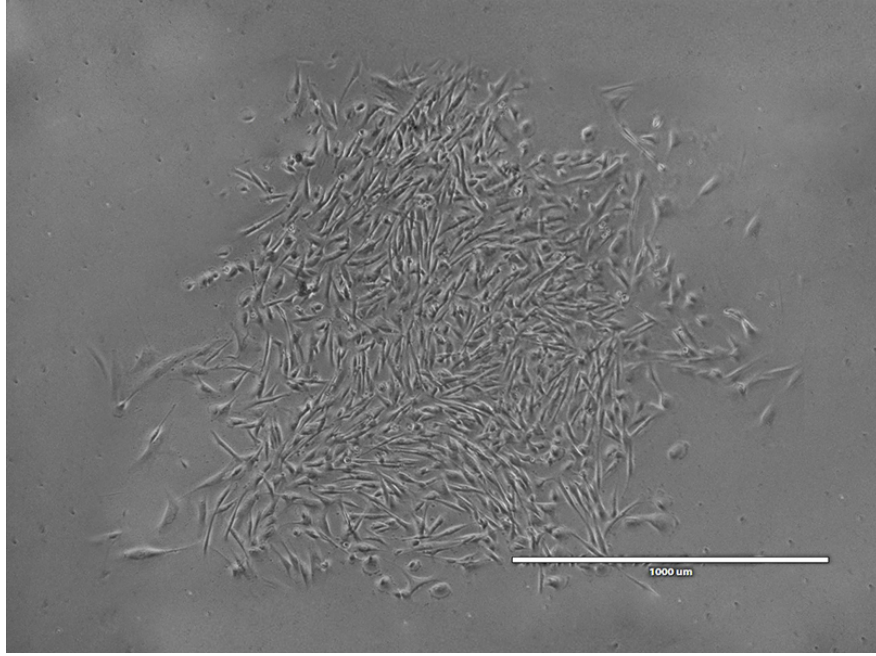
4. BULGULAR

4.1. BİRİNCİ AŞAMA: Gömük Yirmi Yaş Dışından PDLMKH, GMKH ve GEC İzolasyonu ve Karakterizasyon

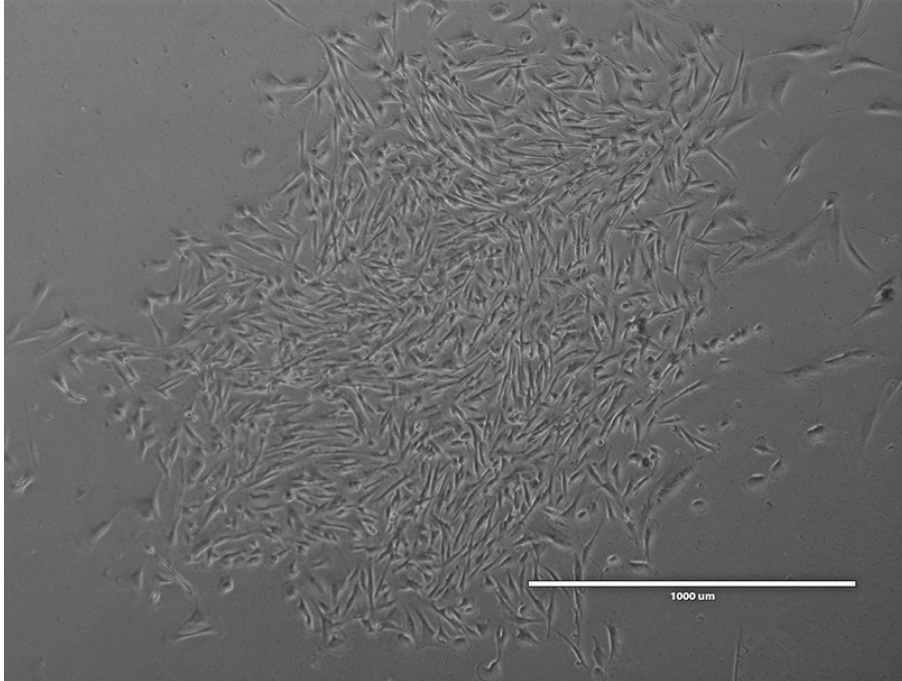
4.1.1. İzole Edilen GMKH'lerin Pasajlanması



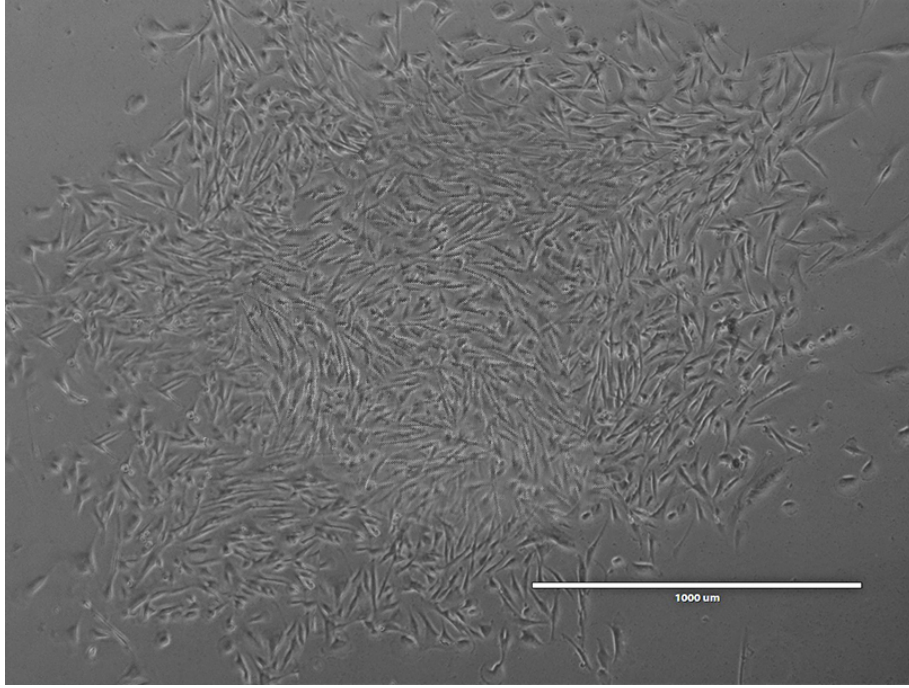
Şekil 4-1: P0 GMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X



Şekil 4-2: P1 GMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X

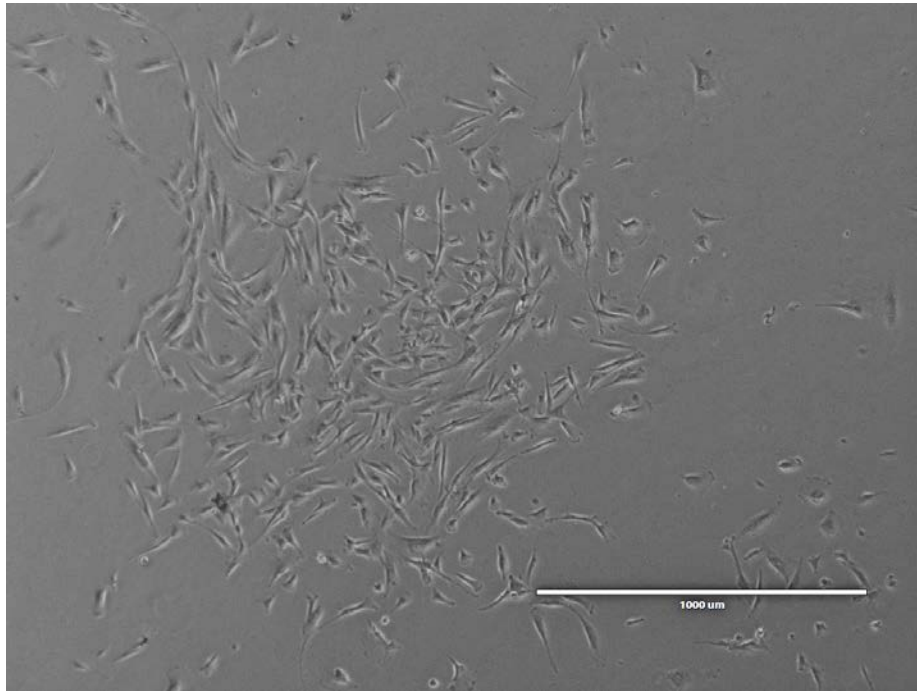


Şekil 4-3: P2 GMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X

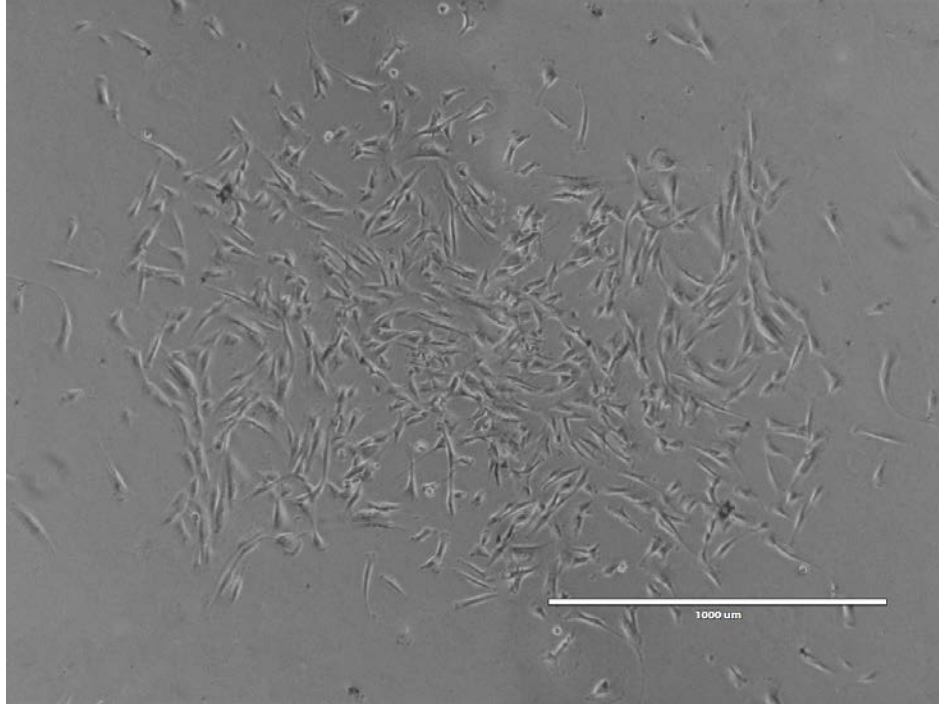


Şekil 4-4: P3 GMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X

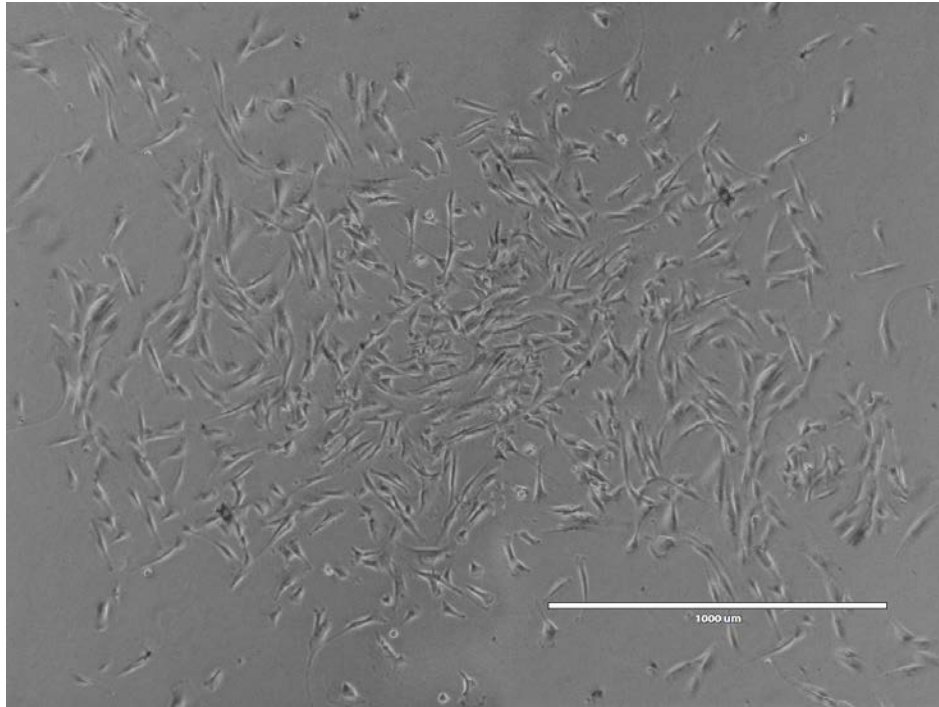
4.1.2. İzole Edilen PDLMKH'lerin Pasajlanması



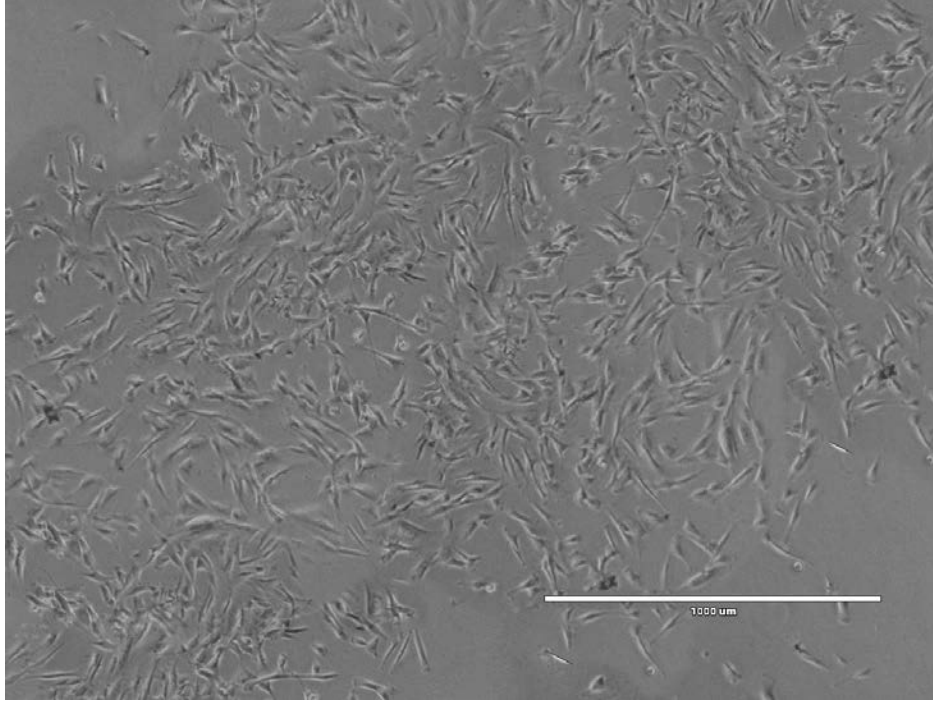
Şekil 4-5: P0 PDLMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X



Şekil 4-6: P1 PDLMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X



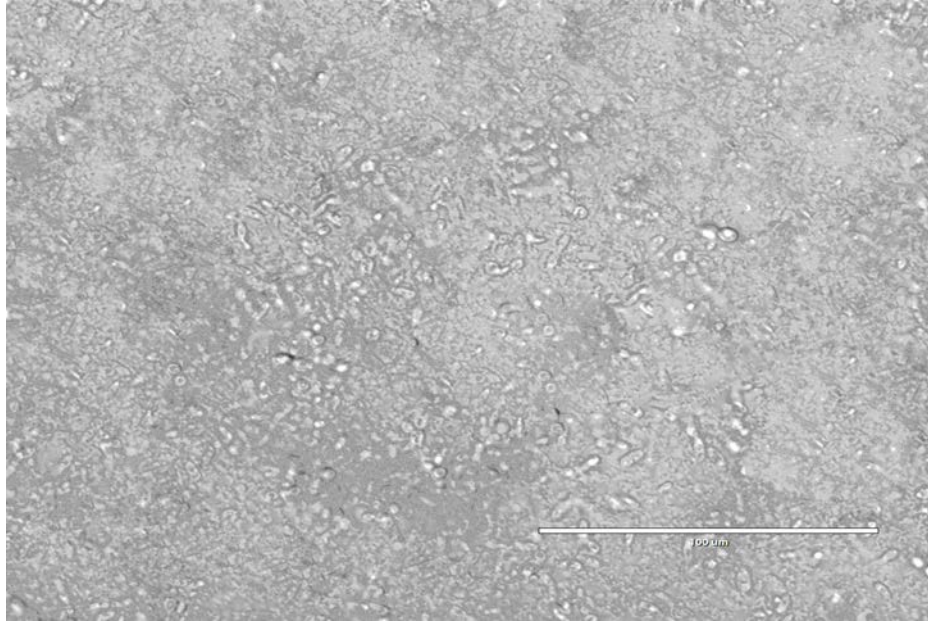
Şekil 4-7: P2 PDLMKH'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X



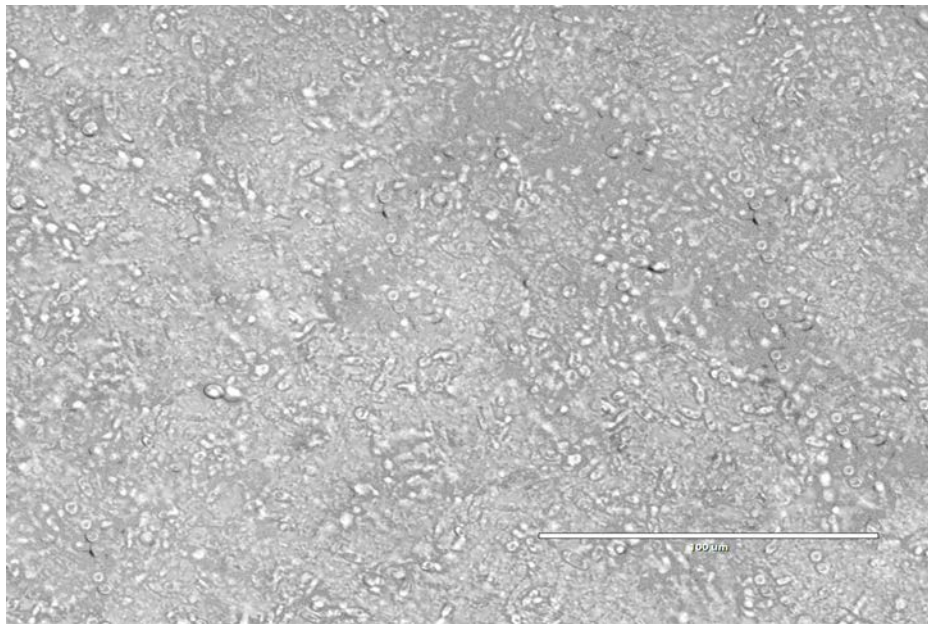
Şekil 4-8: P3 PDLMKH’lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X

İzole edilen GMKH ve PDLMKH’lerin kültür flasklarına ekimi yapıldıktan sonra hücre çoğalmaları invert mikroskopunda incelendiğinde, MKH’lerin fibroblast benzeri iğsi bir morfolojiye sahip olduğu, plastisite özellikleri nedeniyle hücre kabının yüzeyine yapışabildikleri ve hücre konturlarının belirgin bir şekilde olduğu görüldü. 0. pasajdan 3. pasaja kadar olan süreçte hücre yoğunluğunun ve hücrelerin konfluent yapılarının artarak hücrelerin kabın yüzeyine yayılım yaptıkları gözlemlendi. Hücre kültüründe tek tek görülen hücrelerin pasaj sayısı arttıkça kümeler oluşturarak birbirleriyle kontakt kurdukları izlendi (Şekil 4-1, 4-2, 4-3, 4-4, 4-5, 4-6, 4-7, 4-8).

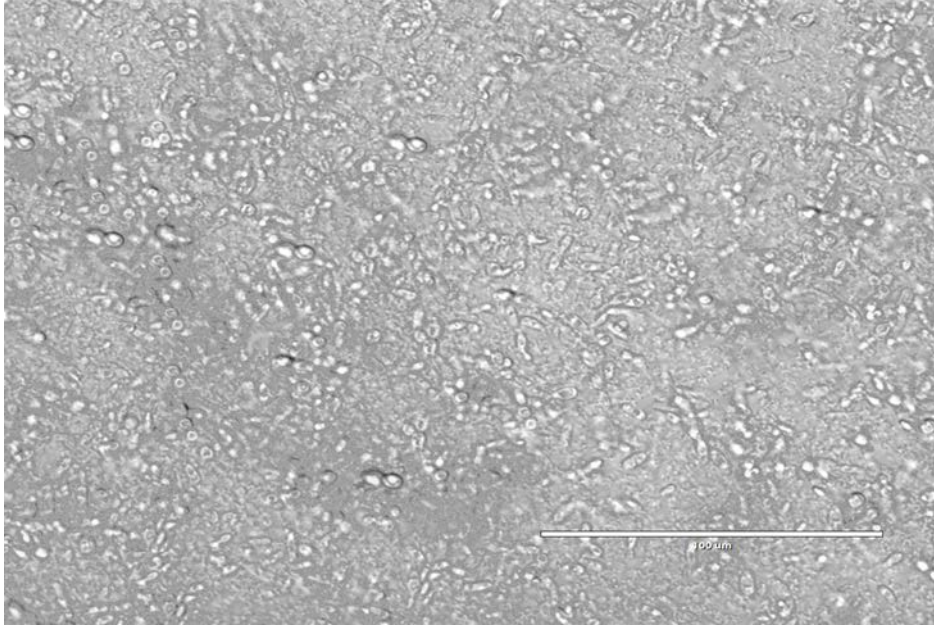
4.1.3. İzole Edilen GEC'lerin Pasajlanması



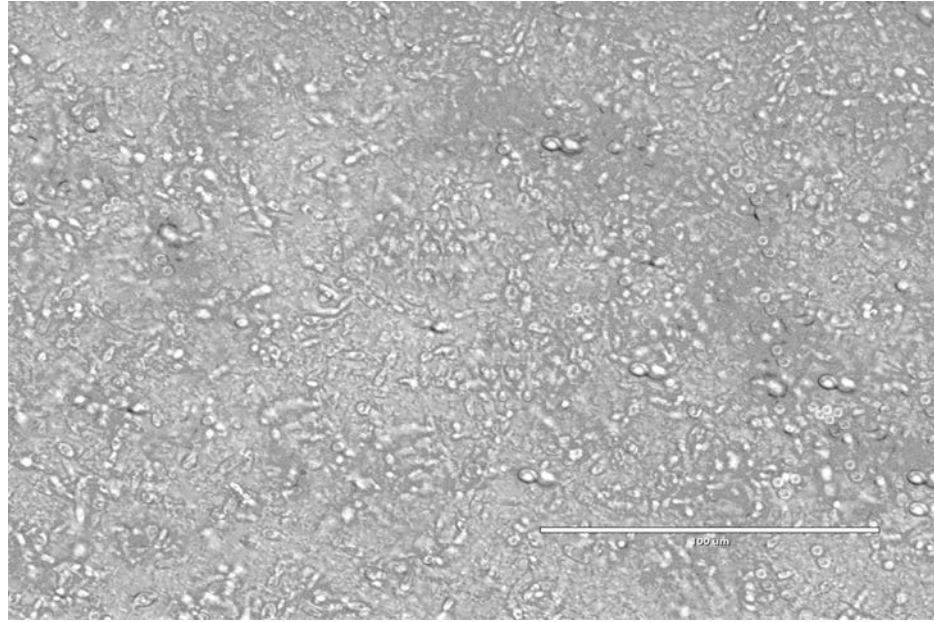
Şekil 4-9: P0 GEC'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 20X



Şekil 4-10: P1 GEC'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 20X



Şekil 4-11: P2 GEC'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 20X



Şekil 4-12: P2 GEC'lerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 20X

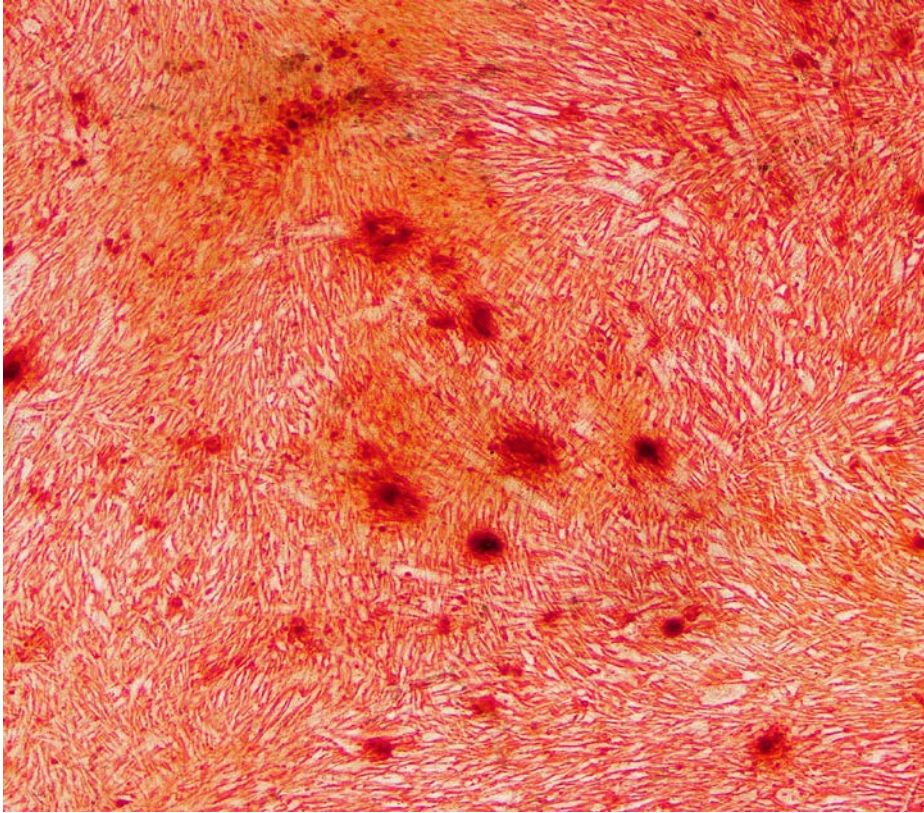
İzole edilen GEC'lerin 0. pasajdan 3. pasaja kadar olan süredeki çoğalmaları ve konfluent bir yapı almaları mikroskop altında takip edilerek, silindirik ve kübik bir morfolojiye sahip oldukları, hücre yoğunluğunun pasajlama sayısı ile birlikte arttığı görülmektedir (Şekil 4-9, 4-10, 4-11, 4-12). Ayrıca GEC'lerin hücre kabının tabanına

özel keratinosit besiyerlerinde yapışabildikleri ve pasajlanma sürelerinin MKH'lere göre daha kısa süre olduğu gözlenmiştir.

4.1.4. İzole Edilen GMKH'lerin Osteojenik, Adipojenik ve Kondrojenik (Trilineaj Farklılaşma) Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi

4.1.4.1. Osteojenik Farklılaşma

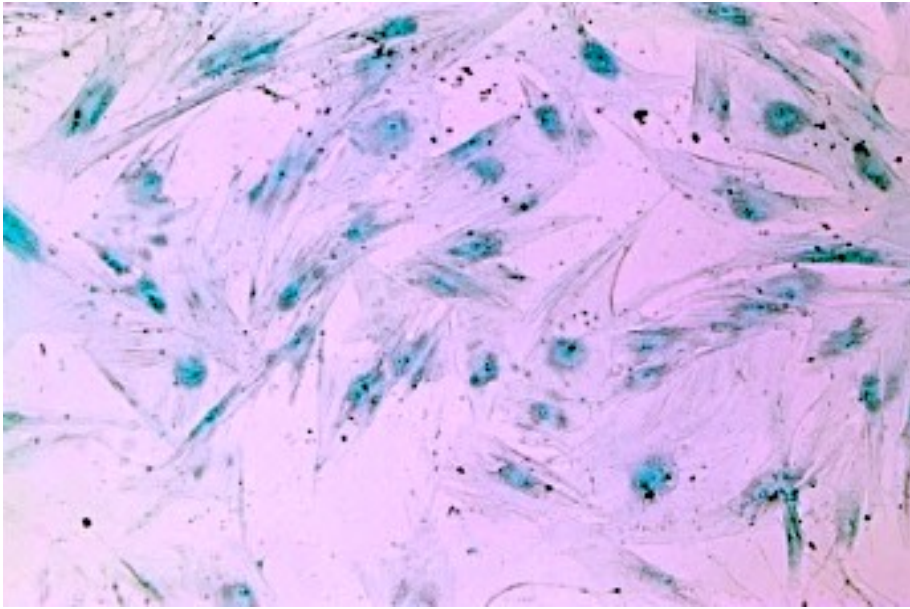
İzole edilen GMKH'lerin karakterizasyonu için kültüre osteojenik farklılaşma besiyeri eklenip 21. gün sonunda ALR ile boyama sonrası hücrelerde mineralize nodül oluşumu ile birlikte osteosit benzeri hücrelere farklılaşmanın saptanması için, Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile elde edilen görüntüler incelendiğinde kırmızı renk ile boyanmış kalsiyum birikimlerinin varlığı izlendi (Şekil 4-13).



Şekil 4-13: GMKH'lerde osteojenik farklılaşma potansiyelinin ALR boyama ile saptanması, 10X

4.1.4.2. Kondrojenik Farklılaşma

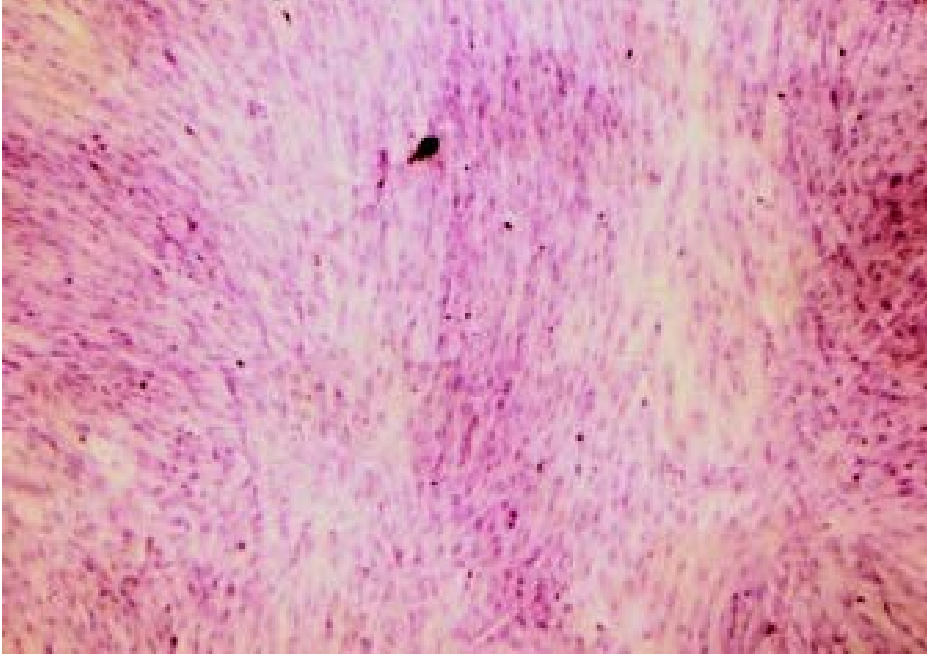
İzole edilen GMKH'lerin karakterizasyonu için kültüre kondrojenik farklılaşma besiyeri eklenip 14. gün sonunda Alcian Blue ile boyama sonrası hücrelerde proteoglikanların oluşumu ile birlikte kondrosit benzeri hücelere farklılaşmanın gözlenmesi için Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile elde edilen görüntüler incelendiğinde kondrositler tarafından üretilen proteoglikanların mavi renkte boyandığı görüldü (Şekil 4-14).



Şekil 4-14: GMKH'lerde kondrojenik farklılaşma potansiyelinin Alcian Blue boyama ile saptanması, 40X

4.1.4.3. Adipojenik Farklılaşma

İzole edilen GMKH'lerin karakterizasyonu için kültüre adipojenik farklılaşma besiyeri eklenip 14. gün sonunda Oil Red O ile boyama sonrası hücrelerde yağ damlacıklarının oluşumu ile birlikte adiposit benzeri hücelere farklılaşmanın gözlenmesi için, Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile elde edilen görüntüler incelendiğinde adipositler tarafından parlak kırmızı-pembemsi renkte hücre içi yağ damlacıkları tespit edildi (Şekil 4-15).

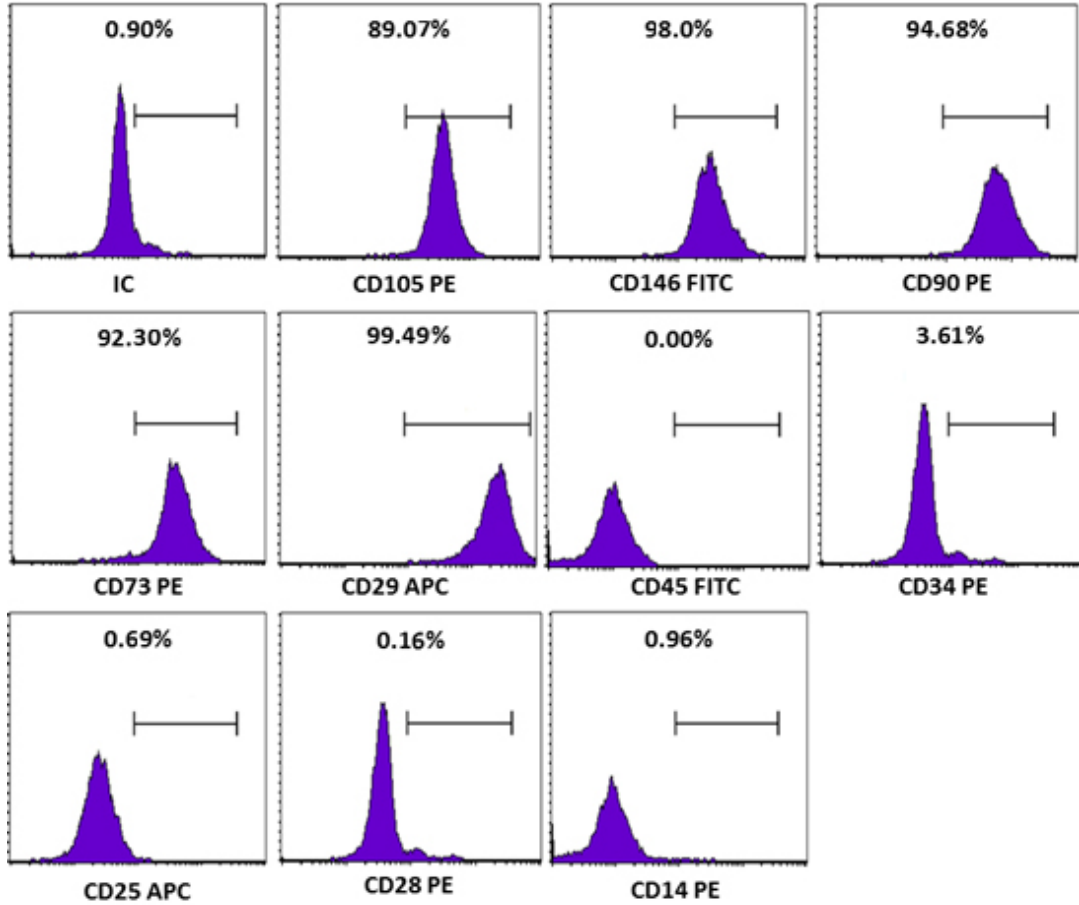


Şekil 4-15: GMKH’lerde adipojenik farklılaşma potansiyelinin Oil Red O boyama ile saptanması, 40X

4.1.5. GMKH’lerin Akım Sitometri Analizi

Diş eti dokusundan izole edilen 3. pasajdaki hücrelerin akım sitometri analizi ile karakterizasyonları yapıldıktan sonra CD45, CD34, CD25, CD28 ve CD14 hematopoetik kök hücre belirteçleri ve CD73, CD90, CD105, CD146 ve CD29 mezenkimal kök hücre belirteçleri ile işaretlenen hücre oranları şekilde gösterilmiştir (Şekil 4-16).

Diş eti dokularından izole edilip üçüncü pasaja ulaşan hücreler CD29, CD73, CD90, CD105 ve CD146 için yüksek pozitiflik gösterirken, CD14, CD25, CD28, CD34, CD45 için negatif ekspresyon gösterdi (Şekil 4-16).

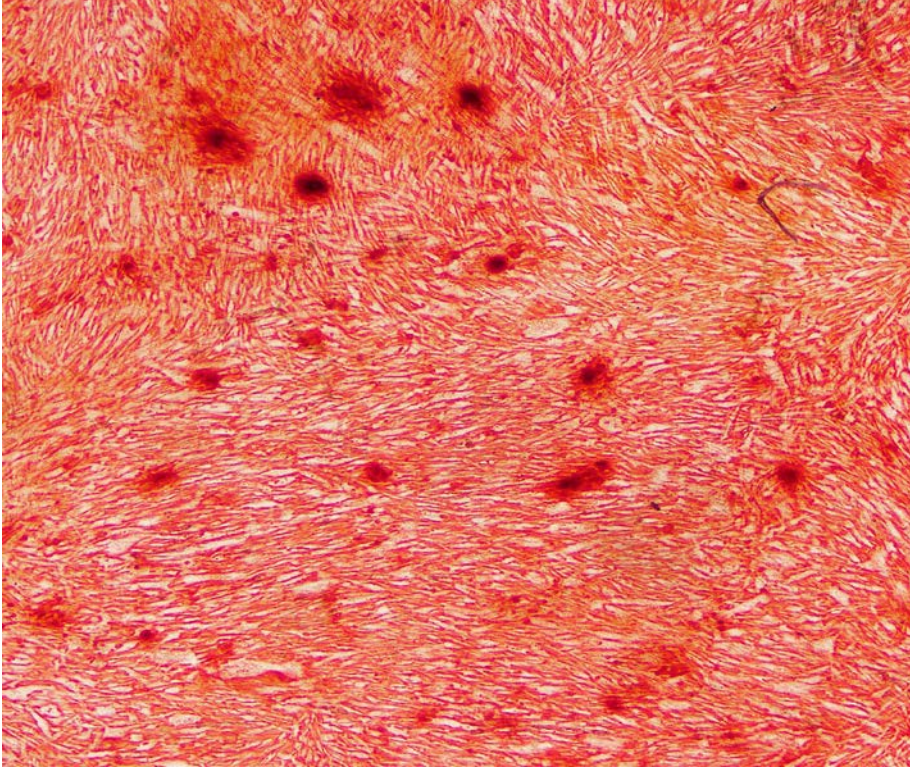


Şekil 4-16: GMKH'lerin immunofenotipik özelliklerinin akım sitometri ile analizi

4.1.6. İzole Edilen PDLMKH'lerin Osteojenik, Adipojenik ve Kondrojenik (Trilineaj Farklılaşma) Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi

4.1.6.1. Osteojenik Farklılaşma

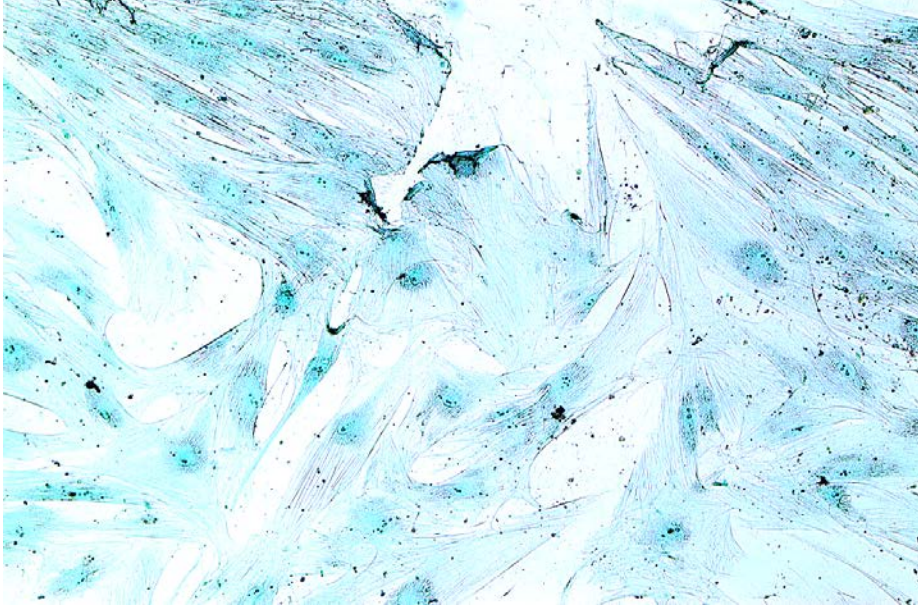
PDLMKH'lerin karakterizasyonu için 3. pasaja gelen hücrelerin osteojenik farklılaşma besiyerine maruz bırakılmasından 21 gün sonra ALR ile boyama sonucu hücrelerde mineralize nodül oluşumu ile birlikte osteosit benzeri hücrelere farklılaşma tespit edildi (Şekil 4-17). Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile elde edilen görüntüler incelendiğinde kırmızı renkte boyanmış osteositlerin ürettiği kalsiyum birikimlerinin varlığı izlendi.



Şekil 4-17: PDLMKH’lerde osteojenik farklılaşma potansiyelinin ALR boyama ile saptanması, 10X

4.1.6.2. Kondrojenik Farklılaşma

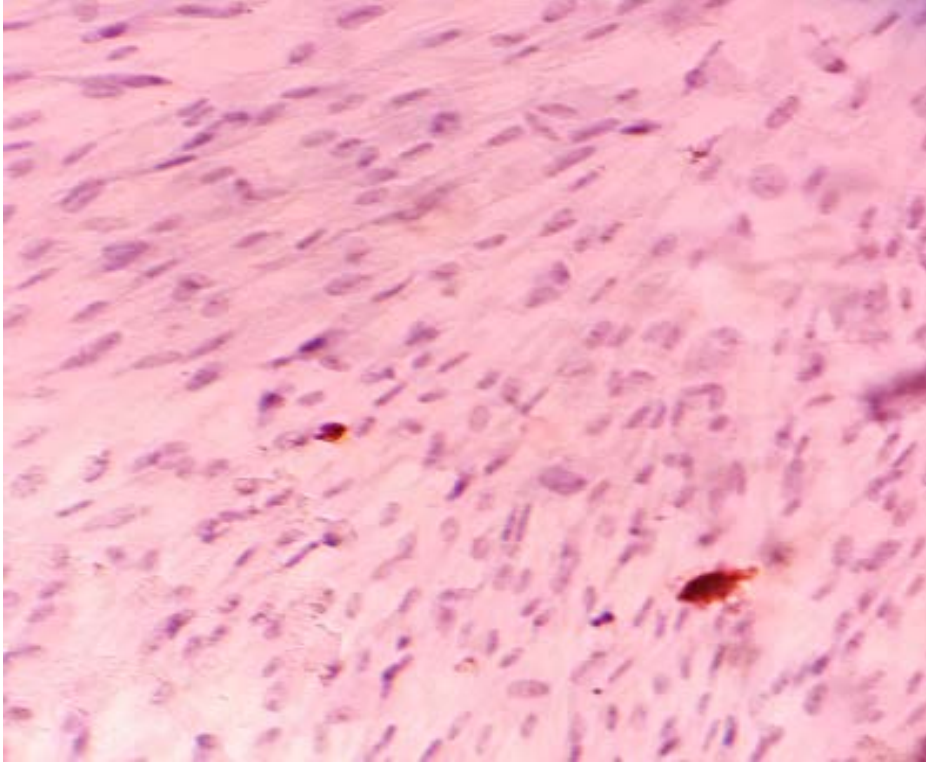
PDLMKH’lerin karakterizasyonu için 3. pasaja gelen hücrelerin kondrojenik farklılaşma besiyerine maruz bırakılmasından 14 gün sonra Alcian Blue ile boyama sonucu hücrelerde proteoglikanların oluşumu ile birlikte kondrosit benzeri hücrelere farklılaşma gözlemlendi (Şekil 4-18). Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile elde edilen görüntüler incelendiğinde kondrositler tarafından üretilen mavi renkli proteoglikan varlığı izlendi.



Şekil 4-18: PDLMKH’lerde kondrojenik farklılaşma potansiyelinin Alcian Blue boyama ile saptanması, 40X

4.1.6.3. Adipojenik Farklılaşma

PDLMKH’lerin karakterizasyonu için 3. pasaja gelen hücrelerin adipojenik farklılaşma besiyerine maruz bırakılmasından 14 gün sonra Oil Red O ile boyama sonucu hücrelerde yağ damlacıklarının oluşumu ile birlikte adiposit benzeri hücrelere farklılaşma gözlemlendi (Şekil 4-19). Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile elde edilen görüntüler incelendiğinde adipositler tarafından parlak kırmızı-pembemsi renkte hücre içi yağ damlacıkları tespit edildi.

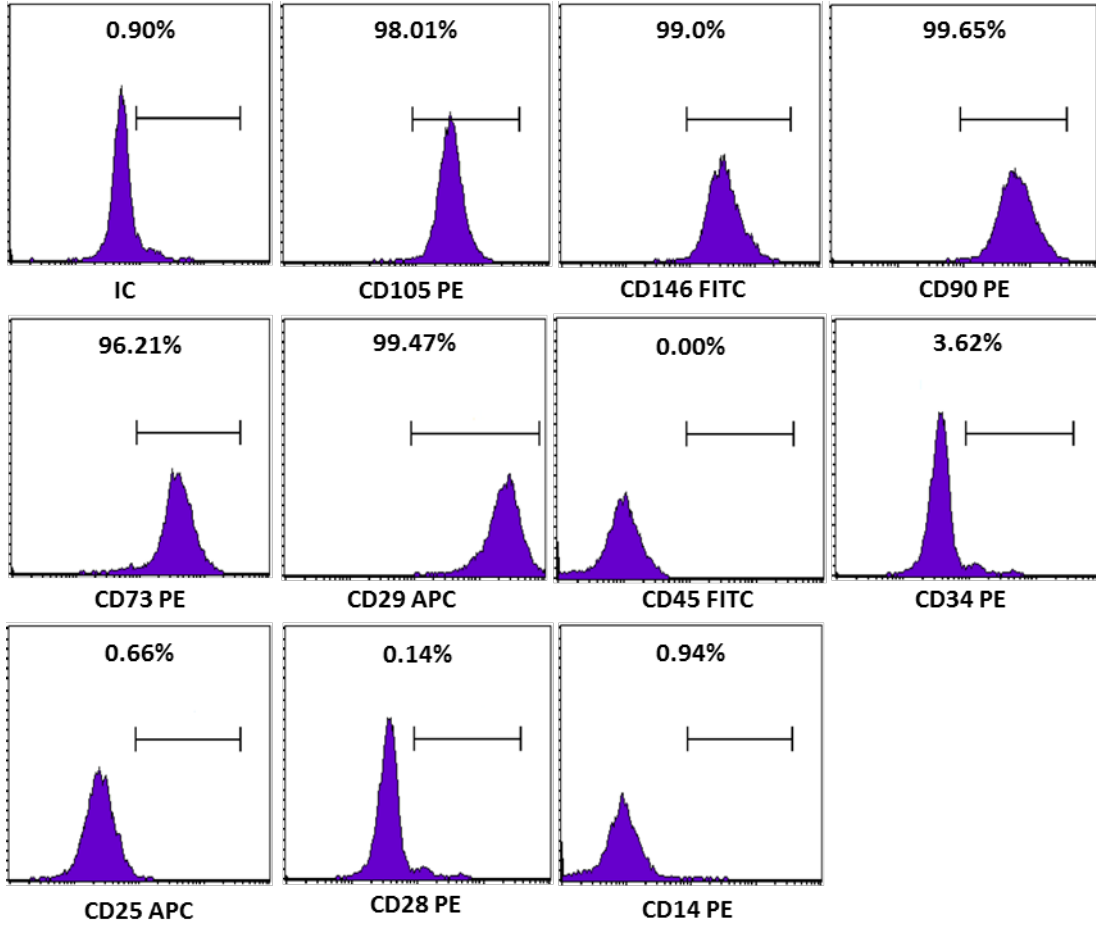


Şekil 4-19: PDLMKH’lerde adipojenik farklılaşma potansiyelinin Oil Red O boyama ile saptanması, 40X

4.1.7. PDLMKH’lerin Akım Sitometri Analizi

PDL dokusundan izole edilen hücrelerin üçüncü pasajlanmasından sonra yeterli yoğunluğa ulaştıklarında Akım Sitometri Analizi ile karakterizasyonları yapıp CD45, CD34, CD25, CD28 ve CD14 hematopoetik kök hücre belirteçleri ve CD73, CD90, CD105, CD146 ve CD29 mezenkimal kök hücre belirteçleri ile işaretlenen hücre oranları şekilde gösterilmiştir.

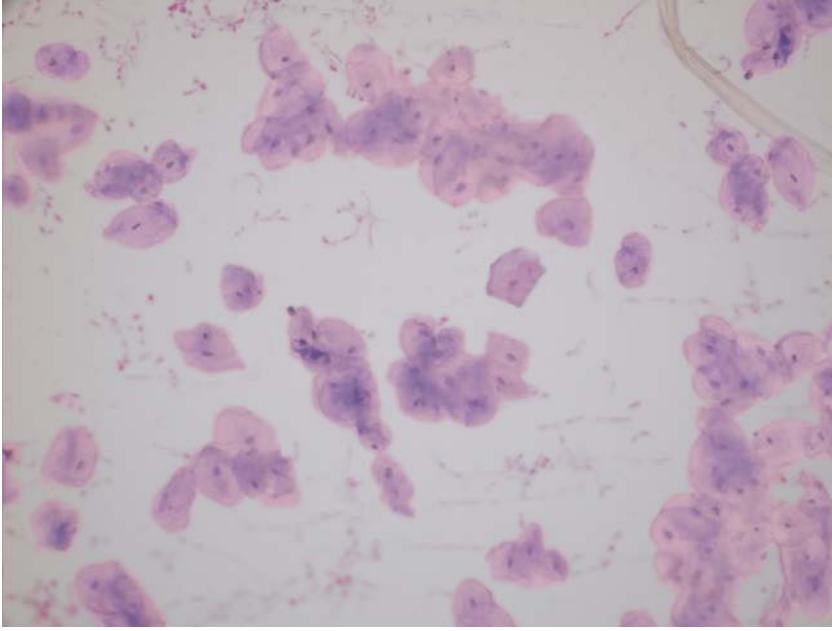
PDL dokularından izole edilip üçüncü pasaja ulaşan hücreler CD29, CD73, CD90, CD105 ve CD146 için yüksek pozitiflik gösterirken, CD14, CD25, CD28, CD34, CD45 için negatif ekspresyon gösterdi (Şekil 4-20).



Şekil 4-20: PDLMKH'lerin immunofenotipik özelliklerinin akım sitometri ile analizi

4.1.8. İzole Edilen Diş Eti Epitel Hücrelerinin Karakterizasyonu

İzole edilen diş eti epitel hücreleri kültür flasklarına ekildikten sonra hücre çoğalmaları mikroskop altında incelendiğinde, diş eti epitel hücrelerinin kübik bir morfolojiye sahip olduğu ve hücre konturlarının belirgin bir şekilde olduğu görüldü. Hücre yoğunluğu arttıkça hücrelerin birbirleriyle olan bağlantılarının artarak kümeleşme yaptıkları gözlemlendi (Şekil 4-21).



Şekil 4-21: Diş eti epitel hücreleri, Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) 400X

4.2. İKİNCİ AŞAMA: FARKLI KONSANTRASYONLARDAKİ ÇOCUK DİŞ MACUNLARININ HÜCRE CANLILIĞI ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

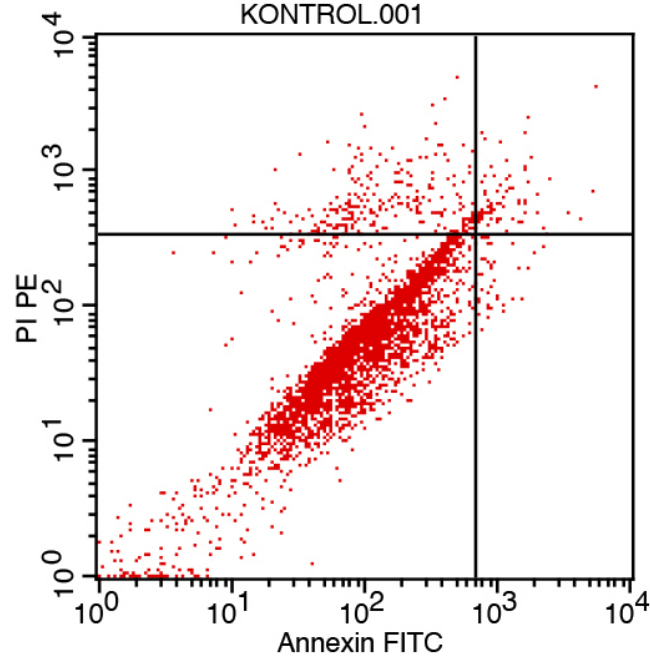
4.2.1. GMKH Canlılığının Akım Sitometri ile Analizi

Farklı konsantrasyondaki diş macunları solüsyonlarının ve kontrol grubunun GMKH'ler üzerine olan etkilerinin 3. gün sonundaki akım sitometri grafikleri Şekil 4-22, Şekil 4-23, Şekil 4-24, Şekil 4-25, Şekil 4-26, Şekil 4-27'de sırasıyla gösterilmiştir. Canlılık deneyleri 5 deneyin tekrarlanması ile tamamlanmış olup sonuçların değerlendirilmesi için ortalama değerler kullanılmıştır.

Grafiklerin görüntüleri incelendiğinde yatay eksen altındaki bölgenin solunda kalan alan canlı hücreleri (LL), yatay eksenin sağ alt kısmında kalan alan erken apoptotik hücreleri (LR), yatay eksenin sağ üst kısmında kalan bölge geç apoptotik hücreleri (UR), yatay eksenin sol üstündeki bölgede kalan alan ise nekrotik hücreleri göstermektedir.

CDMEM kontrol grubuyla stimüle edilen diş eti mezenkimal kök hücrelerinin tekrarlanan deney sonuçları değerlendirildiğinde; canlı hücre oranı % 89,54; erken

apoptotik hücre oranı % 2,61; geç apoptotik hücre oranı % 1,57 ve nekrotik hücre oranı % 6,26 olarak tespit edildi (Şekil 4-22).



Şekil 4-22: CDMEM kontrol grubunun GMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

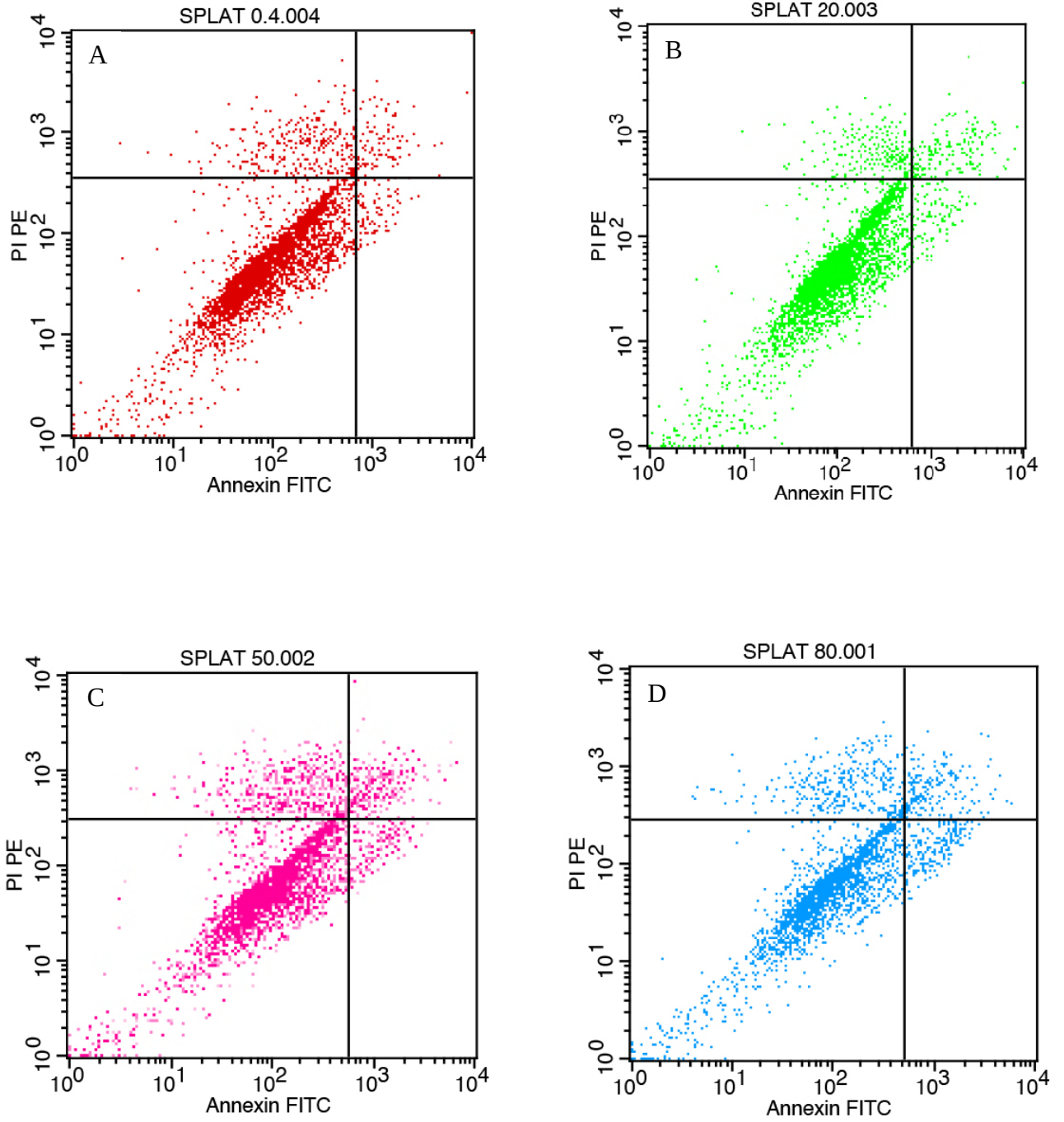
Splat diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen diş eti mezenkimal kök hücrelerinin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 88,11; erken apoptotik hücre oranı % 2,36; geç apoptotik hücre oranı % 2,56 ve nekrotik hücre oranı % 6,96 olarak tespit edildi (Şekil 4-23/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 82,93; erken apoptotik hücre oranı % 3,71; geç apoptotik hücre oranı % 4,25 ve nekrotik hücre oranı % 9,10 olarak tespit edildi (Şekil 4-23/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 79,80; erken apoptotik hücre oranı % 3,06; geç apoptotik hücre oranı % 5,78 ve nekrotik hücre oranı % 11,35 olarak tespit edildi (Şekil 4-23/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 75,52; erken apoptotik hücre oranı % 6,22 ; geç apoptotik hücre oranı % 6,32 ve nekrotik hücre oranı % 11,94 olarak tespit edildi (şekil 4-23/D).



Şekil 4-23: Splat dış macunu solüsyonlarının GMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) SPLAT % 0,4 B) SPLAT % 20 C) SPLAT % 50 D) SPLAT % 80

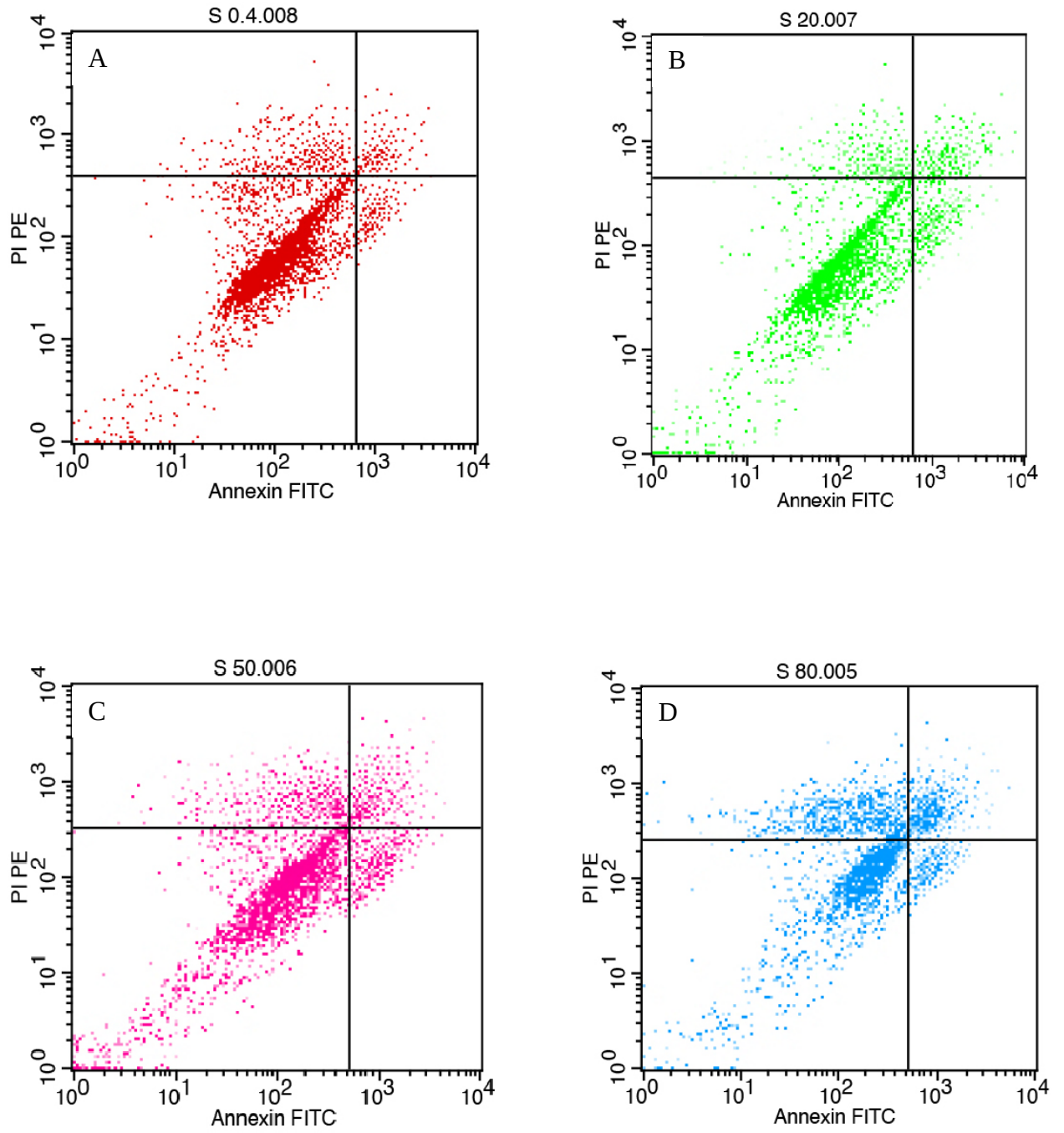
Sensodyne diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen diş eti mezenkimal kök hücrelerinin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Sensodyne diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 80,55; erken apoptotik hücre oranı % 4,14; geç apoptotik hücre oranı % 4,79 ve nekrotik hücre oranı % 10,91 olarak tespit edildi (Şekil 4-24/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Sensodyne diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 72,72; erken apoptotik hücre oranı % 8,95 ; geç apoptotik hücre oranı % 7,09 ve nekrotik hücre oranı % 11,44 olarak tespit edildi (Şekil 4-24/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Sensodyne diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 62,8 ; erken apoptotik hücre oranı % 14,07; geç apoptotik hücre oranı % 7,66 ve nekrotik hücre oranı % 15,43 olarak tespit edildi (Şekil 4-24/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Sensodyne diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 51,92; erken apoptotik hücre oranı % 15,60 ; geç apoptotik hücre oranı % 10,82 ve nekrotik hücre oranı % 19,65 olarak tespit edildi (Şekil 4-24/D).



Şekil 4-24: Sensodyne diş macunu solüsyonlarının GMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Sensodyne % 0,4 B) Sensodyne % 20 C) Sensodyne % 50 D) Sensodyne % 80

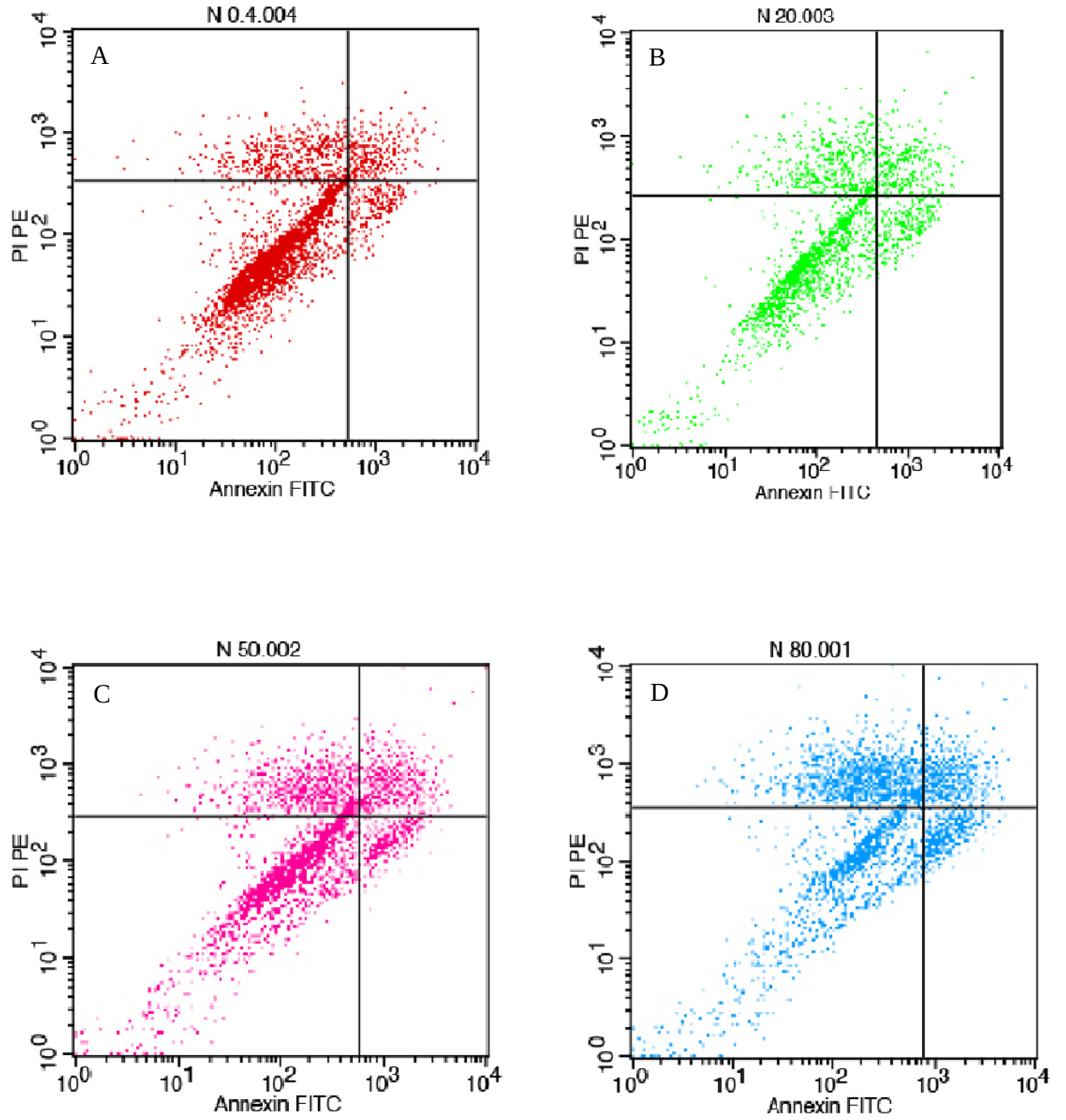
Nenedent diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen diş eti mezenkimal kök hücrelerinin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Nenedent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 72,21; erken apoptotik hücre oranı % 7,12; geç apoptotik hücre oranı % 7,74 ve nekrotik hücre oranı % 12,92 olarak tespit edildi (Şekil 4-25/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Nenedent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 60,73; erken apoptotik hücre oranı % 10,17 ; geç apoptotik hücre oranı % 10,53 ve nekrotik hücre oranı % 18,55 olarak tespit edildi (Şekil 4-25/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Nenedent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 49,73 ; erken apoptotik hücre oranı % 12,99; geç apoptotik hücre oranı % 17,69 ve nekrotik hücre oranı % 19,57 olarak tespit edildi (Şekil 4-25/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Nenedent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 33,52; erken apoptotik hücre oranı % 21,04; geç apoptotik hücre oranı % 21,56 ve nekrotik hücre oranı % 23,86 olarak tespit edildi (Şekil 4-25/D).



Şekil 4-25: Nenedent dış macunu solüsyonlarının GMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Nenedent % 0,4 B) Nenedent % 20 C) Nenedent % 50 D) Nenedent % 80

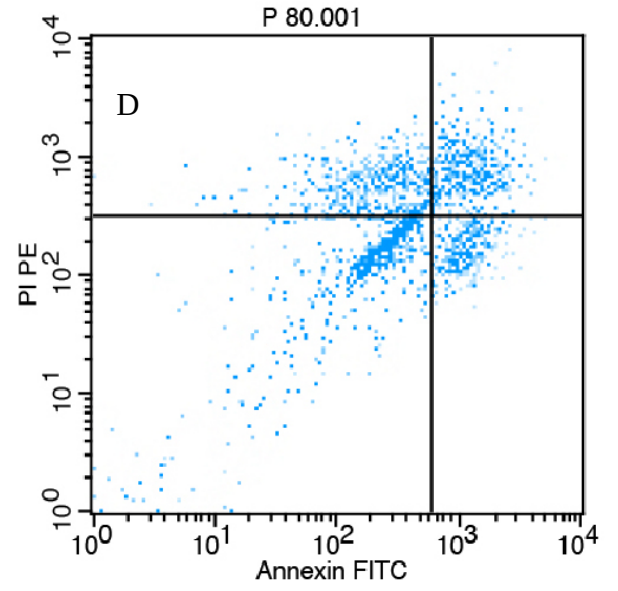
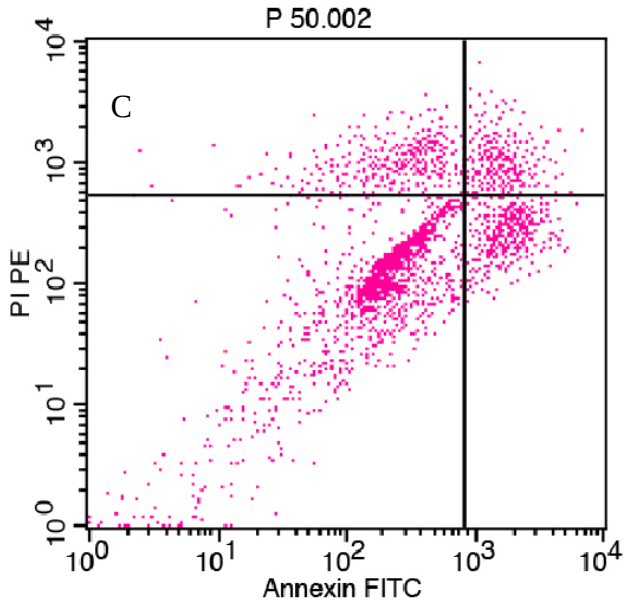
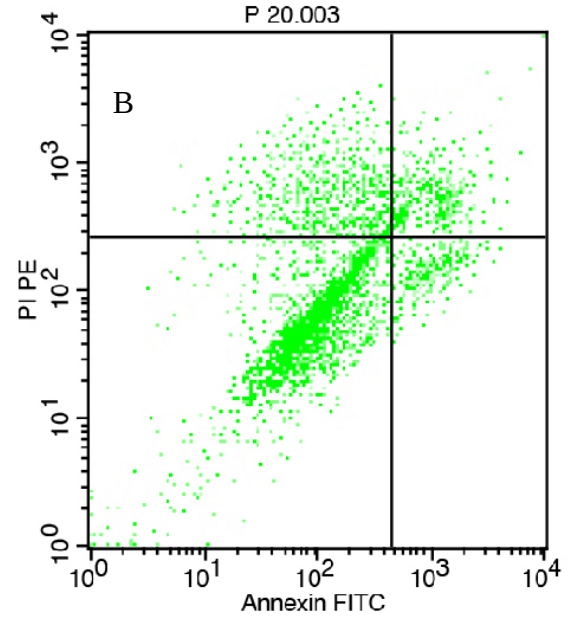
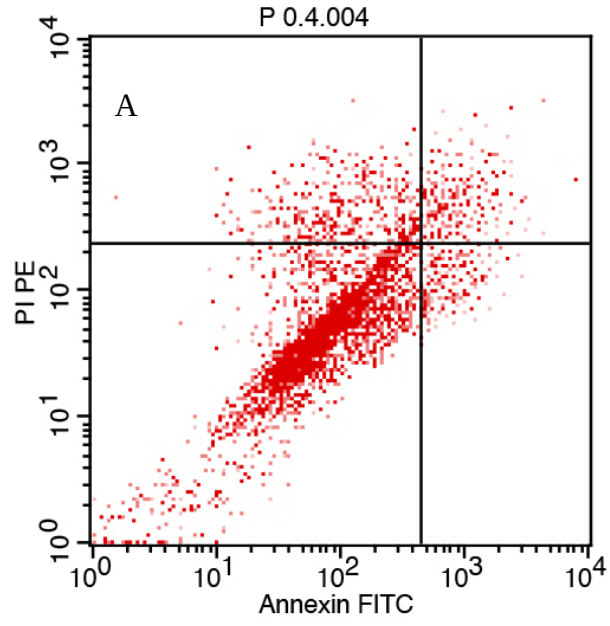
Perlodent diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen diş eti mezenkimal kök hücrelerinin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Perlodent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 76,33; erken apoptotik hücre oranı % 5,10; geç apoptotik hücre oranı % 7,13 ve nekrotik hücre oranı % 11,43 olarak tespit edildi (Şekil 4-26/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Perlodent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 60,4; erken apoptotik hücre oranı % 6,43 ; geç apoptotik hücre oranı % 12,58 ve nekrotik hücre oranı % 20,57 olarak tespit edildi (Şekil 4-26/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Perlodent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 45,25 ; erken apoptotik hücre oranı % 20,14; geç apoptotik hücre oranı % 16,50 ve nekrotik hücre oranı % 18,09 olarak tespit edildi (Şekil 4-26/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Perlodent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 26,72; erken apoptotik hücre oranı % 26,36; geç apoptotik hücre oranı % 21,04 ve nekrotik hücre oranı % 25,87 olarak tespit edildi (Şekil 4-26/D).



Şekil 4-26: Perlodent diş macunu solüsyonlarının GMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Perlodent % 0,4 B) Perlodent % 20 C) Perlodent% 50 D) Perlodent % 80

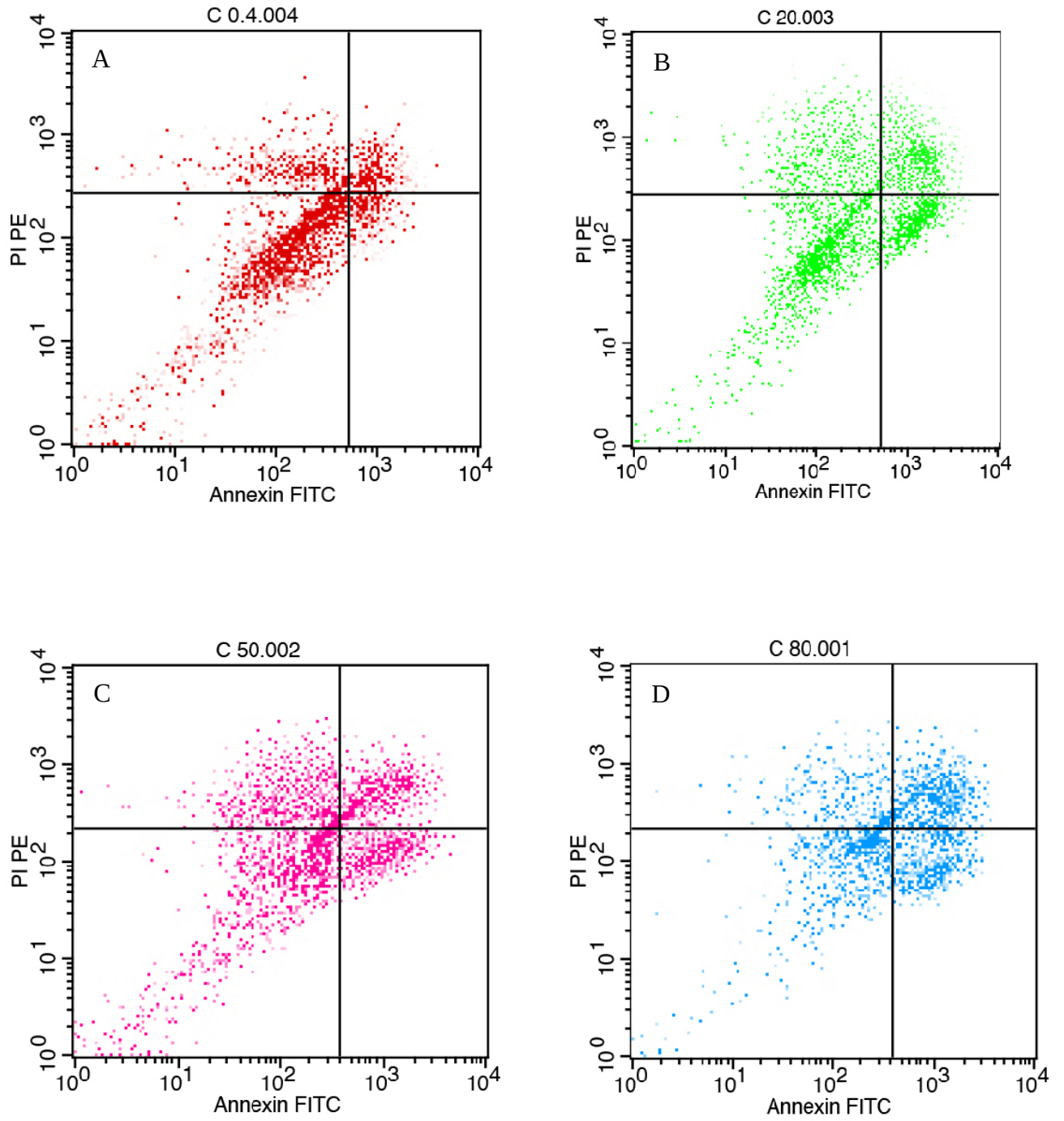
Colgate diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen diş eti mezenkimal kök hücrelerinin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 73,86; erken apoptotik hücre oranı % 6,55; geç apoptotik hücre oranı % 7,81 ve nekrotik hücre oranı % 11,77 olarak tespit edildi (Şekil 4-27/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 32,99; erken apoptotik hücre oranı % 22,16 ; geç apoptotik hücre oranı % 21,14 ve nekrotik hücre oranı % 23,69 olarak tespit edildi (Şekil 4-27/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 20,54 ; erken apoptotik hücre oranı % 24,60; geç apoptotik hücre oranı % 31,12 ve nekrotik hücre oranı % 21,73 olarak tespit edildi (Şekil 4-27/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 15,04; erken apoptotik hücre oranı % 21,64; geç apoptotik hücre oranı % 42,64 ve nekrotik hücre oranı % 20,66 olarak tespit edildi (Şekil 4-27/D).



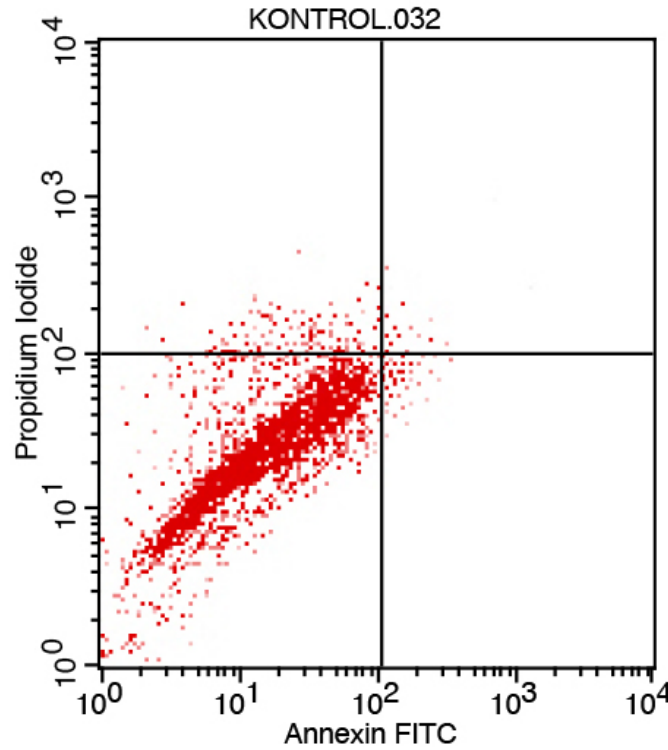
Şekil 4-27: Colgate diş macunu solüsyonlarının GMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Colgate % 0,4 B) Colgate % 20 C) Colgate % 50 D) Colgate % 80

4.2.2. PDLMKH Canlılığının Akım Sitometri ile Analizi

Akım sitometri analiz sonuçlarında elde edilen grafiklerde yatay eksenin sol alt kısmında kalan bölge canlı hücre gruplarını, sağ alt kısmında kalan bölge ise erken apoptotik hücreleri gösterirken, yatay eksenin üstünde kalan sol üst kısım nekrotik hücre gruplarını sağ üst kısımdaki bölge ise geç apoptotik hücre gruplarını göstermektedir.

CDMEM kontrol grubuyla stimüle edilen periodontal ligament mezenkimal kök hücrelerinin tekrarlanan deney sonuçları değerlendirildiğinde, canlı hücre oranı % 84,11; erken apoptotik hücre oranı % 6,91; geç apoptotik hücre oranı % 2,80 ve nekrotik hücre oranı % 6,16 olarak tespit edildi (Şekil 4-28).



Şekil 4-28: CDMEM kontrol grubunun PDLMKH’ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

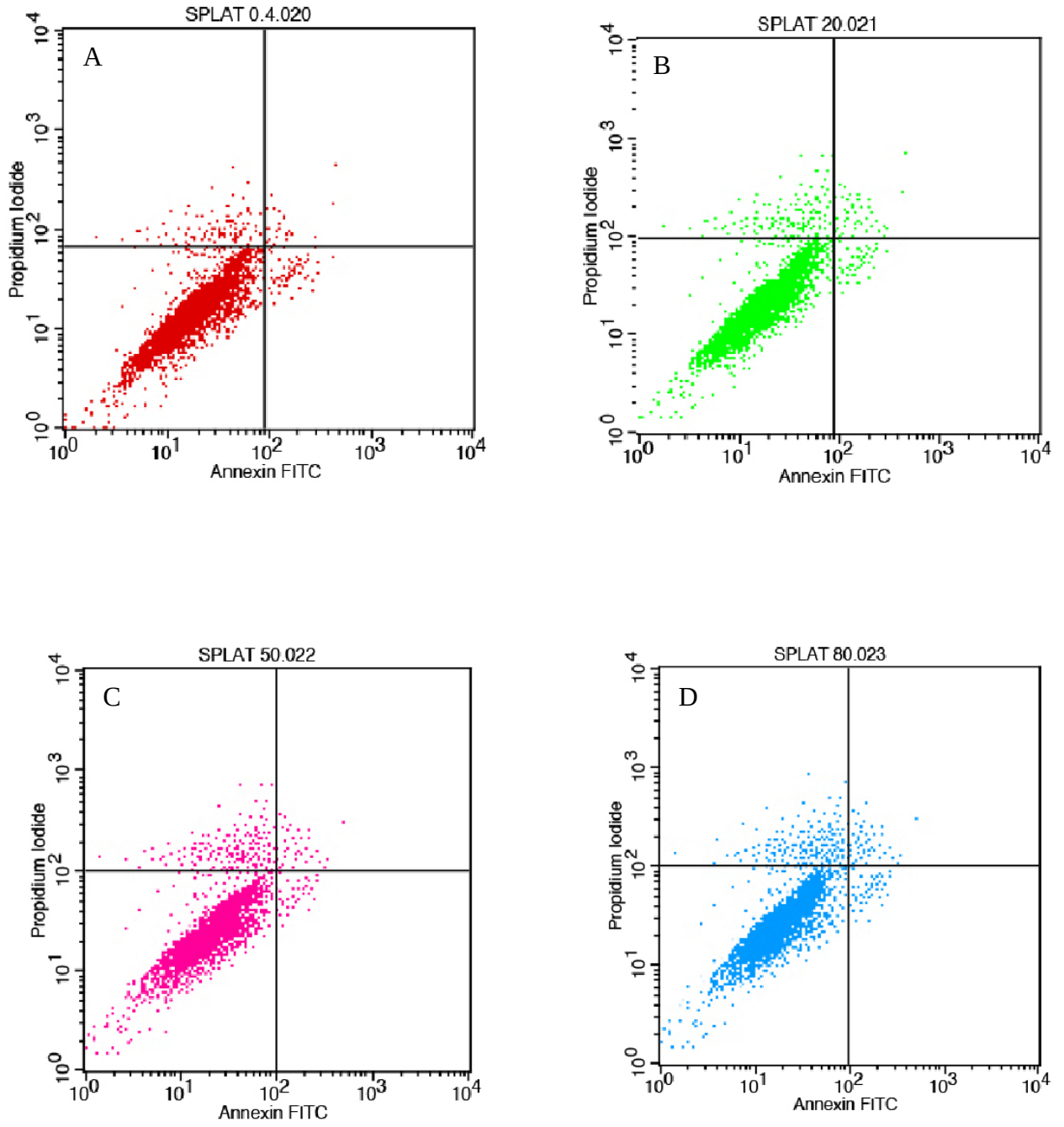
Splat diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen periodontal ligament mezenkimal kök hücrelerinin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 80,53; erken apoptotik hücre oranı % 7,18; geç apoptotik hücre oranı % 5,62 ve nekrotik hücre oranı % 6,65 olarak tespit edildi (Şekil 4-29/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 78,98; erken apoptotik hücre oranı % 7,82 ; geç apoptotik hücre oranı % 6,51 ve nekrotik hücre oranı % 6,68 olarak tespit edildi (Şekil 4-29/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 75,37 ; erken apoptotik hücre oranı % 10,65; geç apoptotik hücre oranı % 6,10 ve nekrotik hücre oranı % 7,87 olarak tespit edildi (Şekil 4-29/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 67,40; erken apoptotik hücre oranı %17,41; geç apoptotik hücre oranı % 5,39ve nekrotik hücre oranı % 9,77 olarak tespit edildi (Şekil 4-29/D).



Şekil 4-29: Splat diş macunu solüsyonlarının PDLMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Splat % 0,4 B) Splat % 20 C) Splat % 50 D) Splat % 80

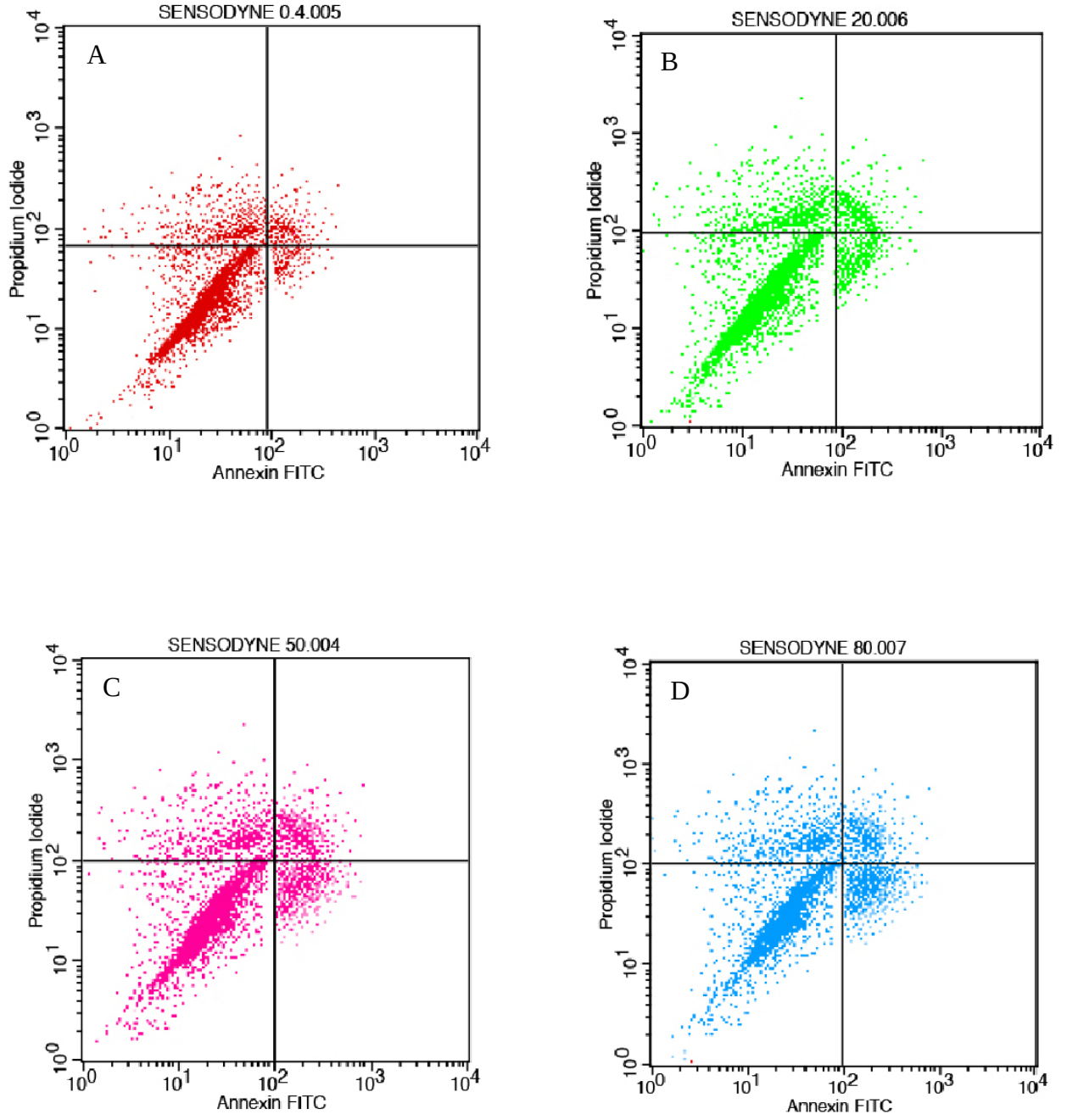
Sensodyne diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen periodontal ligament mezenkimal kök hücrelerinin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Sensodyne diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 75,2; erken apoptotik hücre oranı % 11,19; geç apoptotik hücre oranı % 7,2 ve nekrotik hücre oranı % 6,40 olarak tespit edildi (Şekil 4-30/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Sensodyne diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 71,67; erken apoptotik hücre oranı % 15,05; geç apoptotik hücre oranı % 5,35 ve nekrotik hücre oranı % 7,89 olarak tespit edildi (Şekil 4-30/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Sensodyne diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 57,82 ; erken apoptotik hücre oranı % 27,17; geç apoptotik hücre oranı % 6,83 ve nekrotik hücre oranı % 8,17 olarak tespit edildi (Şekil 4-30/ C).

% 80'lik konsantrasyondaki Sensodyne diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 52,30; erken apoptotik hücre oranı % 33,78; geç apoptotik hücre oranı % 5,99 ve nekrotik hücre oranı % 7,91 olarak tespit edildi (Şekil 4-30/ D).



Şekil 4-30: Sensodyne diş macunu solüsyonlarının PDLMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Sensodyne % 0,4 B) Sensodyne % 20 C) Sensodyne % 50 D) Sensodyne % 80

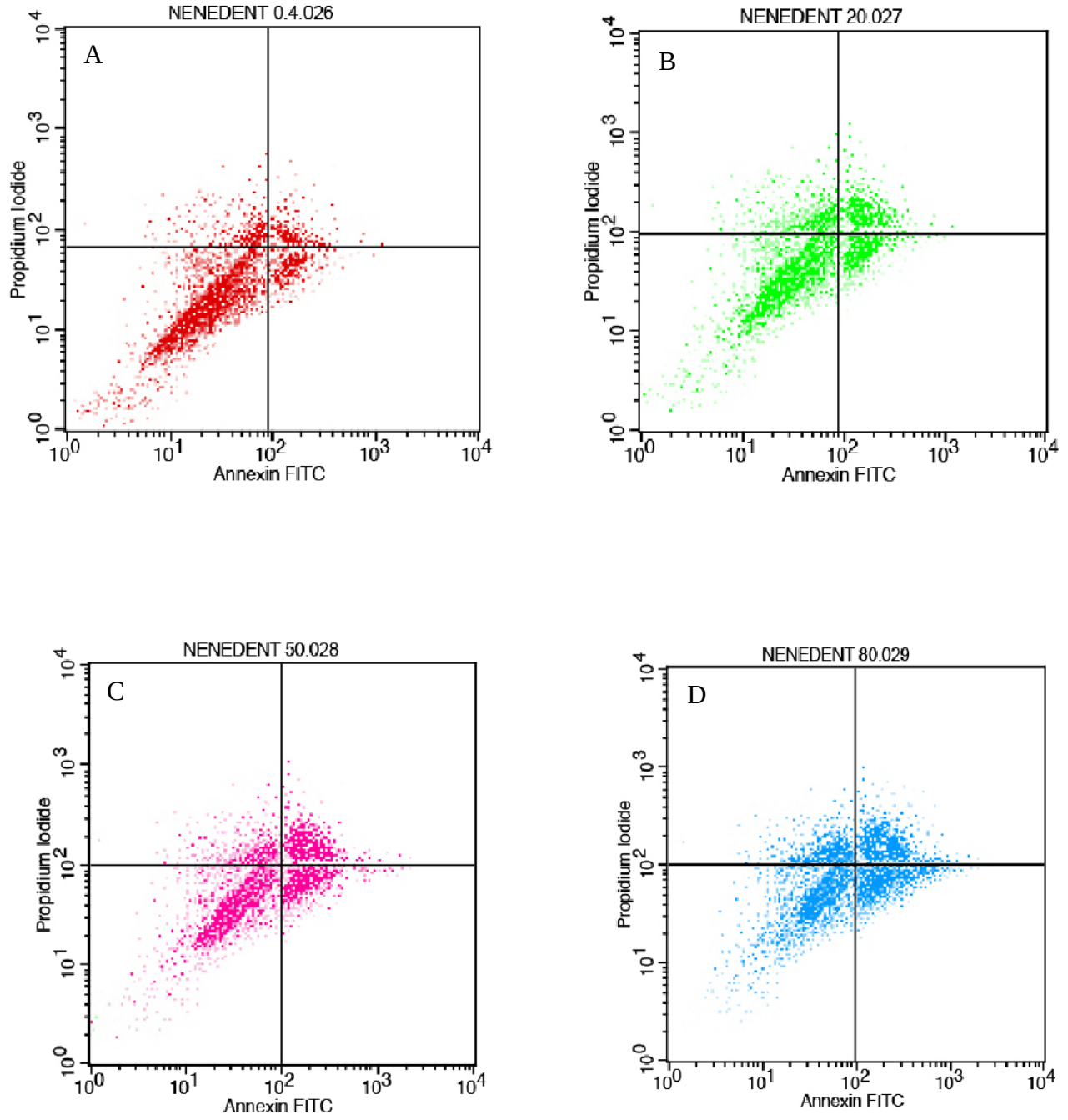
Nenedent diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen periodontal ligament mezenkimal kök hücrelerinin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Nenedent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 68,05; erken apoptotik hücre oranı % 20,26; geç apoptotik hücre oranı % 5,38 ve nekrotik hücre oranı % 6,3 olarak tespit edildi (Şekil 4-31/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Nenedent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 50,42; erken apoptotik hücre oranı % 26,34; geç apoptotik hücre oranı % 15,97 ve nekrotik hücre oranı % 7,25 olarak tespit edildi (Şekil 4-31/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Nenedent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 34,59 ; erken apoptotik hücre oranı % 38,89; geç apoptotik hücre oranı % 18,2 ve nekrotik hücre oranı % 7,90 olarak tespit edildi (Şekil 4-31/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Nenedent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 24,40 ; erken apoptotik hücre oranı % 41,91; geç apoptotik hücre oranı % 20,64 ve nekrotik hücre oranı % 13,03 olarak tespit edildi (Şekil4-31/D).



Şekil 4-31: Nenedent diş macunu solüsyonlarının PDLMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Nenedent % 0,4 B) Nenedent % 20 C) Nenedent % 50 D) Nenedent % 80

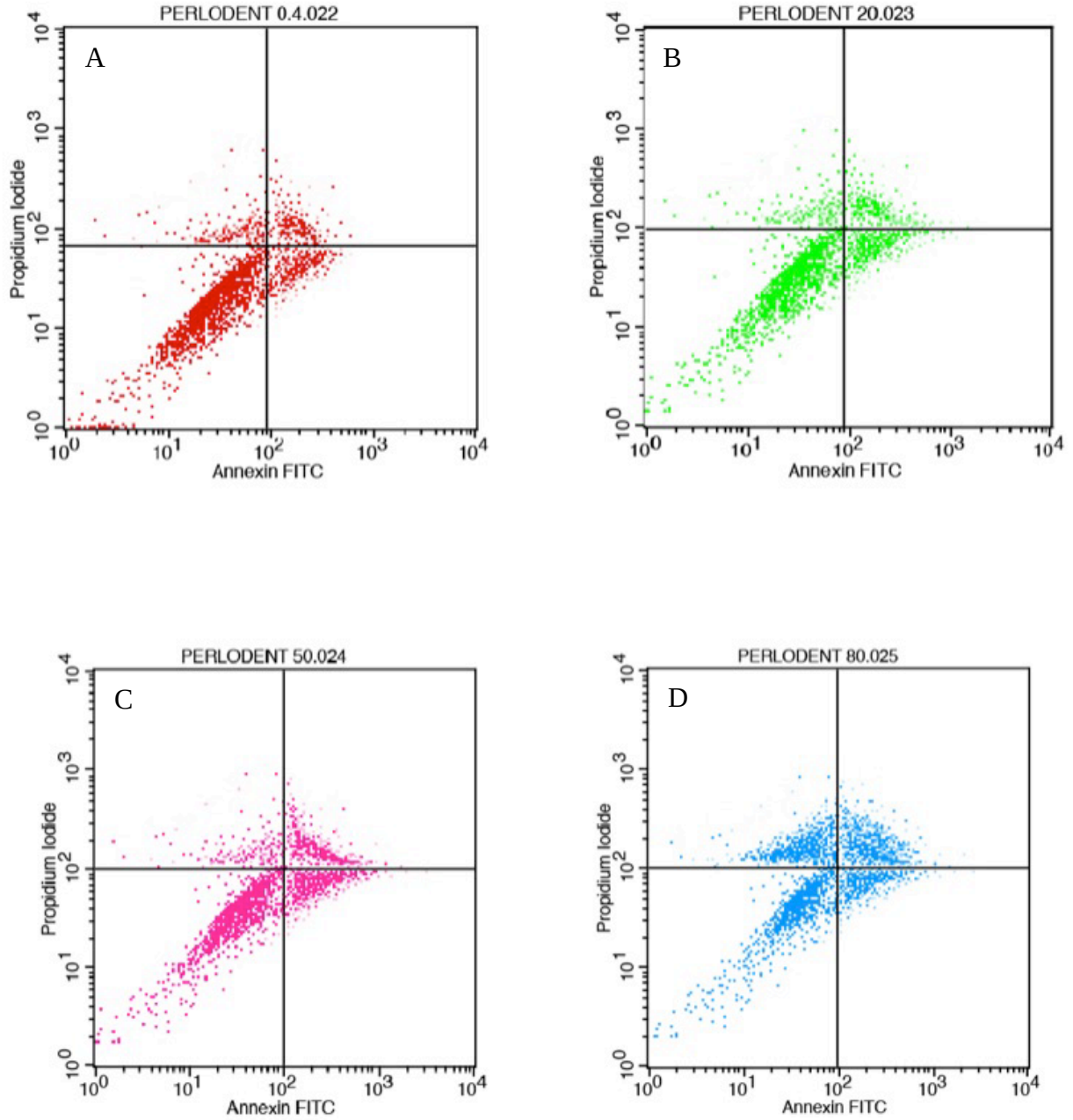
Perlodent diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen periodontal ligament mezenkimal kök hücrelerinin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Perlodent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 70,46; erken apoptotik hücre oranı % 17,36; geç apoptotik hücre oranı % 6,42 ve nekrotik hücre oranı % 5,75 olarak tespit edildi (Şekil 4-32/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Perlodent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 53,81; erken apoptotik hücre oranı % 30,30; geç apoptotik hücre oranı % 9,02 ve nekrotik hücre oranı % 6,84 olarak tespit edildi (Şekil 4-32/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Perlodent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 41,13 ; erken apoptotik hücre oranı % 36,76; geç apoptotik hücre oranı % 15,47 ve nekrotik hücre oranı % 6,62 olarak tespit edildi (Şekil 4-32/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Perlodent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 25,60 ; erken apoptotik hücre oranı % 30,72; geç apoptotik hücre oranı % 19,40 ve nekrotik hücre oranı % 24,26 olarak tespit edildi (Şekil 4-32/D).



Şekil 4-32: Perlodent diş macunu solüsyonlarının PDLMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Perlodent % 0,4 B) Perlodent % 20 C) Perlodent % 50 D) Perlodent % 80

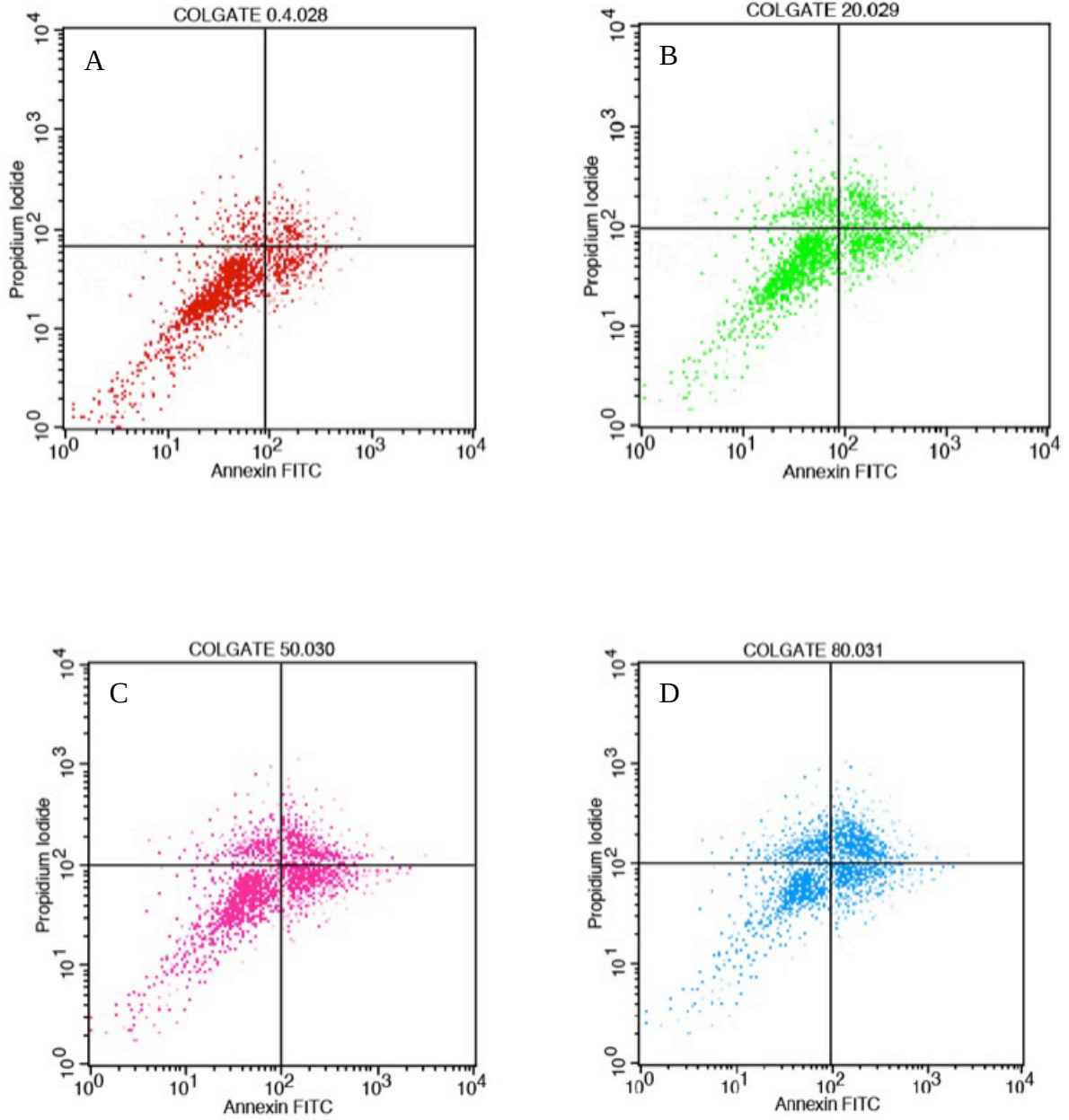
Colgate diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen periodontal ligament mezenkimal kök hücrelerinin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 64,74 ; erken apoptotik hücre oranı % 16,29; geç apoptotik hücre oranı % 9,88 ve nekrotik hücre oranı % 9,09 olarak tespit edildi (Şekil 4-33/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı %42,95; erken apoptotik hücre oranı % 26,93; geç apoptotik hücre oranı % 12,63 ve nekrotik hücre oranı % 17,47 olarak tespit edildi (Şekil 4-33/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 20,96 ; erken apoptotik hücre oranı % 42,46; geç apoptotik hücre oranı % 18,77 ve nekrotik hücre oranı % 17,80 olarak tespit edildi (Şekil 4-33/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 13,04 ; erken apoptotik hücre oranı % 40,84; geç apoptotik hücre oranı % 28,01 ve nekrotik hücre oranı % 18,08 olarak tespit edildi (Şekil 4-33/D).



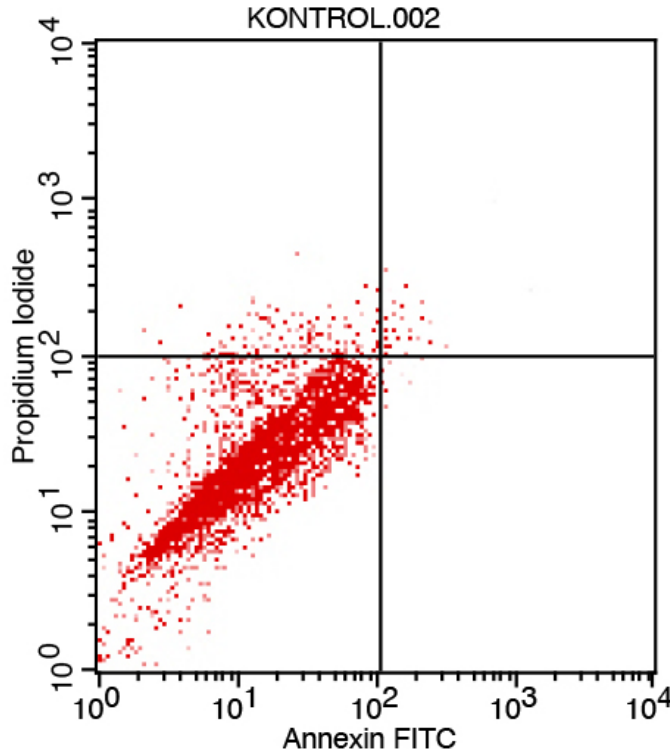
Şekil 4-33: Colgate diş macunu solüsyonlarının PDLMKH'ler üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Colgate % 0,4 B) Colgate % 20 C) Colgate % 50 D) Colgate % 80

4.2.3. Diş Eti Epitel Hücrelerinin Canlılığının Akım Sitometri ile Analizi

Akım sitometri analiz sonuçlarında elde edilen grafiklerde yatay eksenin sol alt kısmında kalan bölge canlı hücre gruplarını, sağ alt kısmında kalan bölge ise erken apoptotik hücreleri gösterirken, yatay eksenin üstünde kalan sol üst kısım nekrotik hücre gruplarını sağ üst kısımdaki bölge ise geç apoptotik hücre gruplarını göstermektedir.

CDMEM kontrol grubuyla stimüle edilen diş eti epitel hücrelerinin tekrarlanan deney sonuçları değerlendirildiğinde; canlı hücre oranı % 90,82; erken apoptotik hücre oranı % 2,23; geç apoptotik hücre oranı % 2,97 ve nekrotik hücre oranı % 3,98 olarak tespit edildi (Şekil 4-34).



Şekil 4-34: CDMEM kontrol grubunun diş eti epitel hücreleri üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

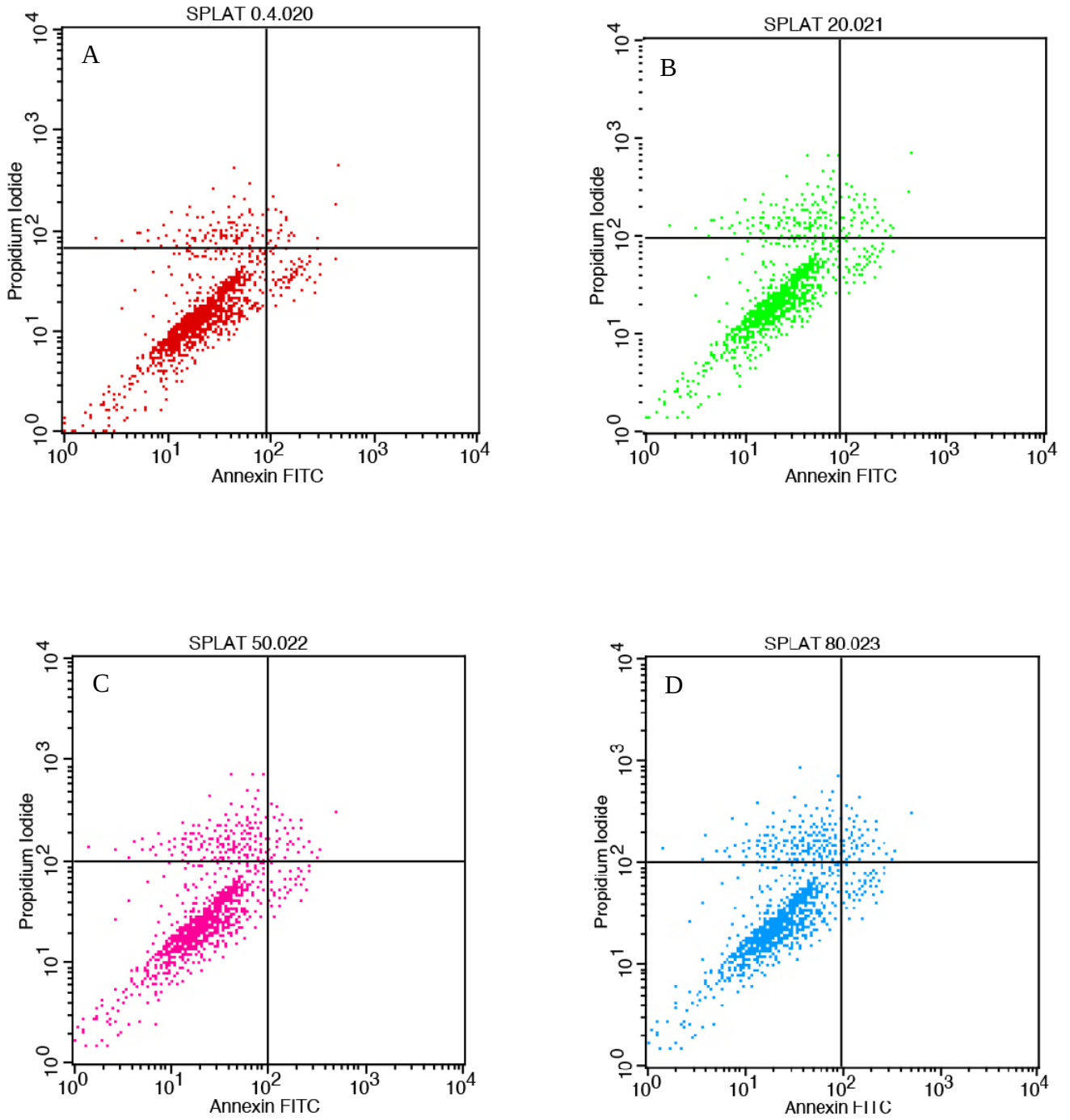
Splat diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen diş eti epitel hücrelerinin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 90,14; erken apoptotik hücre oranı % 3,12; geç apoptotik hücre oranı % 1,93 ve nekrotik hücre oranı % 4,79 olarak tespit edildi (Şekil 4-35/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 85,10; erken apoptotik hücre oranı % 2,52 ; geç apoptotik hücre oranı % 3,50 ve nekrotik hücre oranı % 8,86 olarak tespit edildi (Şekil 4-35/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 84,81 ; erken apoptotik hücre oranı % 2,29; geç apoptotik hücre oranı % 3,87 ve nekrotik hücre oranı % 9,02 olarak tespit edildi (Şekil 4-35/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 83,18; erken apoptotik hücre oranı % 1,97; geç apoptotik hücre oranı % 3,45 ve nekrotik hücre oranı % 11,38 olarak tespit edildi (Şekil 4-35/D).



Şekil 4-35: Splat diş macunu solüsyonlarının diş eti epitel hücreleri üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Splat % 0,4 B) Splat % 20 C) Splat % 50 D) Splat % 80

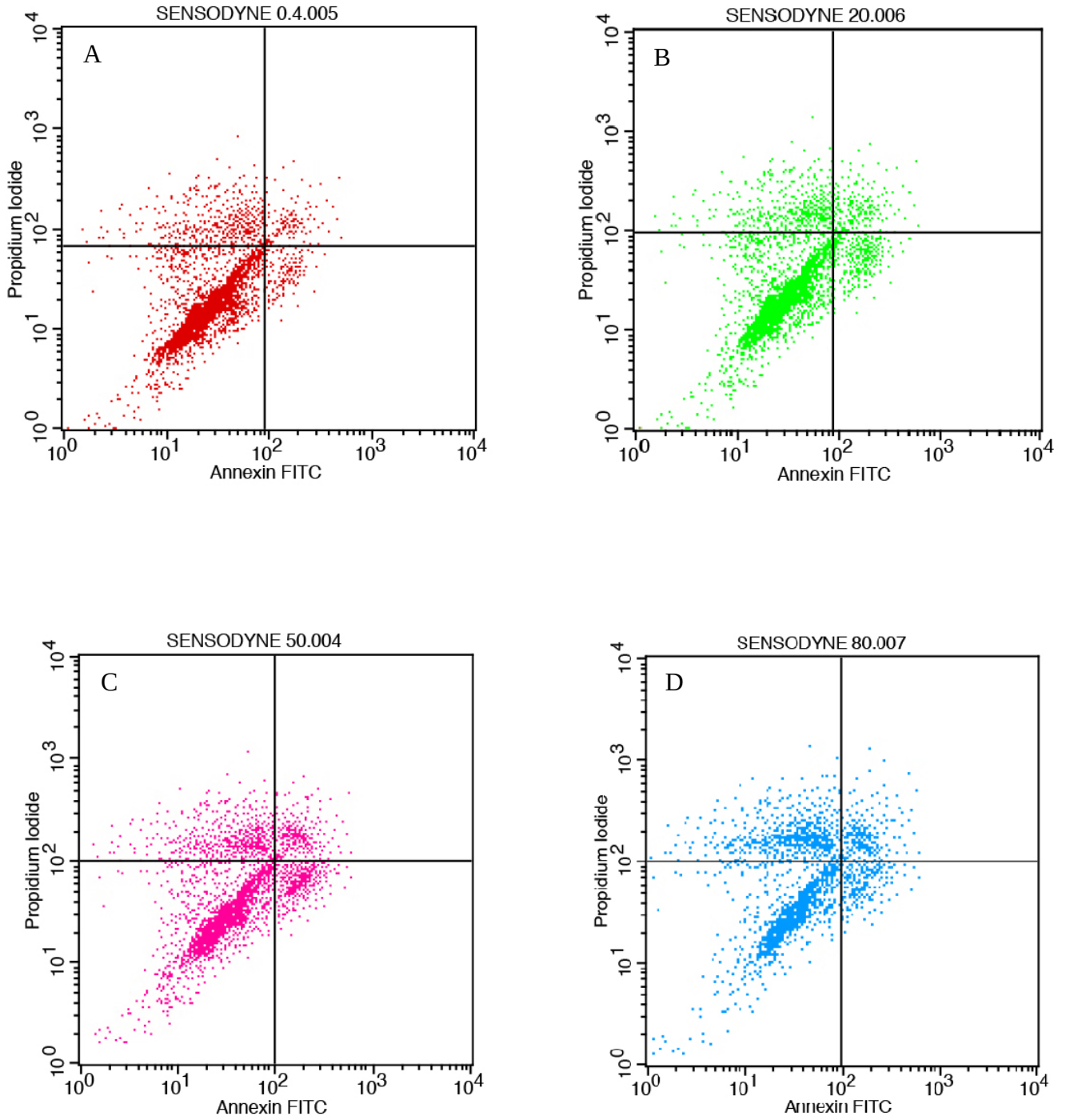
Sensodyne diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen diş eti epitel hücrelerin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 84,66; erken apoptotik hücre oranı % 1,85; geç apoptotik hücre oranı % 0,69 ve nekrotik hücre oranı % 12,78 olarak tespit edildi (Şekil 4-36/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 78,79; erken apoptotik hücre oranı % 4,52 ; geç apoptotik hücre oranı % 1,50 ve nekrotik hücre oranı % 15,18 olarak tespit edildi (Şekil 4-36/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 67,46 ; erken apoptotik hücre oranı % 12,08; geç apoptotik hücre oranı % 5,25 ve nekrotik hücre oranı % 15,18 olarak tespit edildi (Şekil 4-36/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 57,62; erken apoptotik hücre oranı % 9,73; geç apoptotik hücre oranı % 11,95 ve nekrotik hücre oranı % 20,68 olarak tespit edildi (Şekil 4-36/D).



Şekil 4-36: Sensodyne diş macunu solüsyonlarının diş eti epitel hücreleri üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Sensodyne % 0,4 B) Sensodyne % 20 C) Sensodyne % 50 D) Sensodyne % 80

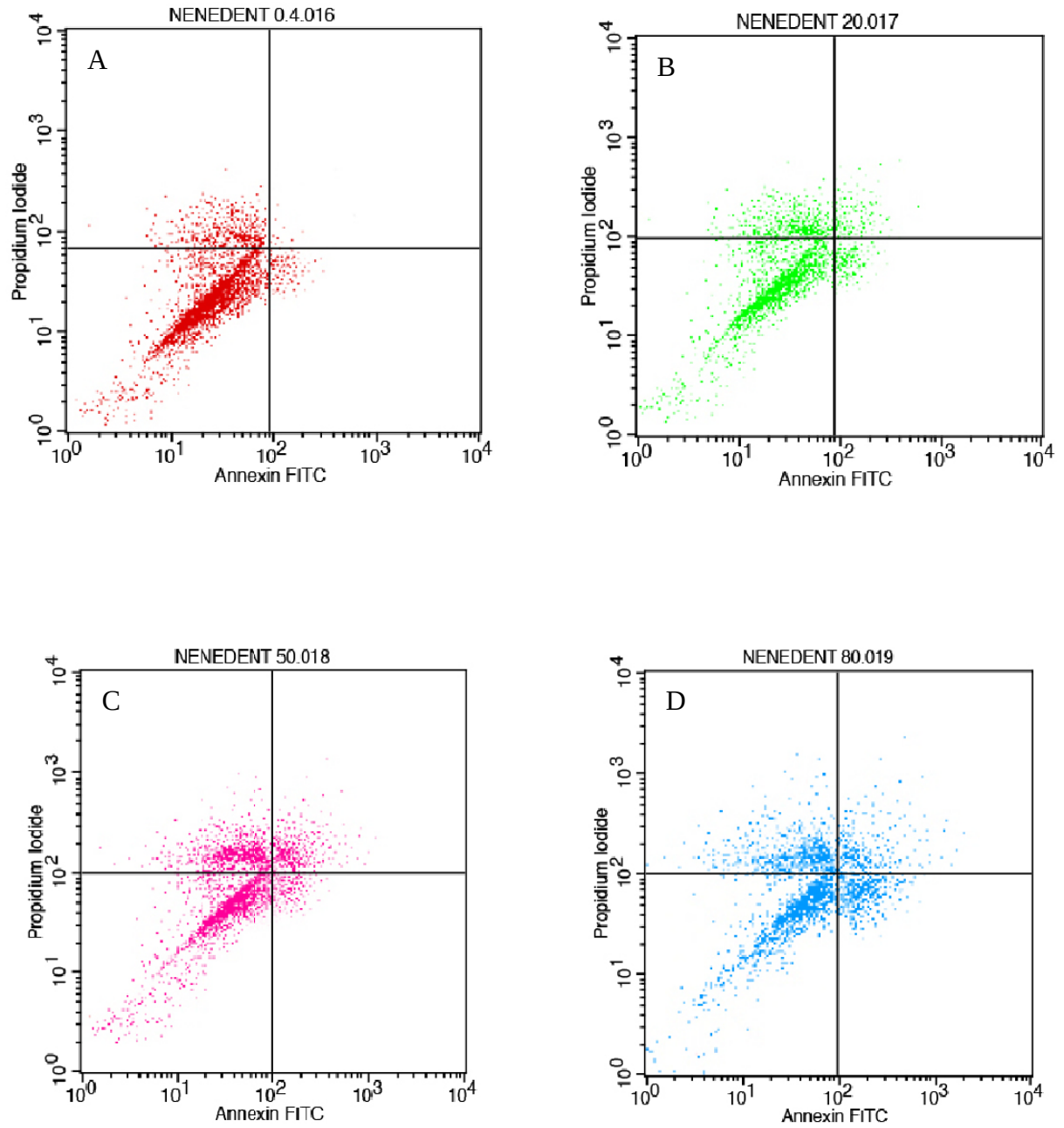
Nenedent diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen diş eti epitel hücrelerin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Nenedent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 80,23; erken apoptotik hücre oranı % 4,24; geç apoptotik hücre oranı % 0,89 ve nekrotik hücre oranı % 14,64 olarak tespit edildi (Şekil 4-37/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Nenedent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 64,21; erken apoptotik hücre oranı % 10,54 ; geç apoptotik hücre oranı % 7,65 ve nekrotik hücre oranı % 17,6 olarak tespit edildi (Şekil 4-37/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Nenedent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 55,16 ; erken apoptotik hücre oranı % 8,69; geç apoptotik hücre oranı % 12,31 ve nekrotik hücre oranı % 23,82 olarak tespit edildi (Şekil 4-37/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Nenedent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 39,14; erken apoptotik hücre oranı % 38,07; geç apoptotik hücre oranı % 7,64 ve nekrotik hücre oranı % 15,14 olarak tespit edildi (Şekil 4-37/D).



Şekil 4-37: Nenedent diş macunu solüsyonlarının diş eti epitel hücreleri üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Nenedent % 0,4 B) Nenedent % 20 C) Nenedent % 50 D) Nenedent % 80

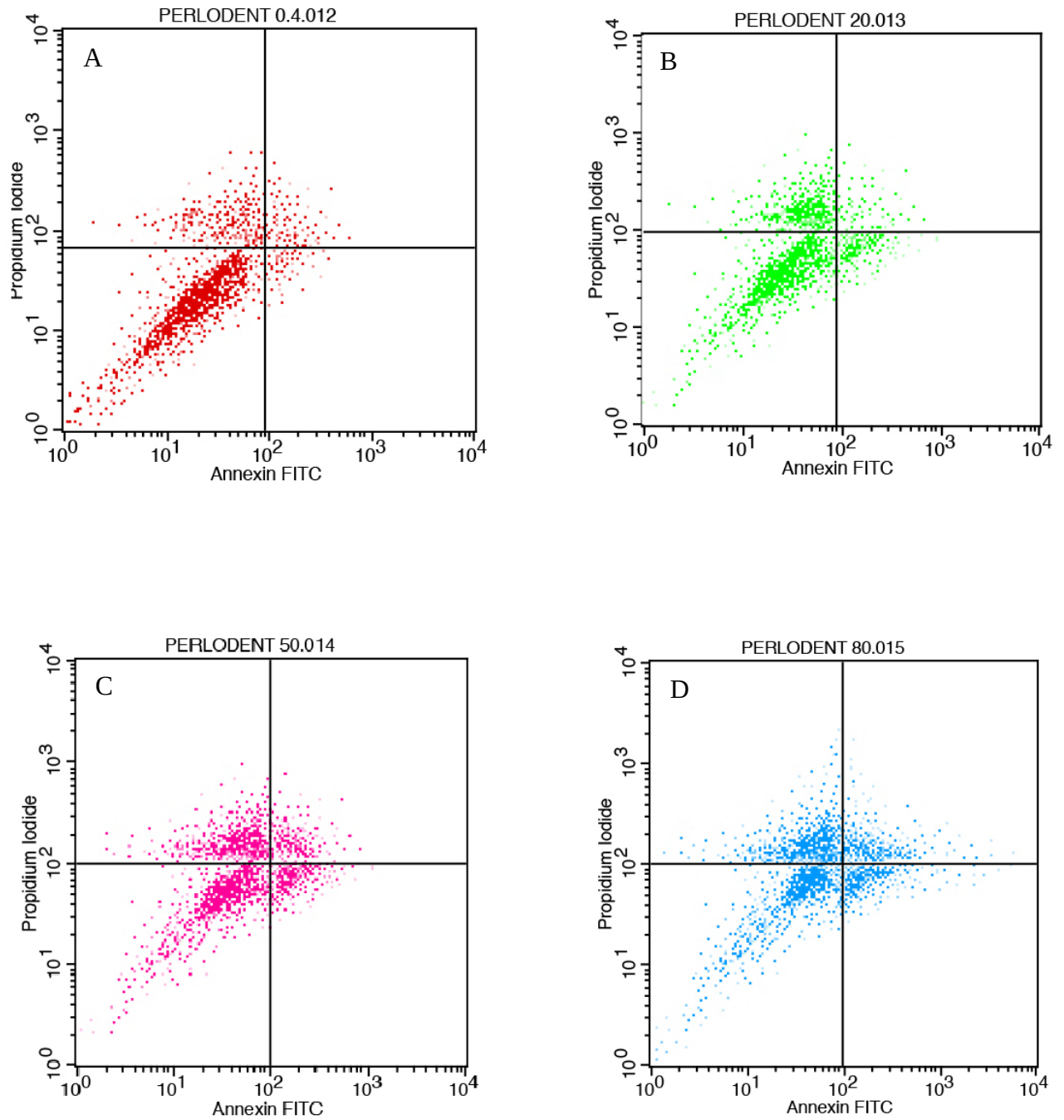
Perlodent diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen diş eti epitel hücrelerin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Perlodent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 78,66; erken apoptotik hücre oranı % 2,82; geç apoptotik hücre oranı % 6,13 ve nekrotik hücre oranı % 12,34 olarak tespit edildi (Şekil 4-38/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Perlodent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 64,75; erken apoptotik hücre oranı % 6,38 ; geç apoptotik hücre oranı % 3,66 ve nekrotik hücre oranı % 25,21 olarak tespit edildi (Şekil 4-38/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Perlodent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 45,20 ; erken apoptotik hücre oranı % 10,90; geç apoptotik hücre oranı % 10,9 ve nekrotik hücre oranı % 31,99 olarak tespit edildi (Şekil 4-38/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Perlodent diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 30,43; erken apoptotik hücre oranı % 17,81; geç apoptotik hücre oranı % 18,78 ve nekrotik hücre oranı % 32,96 olarak tespit edildi (Şekil 4-38/D).



Şekil 4-38: Perlodent diş macunu solüsyonlarının diş eti epitel hücreleri üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Perlodent % 0,4 B) Perlodent % 20 C) Perlodent % 50 D) Perlodent % 80

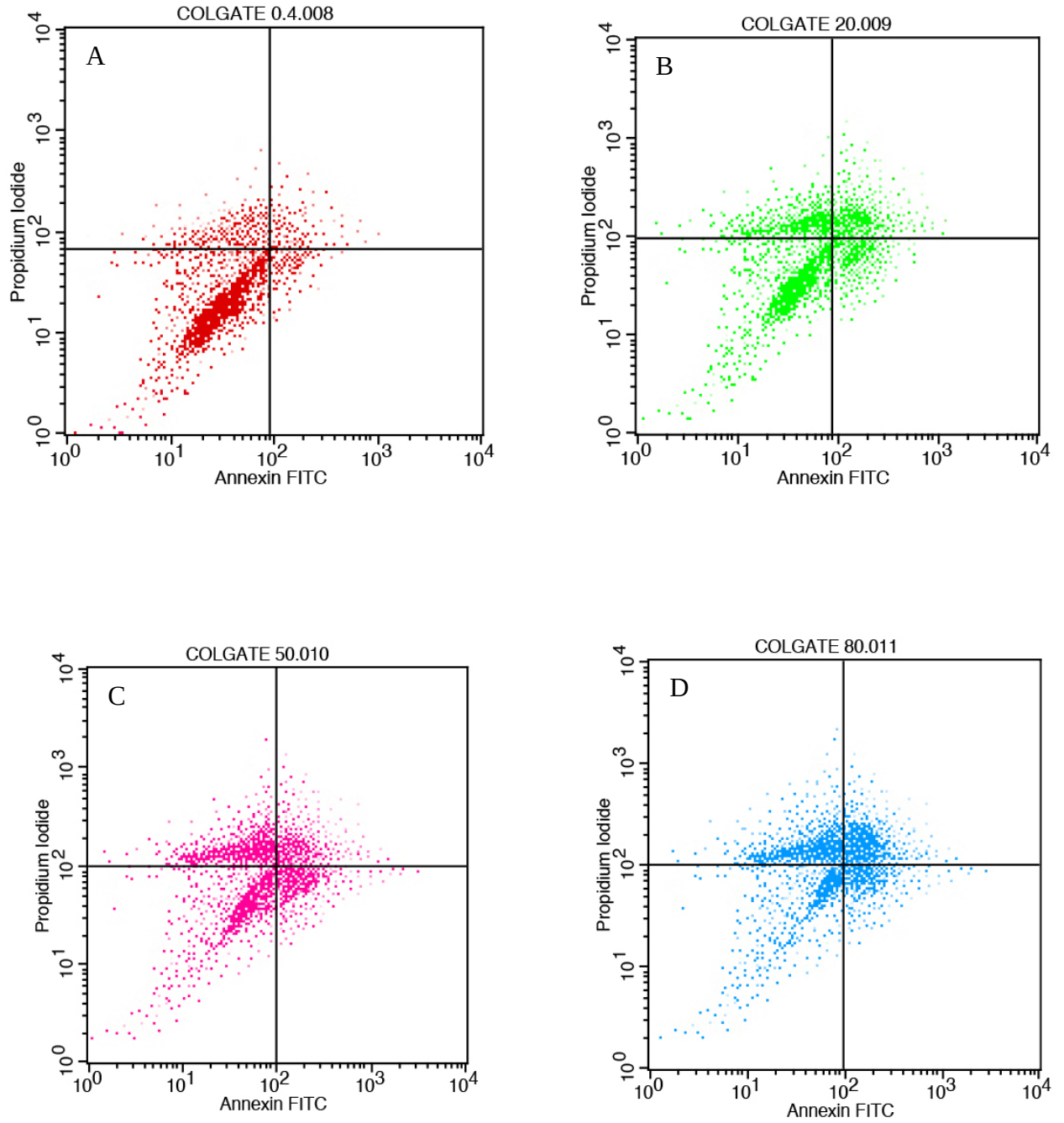
Colgate diş macununun 4 farklı konsantrasyonu ile stimüle edilen diş eti epitel hücrelerin tekrarlanan canlılık deney sonuçları değerlendirildiğinde;

% 0,4'lük konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 75,73; erken apoptotik hücre oranı % 3,37; geç apoptotik hücre oranı % 5,73 ve nekrotik hücre oranı % 15,16 olarak tespit edildi (Şekil 4-39/A).

% 20'lik konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 47,56; erken apoptotik hücre oranı % 9,75; geç apoptotik hücre oranı % 11,23 ve nekrotik hücre oranı % 31,45 olarak tespit edildi (Şekil 4-39/B).

% 50'lik konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 30,77 ; erken apoptotik hücre oranı % 33,82; geç apoptotik hücre oranı % 10,29 ve nekrotik hücre oranı % 25,10 olarak tespit edildi (Şekil 4-39/C).

% 80'lik konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonunda canlı hücre oranı % 13,03; erken apoptotik hücre oranı % 28,10; geç apoptotik hücre oranı % 37,18 ve nekrotik hücre oranı % 65 olarak tespit edildi (Şekil 4-39/D).



Şekil 4-39: Colgate diş macunu solüsyonlarının diş eti epitel hücreleri üzerine olan etkisi ile ilişkili akım sitometri grafiği (x: Anneksin V FITC, y: PIPE)

A) Colgate % 0,4 B) Colgate % 20 C) Colgate % 50 D) Colgate % 80

4.3. Aynı Deney Grubundaki Farklı Konsantrasyon ve Farklı Hücre Tiplerindeki Canlı Hücre Oranlarının Değerlendirilmesi

Tablo 4-1: Colgate deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre canlılık değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH Ort±SS	GMKH Ort±SS	Diş Eti Epiteli Ort±SS	
%0,4	64,74 ± 1,33 ^{aA}	73,86 ± 2,6 ^{aB}	75,74 ± 3,18 ^{aB}	0,000*
%20	42,96 ± 2,15 ^{bA}	33 ± 2,87 ^{bB}	47,56 ± 3,49 ^{bA}	0,000*
%50	20,96 ± 2,54 ^{cA}	20,55 ± 2,51 ^{cA}	30,77 ± 4,26 ^{cB}	0,000*
%80	13,05 ± 2,07 ^d	15,05 ± 3,07 ^d	13,04 ± 2,98 ^d	0,436
P	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Colgate deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama canlılık değerleri arasında fark vardır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama canlılık değeri 64,74 iken % 20’de 42,96, % 50’de 20,96 ve % 80’de de 13,05 olarak elde edilmiştir. PDLMKH’lerde Colgate marka diş macunu solüsyonunun konsantrasyonu arttıkça ortalama canlılık değerleri azalmaktadır ve tüm konsantrasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-1).

Colgate deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama canlılık değerleri arasında fark vardır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama canlılık değeri 73,86 iken % 20’de 33, % 50’de 20,55 ve % 80’de de 15,05 olarak elde edilmiştir. GMKH’lerde konsantrasyon arttıkça ortalama canlılık değerleri azalmaktadır ve tüm konsantrasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-1).

Colgate deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde konsantrasyonlara göre ortalama canlılık değerleri arasında fark vardır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri 75,74 iken % 20’de 47,56, % 50’de 30,77 ve % 80’de de

13,04 olarak elde edilmiştir. Diş eti epiteli hücre tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama canlılık değerleri azalmaktadır ve tüm konsantrasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo4-1).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tipleri arasındaki hücre canlılık oranları incelendiğinde % 0,4 konsantrasyondaki Colgate marka diş macunu solüsyonu için hücre tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama hücre canlılık değerleri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük elde edilmişken ($p<0,05$), % 0,4 konsantrasyondaki Colgate marka diş macunu solüsyonuna maruz bırakılan GMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında hücre canlılık oranları bakımından istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 20 konsantrasyondaki Colgate marka diş macunu solüsyonu için ortalama hücre canlılık değerleri hücre tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,001$). GMKH’lerde % 20 konsantrasyondaki Colgate marka diş macunu solüsyonu ile elde edilen ortalama hücre canlılık değerleri diğer hücre tiplerindeki canlılık oranlarından istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmaktadır ($p<0,05$). % 50 konsantrasyondaki Colgate marka diş macunu solüsyonu için ortalama hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ve diş eti epiteli hücre tipinde % 50 konsantrasyondaki Colgate diş macunu solüsyonu ile elde edilen ortalama hücre canlılık değerleri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekken ($p<0,001$), GMKH ve PDLMKH tipinde % 50 konsantrasyonda hücre canlılık oranları açısından istatistiksel bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 80 konsantrasyondaki Colgate marka diş macunu solüsyonunda ise ortalama hücre canlılık değerleri hücre tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir ($p=0,436$) (Tablo 4-1).

Tablo 4-2: Splat deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre canlılık değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH	GMKH	Diş Eti Eiteli	
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
%0,4	80,54 ± 1,65 ^{aA}	88,11 ± 0,9 ^{aB}	90,14 ± 0,95 ^{aB}	0,000*
%20	78,98 ± 2,36 ^{aA}	82,93 ± 1,23 ^{bB}	85,1 ± 1,77 ^{bB}	0,001*
%50	75,38 ± 1,98 ^{bA}	79,81 ± 1,06 ^{cB}	84,82 ± 1,6 ^{bB}	0,000*
%80	67,41 ± 1,58 ^{cA}	75,52 ± 1,15 ^{dB}	83,19 ± 1,88 ^{bC}	0,000*
p	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Splat deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 80,54 iken % 20’de 78,98, % 50’de 75,38 ve % 80’de de 67,41 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde % 0,4 ve % 20 konsantrasyonlardaki Splat diş macunu solüsyonları arasında hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p<0,05$) ve en yüksek ortalama canlılık değerleri bu iki konsantrasyondaki diş macunu solüsyonlarında elde edilmiştir. Bu ikili karşılaştırmanın haricindeki diğer tüm ikili karşılaştırmalarda konsantrasyon gruplarının hücre canlılık oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). En düşük ortalama hücre canlılık değerleri ise % 80 konsantrasyondaki diş macunu solüsyonunda elde edilmiştir (Tablo 4-2).

Splat marka deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyondaki Splat marka diş macunu solüsyonunda ortalama hücre canlılık değerleri 88,11 iken % 20’de 82,93, % 50’de 79,81 ve % 80’de de 75,52 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama hücre canlılık oranları azalmaktadır ve tüm konsantrasyonlar arasında hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-2).

Splat marka deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır

($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyondaki Splat marka diş macunu solüsyonunda ortalama hücre canlılık oranları 90,14 iken % 20'de 85,1, % 50'de 84,82 ve % 80'de de 83,19 olarak elde edilmiştir. Diş eti epiteli hücre tipinde % 0,4 konsantrasyondaki diş macunu solüsyonundaki ortalama canlı hücre değerleri diğer konsantrasyon grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0,05$). % 20, % 50 ve % 80 konsantrasyon gruplarının ikili karşılaştırılmalarında ise bu 3 konsantrasyon arasında hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 4-2).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tipleri arasındaki hücre canlılık oranları incelendiğinde % 0,4 konsantrasyondaki splat marka diş macunu solüsyonu için hücre tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama hücre canlılık değerleri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük elde edilmişken ($p<0,05$), % 0,4 konsantrasyondaki Splat marka diş macunu solüsyonuna maruz bırakılan GMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında hücre canlılık oranları bakımından istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 20 konsantrasyondaki Splat marka diş macunu solüsyonu için ortalama hücre canlılık değerleri hücre tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH'lerde % 20 konsantrasyondaki Splat marka diş macunu solüsyonu ile elde edilen ortalama hücre canlılık değerleri diğer hücre tiplerindeki canlılık oranlarından istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmaktadır ($p<0,05$). % 50 konsantrasyondaki Splat marka diş macunu solüsyonu için ortalama hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ve PDLMKH tipinde % 50 konsantrasyondaki Splat diş macunu solüsyonu ile elde edilen ortalama hücre canlılık değerleri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşükken ($p<0,001$), GMKH ve diş eti epiteli hücre tipinde % 50 konsantrasyonda hücre canlılık oranları açısından istatistiksel bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 80 konsantrasyondaki Splat marka diş macunu solüsyonunda ortalama hücre canlılık değerleri hücre tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermektedir ($p<0,05$). PDLMKH'lerde en düşük hücre canlılık değeri elde edilirken diş eti epiteli hücre tipinde en yüksek hücre canlılık değerleri elde edilmiştir (Tablo 4-2).

Tablo 4-3: Sensodyne deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre canlılık değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH	GMKH	Diş Eti Epiteli	
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
%0,4	75,2 ± 1,87 ^{aA}	80,55 ± 1,19 ^{aB}	84,66 ± 1,58 ^{aC}	0,000*
%20	71,68 ± 2,11 ^{bA}	72,73 ± 1,57 ^{bA}	78,8 ± 1,16 ^{bB}	0,000*
%50	57,83 ± 1,05 ^{cA}	62,8 ± 1,21 ^{cB}	67,47 ± 1,68 ^{cC}	0,000*
%80	52,31 ± 1,89 ^{dA}	51,92 ± 1,28 ^{dA}	57,63 ± 0,83 ^{dB}	0,000*
p	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Sensodyne deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 75,2 iken % 20’de 71,68 % 50’de 57,83 ve % 80’de de 52,31 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama canlılık oranları azalmaktadır ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-3).

Sensodyne deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 80,55 iken % 20’de 72,73, % 50’de 62,8 ve % 80’de de 51,92 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama canlılık oranları azalmaktadır ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-3).

Sensodyne deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 84,66 iken % 20’de 78,8, % 50’de 67,47 ve % 80’de de 57,63 olarak elde edilmiştir. Diş eti epiteli hücre tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama canlılık oranları azalmaktadır ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-3).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tipleri arasındaki canlı hücre oranları incelendiğinde Sensodyne deney grubunda % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). En düşük ortalama hücre canlılık oranları PDLMKH tipinde gözlenirken, en yüksek hücre canlılık oranları diş eti epiteli hücre tipinde elde edilmiştir. 3 hücre tipi arasında tüm ikili karşılaştırmalarda canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). % 20 konsantrasyon için ortalama canlılık değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Diş eti epitelinde elde edilen ortalama hücre canlılık değerleri, PDLMKH ile GMKH tipindeki canlı hücre oranlarından istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmaktadır ($p<0,05$). PDLMKH ve GMKH tipindeki hücre canlılık oranları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama hücre canlılık değerleri hücre tipleri arasında farklılık göstermektedir ve PDLMKH tipinde elde edilen ortalama hücre canlılık değerleri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,05$). Diş eti epiteli hücre tipindeki canlı hücre oranları ise diğer hücre tiplerinden anlamlı derecede yüksektir ($p<0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama canlılık değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). GMKH hücre tipi ile PDLMKH hücre tipindeki hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p<0,05$), diş eti epiteli hücre tipindeki canlı hücre oranları istatistiksel olarak diğer hücre tiplerinden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4-3).

Tablo 4-4: Nenedent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre canlılık değerlerinin karşılaştırılması

Hücre Tipi				
Konsantrasyon	PDLMKH	GMKH	Diş Eti Eiteli	p
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
%0,4	68,06 ± 1,63 ^{aA}	72,21 ± 0,92 ^{aB}	80,23 ± 0,93 ^{aC}	0,000*
%20	50,42 ± 1,48 ^{bA}	60,73 ± 1,09 ^{bB}	64,21 ± 0,91 ^{bC}	0,000*
%50	34,6 ± 1,41 ^{cA}	49,74 ± 1,21 ^{cB}	55,17 ± 1,2 ^{cC}	0,000*
%80	24,4 ± 1,5 ^{dA}	33,53 ± 1,41 ^{dB}	39,15 ± 0,91 ^{dC}	0,000*
p	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Nenedent deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama hücre canlılık değerleri 68,06 iken % 20’de 50,42, % 50’de 34,6 ve % 80’de de 24,4 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama canlılık oranları azalmaktadır ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-4).

Nenedent deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama hücre canlılık değerleri 72,21 iken %2 0’de 60,73 % 50’de 49,74 ve % 80’de de 33,53 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama hücre canlılık oranları azalmaktadır ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-4).

Nenedent deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama hücre canlılık değerleri 80,23 iken % 20’de 64,21, % 50’de 55,17 ve % 80’de de 39,15 olarak elde edilmiştir. Diş eti epiteli hücre tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama hücre canlılık oranları azalmaktadır ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-4).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tipleri arasındaki canlı hücre oranları incelendiğinde Nenedent deney grubunda % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama hücre canlılık değerleri diğer hücre tiplerinden daha düşük bulunurken, dış eti epiteli hücre tipinde ise canlı hücre oranları diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmaktadır ($p<0,05$). % 20 konsantrasyondaki ortalama hücre canlılık değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama canlılık değerleri diğer hücre tiplerine göre daha düşük bulunurken, dış eti epiteli hücrelerindeki canlı hücre oranları ise diğer gruplardan daha yüksek elde edilmiştir. Tüm hücre tiplerinin ikili karşılaştırılmasında canlı hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$). % 50 konsantrasyondaki hücre canlılık ortalama değerleri hücre tipleri arasında farklılık göstermektedir ve dış eti epitelinde elde edilen ortalama canlılık değerleri diğer hücre tiplerinden daha yüksektir ($p<0,001$). Tüm hücre tiplerinin ikili karşılaştırmaları arasında canlı hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). % 80 konsantrasyondaki ortalama canlılık değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen canlılık ortalama değerleri diğerlerinden daha düşük iken, dış eti epiteli hücre tipindeki hücre canlılık oranları diğer hücre tiplerinden anlamlı derecede yüksek elde edilmiştir. Tüm hücre tiplerindeki hücre canlılık oranlarının ikili karşılaştırmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-4).

Tablo 4-5: Perlodent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre canlılık değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH Ort±SS	GMKH Ort±SS	Diş Eti Epiteli Ort±SS	
%0,4	70,47 ± 1,89 ^{aA}	76,34 ± 1,3 ^{aB}	78,66 ± 1,84 ^{aB}	0,000*
%20	53,82 ± 2,16 ^{bA}	60,4 ± 0,95 ^{bB}	64,75 ± 0,91 ^{bC}	0,000*
%50	41,13 ± 2,07 ^{cA}	45,25 ± 1,21 ^{cB}	45,21 ± 1,81 ^{cB}	0,004*
%80	25,6 ± 1,67 ^{dA}	26,72 ± 0,98 ^{dAB}	30,43 ± 4,05 ^{dB}	0,030*
p	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Perlodent deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri 70,47 iken % 20’de 53,82, % 50’de 41,13 ve % 80’de de 25,6 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama canlılık azalmaktadır ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-5).

Perlodent deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri 76,34 iken % 20’de 60,4 % 50’de 45,25 ve % 80’de de 26,72 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama hücre canlılık oranları azalmaktadır ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-5).

Perlodent deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 78,66 iken % 20’de 64,75, % 50’de 45,21 ve % 80’de de 30,43 olarak elde edilmiştir. Diş eti epiteli hücre tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama canlılık oranları azalmaktadır ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-5).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tipleri arasındaki canlı hücre oranları incelendiğinde Perlodent deney grubunun % 0,4 konsantrasyonu için hücre tipleri

arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama canlılık değerleri diğer hücre tiplerinden anlamlı derecede düşük bulunurken ($p<0,05$), GMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 20 konsantrasyon için ortalama canlılık değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama hücre canlılık değerleri diğerlerinden daha düşük elde edilirken, diş eti epiteli hücre tipindeki canlılık hücre oranları ise diğer hücre tiplerinden daha yüksek elde edilmiştir. 3 hücre tipi arasında da hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama canlılık değerleri hücre tipleri arasında farklılık göstermektedir ve PDLMKH tipinde elde edilen ortalama canlılık değerleri diğer hücre tiplerinden daha düşüktür ($p=0,004$). GMKH ve diş eti epiteli hücre tipi arasında ise hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama canlılık değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p=0,030$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama canlılık değerleri diş eti epiteline göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük elde edilmiştir ($p<0,05$). GMKH tipindeki canlı hücre oranları ise diğer hücre tipleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık göstermemektedir ($p>0,05$) (Tablo 4-5).

4.4. Farklı Konsantrasyonlardaki Deney Gruplarında Erken Apoptotik Hücre Oranları

Tablo 4-6: Colgate deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH Ort±SS	GMKH Ort±SS	Diş Eti Epiteli Ort±SS	
%0,4	16,29 ± 2,05 ^{aA}	6,55 ± 1,29 ^{aB}	3,38 ± 2,01 ^{aC}	0,000*
%20	26,93 ± 3,07 ^{bA}	22,17 ± 1,8 ^{bA}	9,75 ± 3,55 ^{bB}	0,000*
%50	42,46 ± 6,05 ^{cA}	24,61 ± 2,28 ^{bB}	33,83 ± 2,81 ^{cC}	0,000*
%80	40,85 ± 1,18 ^{cA}	21,64 ± 4,56 ^{bB}	28,11 ± 3,07 ^{dC}	0,000*
P	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Colgate deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p < 0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama erken apoptotik hücre değeri 16,29 iken % 20’de 26,93, % 50’de 42,46 ve % 80’de de 40,85 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde % 50 ve % 80 konsantrasyonlar arasında erken apoptotik hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p > 0,05$) ve en yüksek erken apoptotik hücre değerleri bu konsantrasyonlarda elde edilmiştir. En düşük ortalama değer ise % 0,4 konsantrasyonda saptanmış olup, diğer konsantrasyonlardaki erken apoptotik hücre oranlarından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmaktadır ($p < 0,05$) (Tablo 4-6).

Colgate deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama hücre erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir farklılık bulunmaktadır ($p < 0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 6,55 iken % 20’de 22,17, % 50’de 24,61 ve % 80’de de 21,64 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz oranları diğer hücre tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p < 0,05$) ve en düşük ortalama erken apoptoz değeri % 0,4 konsantrasyonda elde edilmiştir. Diğer konsantrasyonlar arasında ise erken

apoptotik hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 4-6).

Colgate deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 3,38 iken % 20’de 9,75, % 50’de 33,83 ve % 80’de 28,11 olarak elde edilmiştir ve tüm konsantrasyonlar arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-6).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki erken apoptoz oranları incelendiğinde Colgate deney grubunda % 0,4 konsantrasyonda erken apoptoz değerleri açısından hücre tipleri arasında istatistiksel fark bulunmaktadır ($p<0,001$). Diş eti epiteli hücre tipinde ortalama erken apoptoz değerleri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük elde edilirken ($p<0,05$), PDLMKH tipinde ise erken apoptoz değerleri diğer hücre tiplerine oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmaktadır ($p<0,05$). % 20 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Diş eti epitelinde elde edilen ortalama değerler diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,05$). GMKH ve PDLMKH tipleri arasında ise erken apoptotik hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri hücre tipleri arasında farklılık göstermektedir. GMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değerleri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,05$) ve diğer tüm hücre tipleri arasındaki erken apoptotik hücre oranları açısından da istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). GMKH’de en düşük değer elde edilirken PDLMKH’de en yüksek değer elde edilmiştir ve tüm hücre tiplerinin ikili karşılaştırmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-6).

Tablo 4-7: Splat deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH Ort±SS	GMKH Ort±SS	Diş Eti Epiteli Ort±SS	
%0,4	7,18 ± 2,85 ^{aA}	2,36 ± 1,01 ^{aB}	3,12 ± 1,48 ^B	0,000*
%20	7,82 ± 0,3 ^{abA}	3,71 ± 0,92 ^{aB}	2,52 ± 1,14 ^B	0,000*
%50	10,65 ± 0,6 ^{baA}	3,06 ± 1,02 ^{aB}	2,29 ± 0,78 ^B	0,000*
%80	17,41 ± 1,52 ^{ca}	6,22 ± 0,69 ^{bB}	1,97 ± 0,4 ^C	0,000*
p	0,000*	0,000*	0,372	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Splat deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p < 0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 7,18 iken % 20’de 7,82 % 50’de 10,65 ve % 80’de de 17,41 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama erken apoptoz değerleri artmaktadır ve % 0,4 konsantrasyon ile % 20 konsantrasyondaki erken apoptotik hücre oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p < 0,05$). % 20 ile % 50 konsantrasyonlardaki erken apoptoz değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p > 0,05$), % 80 konsantrasyondaki erken apoptoz değeri diğer konsantrasyonlar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmaktadır ($p < 0,05$) (Tablo 4-7).

Splat deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir farklılık bulunmaktadır ($p < 0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 2,36 iken % 20’de 3,71 % 50’de 3,06 ve % 80’de de 6,22 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama erken apoptoz oranları artmaktadır. % 0,4, % 20 ve % 50 konsantrasyonlardaki erken apoptotik hücre oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, % 80 konsantrasyondaki erken apoptoz oranları diğer tüm konsantrasyonlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p < 0,05$) (Tablo 4-7).

Splat deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0,372$) (Tablo 4-7).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki erken apoptoz oranları incelendiğinde Splat deney grubunda % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değerleri diğer hücre tiplerinden daha yüksek elde edilmiştir ($p<0,05$). GMKH ve diş eti epiteli hücre tipi arasında ise erken apoptotik hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 20 konsantrasyon için erken apoptoz ortalama değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunurken ($p<0,05$), GMKH ve diş eti epiteli hücre tipi arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 50 konsantrasyonda erken apoptoz ortalama değerleri hücre tipleri arasında farklılık göstermektedir ($p<0,000$) ve PDLMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değerleri diğer hücrelerden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0,05$). GMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında ise erken apoptoz değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Diş eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değerleri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük elde edilirken ($p<0,05$); en yüksek erken apoptoz oranları ise PDLMKH tipinde bulunmaktadır ($p<0,05$). Tüm hücre tipleri arasında ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı derecede bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 4-7).

Tablo 4-8: Sensodyne deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH	GMKH	Diş Eti Epiteli	
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
%0,4	11,19 ± 2,03 ^{aA}	4,14 ± 1,02 ^{aB}	1,85 ± 0,53 ^{aC}	0,000*
%20	15,06 ± 2,37 ^{bA}	8,96 ± 0,42 ^{bB}	4,52 ± 0,67 ^{bC}	0,000*
%50	27,18 ± 1,74 ^{cA}	14,08 ± 0,91 ^{cB}	12,09 ± 1,11 ^{cB}	0,000*
%80	33,79 ± 2,25 ^{dA}	15,6 ± 0,91 ^{cB}	9,73 ± 0,57 ^{cC}	0,000*
P	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Sensodyne deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 11,19 iken % 20’de 15,06, % 50’de 27,18 ve % 80’de de 33,79 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama erken apoptoz oranları artmaktadır ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-8).

Sensodyne deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 4,14 iken % 20’de 8,96 % 50’de 14,08 ve % 80’de de 15,6 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama erken apoptoz oranları artmaktadır ve % 50 konsantrasyon ile % 80 konsantrasyon arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0,05$), diğer konsantrasyonların ikli karşılaştırmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-8).

Sensodyne deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 1,85 iken % 20’de 4,52, % 50’de 12,09 ve % 80’de de 9,73 olarak elde edilmiştir ve % 50 konsantrasyon ile % 80 konsantrasyon arasında erken apoptoz değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir

fark bulunmazken ($p>0,05$), diğer tüm ikili karşılaştırmalarda erken apoptoz oranları açısından anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-8).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki erken apoptoz oranları incelendiğinde Sensodyne deney grubunda % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında istatistiksel farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğer hücrelerden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek elde edilirken ($p<0,05$); diş eti epiteli hücre tipinde elde edilen erken apoptoz oranları ise diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmaktadır ($p<0,05$). % 20 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğer hücrelerden istatistiksel olarak daha yüksektir ($p<0,05$). Tüm hücre tiplerinin ikili karşılaştırmaları arasında istatistiksel olarak fark bulunmakla birlikte, en düşük erken apoptoz değerleri ise diş eti epiteli hücre tipinde elde edilmiştir ($p<0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri hücre tipleri arasında farklılık göstermektedir ve PDLMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0,001$). GMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında ise erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri hücre tipleri arasında istatistiksel olarak farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Diş eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğerlerinden daha düşük elde edilirken, PDLMKH tipinde elde edilen erken apoptoz değerleri ise diğer hücre tipleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-8).

Tablo 4-9: Nenedent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

Hücre Tipi				
Konsantrasyon	PDLMKH	GMKH	Diş Eti Epiteli	p
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
%0,4	20,26 ± 0,83 ^{aA}	7,12 ± 1,67 ^{aB}	4,24 ± 0,98 ^{aC}	0,000*
%20	26,34 ± 2 ^{bA}	10,17 ± 1,36 ^{bB}	10,55 ± 1,79 ^{bB}	0,000*
%50	38,9 ± 1,56 ^{cA}	12,99 ± 1,06 ^{bB}	8,69 ± 1,36 ^{bC}	0,000*
%80	41,91 ± 2,52 ^{cA}	21,04 ± 2,14 ^{cB}	38,08 ± 1,27 ^{cC}	0,000*
p	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Nenedent deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 20,26 iken % 20’de 26,34, % 0’de 38,9 ve % 80’de de 41,91 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama erken apoptoz oranları artmaktadır. % 50 konsantrasyon ile % 80 konsantrasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$) ve en yüksek erken apoptoz değerleri bu konsantrasyon değerlerinde elde edilmiştir. Konsantrasyonların diğer tüm ikili karşılaştırmalarında ise erken apoptoz değerleri açısından konsantrasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-9).

Nenedent deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 7,12 iken % 20’de 10,17 % 50’de 12,99 ve % 80’de de 21,04 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama erken apoptoz oranları artmaktadır ve % 20 konsantrasyon ile % 50 konsantrasyon arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmazken; diğer tüm konsantrasyonların ikili karşılaştırmalarında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-9).

Nenedent deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel farklılık bulunmaktadır

($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 4,24 iken % 20’de 10,55, % 50’de 8,69 ve % 80’de de 38,08 olarak elde edilmiştir ve % 20 konsantrasyon ile % 50 konsantrasyon arasında erken apoptoz değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken; diğer tüm konsantrasyonların ikili karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-9).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki erken apoptoz değerleri incelendiğinde Nenedent deney grubunda % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğerlerinden daha yüksek elde edilirken ($p<0,05$), diş eti epiteli hücre tipinde ise diğer hücre tiplerinden daha düşük erken apoptoz oranları elde edilmiştir ($p<0,05$). % 20 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak daha yüksek bulunurken ($p<0,05$); GMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. % 50 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri farklılık göstermektedir ve PDLMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğerlerinden daha yüksektir ($p<0,001$). Diş eti epiteli hücre tipinde elde edilen erken apoptoz değeri ise diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmaktadır ($p<0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). GMKH hücre tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğerlerinden daha düşük elde edilirken; en yüksek erken apoptoz oranları PDLMKH tipinde bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-9).

Tablo 4-10: Perlodent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH Ort±SS	GMKH Ort±SS	Diş Eti Epiteli Ort±SS	
%0,4	17,36 ± 1,72 ^{aA}	5,11 ± 1,66 ^{aB}	2,83 ± 0,67 ^{aB}	0,000*
%20	30,3 ± 1,41 ^{bA}	6,44 ± 1,09 ^{aB}	6,39 ± 1,14 ^{bB}	0,000*
%50	36,76 ± 3,49 ^{cA}	20,15 ± 1,17 ^{bB}	10,9 ± 0,99 ^{cC}	0,000*
%80	30,72 ± 2,96 ^{bA}	26,37 ± 2,09 ^{cB}	17,82 ± 3,44 ^{dC}	0,000*
p	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Perlodent deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 17,36 iken % 20’de 30,3 % 50’de 36,76 ve % 80’de de 30,72 olarak elde edilmiştir ve % 20 konsantrasyon ile % 80 konsantrasyon arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). En düşük ortalama erken apoptoz oranları % 0,4 ‘lük konsantrasyonda elde edilirken, en yüksek erken apoptoz değerleri % 50 konsantrasyonda bulunmaktadır (Tablo 4-10).

Perlodent deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 5,11 iken % 20’de 6,44 % 50’de 20,15 ve % 80’de de 26,37 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama erken apoptoz değerleri artmaktadır ve % 0,4 konsantrasyon ile % 20 konsantrasyon arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak fark bulunmazken; diğer konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-10).

Perlodent deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama erken apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 2,83 iken % 20’de 6,39 % 50’de 10,9 ve % 80’de de 17,82 olarak elde edilmiştir ve tüm konsantrasyonlar arasında fark vardır (Tablo 4-10).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki erken apoptoz oranları incelendiğinde % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek iken ($p<0,05$); GMKH ve dış eti epiteli hücre tipleri arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 20 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek iken ($p<0,05$); GMKH ve dış eti epiteli hücre tipleri arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ve PDLMKH tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğerlerinden daha yüksektir ($p<0,001$). Dış eti epiteli hücre tipinde ise erken apoptoz değerleri diğer hücre tipleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmaktadır ($p<0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama erken apoptoz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Dış eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama erken apoptoz değeri diğer hücre tipleriden istatistiksel olarak daha düşük elde edilmiştir ve tüm hücre tiplerinin ikili karşılaştırmaları arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-10).

4.5. Farklı Konsantrasyonlardaki Deney Gruplarında Geç Apoptotik Hücre Oranları

Tablo 4-11: Colgate deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH	GMKH	Diş Eti Epiteli	
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
%0,4	9,88 ± 2,03 ^{aA}	7,81 ± 1,28 ^{aAB}	5,73 ± 1,66 ^{aB}	0,000*
%20	12,64 ± 2,01 ^{aA}	21,14 ± 2,18 ^{bB}	11,23 ± 3,2 ^{bA}	0,000*
%50	18,77 ± 2,24 ^{bA}	31,13 ± 1,91 ^{cB}	10,29 ± 2,55 ^{abC}	0,000*
%80	28,02 ± 2,58 ^{cA}	42,64 ± 2,18 ^{dB}	37,19 ± 2,68 ^{cC}	0,000*
P	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Colgate deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 9,88 iken % 20’de 12,64; % 50’de 18,77 ve % 80’de de 28,02 olarak elde edilmiştir ve % 0,4 konsantrasyon ile % 20 konsantrasyon arasında geç apoptoz değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken; diğer konsantrasyonların tüm ikili karşılaştırmalarında geç apoptoz değerleri açısından konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-11).

Colgate deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait konsantrasyonlara ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 7,81 iken % 20’de 21,14; % 50’de 31,13 ve % 80’de de 42,64 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama geç apoptoz değerleri artmaktadır ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-11).

Colgate deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir farklılık bulunmaktadır

($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 5,73 iken % 20’de 11,23; % 50’de 10,29 ve % 80’de de 37,19 olarak elde edilmiştir. %50 konsantrasyon, % 0,4 ve % 20 konsantrasyona göre istatistiksel olarak farklı değildir, % 80 konsantrasyonda geç apoptoz oranları diğer konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-11).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki geç apoptoz değerleri incelendiğinde Colgate deney grubunda % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğerlerinden daha yüksek elde edilmişken; PDLMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$). GMKH tipindeki geç apoptoz oranları ise PDLMKH ve diş eti epiteli hücre tiplerindeki geç apoptoz oranlarından istatistiksel olarak farklı değildir ($p>0,05$). % 20 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). GMKH tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunurken; PDLMKH ve diş eti epiteli hücre tiplerindeki geç apoptoz oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ve GMKH tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğerlerinden daha yüksektir ($p<0,001$). Diş eti epiteli hücre tipinde ise geç apoptoz oranları diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmaktadır ($p<0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değeri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). GMKH tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak daha yüksek elde edilmiştir ($p<0,05$). PDLMKH tipinde ise geç apoptoz oranları diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4-11).

Tablo 4-12: Splat deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH Ort±SS	GMKH Ort±SS	Diş Eti Epiteli Ort±SS	
%0,4	5,63 ± 1,12 ^A	2,57 ± 0,45 ^{aB}	1,93 ± 0,32 ^{aB}	0,000*
%20	6,51 ± 1,28 ^A	4,25 ± 0,95 ^{bB}	3,51 ± 0,65 ^{bB}	0,000*
%50	6,1 ± 0,97 ^A	5,78 ± 0,59 ^{cA}	3,87 ± 0,96 ^{bB}	0,000*
%80	5,39 ± 0,69 ^A	6,32 ± 0,92 ^{cA}	3,46 ± 0,97 ^{bB}	0,000*
p	0,353	0,000*	0,006*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Splat deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0,353$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 5,63 iken % 20’de 6,5; % 50’de 6,1 ve % 80’de de 5,39 olarak elde edilmiştir (Tablo 4-12).

Splat deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 2,57 iken % 20’de 4,25; % 50’de 5,78 ve % 80’de de 6,32 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama geç apoptoz değerleri artmaktadır ve % 50 konsantrasyon ile % 80 konsantrasyon arasında ortalama geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Diğer tüm konsantrasyonlar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-12).

Splat deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 1,93 iken % 20’de 3,51; % 50’de 3,87 ve % 80’de de 3,46 olarak elde edilmiştir ve % 0,4 konsantrasyonki ortalama geç apoptoz oranları diğer konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p<0,05$). % 20, % 50 ve % 80 konsantrasyonlar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 4-12).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki geç apoptoz oranları incelendiğinde Splat deney grubunda % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). PDMKH tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek elde edilmiştir ($p<0,05$). GMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında geç apoptoz oranları açısından ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 20 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak daha yüksek bulunurken ($p<0,05$); GMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ve diş eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğerlerinden daha düşüktür ($p<0,05$). PDLMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında ise geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Diş eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük elde edilmiştir ($p<0,05$). PDLMKH ve GMKH tipleri arasında ise geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 4-12).

Tablo 4-13: Sensodyne deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH Ort±SS	GMKH Ort±SS	Diş Eti Epiteli Ort±SS	
%0,4	7,2 ± 0,95 ^{aA}	4,79 ± 1,13 ^{aB}	0,7 ± 0,37 ^{aC}	0,000*
%20	5,36 ± 0,94 ^{bA}	7,1 ± 1,13 ^{bB}	1,5 ± 0,37 ^{aC}	0,000*
%50	6,83 ± 0,53 ^{bA}	7,66 ± 1,09 ^{bA}	5,25 ± 0,64 ^{bB}	0,001*
%80	6 ± 0,89 ^{bA}	10,83 ± 1,12 ^{cB}	11,96 ± 1,02 ^{cB}	0,000*
P	0,014*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Sensodyne deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 7,2 iken % 20'de 5,36; % 50'de 6,83 ve % 80'de 6 olarak elde edilmiştir ve % 0,4 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değeri diğer konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p<0,05$). Diğer konsantrasyonlar arasında ise geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 4-13).

Sensodyne deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 4,79 iken % 20'de 7,1; % 50'de 7,66 ve % 80'de 10,83 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama geç apoptotik hücre oranları artmaktadır ve % 20 konsantrasyon ile % 50 konsantrasyon arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diğer konsantrasyonlar arasında ise geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-13).

Sensodyne deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 0,7 iken % 20'de 1,5; % 50'de 5,25 ve % 80'de 11,96 olarak elde edilmiştir ve % 0,4 konsantrasyon ile % 20 konsantrasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken; diğer konsantrasyonlar arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-13).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki geç apoptotik hücre oranları incelendiğinde Sensodyne deney grubunda % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında istatistiksel farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak daha yüksek elde edilmiştir ($p<0,05$). Diş eti epiteli hücre tipindeki geç apoptoz oranları ise diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,05$). % 20 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğer hücrelerden daha yüksektir. Diş eti epiteli hücre tipinde ise geç apoptoz oranları

diğer hücre tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmaktadır ($p<0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ve dış eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p=0,001$). PDLMKH ve GMKH tipleri arasında ise ortalama geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak daha düşük elde edilmiştir ($p<0,05$). GMKH ve dış eti epiteli hücre tipleri arasında ise geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4-13).

Tablo 4-14: Nenedent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH	GMKH	Diş Eti Epiteli	
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
%0,4	5,38 ± 1,4 ^{aA}	7,75 ± 0,66 ^{aB}	0,89 ± 0,26 ^{aC}	0,000*
%20	15,98 ± 1,02 ^{bA}	10,54 ± 1,71 ^{bB}	7,65 ± 1 ^{bC}	0,000*
%50	18,2 ± 1,53 ^{bcA}	17,69 ± 0,95 ^{cA}	12,31 ± 0,53 ^{cB}	0,000*
%80	20,65 ± 1,83 ^{cA}	21,57 ± 0,87 ^{dA}	7,65 ± 0,6 ^{bB}	0,000*
P	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Nenedent deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 5,38 iken % 20’de 15,98; % 50’de 18,2 ve % 80’de 20,65 olarak elde edilmiştir ve % 50 konsantrasyon ile % 80 konsantrasyon arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. % 20 ile % 50 konsantrasyonlar arasında da geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, % 0,4’lük konsantrasyonda geç apoptoz değeri diğer

konsantrasyonlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-14).

Nenedent deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptotik hücre değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 7,75 iken % 20'de 10,54; % 50'de 17,69 ve % 80'de de 21,57 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama geç apoptoz oranları artmaktadır ve tüm hücre tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-14).

Nenedent deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 0,89 iken % 20'de 7,65; % 50'de 12,31 ve % 80'de de 7,65 olarak elde edilmiştir ve % 20 konsantrasyon ile % 80 konsantrasyon arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Tablo 4-14).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki geç apoptoz oranları incelendiğinde Nenedent deney grubunda % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). GMKH tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek elde edilmiştir ($p<0,05$). Diş eti epiteli hücre tipinde ortalama geç apoptoz oranları diğer hücre tipleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmaktadır ($p<0,05$). % 20 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0,05$). Diş eti epiteli hücre tipinde ise geç apoptoz oranları diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ve diş eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p=0,001$). PDLMKH ve GMKH tiplerinde ise geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Diş eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden

istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük elde edilmiştir ($p<0,05$). PDLMKH ve GMKH tipleri arasında ise geç apoptoz oranları açısından anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 4-14).

Tablo 4-15: Perlodent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH	GMKH	Diş Eti Epiteli	
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
%0,4	6,42 ± 1,18 ^a	7,13 ± 0,83 ^a	6,13 ± 1,01 ^a	0,316
%20	9,02 ± 1,12 ^{aA}	12,59 ± 1,09 ^{bB}	3,66 ± 0,64 ^{aC}	0,000*
%50	15,47 ± 2,01 ^{bA}	16,51 ± 0,62 ^{cA}	10,9 ± 1,19 ^{bB}	0,000*
%80	19,4 ± 1,3 ^c	21,04 ± 1,05 ^d	18,78 ± 4,84 ^c	0,480
P	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Perlodent deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 6,42 iken % 20’de 9,02; % 50’de 15,47 ve % 80’de 19,4 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama geç apoptotik hücre oranı artmaktadır ve % 0,4 konsantrasyon ile % 20 konsantrasyon arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Tablo 4-15). Diğer konsantrasyon grupları arasında ise geç apoptoz oranları açısından istatistiksel bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$).

Perlodent deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 7,13 iken % 20’de 12,59; % 50’de 16,51 ve % 80’de 21,04 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama geç apoptoz oranları artmaktadır ve tüm konsantrasyon değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (Tablo 4-15).

Perlodont deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama geç apoptoz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 6,13 iken % 20’de 3,66; % 50’de 10,9 ve % 80’de de 18,78 olarak elde edilmiştir ve % 0,4 konsantrasyon ile % 20 konsantrasyon arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. Diğer tüm ikili karşılaştırmalarında ise konsantrasyonlar arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-15).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki geç apoptoz oranları incelendiğinde Perlodont deney grubunda % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır ($p=0,316$). % 20 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). GMKH tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğerlerinden daha yüksektir. Diş eti epiteli hücre tipinde geç apoptoz oranları ise diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ve diş eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama geç apoptoz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak daha düşüktür ($p<0,001$). PDLMK ve GMKH tipleri arasında ise geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. % 80 konsantrasyon için ortalama geç apoptoz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermemektedir ($p=0,480$) (Tablo 4-15).

4.6. Farklı Konsantrasyonlardaki Deney Gruplarında Nekrotik Hücre Oranları

Tablo 4-16: Colgate deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH Ort±SS	GMKH Ort±SS	Diş Eti Epiteli Ort±SS	
%0,4	9,10 ± 0,81 ^{aA}	11,78 ± 1,63 ^{aA}	15,16 ± 2,4 ^{aB}	0,000*
%20	17,47 ± 1,52 ^{bA}	23,69 ± 1,69 ^{bB}	31,46 ± 4 ^{bC}	0,000*
%50	17,81 ± 1,96 ^{bA}	21,73 ± 2,15 ^{bAB}	25,11 ± 2,91 ^{bB}	0,000*
%80	18,09 ± 1,87 ^b	20,66 ± 2,77 ^b	21,67 ± 2,84 ^c	0,111
P	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Colgate deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 9,10 iken % 20’de 17,47; % 50’de 17,81 ve % 80’de de 18,09 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama nekroz oranları artmaktadır ve % 0,4 konsantrasyonda ortalama nekroz oranları diğer konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ($p<0,05$). Diğer konsantrasyonlar arasında ise nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. (Tablo 4-16).

Colgate deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri 11,78 iken % 20’de 23,69; % 50’de 21,73 ve % 80’de de 20,66 olarak elde edilmiştir ve % 0,4 konsantrasyonda ortalama nekroz oranı diğer konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,05$). Diğer konsantrasyonlarda ise nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4-16).

Colgate deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4

konsantrasyonda ortalama nekroz değeri 15,16 iken % 20'de 31,46; % 50'de 25,11 ve % 80'de de 21,67 olarak elde edilmiştir. % 50 konsantrasyon ile % 80 konsantrasyon arasında anlamlı farklılık bulunmazken; diğer konsantrasyonlar arasında nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-16).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki nekrotik hücre oranları incelendiğinde Colgate deney grubunda % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında fark bulunmaktadır ($p<0,001$). Diş eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak daha yüksektir. PDLMKH ve GMKH tipleri arasında ise nekroz oranları açısından istatistiksel bir fark bulunmamaktadır. % 20 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Diş eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak daha yüksektir ($p<0,05$) ve PDLMKH tipinde nekroz oranları diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmaktadır ($p<0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri farklılık göstermektedir ve GMKH tipinde ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak bir göstermemektedir ($p>0,05$). PDLMKH ve diş eti epiteli hücre tiplerinde ise nekroz ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). % 80 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermemektedir ($p=0,111$) (Tablo 4-16).

Tablo 4-17: Splat deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH	GMKH	Diş Eti Epiteli	
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
%0,4	6,65 ± 1,42 ^{aA}	6,97 ± 0,91 ^{aA}	4,79 ± 0,54 ^{aB}	0,000*
%20	6,69 ± 1,22 ^{abA}	9,1 ± 0,9 ^{bB}	8,86 ± 0,87 ^{bB}	0,000*
%50	7,87 ± 0,95 ^{abA}	11,35 ± 0,59 ^{cB}	9,03 ± 1,03 ^{bA}	0,000*
%80	9,78 ± 1,11 ^{bA}	11,94 ± 0,78 ^{cB}	11,39 ± 1,53 ^{cAB}	0,000*
p	0,002*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Splat deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama nekroz değeri 6,65 iken % 20’de 6,69; % 50’de 7,87 ve % 80’de de 9,78 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama nekroz oranları artmaktadır ve % 0,4 konsantrasyonda ortalama nekroz değeri % 80 konsantrasyondaki ortalama nekroz değerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük elde edilmiştir ($p<0,05$) (Tablo 4-17).

Splat deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama nekroz değeri 6,97 iken % 20’de 9,1; % 50’de 11,35 ve % 80’de de 11,94 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama nekroz oranları artmaktadır ve % 50 konsantrasyon ile % 80 konsantrasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diğer konsantrasyonlar arasında ise nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. (Tablo 4-17).

Splat deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 4,79 iken % 20’de 8,86; % 50’de 9,03 ve % 80’de de 11,39 olarak elde edilmiştir ve % 20 konsantrasyon ile % 50 konsantrasyon arasında

fark bulunmazken; diğer konsantrasyonlar arasında nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-17).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tipleri arasındaki nekrotik hücre oranları incelendiğinde % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). Diş eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğerlerinden daha düşüktür. PDLMKH ve GMKH tipleri arasında ise nekroz oranları açısından istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. % 20 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak daha düşüktür. GMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında ise nekroz oranları açısından bir fark bulunmamaktadır. % 50 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ve GMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,001$). PDLMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında ise nekroz oranları açısından farklılık bulunmamaktadır. % 80 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri GMKH ve diş eti epiteli hücre tipi ortalama değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,05$). GMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında ise anlamlı fark bulunmamaktadır. (Tablo 4-17).

Tablo 4-18: Sensodyne deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH	GMKH	Diş Eti Epiteli	
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
%0,4	6,41 ± 1,5 ^A	10,91 ± 1,27 ^{aB}	12,79 ± 0,96 ^{aB}	0,000*
%20	7,9 ± 1,03 ^A	11,44 ± 1,27 ^{aB}	15,18 ± 1,09 ^{bC}	0,000*
%50	8,17 ± 0,69 ^A	15,43 ± 1,38 ^{bB}	15,19 ± 1,28 ^{bB}	0,000*
%80	7,91 ± 0,56 ^A	19,65 ± 1,51 ^{cB}	20,69 ± 0,91 ^{cB}	0,000*
P	0,054	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Sensodyne deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0,054$) (Tablo 4-18).

Sensodyne deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında istatistiksel bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama nekroz değeri 10,91 iken % 20'de 11,44; % 50'de 15,43 ve % 80'de de 19,65 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama nekroz oranları artmaktadır ve % 0,4 konsantrasyon ile % 20 konsantrasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken; diğer konsantrasyonların ikili karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-18).

Sensodyne deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde konsantrasyonlara göre ortalama nekroz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 12,79 iken % 20'de 15,18; % 50'de 15,19 ve % 80'de de 20,69 olarak elde edilmiştir. % 20 konsantrasyon ile % 50 konsantrasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken; diğer konsantrasyonların ikili karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-18).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerinde ortalama nekroz oranları incelendiğinde % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). GMKH ve diş eti epiteli hücre tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken; PDLMKH tipinde nekroz oranları diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ($p<0,05$). % 20 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerinden daha düşüktür ve tüm hücre tiplerinin ikili karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. % 50 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ve PDLMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğerlerinden daha düşüktür ($p<0,001$). Diş eti epiteli hücre tipindeki nekroz oranları ise diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p<0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri hücre

tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,05$). GMKH tipindeki nekroz oranları ise diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-18).

Tablo 4-19: Nenedent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH Ort±SS	GMKH Ort±SS	Diş Eti Epiteli Ort±SS	
%0,4	6,3 ± 0,83 ^{aA}	12,92 ± 0,77 ^{aB}	14,65 ± 0,61 ^{aC}	0,000*
%20	7,26 ± 0,87 ^{aA}	18,55 ± 1,57 ^{bB}	17,6 ± 1,1 ^{bB}	0,000*
%50	7,91 ± 1,15 ^{aA}	19,57 ± 1,58 ^{bB}	23,83 ± 0,7 ^{cC}	0,000*
%80	13,03 ± 1,03 ^{bA}	23,86 ± 1,02 ^{cB}	15,15 ± 0,92 ^{aC}	0,000*
P	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Nenedent deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 6,3 iken % 20’de 7,26; % 50’de 7,91 ve % 80’de de 13,03 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama nekroz oranları artmaktadır ve % 80 konsantrasyonda ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0,05$). Diğer konsantrasyonlar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 4-19).

Nenedent deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 12,92 iken % 20’de 18,55; % 50’de 19,57 ve % 80’de de 23,86 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama nekroz oranları artmaktadır. % 20 konsantrasyon ile % 50 konsantrasyon arasında ortalama nekroz oranları arasında istatistiksel olarak fark bulunmazken; diğer konsantrasyonların ikili karşılaştırmalarında nekroz oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-19).

Nenedent deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 14,65 iken % 20’de 17,6; % 50’de 23,83 ve % 80’de de 15,15 olarak elde edilmiştir. % 0,4 konsantrasyon ile % 80 konsantrasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken; diğer konsantrasyonlar arasında nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-19).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki ortalama nekroz oranları incelendiğinde % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,05$). Diş eti epiteli hücre tipindeki nekroz oranları ise diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0,05$). % 20 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,05$) ve GMKH ile diş eti epiteli hücre tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir. PDLMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşükken ($p<0,001$); diş eti epiteli hücre tipinde ise nekroz oranları diğer hücre tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşükken ($p<0,05$); GMKH tipindeki nekroz oranları diğer hücre tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-19).

Tablo 4-20: Perlodent deney grubunda hücre ve konsantrasyona göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon	Hücre Tipi			p
	PDLMKH Ort±SS	GMKH Ort±SS	Diş Eti Epiteli Ort±SS	
%0,4	5,75 ± 1,45 ^{aA}	11,43 ± 1,61 ^{aB}	12,35 ± 0,68 ^{aB}	0,000*
%20	6,85 ± 0,93 ^{aA}	20,57 ± 1,36 ^{bB}	25,21 ± 1,3 ^{bC}	0,000*
%50	6,62 ± 1,61 ^{aA}	18,09 ± 0,95 ^{bB}	31,99 ± 1,2 ^{cC}	0,000*
%80	24,26 ± 1,13 ^{bA}	25,87 ± 1,8 ^{cA}	32,97 ± 3,99 ^{cB}	0,000*
p	0,000*	0,000*	0,000*	

A-B: Her bir konsantrasyon içinde aynı harfe sahip hücre tipleri arasında fark yoktur, a-c: Her bir hücre tipi içinde aynı harfe sahip konsantrasyonlar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Perlodent deney grubunda PDLMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 5,75 iken % 20’de 6,85; % 50’de 6,62 ve % 80’de de 24,26 olarak elde edilmiştir. PDLMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama nekroz oranları artmaktadır. % 80 konsantrasyonda ortalama nekroz değeri diğer konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0,05$) ve diğer konsantrasyonların ikili karşılaştırmalarında nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4-20).

Perlodent deney grubunda GMKH tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 11,43 iken % 20’de 20,57; % 50’de 18,09 ve % 80’de de 25,87 olarak elde edilmiştir. GMKH tipinde konsantrasyon arttıkça ortalama nekroz oranları artmaktadır. % 20 konsantrasyon ile % 50 konsantrasyon arasında nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0,05$); diğer konsantrasyonların ikili karşılaştırmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-20).

Perlodent deney grubunda diş eti epiteli hücre tipinde 4 farklı konsantrasyona ait ortalama nekroz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). % 0,4 konsantrasyonda ortalama değer 12,35 iken % 20’de 25,21; % 50’de 31,99 ve % 80’de de 32,97 olarak elde edilmiştir. % 50 konsantrasyon ile % 80 konsantrasyon arasında nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken

($p>0,05$); diğer konsantrasyonların ikili karşılaştırmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,05$) (Tablo 4-20).

Aynı konsantrasyonda farklı hücre tiplerindeki nekroz oranları incelendiğinde % 0,4 konsantrasyon için hücre tipleri arasında istatistiksel bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerinden daha düşüktür ($p<0,05$) ve GMKH ile dış eti epiteli hücre tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. % 20 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). PDLMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerinden daha düşüktür ($p<0,05$). Dış eti epiteli hücre tipinde ise nekroz oranları diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmaktadır ($p<0,05$). % 50 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir. PDLMKH tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerinden daha düşüktür ($p<0,05$). Dış eti epiteli hücre tipinde ise nekroz oranları diğer hücre tiplerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmaktadır ($p<0,05$). % 80 konsantrasyon için ortalama nekroz değerleri hücre tipine göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Dış eti epiteli hücre tipinde elde edilen ortalama nekroz değeri diğer hücre tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0,05$) ve GMKH ile PDLMKH tipinde nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4-20).

4.7. Farklı Deney Grupları Arasında Canlı Hücre Oranlarının Konsantrasyonlara Göre Karşılaştırılması

Tablo 4-21: PDLMKH tipinde gruplar arası canlılık değerlerinin karşılaştırılması

	Konsantrasyon			
	0,4%	20%	50%	80%
Colgate	64,74 ± 1,33a	42,96 ± 2,15a	20,96 ± 2,54a	13,05 ± 2,07a
Splat	80,54 ± 1,65b	78,98 ± 2,36b	75,38 ± 1,98b	67,41 ± 1,58b
Sensodyne	75,20 ± 1,87c	71,68 ± 2,11c	57,83 ± 1,05c	52,31 ± 1,89c
Nenedent	68,06 ± 1,63d	50,42 ± 1,48d	34,6 ± 1,41d	24,4 ± 1,5d
Perlodent	70,47 ± 1,89d	53,82 ± 2,16d	41,13 ± 2,07e	25,6 ± 1,67d
Kontrol	84,11 ± 1,08e	84,11 ± 1,08e	84,11 ± 1,08f	84,11 ± 1,08e
p	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

a-b-c-d-e-f: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

PDLMKH tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p < 0,001$). Colgate için ortalama değer 64,74; Splat için ortalama değer 80,54; Sensodyne için ortalama değer 75,20; Nenedent için ortalama değer 68,06; Perlodent için ortalama değer 70,47; kontrol grubu için ortalama değer 84,11 olarak elde edilmiştir. Nenedent ve Perlodent arasında canlı hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p > 0,05$) ve diğer tüm grupların ikili karşılaştırmalarında canlı hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$) (Tablo 4-21).

PDLMKH tipinde % 20 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p < 0,001$). Colgate için ortalama değer 42,96; Splat için ortalama değer 78,98; Sensodyne için ortalama değer 71,68; Nenedent için ortalama değer 50,42; Perlodent için ortalama değer 53,82; kontrol grubu için ortalama değer 84,11 olarak elde edilmiştir. Nenedent ve Perlodent arasında hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p > 0,05$) ve diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$) (Tablo 4-21).

PDLMKH tipinde % 50 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 20,96; Splat için ortalama değer 75,38; Sensodyne için ortalama değer 57,83; Nenedent için ortalama değer 34,6; Perlodent için ortalama değer 41,13; kontrol grubu için ortalama değer 84,11'dir. Tüm grupların ikili karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-21).

PDLMKH tipinde % 80 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 13,05; Splat için ortalama değer 67,41; Sensodyne için ortalama değer 52,31; Nenedent için ortalama değer 24,4; Perlodent için ortalama değer 25,6; kontrol grubu için ortalama değer 84,11'dir. Nenedent ile Perlodent arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$) ve diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-21).

Tablo 4-22: GMKH tipinde gruplar arası canlılık değerlerinin karşılaştırılması

	Konsantrasyon			
	0,40%	20%	50%	80%
Colgate	73,86 ± 2,6ab	33 ± 2,87a	20,55 ± 2,51a	15,05 ± 3,07a
Splat	88,11 ± 0,9d	82,93 ± 1,23b	79,81 ± 1,06b	75,52 ± 1,15b
Sensodyne	80,55 ± 1,19c	72,73 ± 1,57c	62,8 ± 1,21c	51,92 ± 1,28c
Nenedent	72,21 ± 0,92a	60,73 ± 1,09d	49,74 ± 1,21d	33,53 ± 1,41d
Perlodent	76,34 ± 1,3b	60,4 ± 0,95d	45,25 ± 1,21e	26,72 ± 0,98e
Kontrol	89,54 ± 1,27d	89,54 ± 1,27e	89,54 ± 1,27f	89,54 ± 1,27f
P	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

a-b-c-d-e-f: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

GMKH tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 73,86; Splat için ortalama değer 88,11; Sensodyne için ortalama değer 80,55; Nenedent için ortalama değer 72,21; Perlodent için ortalama değer 76,34; kontrol grubu için ortalama değer 89,54 olarak elde edilmiştir. Colgate grubu canlılık oranları açısından Nenedent ve Perlodent grubuna göre farklı değildir. Splat ve kontrol grubu arasında da hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diğer tüm ikili

karşılaştırmalarda canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ve Sensodyne tüm gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,05$) (Tablo 4-22).

GMKH tipinde % 20 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 33; Splat için ortalama değer 82,93; Sensodyne için ortalama değer 72,73; Nenedent için ortalama değer 60,73; Perlodent için ortalama değer 60,4; kontrol grubu için ortalama değer 89,54 olarak elde edilmiştir. Nenedent ve Perlodent arasında canlı hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken; diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-22).

GMKH tipinde % 50 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 20,55; Splat için ortalama değer 79,81; Sensodyne için ortalama değer 62,8; Nenedent için ortalama değer 49,74; Perlodent için ortalama değer 45,25; kontrol grubu için ortalama değer 89,54 olarak elde edilmiştir. Tüm grupların ikili karşılaştırmaları arasında canlı hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-22).

GMKH tipinde % 80 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 15,05; Splat için ortalama değer 75,52; Sensodyne için ortalama değer 51,92; Nenedent için ortalama değer 33,53; Perlodent için ortalama değer 26,72; kontrol grubu için ortalama değer 89,54'tür. Tüm grupların ikili karşılaştırmaları arasında canlı hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-22).

Tablo 4-23: Diş eti epiteli hücre tipinde gruplar arası canlılık değerlerinin karşılaştırılması

	Konsantrasyon			
	0,40%	20%	50%	80%
Colgate	75,74 ± 3,18a	47,56 ± 3,49a	30,77 ± 4,26a	13,04 ± 2,98a
Splat	90,14 ± 0,95d	85,1 ± 1,77b	84,82 ± 1,6b	83,19 ± 1,88b
Sensodyne	84,66 ± 1,58c	78,8 ± 1,16c	67,47 ± 1,68c	57,63 ± 0,83c
Nenedent	80,23 ± 0,93b	64,21 ± 0,91d	55,17 ± 1,2d	39,15 ± 0,91d
Perlodent	78,66 ± 1,84ab	64,75 ± 0,91d	45,21 ± 1,81e	30,43 ± 4,05e
Kontrol	90,82 ± 1,04d	90,82 ± 1,04e	90,82 ± 1,04f	90,82 ± 1,04f
p	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

a-b-c-d-e-f: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Diş eti epiteli hücre tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 75,74; Splat için ortalama değer 90,14; Sensodyne için ortalama değer 84,66; Nenedent için ortalama değer 80,23; Perlodent için ortalama değer 78,66; kontrol grubu için ortalama değer 90,82'dir. Perlodent grubu canlılık hücre oranları açısından Colgate ve Nenedent gruplarına göre farklılık göstermemektedir. Splat ve kontrol grubu arasında da hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diğer grupların ikili karşılaştırmaları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-23).

Diş eti epiteli hücre tipinde % 20 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 47,56; Splat için ortalama değer 85,1; Sensodyne için ortalama değer 78,8; Nenedent için ortalama değer 64,21; Perlodent için ortalama değer 64,75; kontrol grubu için ortalama değer 90,82'dir. Nenedent ve Perlodent arasında hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diğer tüm gruplar arasında ise ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-23).

Diş eti epiteli hücre tipinde % 50 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 30,77; Splat için ortalama değer 84,82; Sensodyne için ortalama değer 67,47; Nenedent için ortalama değer 55,17; Perlodent için ortalama değer 45,21; kontrol grubu için ortalama

değer 90,82 olarak elde edilmiştir. Tüm gruplar birbirlerine göre canlı hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$) (Tablo 4-23).

Diş eti epiteli hücre tipinde % 80 konsantrasyonda ortalama canlılık değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 13,04; Splat için ortalama değer 83,19; Sensodyne için ortalama değer 57,63; Nenedent için ortalama değer 39,15; Perlodent için ortalama değer 30,43; kontrol grubu için ortalama değer 90,82'dir. Tüm gruplar canlılık değerleri açısından birbirlerine göre farklılık göstermektedir ($p<0,05$) (Tablo 4-23).

4.8. Gruplar Arası Erken Apoptotik Hücre Oranlarının Karşılaştırılması

Tablo 4-24: PDLMKH tipinde gruplar arası erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

	Konsantrasyon			
	0,40%	20%	50%	80%
Colgate	16,29 ± 2,05c	26,93 ± 3,07cd	42,46 ± 6,05c	40,85 ± 1,18d
Splat	7,18 ± 2,85a	7,82 ± 0,3a	10,65 ± 0,6a	17,41 ± 1,52b
Sensodyne	11,19 ± 2,03b	15,06 ± 2,37b	27,18 ± 1,74b	33,79 ± 2,25c
Nenedent	20,26 ± 0,83d	26,34 ± 2c	38,9 ± 1,56c	41,91 ± 2,52d
Perlodent	17,36 ± 1,72cd	30,3 ± 1,41d	36,76 ± 3,49c	30,72 ± 2,96c
Kontrol	6,91 ± 1,13a	6,91 ± 1,13a	6,91 ± 1,13a	6,91 ± 1,13a
p	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

a-b-c-d: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

PDLMKH tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama erken apoptoz değeri 16,29; Splat için ortalama değer 7,18; Sensodyne için ortalama değer 11,19; Nenedent için ortalama değer 20,26; Perlodent için ortalama değer 17,36; kontrol grubu için ortalama değer 6,91 olarak elde edilmiştir. Nenedent ve Perlodent arasında, Splat ve kontrol grubu arasında, Colgate ve Perlodent arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. Diğer ikili karşılaştırmalarda ise erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-24).

PDLMKH tipinde % 20 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 26,93; Splat için ortalama değer 7,82; Sensodyne için ortalama değer 15,06; Nenedent için ortalama değer 26,34; Perlodent için ortalama değer 30,3; kontrol grubu için ortalama değer 6,91 olarak elde edilmiştir. Splat ve kontrol grubu arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Colgate grubu da Perlodent ve Nenedent gruplarına göre erken apoptoz oranları açısından farklılık göstermemektedir. Diğer grupların ikili karşılaştırmalarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-24).

PDLMKH tipinde % 50 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 42,46; Splat için ortalama değer 10,65; Sensodyne için ortalama değer 27,18; Nenedent için ortalama değer 38,9; Perlodent için ortalama değer 36,76; kontrol grubu için ortalama değer 6,91 olarak elde edilmiştir. Colgate, Nenedent ve Perlodent arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır. Splat ve kontrol grubu da birbirine göre istatistiksel olarak fark göstermemektedir. Sensodyne grubu ise tüm gruplara göre erken apoptoz oranları açısından farklılık göstermektedir ($p<0,05$) (Tablo 4-24).

PDLMKH tipinde % 80 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 40,85; Splat için ortalama değer 17,41; Sensodyne için ortalama değer 33,79; Nenedent için ortalama değer 41,91; Perlodent için ortalama değer 30,72; kontrol grubu için ortalama değer 6,91 olarak elde edilmiştir. Colgate ve Nenedent arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Sensodyne ve Perlodent grupları da birbirine göre istatistiksel olarak farklı değildir. Diğer gruplar arasında ise erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-24).

Tablo 4-25: GMKH tipinde gruplar arası erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

	Konsantrasyon			
	0,40%	20%	50%	80%
Colgate	6,55 ± 1,29cd	22,17 ± 1,8d	24,61 ± 2,28d	21,64 ± 4,56c
Splat	2,36 ± 1,01a	3,71 ± 0,92a	3,06 ± 1,02a	6,22 ± 0,69a
Sensodyne	4,14 ± 1,02abc	8,96 ± 0,42c	14,08 ± 0,91b	15,6 ± 0,91b
Nenedent	7,12 ± 1,67d	10,17 ± 1,36c	12,99 ± 1,06b	21,04 ± 2,14c
Perlodont	5,11 ± 1,66bcd	6,44 ± 1,09b	20,15 ± 1,17c	26,37 ± 2,09d
Kontrol	2,62 ± 1,26ab	2,62 ± 1,26a	2,62 ± 1,26a	2,62 ± 1,26a
p	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

a-b-c-d: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

GMKH tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 6,55; Splat için ortalama değer 2,36; Sensodyne için ortalama değer 4,14; Nenedent için ortalama değer 7,12; Perlodont için ortalama değer 5,11; kontrol grubu için ortalama değer 2,62 olarak elde edilmiştir. Colgate, Nenedent ve Perlodont grupları arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel bir farklılık bulunmamaktadır. Splat, Sensodyne ve kontrol grupları arasında da erken apoptoz değerleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Sensodyne grubu ayrıca Perlodont ve Colgate grupları ile karşılaştırıldığında gruplar arasında erken apoptoz oranları açısından farklılık bulunmamaktadır. Diğer ikili karşılaştırmalar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-25).

GMKH tipinde % 20 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 22,17; Splat için ortalama değer 3,71; Sensodyne için ortalama değer 8,96; Nenedent için ortalama değer 10,17; Perlodont için ortalama değer 6,44; kontrol grubu için ortalama değer 2,62 olarak elde edilmiştir. Splat ve kontrol grubu arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. Sensodyne ve Nenedent arasında da erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Diğer gruplar ise birbirinden istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$) (Tablo 4-25).

GMKH tipinde % 50 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 24,61; Splat için

ortalama değer 3,06; Sensodyne için ortalama değer 14,08; Nenedent için ortalama değer 12,99; Perlodent için ortalama değer 20,15; kontrol grubu için ortalama değer 2,62 olarak elde edilmiştir. Splat ve kontrol grubu arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Sensodyne ve Nenedent grubu arasında da erken apoptoz oranları açısından bir farklılık bulunmamaktadır. Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-25).

GMKH tipinde % 80 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 21,64; Splat için ortalama değer 6,22; Sensodyne için ortalama değer 15,6; Nenedent için ortalama değer 21,04; Perlodent için ortalama değer 26,37; kontrol grubu için ortalama değer 2,62 olarak elde edilmiştir. Splat ve kontrol grubu arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Colgate ve Nenedent grubu arasında da istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamaktadır. Diğer gruplar arasında ise erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-25).

Tablo 4-26: Diş eti epiteli hücre tipinde gruplar arası erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

	Konsantrasyon			
	0,40%	20%	50%	80%
Colgate	3,38 ± 2,01	9,75 ± 3,55cd	33,83 ± 2,81d	28,11 ± 3,07b
Splat	3,12 ± 1,48	2,52 ± 1,14a	2,29 ± 0,78a	1,97 ± 0,4a
Sensodyne	1,85 ± 0,53	4,52 ± 0,67ab	12,09 ± 1,11c	9,73 ± 0,57c
Nenedent	4,24 ± 0,98	10,55 ± 1,79d	8,69 ± 1,36b	38,08 ± 1,27d
Perlodent	2,83 ± 0,67	6,39 ± 1,14bc	10,9 ± 0,99bc	17,82 ± 3,44e
Kontrol	2,24 ± 1,26	2,24 ± 1,26a	2,24 ± 1,26a	2,24 ± 1,26a
P	0,078	0,000*	0,000*	0,000*

a-b-c-d-e: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Diş eti epiteli hücre tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermemektedir ($p=0,078$) (Tablo 4-26).

Diş eti epiteli hücre tipinde % 20 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 9,75; Splat için ortalama değer 2,52; Sensodyne için ortalama değer 4,52; Nenedent için ortalama değer 10,55; Perlodent için ortalama değer 6,39; kontrol grubu için ortalama değer 2,24 olarak elde edilmiştir. Splat, Sensodyne ve kontrol grubu arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır. Colgate ile Nenedent, Colgate ile Perlodent, Sensodyne ile Perlodent arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır. Diğer grupların ikili karşılaştırmalarında ise erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-26).

Diş eti epiteli hücre tipinde % 50 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 33,83; Splat için ortalama değer 2,29; Sensodyne için ortalama değer 12,09; Nenedent için ortalama değer 8,69; Perlodent için ortalama değer 10,9; kontrol grubu için ortalama değer 2,24 olarak elde edilmiştir. Perlodent grubu, Nenedent ve Sensodyne grubundan istatistiksel olarak farklı değildir. Splat ve kontrol grubu arasında da erken apoptoz oranları açısından istatistiksel farklılık bulunmamaktadır. Diğer ikili karşılaştırmalarda ise erken apoptoz oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-26).

Diş eti epiteli hücre tipinde % 80 konsantrasyonda ortalama erken apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 28,11; Splat için ortalama değer 1,97; Sensodyne için ortalama değer 9,73; Nenedent için ortalama değer 38,08; Perlodent için ortalama değer 17,82; kontrol grubu için ortalama değer 2,24 olarak elde edilmiştir. Splat ve kontrol grubu arasında erken apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak fark bulunmazken; diğer gruplar istatistiksel olarak anlamlı derecede birbirinden farklılık göstermektedir ($p<0,05$) (Tablo 4-26).

4.9. Gruplar Arası Geç Apoptotik Hücre Oranlarının Karşılaştırılması

Tablo 4-27: PDLMKH tipinde gruplar arası geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

	Konsantrasyon			
	0,40%	20%	50%	80%
Colgate	9,88 ± 2,03c	12,64 ± 2,01d	18,77 ± 2,24d	28,02 ± 2,58d
Splat	5,63 ± 1,12b	6,51 ± 1,28bc	6,1 ± 0,97b	5,39 ± 0,69ab
Sensodyne	7,2 ± 0,95b	5,36 ± 0,94ab	6,83 ± 0,53b	6 ± 0,89b
Nenedent	5,38 ± 1,4ab	15,98 ± 1,02e	18,2 ± 1,53cd	20,65 ± 1,83c
Perlodont	6,42 ± 1,18b	9,02 ± 1,12c	15,47 ± 2,01c	19,4 ± 1,3c
Kontrol	2,81 ± 1,21a	2,81 ± 1,21a	2,81 ± 1,21a	2,81 ± 1,21a
p	0,001	0,000*	0,000*	0,000*

a-b-c-d-e: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

PDLMKH tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 9,88; Splat için ortalama değer 5,63; Sensodyne için ortalama değer 7,2; Nenedent için ortalama değer 5,38; Perlodont için ortalama değer 6,42; kontrol grubu için ortalama değer 2,81 olarak elde edilmiştir. Colgate grubu ortalama geç apoptoz oranları diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p<0,05$). Kontrol grubunda ise geç apoptoz oranları diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4-27).

PDLMKH tipinde % 20 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 12,64; Splat için ortalama değer 6,51; Sensodyne için ortalama değer 5,36; Nenedent için ortalama değer 15,98; Perlodont için ortalama değer 9,02; kontrol grubu için ortalama değer 2,81 olarak elde edilmiştir. Colgate ve Nenedent grubunda geç apoptoz oranları diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p<0,05$). Kontrol grubu geç apoptoz değerleri ise diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmaktadır ($p<0,05$). Sensodyne grubu ise Splat ve kontrol grubuna göre farklılık göstermemektedir. Splat grubunun Perlodont grubu ile arasında geç apoptoz oranları açısından farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4-27).

PDLMKH tipinde % 50 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 18,77; Splat için ortalama değer 6,1; Sensodyne için ortalama değer 6,83; Nenedent için ortalama değer 18,2; Perlodent için ortalama değer 15,47; kontrol grubu için ortalama değer 2,81 olarak elde edilmiştir. En yüksek ortalama geç apoptoz oranları Colgate grubuna aittir. Colgate grubu Nenedent grubu hariç diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek geç apoptoz oranlarına sahiptir. Sensodyne ile Splat, Nenedent ile Perlodent arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Kontrol grubu ise tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek geç apoptoz oranlarına sahiptir ($p<0,05$) (Tablo 4-27).

PDLMKH tipinde % 80 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 28,02; Splat için ortalama değer 5,39; Sensodyne için ortalama değer 6; Nenedent için ortalama değer 20,65; Perlodent için ortalama değer 19,4; kontrol grubu için ortalama değer 2,81 olarak elde edilmiştir. Sensodyne ile Splat, Splat ile kontrol, Nenedent ile Perlodent grupları arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır. Colgate grubu tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek geç apoptoz oranlarına sahiptir ($p<0,05$) (Tablo 4-27).

Tablo 4-28: GMKH tipinde gruplar arası geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

	Konsantrasyon			
	0,40%	20%	50%	80%
Colgate	7,81 ± 1,28c	21,14 ± 2,18d	31,13 ± 1,91d	42,64 ± 2,18a
Splat	2,57 ± 0,45a	4,25 ± 0,95a	5,78 ± 0,59b	6,32 ± 0,92b
Sensodyne	4,79 ± 1,13b	7,1 ± 1,13b	7,66 ± 1,09b	10,83 ± 1,12c
Nenedent	7,75 ± 0,66c	10,54 ± 1,71c	17,69 ± 0,95c	21,57 ± 0,87d
Perlodent	7,13 ± 0,83c	12,59 ± 1,09c	16,51 ± 0,62c	21,04 ± 1,05d
Kontrol	1,58 ± 0,73a	1,58 ± 0,73a	1,58 ± 0,73a	1,58 ± 0,73e
p	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

a-b-c-d-e: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

GMKH tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 7,81; Splat için ortalama değer 2,57; Sensodyne için ortalama değer 4,79; Nenedent için ortalama değer

7,75; Perlodent için ortalama değer 7,13; kontrol grubu için ortalama değer 1,58 olarak elde edilmiştir. Kontrol ve Splat grubu arasında geç apoptoz oranları açısından fark bulunmamaktadır. Colgate, Nenedent ve Perlodent grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Sensodyne grubu ise tüm gruplardan geç apoptoz oranları açısından farklılık göstermektedir ($p<0,05$) (Tablo 4-28).

GMKH tipinde % 20 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 21,14; Splat için ortalama değer 4,25; Sensodyne için ortalama değer 7,1; Nenedent için ortalama değer 10,54; Perlodent için ortalama değer 12,59; kontrol grubu için ortalama değer 1,58 olarak elde edilmiştir. Kontrol ile Splat, Nenedent ile Perlodent grupları arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak farklılık bulunmamaktadır. Sensodyne grubutüm gruplardan istatistiksel olarak farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Colgate grubu ise tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek geç apoptoz oranlarına sahiptir ($p<0,05$) (Tablo 4-28).

GMKH tipinde % 50 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 31,13; Splat için ortalama değer 5,78; Sensodyne için ortalama değer 7,66; Nenedent için ortalama değer 17,69; Perlodent için ortalama değer 16,51; kontrol grubu için ortalama değer 1,58 olarak elde edilmiştir. Sensodyne ile Splat, Nenedent ile Perlodent grupları arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık yoktur. Colgate grubu diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek geç apoptoz oranlarına sahiptir ($p<0,05$) (Tablo 4-28).

GMKH tipinde % 80 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 42,64; Splat için ortalama değer 6,32; Sensodyne için ortalama değer 10,83; Nenedent için ortalama değer 21,57; Perlodent için ortalama değer 21,04; kontrol grubu için ortalama değer 1,58 olarak elde edilmiştir. Nenedent ve Perlodent grupları arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak farklılık bulunmamaktadır. Diğer tüm gruplar arası ikili karşılaştırmalarda geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Colgate grubunda geç apoptoz oranları istatistiksel olarak anlamlı derecede tüm gruplardan yüksek bulunmaktadır ($p<0,05$). Kontrol

grubunda ise geç apoptoz oranları tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ($p<0,05$) (Tablo 4-28).

Tablo 4-29: Diş eti epiteli hücre tipinde gruplar arası geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

	Konsantrasyon			
	0,40%	20%	50%	80%
Colgate	5,73 $\pm$ 1,66c	11,23 $\pm$ 3,2c	10,29 $\pm$ 2,55b	37,19 $\pm$ 2,68e
Splat	1,93 $\pm$ 0,32ab	3,51 $\pm$ 0,65a	3,87 $\pm$ 0,96a	3,46 $\pm$ 0,97ab
Sensodyne	0,70 $\pm$ 0,37a	1,5 $\pm$ 0,37a	5,25 $\pm$ 0,64a	11,96 $\pm$ 1,02c
Nenedent	0,89 $\pm$ 0,26a	7,65 $\pm$ 1b	12,31 $\pm$ 0,53b	7,65 $\pm$ 0,6bc
Perlodent	6,13 $\pm$ 1,01c	3,66 $\pm$ 0,64a	10,9 $\pm$ 1,19b	18,78 $\pm$ 4,84d
Kontrol	2,97 $\pm$ 0,86b	2,97 $\pm$ 0,86a	2,97 $\pm$ 0,86a	2,97 $\pm$ 0,86a
p	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

a-b-c-d-e: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Diş eti epiteli hücre tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,000$). Colgate için ortalama değer 5,73; Splat için ortalama değer 1,93; Sensodyne için ortalama değer 0,7; Nenedent için ortalama değer 0,89; Perlodent için ortalama değer 6,13; kontrol grubu için ortalama değer 2,97 olarak elde edilmiştir. Sensodyne, Splat ve Nenedent grupları arasında geç apoptoz oranları açısından anlamlı fark bulunmamaktadır. Colgate ve Perlodent grupları arasında da geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Splat ve kontrol grubu da birbirine göre geç apoptoz oranları açısından farklılık göstermemektedir. Diğer gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ise geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-29).

Diş eti epiteli hücre tipinde % 20 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 11,23; Splat için ortalama değer 3,51; Sensodyne için ortalama değer 1,5; Nenedent için ortalama değer 7,65; Perlodent için ortalama değer 3,66; kontrol grubu için ortalama değer 2,97 olarak elde edilmiştir. Splat, Sensodyne, Perlodent ve kontrol grupları arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede fark

bulunmazken, diğer tüm ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı derecede bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-29).

Diş eti epiteli hücre tipinde % 50 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 10,29; Splat için ortalama değer 3,87; Sensodyne için ortalama değer 5,25; Nenedent için ortalama değer 12,31; Perlodent için ortalama değer 10,9; kontrol grubu için ortalama değer 2,97 olarak elde edilmiştir. Sensodyne, kontrol ve Splat grubu arasında geç apoptoz oranları açısından istatistiksel bir fark bulunmamaktadır. Nenedent, Colgate ve Perlodent grupları arasında da geç apoptoz oranları açısından fark bulunmamaktadır. Diğer tüm gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ise istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-29).

Diş eti epiteli hücre tipinde % 80 konsantrasyonda ortalama geç apoptoz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 37,19; Splat için ortalama değer 3,46; Sensodyne için ortalama değer 11,96; Nenedent için ortalama değer 7,65; Perlodent için ortalama değer 18,78; kontrol grubu için ortalama değer 2,97 olarak elde edilmiştir. Colgate grubunda geç apoptoz oranları diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p<0,05$). Kontrol grubunda ise geç apoptoz oranları diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ($p<0,05$) (Tablo 4-29).

4.10. Gruplar Arası Nektotik Hücre Oranlarının Karşılaştırılması

Tablo 4-30: PDLMKH tipinde gruplar arası nekroz değerlerinin karşılaştırılması

	Konsantrasyon			
	0,40%	20%	50%	80%
Colgate	9,1 ± 0,81a	17,47 ± 1,52a	17,81 ± 1,96a	18,09 ± 1,87d
Splat	6,65 ± 1,42b	6,69 ± 1,22b	7,87 ± 0,95b	9,78 ± 1,11b
Sensodyne	6,41 ± 1,5b	7,9 ± 1,03b	8,17 ± 0,69b	7,91 ± 0,56ab
Nenedent	6,3 ± 0,83b	7,26 ± 0,87b	7,91 ± 1,15b	13,03 ± 1,03c
Perlodent	5,75 ± 1,45b	6,85 ± 0,93b	6,62 ± 1,61b	24,26 ± 1,13e
Kontrol	6,17 ± 0,97b	6,17 ± 0,97b	6,17 ± 0,97b	6,17 ± 0,97a
p	0,003*	0,000*	0,000*	0,000*

a-b-c-d-e: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

PDLMKH tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p=0,003$). Colgate için ortalama değer 9,1; Splat için ortalama değer 6,65; Sensodyne için ortalama değer 6,41; Nenedent için ortalama değer 6,3; Perlodent için ortalama değer 5,75; kontrol grubu için ortalama değer 6,17 olarak elde edilmiştir. Colgate grubunda nekroz oranları tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı dercede yüksektir ($p<0,05$). Diğer gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4-30).

PDLMKH tipinde % 20 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 17,47; Splat için ortalama değer 6,69; Sensodyne için ortalama değer 7,9; Nenedent için ortalama değer 7,26; Perlodent için ortalama değer 6,85; kontrol grubu için ortalama değer 6,17 olarak elde edilmiştir. Colgate grubunda nekroz oranları tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı dercede yüksektir ($p<0,05$). Diğer gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4-30).

PDLMKH tipinde % 50 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 17,81; Splat için ortalama değer 7,87; Sensodyne için ortalama değer 8,17; Nenedent için ortalama değer 7,91; Perlodent için ortalama değer 6,62; kontrol grubu için ortalama değer 6,17 olarak elde edilmiştir. Colgate grubunda nekroz oranları tüm gruplardan istatistiksel olarak

anlamli dercede yuksektir ($p<0,05$). Diğer gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ise istatistiksel olarak anlamli farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4-30).

PDLMKH tipinde % 80 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 18,09; Splat için ortalama değer 9,78; Sensodyne için ortalama değer 7,91; Nenedent için ortalama değer 13,03; Perlodent için ortalama değer 24,26; kontrol grubu için ortalama değer 6,17 olarak elde edilmiştir. Sensodyne, Splat ve kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında bu gruplara göre nekroz oranları açısından istatistiksel olarak farklılık göstermemektedir. Diğer gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ise istatistiksel olarak anlamli dercede fark bulunmamaktadır. Perlodent grubu nekroz oranları açısından tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamli dercede yüksek değerlere sahiptir ($p<0,05$) (Tablo 4-30).

Tablo 4-31: GMKH tipinde nekroz oranlarının gruplar arası değerlendirilmesi

	Konsantrasyon			
	0,40%	20%	50%	80%
Colgate	11,78 $\pm$ 1,63b	23,69 $\pm$ 1,69e	21,73 $\pm$ 2,15e	20,66 $\pm$ 2,77c
Splat	6,97 $\pm$ 0,91a	9,1 $\pm$ 0,9b	11,35 $\pm$ 0,59b	11,94 $\pm$ 0,78b
Sensodyne	10,91 $\pm$ 1,27b	11,44 $\pm$ 1,27c	15,43 $\pm$ 1,38c	19,65 $\pm$ 1,51c
Nenedent	12,92 $\pm$ 0,77b	18,55 $\pm$ 1,57d	19,57 $\pm$ 1,58de	23,86 $\pm$ 1,02d
Perlodent	11,43 $\pm$ 1,61b	20,57 $\pm$ 1,36d	18,09 $\pm$ 0,95cd	25,87 $\pm$ 1,8d
Kontrol	6,26 $\pm$ 1,11a	6,26 $\pm$ 1,11a	6,26 $\pm$ 1,11a	6,26 $\pm$ 1,11a
p	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

a-b-c-d-e: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamli p değeri

GMKH tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 11,78; Splat için ortalama değer 6,97; Sensodyne için ortalama değer 10,91; Nenedent için ortalama değer 12,92; Perlodent için ortalama değer 11,43; kontrol grubu için ortalama değer 6,26 olarak elde edilmiştir. Colgate, Sensodyne, Nenedent ve Perlodent grupları birbirlerine göre nekroz oranları açısından farklılık göstermemektedir. Splat ve kontrol grubu da nekroz oranları açısından birbirlerine göre istatistiksel olarak farklılık göstermezken; diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamli dercede daha düşük nekroz oranlarına sahiptirler ($p<0,05$) (Tablo 4-31).

GMKH tipinde % 20 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 23,69; Splat için ortalama değer 9,1; Sensodyne için ortalama değer 11,44; Nenedent için ortalama değer 18,55; Perlodent için ortalama değer 20,57; kontrol grubu için ortalama değer 6,26 olarak elde edilmiştir. Nenedent ve Perlodent grupları arasında nekroz oranları açısından fark bulunmazken, diğer tüm gruplar arası ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-31).

GMKH tipinde % 50 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 21,73; Splat için ortalama değer 11,35; Sensodyne için ortalama değer 15,43; Nenedent için ortalama değer 19,57; Perlodent için ortalama değer 18,09; kontrol grubu için ortalama değer 6,26 olarak elde edilmiştir. Nenedent, Colgate ve Perlodent gruplarıyla karşılaştırıldığında nekroz oranları açısından bu iki grup ile arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Sensodyne ile Perlodent grubu arasında da nekroz oranları açısından anlamlı farklılık bulunmazken; diğer tüm gruplar arası ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-31).

GMKH tipinde % 80 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 20,66; Splat için ortalama değer 11,94; Sensodyne için ortalama değer 19,65; Nenedent için ortalama değer 23,86; Perlodent için ortalama değer 25,87; kontrol grubu için ortalama değer 6,26 olarak elde edilmiştir. Nenedent ile Perlodent, Colgate ile Sensodyne grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diğer tüm gruplar arası ikili karşılaştırmalarda nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Tablo 4-31).

Tablo 4-32: Diş eti epiteli hücre tipinde gruplar arası nekroz değerlerinin karşılaştırılması

	Konsantrasyon			
	0,40%	20%	50%	80%
Colgate	15,16 ± 2,4c	31,46 ± 4e	25,11 ± 2,91d	21,67 ± 2,84c
Splat	4,79 ± 0,54a	8,86 ± 0,87b	9,03 ± 1,03b	11,39 ± 1,53b
Sensodyne	12,79 ± 0,96bc	15,18 ± 1,09c	15,19 ± 1,28c	20,69 ± 0,91c
Nenedent	14,65 ± 0,61bc	17,6 ± 1,1c	23,83 ± 0,7d	15,15 ± 0,92b
Perlodent	12,35 ± 0,68b	25,21 ± 1,3d	31,99 ± 1,2e	32,97 ± 3,99d
Kontrol	3,98 ± 1,09a	3,98 ± 1,09a	3,98 ± 1,09a	3,98 ± 1,09a
p	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

a-b-c-d-e: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

One Way ANOVA Testi ; Tukey post-hoc Testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Diş eti epiteli hücre tipinde % 0,4 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 15,16; Splat için ortalama değer 4,79; Sensodyne için ortalama değer 12,79; Nenedent için ortalama değer 14,65; Perlodent için ortalama değer 12,35; kontrol grubu için ortalama değer 3,98 olarak elde edilmiştir. Splat ve kontrol grubu arasında nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Colgate grubunda Splat, Perlodent ve kontrol gruplarına göre nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p<0,05$) (Tablo 4-32).

Diş eti epiteli hücre tipinde % 20 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 31,46; Splat için ortalama değer 8,86; Sensodyne için ortalama değer 15,18; Nenedent için ortalama değer 17,6; Perlodent için ortalama değer 25,21; kontrol grubu için ortalama değer 3,98; olarak elde edilmiştir. Sensodyne ve Nenedent grupları arasında nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diğer gruplar ise nekroz oranları açısından birbirlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Colgate grubu tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek nekroz oranlarına sahiptir ($p<0,05$) (Tablo 4-32).

Diş eti epiteli hücre tipinde % 50 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 25,11; Splat için ortalama değer 9,03; Sensodyne için ortalama değer 15,19; Nenedent için ortalama değer 23,83; Perlodent için ortalama değer 31,99; kontrol grubu için ortalama

değer 3,98 olarak elde edilmiştir. Colgate ve Nenedent grupları arasında nekroz oranları açısından istatistiksel olarak farklılık bulunmazken; diğer tüm gruplar birbirlerine göre istatistiksel olarak farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Perlodent grubu ise nekroz oranları açısından diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p<0,05$) (Tablo 4-32).

Diş eti epiteli hücre tipinde % 80 konsantrasyonda ortalama nekroz değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Colgate için ortalama değer 21,67; Splat için ortalama değer 11,39; Sensodyne için ortalama değer 20,69; Nenedent için ortalama değer 15,15; Perlodent için ortalama değer 32,97; kontrol grubu için ortalama değer 3,98 olarak elde edilmiştir. Colgate ile Sensodyne, Splat ile kontrol grupları arasında nekroz oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır. Perlodent grubunda nekroz oranları diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p<0,05$) (Tablo 4-32).

4.11. Ölü Hücre Oranlarının (Erken Apoptoz + Geç Apoptoz + Nekroz) Çoklu Karşılaştırılması

Tablo 4-33: Tablo 4-33: Grup, hücre tipi ve konsantrasyona göre toplam ölü hücre oranlarının değerlendirilmesi

Değişim Kaynağı	Kareler toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Grup	111068,0	5	22213,6	6856,3	0,000
Hücre Tipi	4807,8	2	2403,9	742,0	0,000
Konsantrasyon	46044,7	3	15348,2	4737,3	0,000
Grup*Hücre Tipi	774,6	10	77,5	23,9	0,000
Grup * Konsantrasyon	21672,7	15	1444,8	446,0	0,000
Hücre Tipi* Konsantrasyon	131,0	6	21,8	6,7	0,000
Grup * Hücre Tipi * Konsantrasyon	1021,0	30	34,0	10,5	0,000

3 Yönlü Varyans Analizi $p<0,05$

Ölü hücre ortalama değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$) (Tablo 4-33). Tüm grupların ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ve en yüksek ortalama değer Colgate grubunda elde edilmiştir. En

düşük ortalama değer ise kontrol grubundadır. Hücre tipi ana etkisi de ölü hücre ortalamaları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahiptir ($p<0,001$) (Tablo 4-33). PDLMKH tipinde ortalama ölü hücre değeri 41,40 iken GMKH tipinde 36,53 ve diş eti epiteli hücre tipinde 32,46 olarak elde edilmiştir (Tablo 4-34). Tüm hücre tipleri arasında ölü hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmaktadır ($p<0,05$). Konsantrasyon ana etkisi ölü hücre ortalama değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahiptir ($p<0,001$) (Tablo 4-33). Tüm konsantrasyonlar arasında ölü hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$) ve konsantrasyon arttıkça ölü hücre ortalama değerleri de artmaktadır (Tablo 4-34).

Tablo 4-34: Ölü hücre oranlarına ait tanımlayıcı istatistikler

		Colgate	Splat	Sensodyne	Nenedent	Perlodent	Kontrol	Toplam
PDLMKH	%0,4	35,27 ± 1,33	19,46 ± 1,65	24,8 ± 1,87	31,94 ± 1,63	29,54 ± 1,89	15,89 ± 1,08	26,15 ± 7,10
	%20	57,04 ± 2,15	21,02 ± 2,36	28,31 ± 2,11	49,58 ± 1,48	46,17 ± 2,16	15,89 ± 1,08	36,34 ± 15,74
	%50	79,04 ± 2,54	24,62 ± 1,98	42,18 ± 1,05	65 ± 1,94	58,86 ± 2,07	15,89 ± 1,08	47,6 ± 22,73
	%80	86,95 ± 2,07	32,58 ± 1,58	47,69 ± 1,89	75,6 ± 1,5	74,39 ± 1,67	15,89 ± 1,08	55,52 ± 25,99
	Toplam	64,58 ± 20,77	24,42 ± 5,49	35,75 ± 9,86	55,53 ± 16,96	52,24 ± 17	15,89 ± 1,00	41,40 ± 22,10
GMKH	%0,4	26,14 ± 2,6	11,89 ± 0,9	19,85 ± 1,19	27,79 ± 0,92	23,67 ± 1,29	10,46 ± 1,27	19,97 ± 6,94
	%20	67 ± 2,87	17,07 ± 1,23	27,49 ± 1,41	39,26 ± 1,09	39,6 ± 0,95	10,46 ± 1,27	33,48 ± 18,76
	%50	77,46 ± 2,51	20,19 ± 1,06	37,17 ± 1,19	50,25 ± 1,21	54,75 ± 1,21	10,46 ± 1,27	41,71 ± 22,71
	%80	84,94 ± 3,07	24,48 ± 1,15	46,08 ± 1,28	66,47 ± 1,41	73,28 ± 0,98	10,46 ± 1,27	50,95 ± 27,14
	Toplam	63,89 ± 23,43	18,41 ± 4,82	32,65 ± 10,21	45,94 ± 14,68	47,82 ± 18,86	10,46 ± 1,16	36,53 ± 23,10
Diş Eti Epiteli	%0,4	24,27 ± 3,18	9,85 ± 0,95	15,34 ± 1,58	19,78 ± 0,93	21,31 ± 1,84	9,19 ± 1,04	16,62 ± 5,99
	%20	52,44 ± 3,49	14,9 ± 1,77	21,2 ± 1,16	35,8 ± 0,91	35,26 ± 0,91	9,19 ± 1,04	28,13 ± 14,96
	%50	69,23 ± 4,26	15,19 ± 1,61	32,52 ± 1,68	44,83 ± 1,2	53,79 ± 1,81	9,19 ± 1,04	37,46 ± 21,47
	%80	86,96 ± 2,98	16,81 ± 1,88	42,37 ± 0,83	60,87 ± 0,91	69,57 ± 4,04	9,19 ± 1,04	47,63 ± 28,42
	Toplam	58,23 ± 23,91	14,19 ± 3,05	27,86 ± 10,75	40,32 ± 15,29	44,98 ± 18,89	9,19 ± 0,96	32,46 ± 22,47
Toplam	%0,4	28,56 ± 5,48	13,73 ± 4,43	20 ± 4,26	26,5 ± 5,34	24,84 ± 3,91	11,84 ± 3,18	20,91 ± 7,72
	%20	58,83 ± 6,84	17,66 ± 3,13	25,67 ± 3,61	41,55 ± 6,16	40,34 ± 4,84	11,84 ± 3,18	32,65 ± 16,73
	%50	75,24 ± 5,35	20 ± 4,25	37,29 ± 4,27	53,36 ± 8,93	55,8 ± 2,78	11,84 ± 3,18	42,26 ± 22,45
	%80	86,29 ± 2,73	24,63 ± 6,82	45,38 ± 2,65	67,65 ± 6,4	72,41 ± 3,21	11,84 ± 3,18	51,37 ± 27,09
	Toplam	62,23 ± 22,54	19,01 ± 6,17	32,09 ± 10,62	47,26 ± 16,65	48,35 ± 18,21	11,84 ± 3,10	36,80 ± 22,79

Tablo 4-35: Grup - hücre tipi etkileşimine ait ölü hücre oranlarının çoklu karşılaştırma test sonuçları

Grup-Hücre Tipi Etkileşimi	Ölü Hücre (Erken Apoptoz+ Geç Apoptoz+Nekroz) Ort±SS
Kontrol/Diş eti epiteli	9,19± 0,96a
Kontrol/GMKH	10,46± 1,16a
Splat/Diş eti epiteli	14,19± 3,05ab
Kontrol/PDLMKH	15,89± 1ab
Splat/GMKH	18,41± 4,82abc
Splat/PDLMKH	24,42± 5,49abcd
Sensodyne/Diş eti epiteli	27,86± 10,75bcde
Sensodyne/GMKH	32,65± 10,21cdef
Sensodyne/PDLMKH	35,75± 9,86def
Nenedent/Diş eti epiteli	40,32± 15,29efg
Perlodent/Diş eti epiteli	44,98±18,89fgh
Nenedent/GMKH	45,94±14,68fgh
Perlodent/GMKH	47,82±18,86fgh
Perlodent/PDLMKH	52,24±17ghı
Nenedent/PDLMKH	55,53±16,96ghı
Colgate/Diş eti epiteli	58,23±23,91hı
Colgate/GMKH	63,89±23,43ı
Colgate/PDLMKH	64,58±20,77ı

a-ı: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında fark yoktur ve sıralamalar ortalama değeri küçükten büyüğe doğru yapılmıştır.

Tukey post-hoc Testi

$p<0,05$

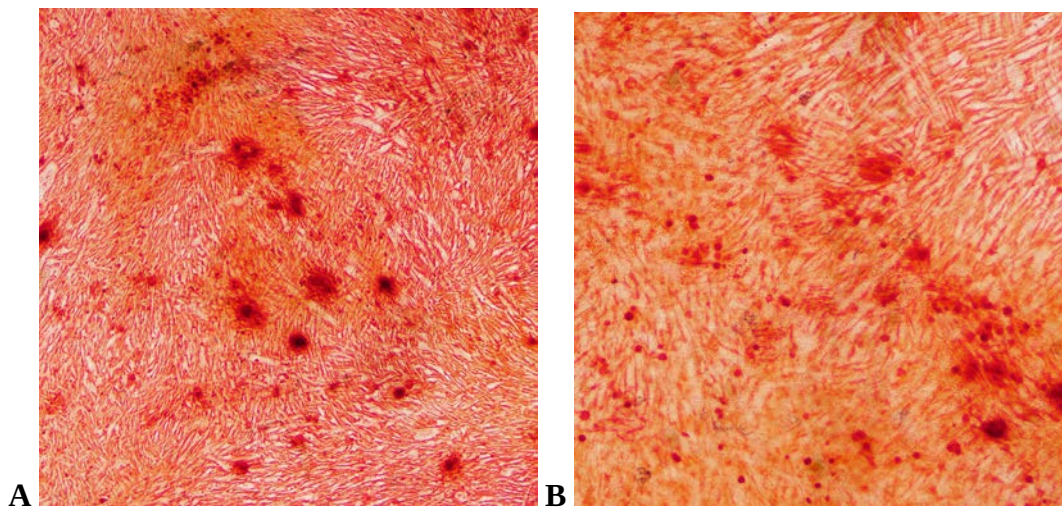
En düşük ortalama ölü hücre oranları % 9,19 olarak diş eti epiteli hücre tipinde kontrol grubuna ait iken, en yüksek ortalama ölü hücre oranları ise % 64,58 olarak PDLMKH tipinde Colgate grubunda elde edilmiştir. Diş eti epiteli hücre tipindeki kontrol grubuna ait ölü hücre oranları ile GMKH tipindeki kontrol grubuna ait ölü hücre oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p<0,05$). Kontrol grubundan sonra en az ölü hücre oranı diş eti epitelindeki Splat grubunda tespit edilmiştir (Tablo 4-35). Kontrol ve Splat grubu arasında tüm hücre tiplerindeki ölü hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

4.12. ÜÇÜNCÜ AŞAMA: OSTEOJENİK VE KONDROJENİK FARKLILAŞMA BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

4.12.1. GMKH'lerin Osteojenik Farklılaşma Deney Sonuçları (ALR Boyama Görüntüleri)

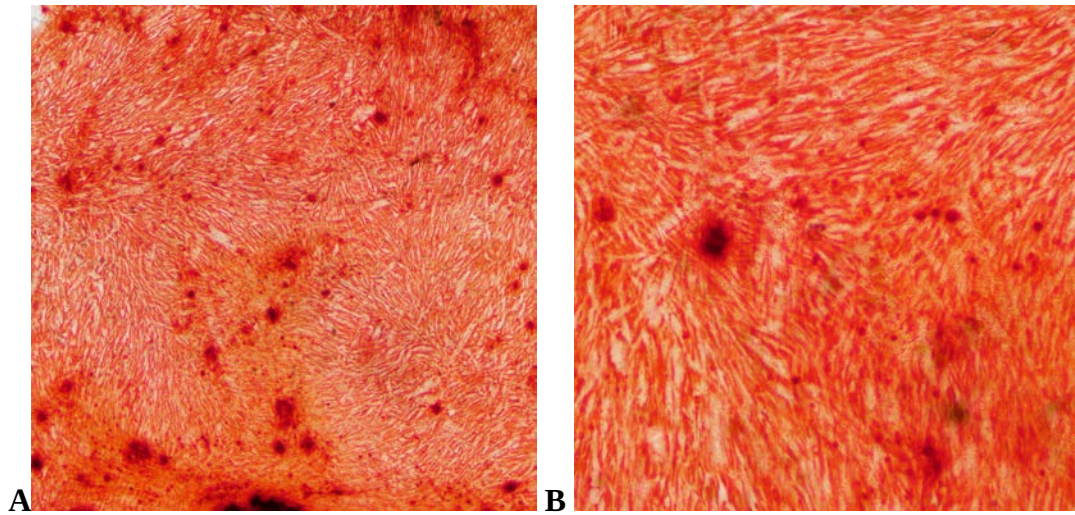
% 0,4'lük konsantrasyondaki diş macunu solüsyonları ve kontrol grubu ile 2 dk boyunca stimüle edilen GMKH'lerin osteojenik farklılaşma potansiyelleri Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile görüntüler alınarak incelendi. Her bir hücre kültüründeki kalsifikasyon yoğunluklarının ve hücre farklılaşmalarının incelendiği gruplar arası karşılaştırmalar değerlendirildiğinde;

CDMEM içeren kontrol grubunda osteojenik farklılaşma deneyi sonucunda hücrelerin morfolojik olarak osteoblastlara benzer hücrelere farklılaştığı, eliptik şekilde hücre yönelmelerinin olduğu, hücrelerin konfluent yapılarını ve hücreler arası kontaktlarını kaybetmedikleri gözlemlendi. ALR ile boyama sonrası kırmızı renge boyanan mineralize kalsiyum birikimlerinin varlığı tespit edildi. En yoğun mineralize kalsiyum birikimlerinin ve en iyi farklılaşma potansiyelinin kontrol grubuyla stimüle edilen hücrelerde olduğu izlendi (Şekil 4-40).



Şekil 4-40: CDMEM kontrol grubundaki GMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

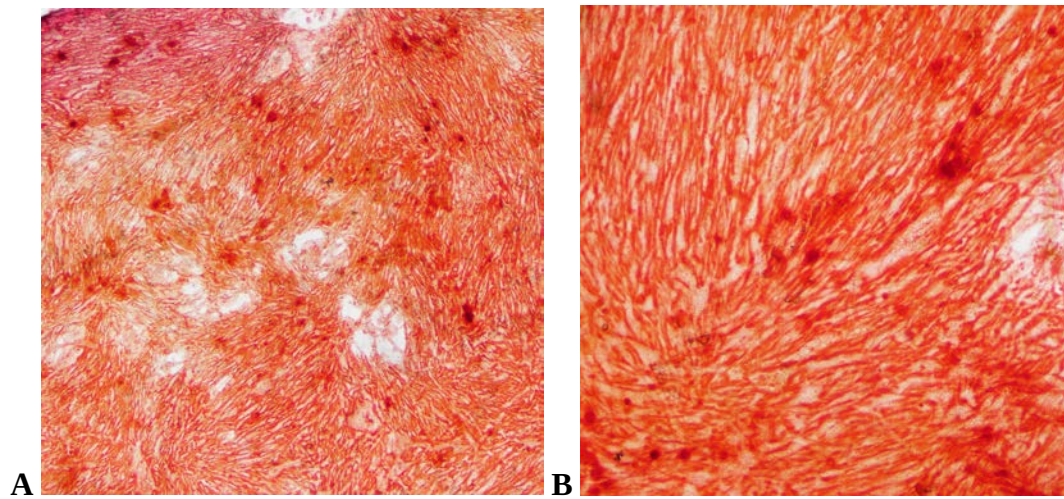
% 0,4'lük Splat içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerin osteojenik farklılaşma deneyi sonucunda morfolojik olarak osteoblast benzeri hücrelere farklılaştığı, eliptik formda yönelmeler yaptıkları, hücrelerin konfluent yapılarını ve hücreler arası kontaktlarını kaybetmedikleri gözlemlendi. ALR ile boyama sonrası kırmızı renge boyanan kalsiyum birikimlerinin varlığı izlendi. Mikroskop görüntüleri değerlendirildiğinde kontrol grubundan sonra en iyi osteojenik farklılaşma potansiyeline sahip olan grubun Splat diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen hücrelerde olduğu tespit edildi. Mineralize kalsiyum birikimleri açısından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kalsiyum yoğunluğunun kontrol grubundan biraz daha az olduğu ancak diğer diş macunlarıyla karşılaştırıldığında ise diş macunları solüsyonları içerisinde en yoğun kalsiyum nodüllerinin bu grupta olduğu belirlendi (Şekil 4-41).



Şekil 4-41: 2 dk boyunca % 0,4'lük Splat diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

% 0,4'lük Sensodyne içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerin osteojenik farklılaşma deneyi sonucunda hücrelerin morfolojik olarak osteoblast benzeri hücrelere farklılaştığı, eliptik formda yönelmeler yaptıkları gözlemlendi. Ancak CDMEM ve Splat grubuyla karşılaştırıldığında hücrelerin konfluent yapılarının bazı bölgelerde çok az oranda bozulmalara uğradığı ve alınan görüntülerin

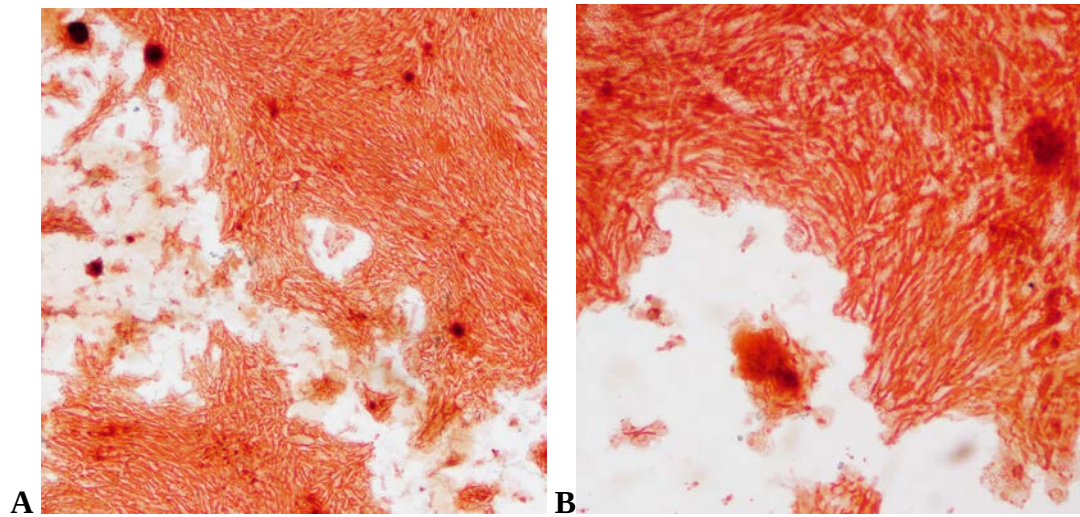
bazı bölgelerinde hücreler arası bağlantıların bozulmalara uğrayarak, az miktarda kopmalar meydana geldiği izlendi. Bu konfluent yapıların ve hücreler arası bağlantılarda meydana gelen bozulmaların Nenedent, Perlodent ve Colgate grubuna göre oldukça küçük miktarda olduğu belirlendi. ALR ile boyama sonrası ise kırmızı renkte parlak kalsiyum depozitlerinin varlığı CDMEM ve Splat grubuna göre daha az miktarda olmakla birlikte bu deney grubunda da gözlemlendi. Osteojenik farklılaşma potansiyelinin bu deney grubunda CDMEM ve Splat grubuna göre biraz daha az olduğu, ancak Nenedent, Perlodent ve Colgate deney gruplarından ise oldukça fazla olduğu tespit edildi (Şekil 4-42).



Şekil 4-42: 2 dk boyunca % 0,4'lük Sensodyne diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B:10X

% 0,4'lük Perlodent içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerin osteojenik farklılaşma deneyi sonucunda morfolojik olarak çok az miktardaki hücrenin osteoblast benzeri hücrelere farklılaştığı, apoptoza uğrayan yoğun hücre grubu nedeniyle hücrelerin konfluent yapılarını kaybettikleri ve hücreler arası bağlantıların koparak küçük hücre kümelerinin olduğu gözlemlendi. Ayrıca hücreler arası bağların kopması nedeniyle kemik hücrelerine özgü olan eliptik formdaki yönelmelerin bu deney grubunda olmadığı görüldü. ALR ile boyama sonrası kırmızı renge boyanan sınırlı sayıdaki bölgede, az miktardaki mineralize kalsiyum nodüllerinin varlığı mikroskop görüntülerinde tespit edildi. Osteojenik farklılaşma potansiyeli bakımından Perlodent

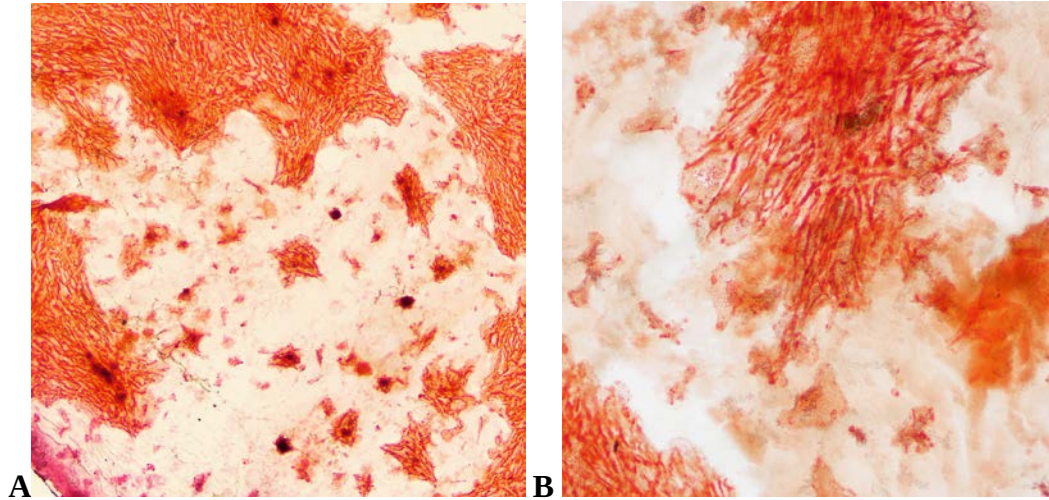
grubunun diğer deney grupları ile karşılaştırıldığında CDMEM, Splat ve Sensodyne gruplarından daha az farklılaşmış hücre oranına sahip olduğu ancak Nenedent ve Colgate grupları ile karşılaştırıldığında ise bu iki deney grubuna göre daha fazla farklılaşmış hücrelerin mevcut olduğu saptandı. Kalsiyum birikimlerinin varlığı bakımından Perlodent grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında CDMEM, Splat ve Sensodyne gruplarına göre çok daha az kalsiyum nodülü varlığı içerirken, Nenedent ve Colgate gruplarına göre biraz daha fazla mineralize nodül varlığı içerdiği mikroskop görüntülerinde incelendi (Şekil 4-43).



Şekil 4-43: 2 dk boyunca % 0,4'lük Perlodent diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

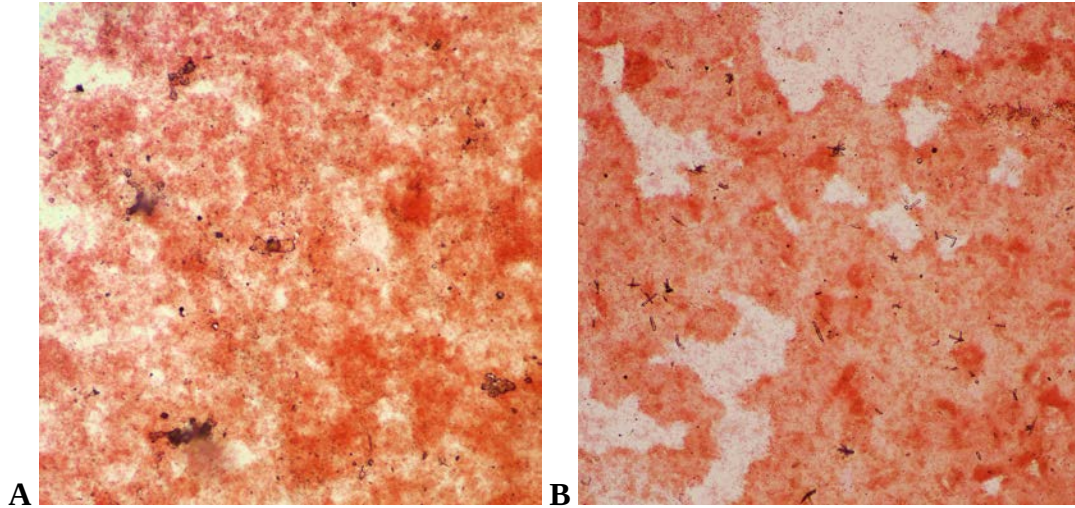
% 0,4'lük Nenedent içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerin osteojenik farklılaşma deneyi sonucunda morfolojik olarak çok az miktardaki hücrenin osteoblast benzeri hücrelere farklılaştığı, apoptoza uğrayan yoğun hücre grubu nedeniyle hücrelerin konfluent yapılarını kaybettikleri ve hücreler arası bağlantıların koparak çok küçük hücre kümelerinin oluştuğu gözlemlendi. Ayrıca hücreler arası bağların kopması nedeniyle kemik hücrelerine özgü olan eliptik formdaki yönelmelerin bu grupta olmadığı görüldü. ALR ile boyama sonrası kırmızı renge boyanan mikroskop görüntülerinde çok az miktardaki mineralize kalsiyum nodüllerinin varlığı tespit edildi. Osteojenik farklılaşma potansiyeli bakımından Nenedent grubunun

diğer deney grupları ile karşılaştırıldığında tüm gruplardan daha az farklılaşmış hücre oranına sahip olduğu gözlemlendi. Ancak gruplar arası karşılaştırmalarda Nenedent grubu ile Perlodent grubu arasındaki farklılaşma potansiyeli farkının, Nenedent grubu ile CDMEM, Splat ve Sensodyne grupları arasındaki farklılaşma potansiyeli farkına göre daha az olduğu saptandı. Kalsiyum birikimlerinin varlığı bakımından Nenedent grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında CDMEM, Splat ve Sensodyne deney gruplarına göre çok daha az kalsiyum nodül varlığı içerirken, Perlodent ve Nenedent gruplarının kalsiyum nodül varlığı birbirine yakın olmakla birlikte Nenedent grubunda daha az kalsiyum birikimleri saptandı. Colgate deney grubuna göre ise daha fazla mineralize nodül varlığı içerdiği mikroskop görüntülerinde incelendi (Şekil 4-44).



Şekil 4-44: 2 dk boyunca % 0,4'lük Nenedent diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

% 0,4'lük Colgate içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerde yoğun apoptoz varlığı tespit edildi. Farklılaşmaya gidmeden apoptoza uğrayan hücreler nedeniyle osteoblast benzeri hücrelere ve mineralize kalsiyum birikimlerine rastlanmadı. Farklılaşma potansiyeli bakımından diğer gruplar ile karşılaştırıldığında en kötü osteojenik farklılaşma potansiyelinin Colgate diş macunu ile stimüle edilen deney grubunda olduğu belirlendi (Şekil 4-45).



Şekil 4-45: 2 dk boyunca % 0,4'lük Colgate diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

Tüm deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında mikroskop görüntülerine göre diş eti mezenkimal kök hücrelerinde en iyi osteojenik farklılaşma potansiyeli sırasıyla;

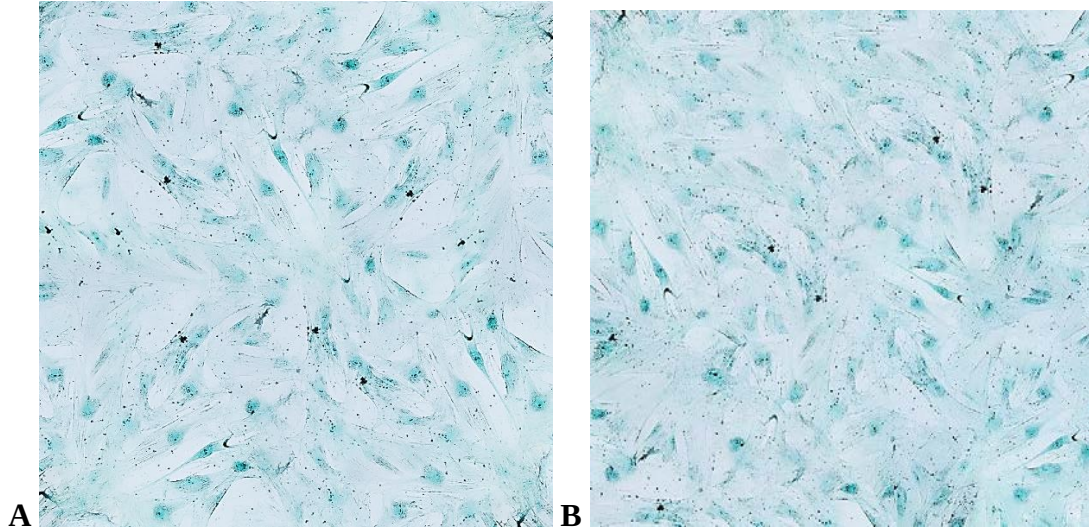
CDMEM> Splat > Sensodyne> Perlodent> Nenedent > Colgate şeklinde gözlemlendi.

4.12.2. GMKH'lerin Kondrojenik Farklılaşma Deney Sonuçları (Alcian Blue Boyama Görüntüleri)

% 0,4'lük konsantrasyondaki diş macunu solüsyonları ve kontrol grubu ile 2 dk boyunca stimüle edilen GMKH'lerin kondrojenik farklılaşma potansiyelleri Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile görüntüler alınarak incelendi. Her bir hücre kültüründeki proteoglikanların yoğunluklarının ve hücre farklılaşmalarının incelendiği gruplar arası karşılaştırmalar değerlendirildiğinde;

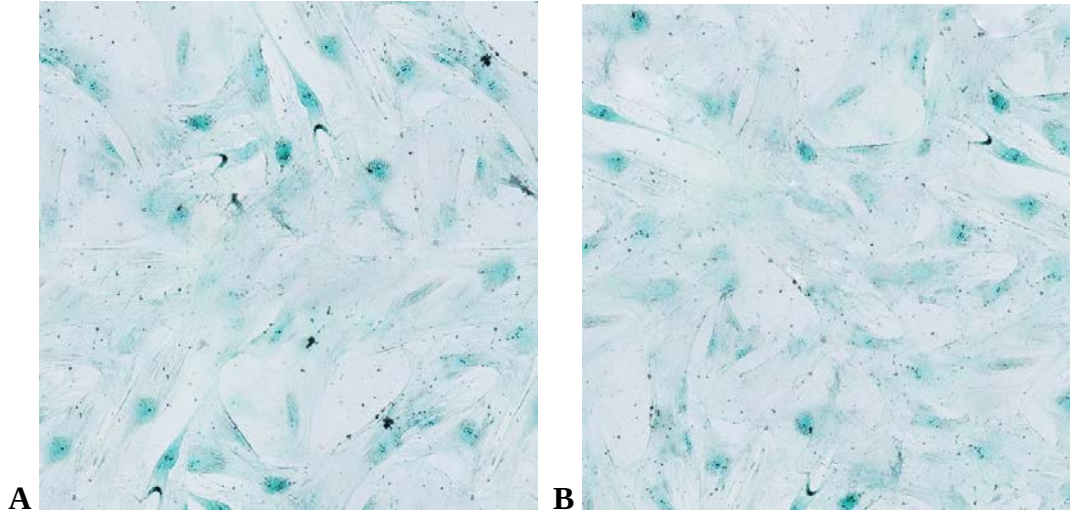
CDMEM içeren kontrol grubunda kondrojenik farklılaşma deneyi sonucunda hücrelerin morfolojik olarak kondrosit benzeri hücrelere farklılaştığı, hücrelerin konfluent yapılarını ve hücreler arası kontaktlarını kaybetmedikleri, poligonal şekilde hücre yönelmelerinin olduğu gözlemlendi. Alcian Blue ile boyama sonrası mavi/turkuaz

renge boyanan glikozaminoglikanların varlığı tespit edildi. En yoğun proteoglikan birikimlerinin ve en iyi farklılaşma potansiyelinin kontrol grubuyla stimüle edilen hücrelerde olduğu izlendi (Şekil 4-46).



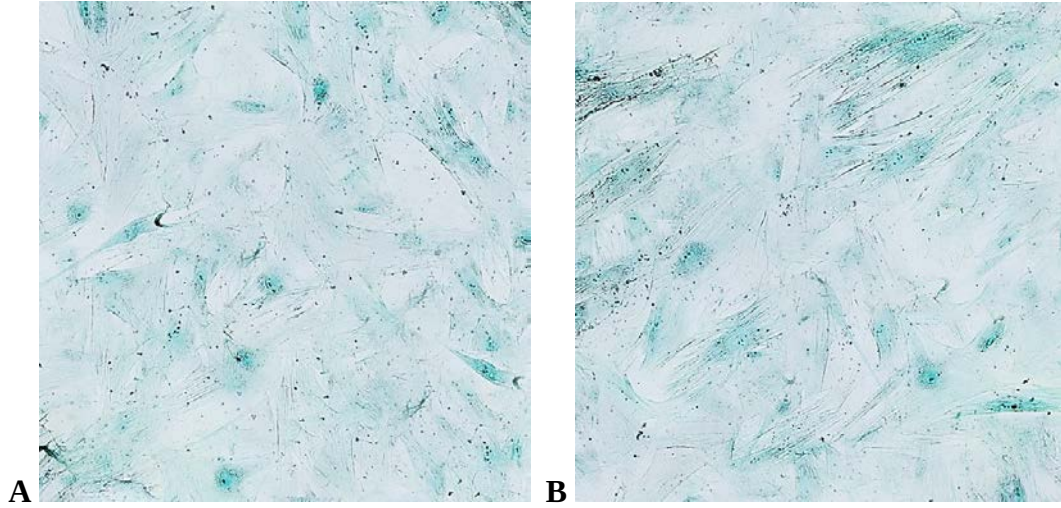
Şekil 4-46: CDMEM kontrol grubundaki GMKH’lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

% 0,4’lük Splat içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerin kondrojenik farklılaşma deneyi sonucunda morfolojik olarak kondroblast benzeri hücrelere farklılaştığı, poligonal formda hücre yönelmeleri, hücrelerin konfluent yapılarını ve hücreler arası kontaktlarını kaybetmedikleri gözlemlendi. Alcian Blue ile boyama sonrası mavi renge boyanan glikozaminoglikanların varlığı izlendi. Mikroskop görüntüleri değerlendirildiğinde kontrol grubundan sonra en iyi kondrojenik farklılaşma potansiyeline sahip olan grubun Splat diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen hücrelerde olduğu tespit edildi. Proteoglikan birikimleri açısından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında glikozaminoglikan yoğunluğunun kontrol grubundan daha az olduğu ancak diğer diş macunlarıyla karşılaştırıldığında ise diş macunları solüsyonları içerisinde en yoğun proteoglikan birikiminin bu grupta olduğu belirlendi (Şekil 4-47).



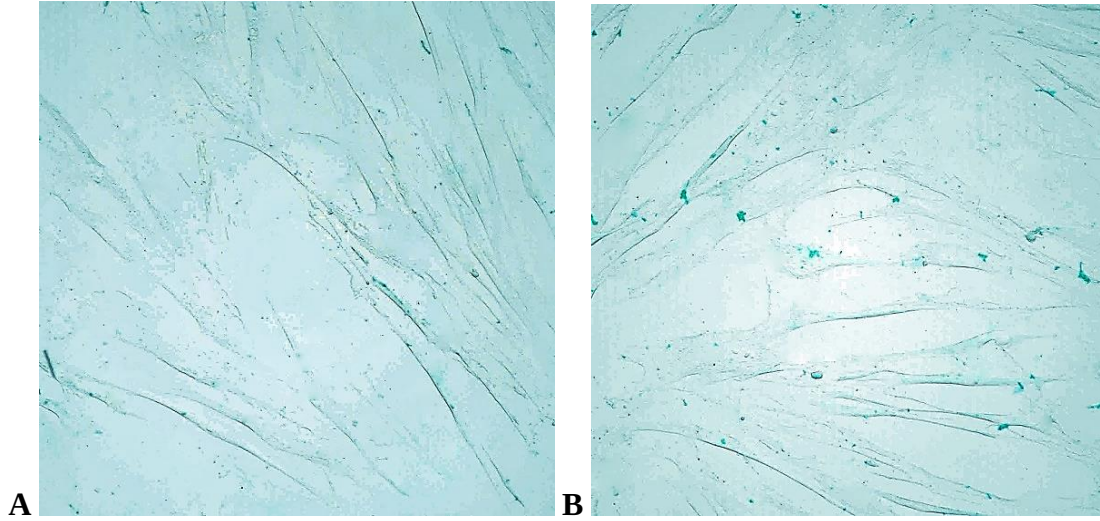
Şekil 4-47: 2 dk boyunca % 0,4'lük Splat diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

% 0,4'lük Sensodyne içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerin kondrojenik farklılaşma deneyi sonucunda hücrelerin morfolojik olarak kondroblast benzeri hücrelere farklılaştığı, poligonal formda hücre yönelimleri yaptıkları gözlemlendi. Ancak CDMEM ve Splat gruplarıyla karşılaştırıldığında hücrelerin konfluent yapılarının bazı bölgelerde bozulmalara uğradığı ve hücreler arası bağlantılarda kopmalar meydana geldiği izlendi. Konfluent yapıların ve hücreler arası bağlantılarda meydana gelen bozulmaların Nenedent, Perlodent ve Colgate gruplarına göre ise az miktarda olduğu belirlendi. Alcian Blue ile boyama sonrası ise mavi renkte proteoglikanların varlığı CDMEM ve Splat grubuna göre daha az miktarda olmakla birlikte bu deney grubunda da gözlemlendi. Kondrojenik farklılaşma potansiyelinin bu deney grubunda CDMEM ve Splat grubuna göre biraz daha az olduğu, ancak Nenedent, Perlodent ve Colgate deney gruplarından ise oldukça fazla olduğu tespit edildi (Şekil 4-48).



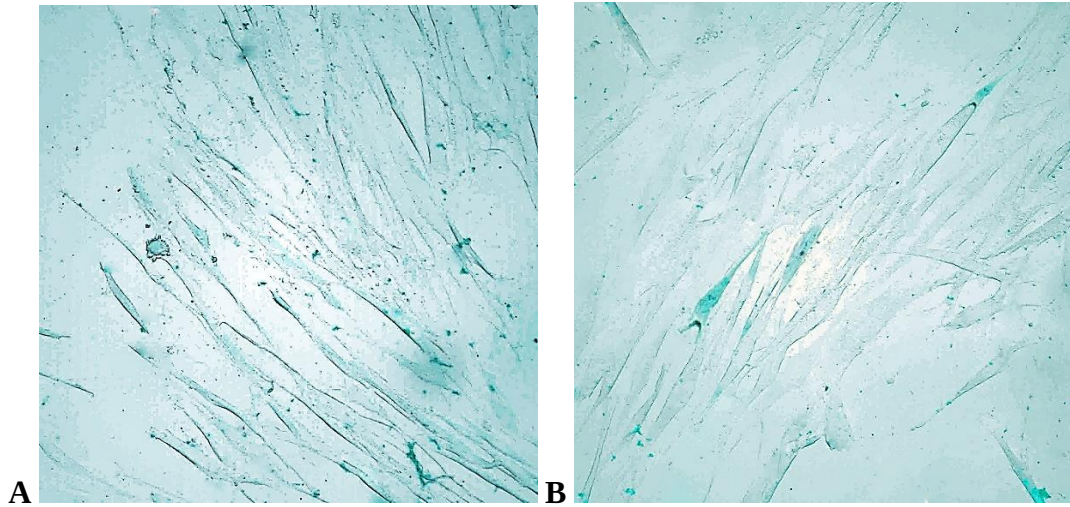
Şekil 4-48: 2 dk boyunca % 0,4'lük Sensodyne diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

% 0,4'lük Perlodent, %0,4'lük Nenedent ve %0,4'lük Colgate içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruplarda hücrelerin kondrojenik farklılaşma deneyi sonucunda morfolojik olarak kondroblast benzeri hücrelere farklılaşmadığı, apoptoza uğrayan yoğun hücre grubu nedeniyle hücrelerin konfluent yapılarını kaybettikleri ve hücreler arası bağlantıların ortadan kalktığı gözlemlendi. Alcian Blue ile boyama sonrası mavi renge boyanan proteoglikanların varlığına mikroskop görüntülerinde rastlanmadı (Şeki 4-49, Şekil 4-50, Şekil 4-51).



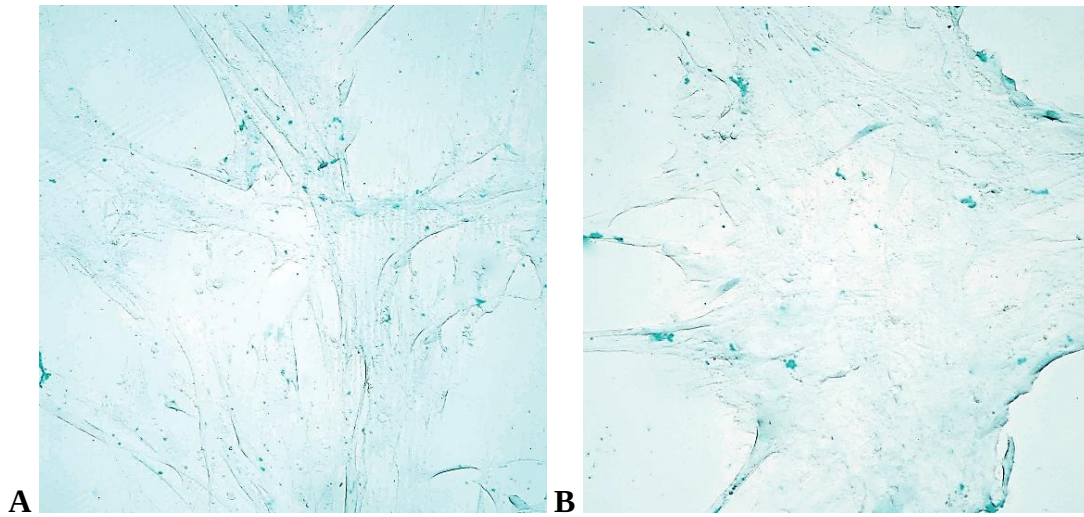
Şekil 4-49: 2 dk boyunca % 0,4'lük Perlodent diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

Perlodent ve Nenedent grubunda az sayıda iğsi fibroblast benzeri kök hücrelerin varlığı görüntülerde izlendi. Bu iki deney grubunun kondrojenik farklılaşma potansiyelinin ve apoptoza uğrayan hücre yoğunluğunun birbirine benzerlik gösterdiği saptandı (Şekil 4-49, Şekil 4-50).



Şekil 4-50: 2 dk boyunca % 0,4'lük Nenedent diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

En fazla apoptoza uğrayan hücre yoğunluğunun ise Colgate grubunda olduğu belirlendi. Hücreler arası bağlantıların da en çok bu grupta ortadan kalktığı tespit edildi (Şekil 4-51). Ayrıca hücreler arası bağlantıların kopması nedeniyle kıkırdak hücrelerine özgü poligonal formdaki yönelişin 3 deney grubunda da olmadığı görüldü (Şekil 4-49, Şekil 4-50, Şekil 4-51). Kondrojenik farklılaşma potansiyeline göre değerlendirildiğinde Perlodent, Nenedent ve Colgate grubunun CDMEM, Splat ve Sensodyne grubuna göre farklılaşmış hücrelere sahip olmadığı tespit edildi.



Şekil 4-51: 2 dk boyunca % 0,4'lük Colgate diş macunu solüsyonunda bekletilen GMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

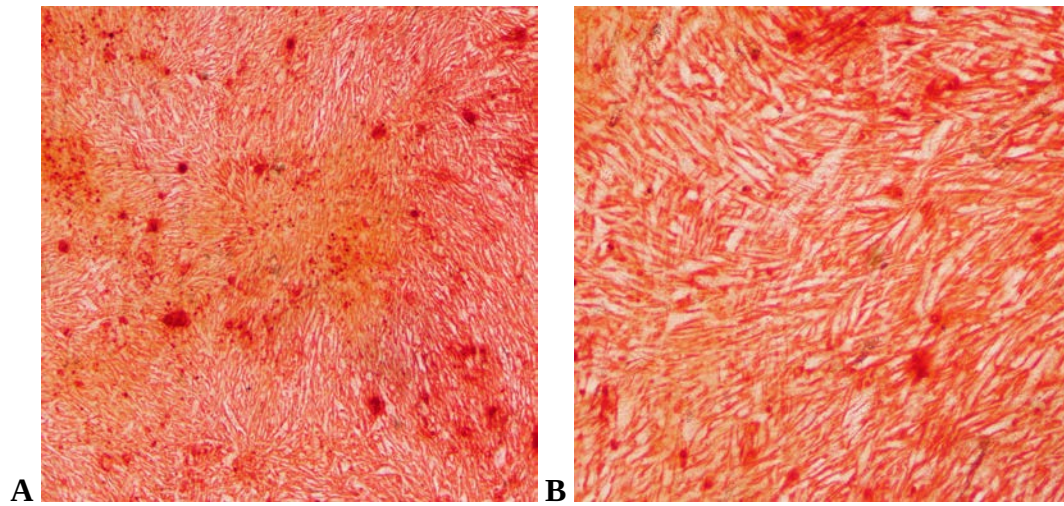
Tüm deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında mikroskop görüntülerine göre diş eti mezenkimal kök hücrelerinde en iyi kondrojenik farklılaşma potansiyeli sırasıyla;

CDMEM> Splat > Sensodyne> Perlodent = Nenedent = Colgate şeklinde gözlemlendi.

4.12.3. PDLMKH'lerin Osteojenik Farklılaşma Deney Sonuçları (ALR Boyama Görüntüleri)

% 0,4'lük konsantrasyondaki diş macunu solüsyonları ve kontrol grubu ile 2 dk boyunca stimüle edilen PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma potansiyelleri Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile görüntüler alınarak incelendi. Her bir hücre kültüründeki kalsifikasyon yoğunluklarının ve hücre farklılaşmalarının incelendiği gruplar arası karşılaştırmalar değerlendirildiğinde;

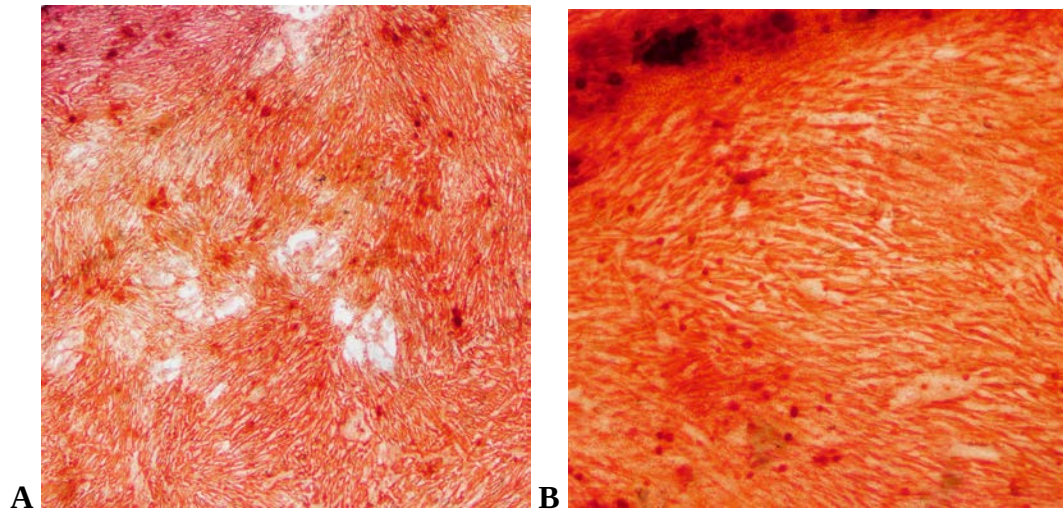
CDMEM içeren kontrol grubunda osteojenik farklılaşma deneyi sonucunda periodontal ligament mezenkimal kök hücrelerin morfolojik olarak osteoblastlara benzer hücrelere farklılaştığı, eliptik şekilde hücre yönelmeleri yaptıkları, hücrelerin konfluent yapılarını ve hücreler arası kontaktlarını kaybetmedikleri gözlemlendi. ALR ile boyama sonrası kırmızı renge boyanan mineralize kalsiyum birikimlerinin varlığı tespit edildi. En yoğun mineralize kalsiyum birikimlerinin ve en iyi farklılaşma potansiyelinin kontrol grubuyla stimüle edilen hücrelerde olduğu izlendi (Şekil 4-52).



Şekil 4-52: CDMEM kontrol grubundaki PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

% 0,4'lük Splat içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerin osteojenik farklılaşma deneyi sonucunda morfolojik olarak osteoblast benzeri

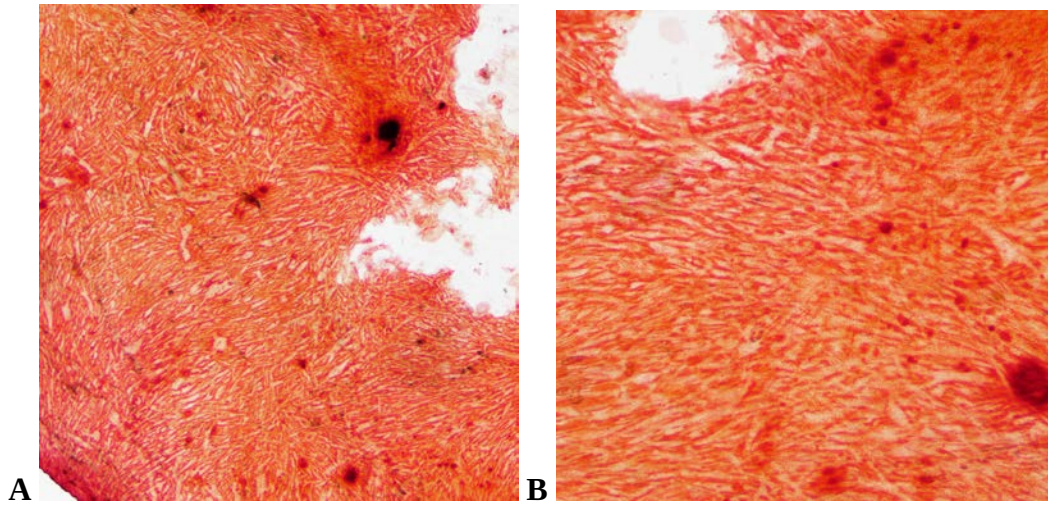
hücrelere farklılaştığı, eliptik formda yönelmeler yaptıkları, hücrelerin konfluent yapılarını ve hücreler arası kontaktlarını kaybetmedikleri gözlemlendi. ALR ile boyama sonrası kırmızı renge boyanan kalsiyum birikimlerinin varlığı izlendi. Mikroskop görüntüleri değerlendirildiğinde kontrol grubundan sonra en iyi osteojenik farklılaşma potansiyeline sahip olan grubun Splat diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen hücrelerde olduğu tespit edildi. Mineralize kalsiyum birikimleri açısından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kalsiyum yoğunluğunun kontrol grubundan biraz daha az olduğu ancak diğer diş macunlarıyla karşılaştırıldığında ise en yoğun kalsiyum nodüllerinin bu grupta olduğu belirlendi (Şekil 4-53).



Şekil 4-53: 2 dk boyunca % 0,4'lük Splat diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

% 0,4'lük Sensodyne içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerin osteojenik farklılaşma deneyi sonucunda hücrelerin morfolojik olarak osteoblast benzeri hücrelere farklılaştığı, eliptik formda yönelmeler yaptıkları gözlemlendi (Şekil 4-54). Ancak CDMEM ve Splat grubuyla karşılaştırıldığında hücrelerin konfluent yapılarını bazı bölgelerde kaybettikleri ve hücreler arası bağlantıların alınan görüntülerin bazı bölgelerinde bozulmalara uğrayarak az miktarda kopmalar meydana geldiği izlendi (Şeki 4-52, Şekil 4-53, Şekil 4-54). Konfluent yapıların ve hücreler arası bağlantılarda meydana gelen bozulmaların Nenedent, Perlodent ve Colgate grubuna

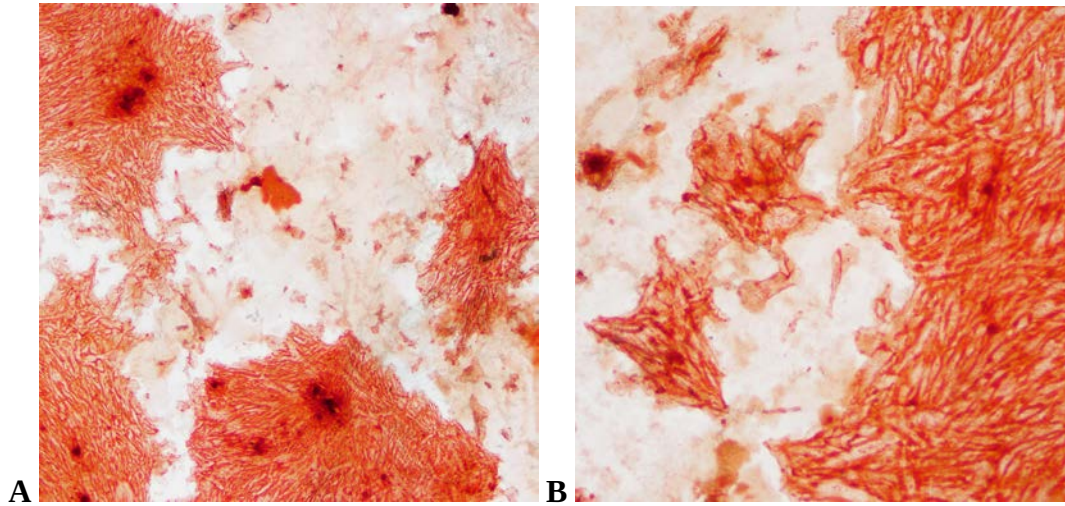
göre oldukça az miktarda olduğu belirlendi. ALR ile boyama sonrası ise kırmızı renkte parlak kalsiyum depozitlerinin varlığı CDMEM ve Splat grubuna göre daha az miktarda olmakla birlikte bu deney grubunda da gözlemlendi. Osteojenik farklılaşma potansiyelinin bu deney grubunda CDMEM ve Splat grubuna göre biraz daha az olduğu, ancak Nenedent, Perlodent ve Colgate deney gruplarından ise oldukça fazla olduğu tespit edildi.



Şekil 4-54: 2 dk boyunca % 0,4'lük Sensodyne diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

% 0,4'lük Perlodent içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerin osteojenik farklılaşma deneyi sonucunda morfolojik olarak çok az miktardaki hücrenin osteoblast benzeri hücrelere farklılaştığı, apoptoza uğrayan yoğun hücre grubu nedeniyle hücrelerin konfluent yapılarını kaybettikleri ve hücreler arası bağlantıların koparak küçük hücre kümelerinin olduğu gözlemlendi. Ayrıca hücreler arası bağların kopması nedeniyle kemik hücrelerine özgü olan eliptik formdaki yönelmelerin bu deney grubunda olmadığı görüldü. Mikroskop görüntülerinde ALR ile boyama sonrası kırmızı renge boyanan sınırlı sayıdaki bölgede, az miktardaki mineralize kalsiyum nodüllerinin varlığı tespit edildi (Şekil 4-55). Osteojenik farklılaşma potansiyeli bakımından Perlodent deney grubunun diğer deney grupları ile karşılaştırıldığında CDMEM, Splat ve Sensodyne deney gruplarından daha az farklılaşmış hücre oranına sahip olduğu

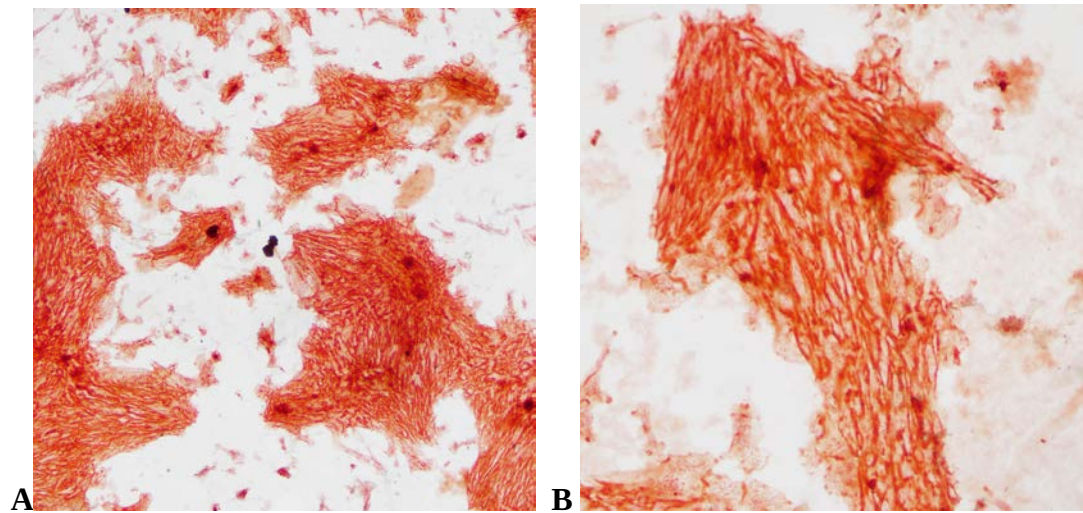
ancak Nenedent ve Colgate deney gruplarına göre daha fazla farklılaşmış hücrelerin mevcut olduğu saptandı. Kalsiyum birikimlerinin varlığı bakımından Perlodent grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında CDMEM, Splat ve Sensodyne deney gruplarına göre çok daha az kalsiyum nodül varlığı içerirken, Nenedent ve Colgate deney grubuna göre biraz daha fazla mineralize nodül varlığı içerdiği mikroskop görüntülerinde incelendi.



Şekil 4-55: 2 dk boyunca % 0,4'lük Perlodent diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

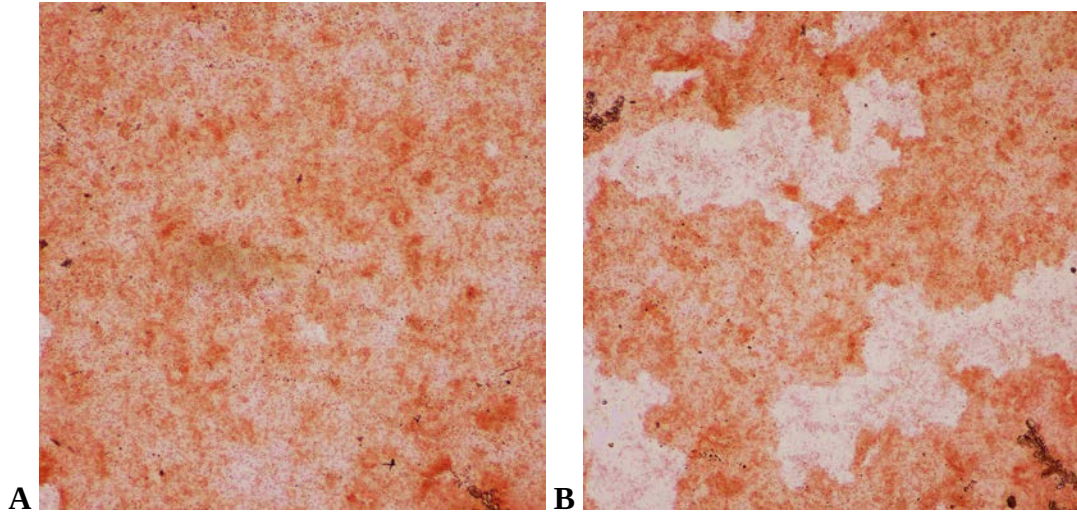
% 0,4'lük Nenedent içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerin osteojenik farklılaşma deneyi sonucunda morfolojik olarak çok az miktardaki hücrenin osteoblast benzeri hücrelere farklılaştığı, apoptoza uğrayan yoğun hücre grubu nedeniyle hücrelerin konfluent yapılarını kaybettikleri ve hücreler arası bağlantıların koparak çok küçük hücre kümelerinin oluştuğu gözlemlendi. Ayrıca hücreler arası bağların kopması nedeniyle kemik hücrelerine özgü olan eliptik formdaki yönelmelerin bu deney grubunda olmadığı görüldü. Mikroskop görüntülerinde ALR ile boyama sonrası kırmızı renge boyanan çok az miktardaki mineralize kalsiyum nodüllerinin varlığı tespit edildi (Şekil 4-56). Osteojenik farklılaşma potansiyeli bakımından Nenedent deney grubunun diğer deney grupları ile karşılaştırıldığında CDMEM, Splat, Sensodyne deney gruplarından daha az farklılaşmış hücre oranına sahip olduğu; Perlodent deney grubu ile kıyaslandığında ise Nenedent grubunun farklılaşma potansiyelinin daha az olmasına

rağmen bu iki grup arasındaki farklılaşma potansiyelinin farkının, CDMEM, Splat ve Sensodyne deney grubuyla olan farklılaşma potansiyelinin farkına göre daha az olduğu saptandı. Kalsiyum birikimlerinin varlığı bakımından Nenedent grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında CDMEM, Splat ve Sensodyne deney gruplarına göre çok daha az kalsiyum nodülü varlığı içerirken, Perlodent grubundan biraz daha az kalsiyum birikimlerinin olmasına rağmen bu iki gruptaki kalsiyum nodül varlığı birbirine yakın bulundu (Şekil 4-52, Şekil 4-53, Şekil 4-54, Şekil 4-55, Şekil 4-56). Colgate deney grubuna göre ise daha fazla mineralize nodül varlığı içerdiği incelendi.



Şekil 4-56: 2 dk boyunca % 0,4'lük Nenedent diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

% 0,4'lük Colgate içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerde yoğun apoptoz varlığı tespit edildi. Farklılaşmaya gidmeden apoptoza uğrayan hücreler nedeniyle osteoblast benzeri hücrelere ve mineralize kalsiyum birikimlerine rastlanmadı. Farklılaşma potansiyeli bakımından diğer gruplar ile karşılaştırıldığında en kötü osteojenik farklılaşma potansiyelinin Colgate diş macunu ile stimüle edilen deney grubunda olduğu belirlendi (Şekil 4-57).



Şekil 4-57: 2 dk boyunca % 0,4'lük Colgate diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin osteojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki ALR boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

Tüm deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında mikroskop görüntülerine göre periodontal ligament mezenkimal kök hücrelerinde en iyi osteojenik farklılaşma potansiyeli sırasıyla;

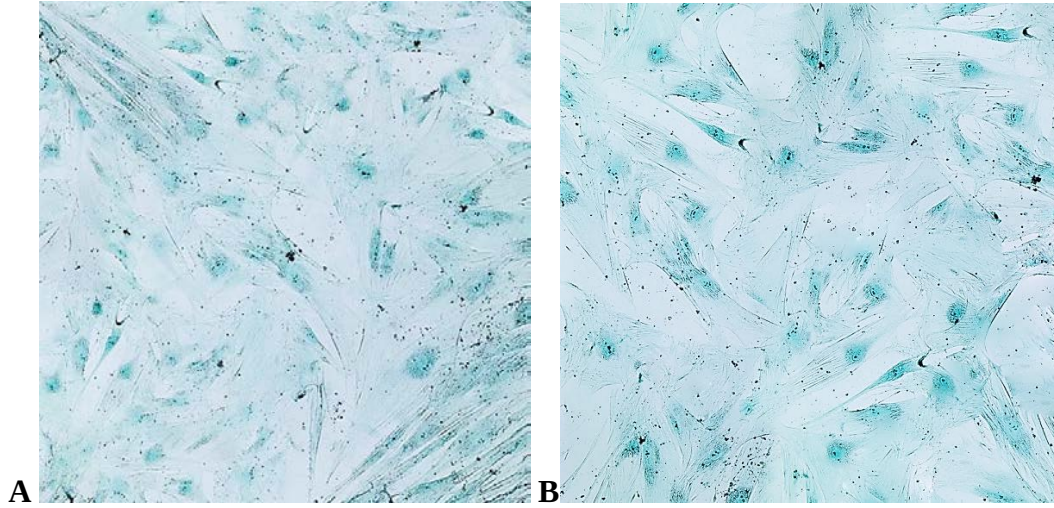
CDMEM> Splat > Sensodyne> Perlodent > Nenedent > Colgate şeklinde gözlemlendi.

4.12.4. PDLMKH'lerin Kondrojenik Farklılaşma Deney Sonuçları (Alcian Blue Boyama Görüntüleri)

% 0,4'lük konsantrasyondaki diş macunu solüsyonları ve kontrol grubu ile 2 dk boyunca stimüle edilen PDLMKH'lerin kondrojenik farklılaşma potansiyelleri Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile görüntüler alınarak incelendi. Her bir hücre kültüründeki proteoglikanların yoğunluklarının ve hücre farklılaşmalarının incelendiği gruplar arası karşılaştırmalar değerlendirildiğinde;

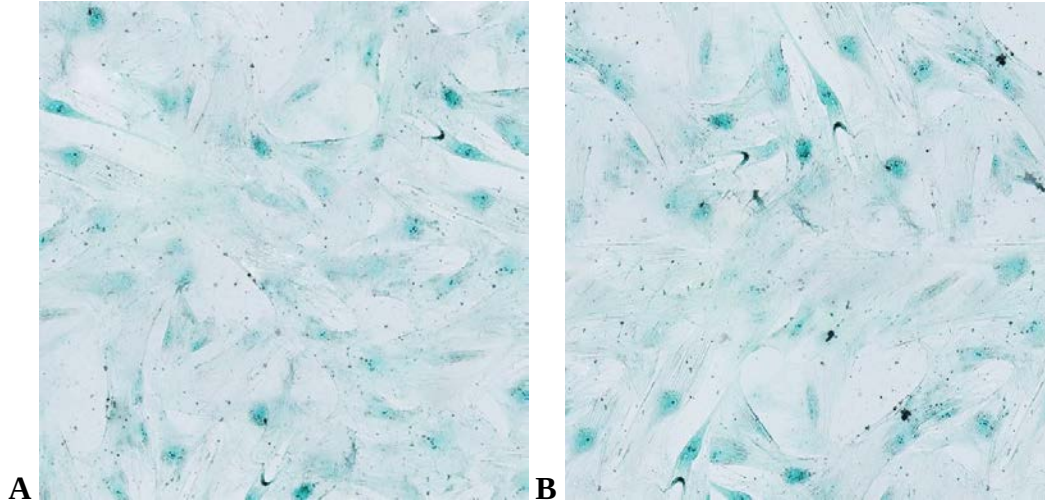
CDMEM içeren kontrol grubunda kondrojenik farklılaşma deneyi sonucunda hücrelerin morfolojik olarak kondrosit benzeri hücrelere farklılaştığı, hücrelerin konfluent yapılarını ve hücreler arası kontaklarını kaybetmedikleri, poligonal şekilde

hücre yönelmelerinin olduğu gözlemlendi. Alcian Blue ile boyama sonrası mavi/turkuaz renge boyanan glikozaminoglikanların varlığı tespit edildi. En yoğun proteoglikan birikimlerinin ve en iyi farklılaşma potansiyelinin kontrol grubuyla stimüle edilen hücrelerde olduğu izlendi (Şekil 4-58).



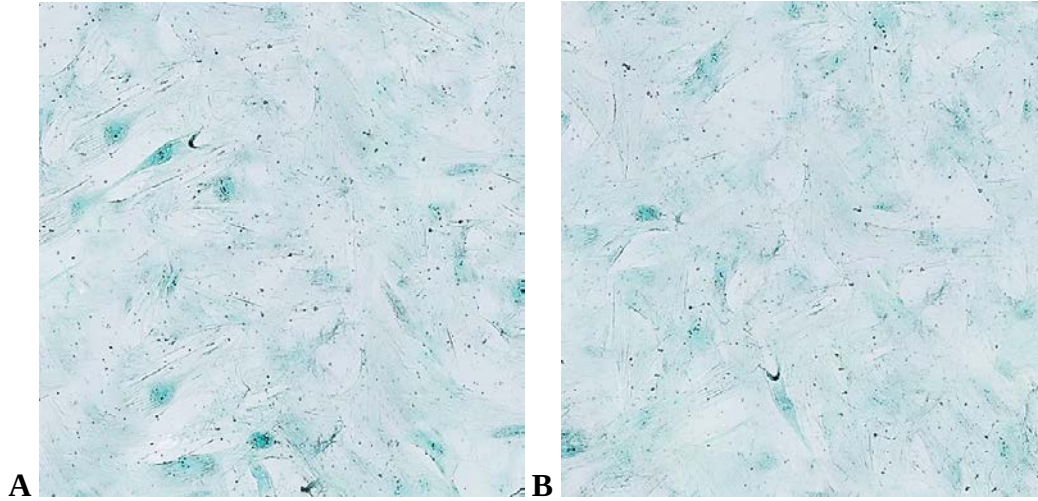
Şekil 4-58: CDMEM kontrol grubundaki PDLMKH’lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue ile boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

% 0,4’lük Splat içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerin kondrojenik farklılaşma deneyi sonucunda morfolojik olarak kondroblast benzeri hücrelere farklılaştığı, hücrelerin konfluent yapılarını ve hücreler arası kontaktlarını kaybetmedikleri, poligonal formda hücre yönelmelerinin olduğu gözlemlendi. Alcian Blue ile boyama sonrası mavi renge boyanan glikozaminoglikanların varlığı izlendi (Şekil 4-59). Mikroskop görüntüleri değerlendirildiğinde kontrol grubundan sonra en iyi kondrojenik farklılaşma potansiyeline sahip olan grubun splat diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen hücrelerde olduğu tespit edildi. Proteoglikan birikimleri açısından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında glikozaminoglikan yoğunluğunun kontrol grubundan daha az olduğu ancak diğer diş macunlarıyla karşılaştırıldığında ise diş macunları solüsyonları içerisinde en yoğun proteoglikan yoğunluğunun bu grupta olduğu belirlendi.



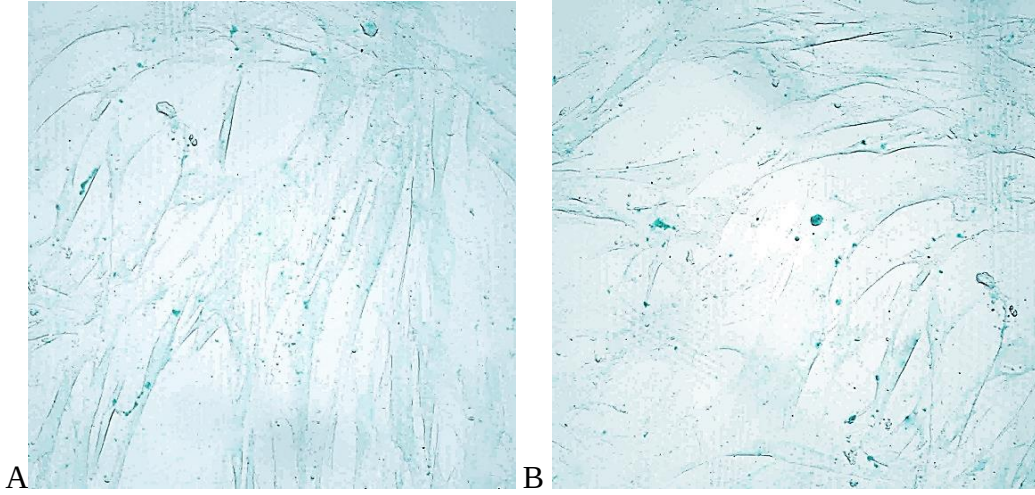
Şekil 4-59: 2 dk boyunca % 0,4'lük Splat diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue ile boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

% 0,4'lük Sensodyne içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruptaki hücrelerin kondrojenik farklılaşma deneyi sonucunda hücrelerin morfolojik olarak kondroblast benzeri hücrelere farklılaştığı, poligonal formda yönelmeler yaptıkları gözlemlendi (Şekil 4-60). Ancak CDMEM ve Splat grubuyla karşılaştırıldığında hücrelerin konfluent yapılarının bazı bölgelerde bozulmalara uğradığı ve hücreler arası bağlantılarda kopmalar meydana geldiği izlendi (Şekil 4-58, Şekil 4-59, Şekil 4-60). Konfluent yapıların ve hücreler arası bağlantılarda meydana gelen bozulmaların Nenedent, Perlodent ve Colgate grubuna göre az miktarda olduğu belirlendi. Alcian Blue ile boyama sonrası ise mavi renkte proteoglikanların varlığı CDMEM ve Splat grubuna göre daha az miktarda olmakla birlikte bu deney grubunda da gözlemlendi. Kondrojenik farklılaşma potansiyelinin bu deney grubunda CDMEM ve Splat grubuna göre biraz daha az olduğu, ancak Nenedent, Perlodent ve Colgate deney gruplarından ise oldukça fazla olduğu tespit edildi.



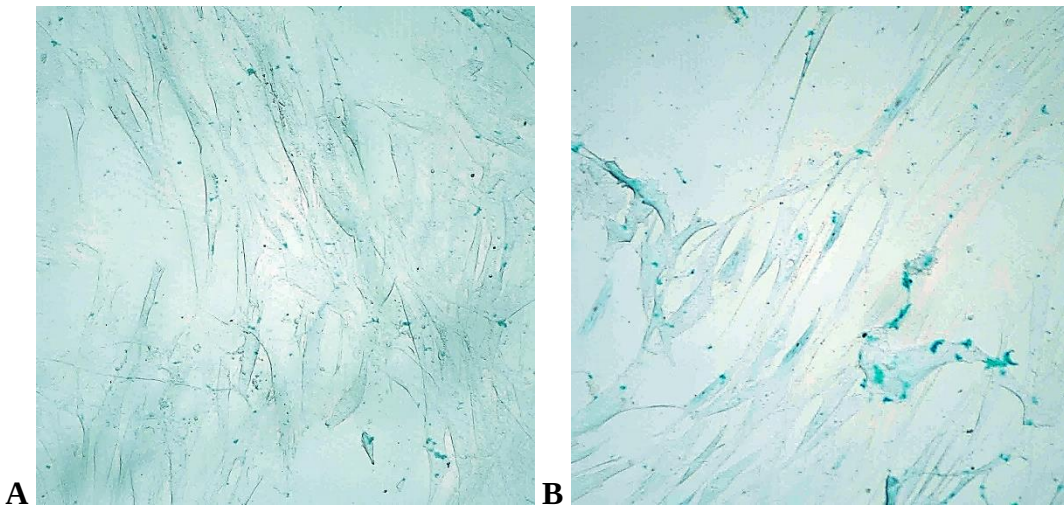
Şekil 4-60: 2 dk boyunca % 0,4'lük Sensodyne diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue ile boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

% 0,4'lük Perlodent, % 0,4'lük Nenedent ve % 0,4'lük Colgate içeren diş macunu solüsyonuyla stimüle edilen gruplarda hücrelerin kondrojenik farklılaşma deneyi sonucunda morfolojik olarak kondroblast benzeri hücrelere farklılaşmadığı, apoptoza uğrayan yoğun hücre grubu nedeniyle hücrelerin konfluent yapılarını kaybettikleri ve hücreler arası bağlantıların ortadan kalktığı gözlemlendi. Alcian Blue ile boyama sonrası mavi renge boyanan proteoglikanların varlığına mikroskop görüntülerinde rastlanmadı (Şekil 4-61, Şekil 4-62, Şekil 4-63).



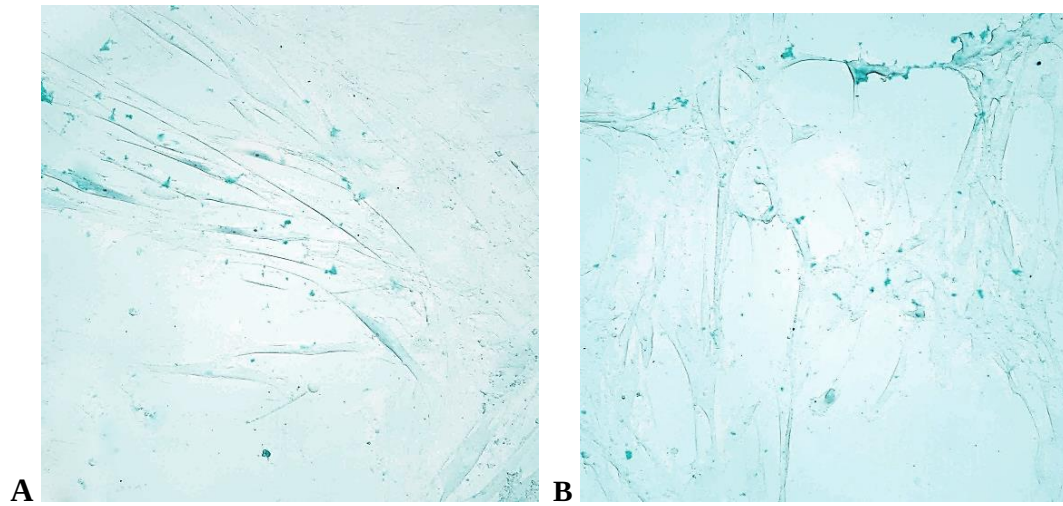
Şekil 4-61: 2 dk boyunca % 0,4'lük Perlodent diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue ile boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

Perlodent ve Nenedent grubunda az sayıda işsi fibroblast benzeri kök hücrelerin varlığı izlendi. Bu iki deney grubunun kondrojenik farklılaşma potansiyelinin ve apoptoza uğrayan hücre yoğunluklarının birbirine benzerlik gösterdiği saptandı (Şekil 4-61, Şekil 4-62).



Şekil 4-62: 2 dk boyunca % 0,4'lük Nenedent diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue ile boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

En fazla apoptoza uğrayan hücre yoğunluğunun ise Colgate grubunda olduğu belirlendi. Hücreler arası bağlantıların da en çok bu grupta ortadan kalktığı tespit edildi (Şekil 4-63). Ayrıca hücreler arası bağlantıların kopması nedeniyle kıkırdak hücrelerine özgü poligonal formdaki yönelmenin 3 deney grubunda da olmadığı görüldü (Şekil 4-61, Şekil 4-62, Şekil 4-63). Kondrojenik farklılaşma potansiyeline göre tüm gruplar ile değerlendirildiğinde Perlodent, Nenedent ve Colgate grubunun CDMEM, Splat ve Sensodyne grubuna göre farklılaşmış hücrelere sahip olmadığı tespit edildi.



Şekil 4-63: 2 dk boyunca % 0,4'lük Colgate diş macunu solüsyonunda bekletilen PDLMKH'lerin kondrojenik farklılaşma ortamına bırakıldıktan sonraki Alcian Blue ile boyama görüntüleri. A: 4X, B: 10X

Tüm deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında mikroskop görüntülerine göre periodontal ligament mezenkimal kök hücrelerinde en iyi kondrojenik farklılaşma potansiyeli sırasıyla;

CDMEM> Splat > Sensodyne> Perlodent = Nenedent = Colgate şeklinde gözlemlendi.

5. TARTIŞMA

Diş macunları görevleri birbirinden farklı olan bir çok bileşenden oluşmaktadır. Bu bileşenlerin plağın uzaklaştırılmasında, antimikrobiyal özellik gösterme görevlerinin yanı sıra oral mukozayı olumsuz yönde etkileme potansiyeline sahip oldukları da belirtilmektedir. Literatürlerde oral mukoza duyarlılığı ve kontakt stomatit gibi klinik durumların diş macunları içerisindeki aşındırıcı maddeler, deterjanlar, bağlayıcı ajanlar, nemlendiriciler, koruyucu maddeler, renklendirici maddeler, antiseptikler gibi farklı diş macunu bileşenlerinin bir sonucu olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (Lawrence ve ark. 2013). Özellikle, antibakteriyel ve antiplak etkisi ile bilinen triklosan ve yaygın bir deterjan olan sodium lauryl sulfate yan etkiye sahip maddeler olarak gösterilmektedir. İn vitro araştırmalarda azalmış hücre canlılığının yanı sıra, mukoza duyarlılığı, epitelyal deskuamasyon ve tekrarlayan aftöz ülserasyonlar gibi klinik intraoral yan etkiler, yetişkin diş macunlarında kullanılan çeşitli bileşenlerin olası sorunlarına işaret etmektedir (Herlofson ve Barkvoll 1996; Skaare ve ark. 1997; Cvikl ve ark. 2015). Diş macunlarının içerisinde bulunan farklı bileşenlerin antimikrobiyal etkinliklerinin karşılaştırıldığı, klinik parametrelere olan etkilerinin incelendiği çalışmalar literatürde sayıca fazla olmasına rağmen çocuk diş macunlarının ağız içi dokuları üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalar yok denecek kadar azdır.

Bu nedenle, bu çalışmada farklı deterjan içeriğine sahip 5 farklı çocuk diş macununun hücreler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Hücreler üzerine olan etkilerin araştırılmasında, kullanılacak materyallerin toksik etkilerinin belirlenmesi ya da biyouyumluluğunun araştırılması amacı ile farklı değerlendirme yöntemleri bulunmaktadır. Bu testler klinik kullanım testleri, in vivo hayvan deneyleri ve in vitro hücre kültür testleri olarak sınıflandırılabilir. Bu alternatif yöntemler arasında hücre kültür testleri, canlı dokuların fizyolojik durumlarını taklit edebilme özelliklerinin olması nedeniyle sitotoksite çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadırlar. Ayrıca hücre kültür çalışmaları hızlı uygulanabilme, tekrarlanabilme, standardize edilebilme, maliyetlerinin düşük olması, deney süresince deney ortamlarının kolay kontrol edilebilmesi ve farklı bireysel faktörlerden etkilenmemeleri gibi bir çok avantaja sahiptir (Craig ve ark. 2006 pp. 97-125; Schmalz 1994). Diğer test yöntemlerinde ise bir

takım etik ve yasal problemler var olduğu için biyoyumluluk ve sitotoksiste çalışmalarında in vitro hücre kültür testleri bu tarz çalışmaların başlangıç noktasını oluşturmaktadır. Bu çalışmada da diş macunlarının hücreler üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde in vitro hücre kültür testleri tercih edilmiştir.

Hücre kültür çalışmalarında kullanılan hücre tipinin, sitotoksik etkilerinin araştırıldığı materyalin kullanım alanı ile ilişkili olarak seçilmesi gerekmektedir. Biyoyumluluk testlerinde primer hücre kültürleri ya da devamlı hücre hatları biyolojik sistem olarak çalışmalarda kullanılmaktadır. Primer hücre kültürlerine göre daha kolay elde edilebilmeleri ve hızlı üreme potansiyeline sahip olmaları sebebiyle diş hekimliğinde kullanılan materyallerin sitotoksiste değerlendirme testlerinde L929, 3T3, HSC-2, MRC-5 gibi devamlı hücre hatlarının kullanılabileceği belirtilmektedir. Ancak primer hücre kültürleri devamlı hücre hatlarına göre daha hassas oldukları için üretimleri aşamasında ortaya çıkan zorluklara, üretimlerinin uzun zaman almalarına rağmen orijinal fizyolojik durumu en iyi yansıtan biyolojik sistemlerdir (Arenholt-Bindslev ve Bleeg 1990; Craig ve ark. 2006 pp. 97-125; Illeperuma ve ark. 2012; ISO 2009; Schmalz 1997; Tuncer ve Demirci 2011). Bu nedenle bu çalışmada in vivo şartlara daha yakın deney koşullarının oluşturulması düşünülerek primer hücre kültürü oluşturulması tercih edilmiştir.

Kaynaklarda mezenkimal kök hücrelerin (MSC) hasarlı doku hücrelerinin yerini almalarını sağlayan yetenekleri sayesinde doku rejenerasyonuna aracılık ettikleri belirtilmektedir (Hermann ve ark. 2006; Kuroda ve ark. 2010). Ayrıca MSC'lerin özellikle yerleşik hücrelerle etkileşim yoluyla doku rejenerasyonunu desteklediği bunun yanı sıra immünomodülatör ve antiinflamatuvar fonksiyonlara sahip çok sayıda faktörün üretimini desteklediği son dönem çalışmalarda belirtilmektedir (Prockop 2009; Roddy ve ark. 2011; Prockop ve Oh 2012). Zhang ve ark. yaptıkları bir çalışmada, kemoterapi ile indüklenerek oluşturulan bir oral mukozit modeli kullanmışlardır ve diş eti mezenkimal kök hücrelerin (GMSC) hasarlı bölgelere göç ederek epitelyal benzeri hücrelere transdiferansiye olduklarını göstermişlerdir. Bu GMSC'lerin rejeneratif etkileri çeşitli kemokinlerin ve büyüme faktörlerinin artmasının yanı sıra, dokuda meydana gelen oksidatif strese bağlı olarak gelişen apoptoza karşı olan direncin bu kök hücrelerle artırılmasına da bağlanmaktadır (Zhang ve ark. 2011).

Diş macunlarının diş fırçalama sırasında temas ettikleri oral dokuların büyük çoğunluğunu diş eti dokuları oluşturduğu için diş eti mezenkimal kök hücreleri ile diş eti epitel hücreleri bu çalışmada biyolojik sistem olarak kullanılmıştır. Diş eti mezenkimal kök hücrelerin antiinflamatuvar fonksiyonlara katkı sağlaması ve rejeneratif özellikleri göz önüne alındığında özellikle sistemik hastalıklar nedeniyle diş eti hastalıkları bulunan bireylerde bu hücre grubunun diş eti hastalıklarının iyileşmesindeki önemi artmaktadır. Diş macunlarının hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar literatürlerde bulunmasına rağmen, mezenkimal kök hücrelerin canlılığına nasıl etki ettikleri ile ilgili çalışmalar bulunmamaktadır. Diş eti sağlığının korunmasında en önemli aşama diş macunları ile fırçalama sağlanarak diş yüzeyi üzerindeki plağın ortadan kaldırılmasıdır. Bu yüzden diş macunları içerisindeki deterjanların diş eti hücrelerinde toksik etki yaratmamaları gerekmektedir. Bu etkiler sağlıklı diş etine sahip bireylere oranla diş eti hastalığı bulunan bireylerde daha fazla gözlenmektedir. Ayrıca diş eti hastalığı bulunan bireylerde diş macunu içerisindeki deterjan çeşidinin tedavi prognozunu etkileyebileceği düşünülmektedir. Mezenkimal kök hücrelerin antiinflamatuvar olaylara, rejenarasyona katkılarının bilinmesinden dolayı diş eti problemi olan bireylerde fırçalama sırasında kullanılan diş macunu içerisindeki deterjan çeşidinin bu kök hücrelere ve diş eti hücrelerine zarar vermemesi tedavi sürecinin başarısı açısından bir avantaj olarak görülmektedir. Kaynaklarda diş macunları içerisinde sıklıkla kullanılan bir deterjan olan SLS'nin oral epitel yıkımına, ülserasyonlara ve inflamasyonlara neden olduğu belirtilmektedir. Ayrıca epitel hücrelerindeki proteinlerde denatürasyona sebep olarak mukozanın daha derin tabakalarına penetre olabildiği gözlenmiştir. Bu alt tabaka dokularına penetrasyonun ise en fazla oral mukozada gözlendiği bildirilmiştir. Bu durumlar göz önüne alınarak, diş macunlarının diş eti epiteli ve diş eti mezenkimal kök hücrelerinin yanı sıra periodontal ligament mezenkimal kök hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri de çalışmamıza dahil edilerek incelenmiştir. (Healy ve ark. 1999; Macdonald ve ark. 2015, Siegel ve Gordon 1986).

Canlılık deneylerinin yanı sıra diş macunu deterjan içeriğinin kök hücreler üzerindeki osteojenik ve kondrojenik farklılaşmaya olan etkileri de bu çalışmada araştırılmıştır. Çünkü mezenkimal kök hücrelerin canlılıklarının yanı sıra yara onarımında, iyileşmesinde ve periodontal dokuların rejenerasyonunda yer alabilmeleri farklılaşma potansiyellerine bağlıdır. Farklı hücrelere differansiye olarak iyileşme ve

onarım süreçlerinde farklı dokulara göç ederek buradaki süreçlere yardımcı olmaktadır. Bu nedenle canlılıklarının yanı sıra kullanılan diş macunları ile birlikte farklılaşma özelliklerini kaybetmemeleri de son derece önem taşımaktadır.

Dental dokulardan elde edilen kök hücreler ile yapılan çalışmalar incelendiğinde kök hücrelerin genellikle genç yaştaki bireylerden 20 yaş diş çekimi sırasında elde edildiği görülmektedir. Yapılan birçok çalışmada kök hücre izolasyonu için 18-26 yaş grubu sağlıklı bireylerden çekilmiş gömük 20 yaş dişleri kullanılmıştır. En sık çekim endikasyonu konulan gömük üçüncü büyük azı dişleri ağız ortamından etkilenmedikleri için steril durumda olup dental kök hücre çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır.

Diş macunlarının diş eti hücreleri ve mezenkimal kök hücreler üzerindeki canlılığa ve farklılaşma potansiyeline etkilerinin incelendiği bu çalışmada 18-25 yaş sistemik bir hastalığı bulunmayan hasta grubundan ortodontik sebepler ile çekilen gömük yirmi yaş dişleri diş eti epitel hücresi, diş eti mezenkimal kök hücresi ve PDL mezenkimal kök hücresi izolasyonu için kullanılmıştır. Dişlerin tamamen gömük ve çürüksüz olmasına, bireylerde herhangi bir sistemik hastalığın yada periodontal hastalığın olmamasına dikkat edilmiştir. Hücre izolasyonundan sonra hücrelerin pasajlama işlemine geçilmiştir.

Hücre kültür çalışmalarında pasaj sayısının artmasının hücrelerde stres yaratabileceği ve bu durumun hücrelerde sitogenetik bozukluklara yol açabileceği belirtilmiştir. Ayrıca artan pasaj sayısı ile beraber hücrelerin plastisitesinde azalmalara sebep olabileceği bildirilmiştir. Bu sebeple hücre kültür çalışmalarında 3. pasajdan sonra pasajlama işleminin devam etmesi önerilmemektedir (Rasteger ve ark. 2010). Bu çalışmada üçüncü pasaja gelen hücre kültürleri deneyler için kullanılmıştır.

Hücre kültüründe MKH'ler deri, yağ dokusu, kemik iliği ve diş dokusu gibi bir çok dokudan izole edilebilmektedir. Bu hücrelerin plastik yüzeylere yapışabilme, fibroblast benzeri morfoloji gösterme ve spesifik yüzey markerlarına sahip olma gibi ortak özellikleri vardır (Ishii ve ark. 2005).

MKH'lerin karakterizasyonu ve diğer hücrelerden ayırt edilmesi için 2006 yılında Hücresel Terapi Derneği (ISCT), insan MKH'leri tanımlamak için bazı kriterler önermiştir (Horwitz ve ark. 2005). ISCT kriterlerine göre MKH'ler standart in vitro kültür ortamında muhafaza edildiğinde plastisite özelliğine sahip olmalıdırlar. En önemlisi spesifik yüzey antijenlerinin ekspresyonu ile MKH'ların tanımlanması

yapılmalıdır. Akım sitometri analizi ile yüzey antijenlerinin belirlenmesi sonucu MKH'ler CD105, CD73 ve CD 90'ı eksprese etmeli, CD45, CD34, CD14 ve HLA-Dr yüzey molekülleri negatif olmalıdır. CD11b, CD79a ya da CD19, HLA-Dr yüzey moleküllerinin negatifliği ile de MKH'ların tanımlanabildiği bildirilmiştir. Son zamanlarda CD271 ve MSC antijen-1 gibi insan MKH'leri için spesifik yüzey antijenleri bildirilmiştir (Dominici ve ark. 2006; Bühring ve ark. 2007; Battula ve ark. 2009; Egusa ve ark. 2012).

Yüzey marker analizinin kullanımına ek olarak MKH'lerde spesifik olarak ifade edilen stabil mRNA markerlarının kullanımı da MKH'ların tanımlanmasında önerilmektedir (Igarashi ve ark. 2007; Kubo ve ark. 2009; Egusa ve ark. 2012).

Bu çalışmada kültüre edilen hücrelerin akım sitometri cihazı ile spesifik yüzey antijenleri belirlenerek hem GMKH hem de PDLMKH'nin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. GMKH ve PDLMKH'lerin immunofenotipik özellikleri değerlendirildiğinde hücreler CD105, CD90, CD73 için kuvvetli pozitiflik gösterirken, CD34, HLA-DR, CD20 yüzey markerları içinse negatif ekspresyon göstermişlerdir.

CD9, CD10, CD13, CD29, CD44, CD49d, CD59, CD106, CD146, CD166 gibi spesifik yüzey antijenlerinin pozitifliğinin de human PDLMKH karakterizasyonu için kullanılabileceği belirtilmektedir. STRO-1 ve Scleraxis de PDLMKH'lerin yüzey belirteçleri olarak karakterizasyonda kullanılmaktadır (Seo ve ark. 2005; Seo ve ark. 2004; Lindroos ve ark. 2008; Gay ve ark. 2007; Shi ve ark. 2005).

GMKH'lar için ise CD29, CD44, CD106, CD146, CD166 yüzey markerlarının pozitifliği de bu hücrelerin karakterizasyonu için kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak ayrıca STRO-1, Oct+, Nanog, Nestin, SSEA-4, HLA-ABC, Sox-2, Tra2-49, Tra2-54 gibi markerlar da GMKH tanımlanması için çalışmalarda kullanılmıştır (Zhang ve ark. 2009; Marynka-Kalmani ve ark. 2010; Tang ve ark. 2011; Wang F. ve ark. 2011).

ISCT kriterlerine göre MKH'ler in vitro olarak ayrıca osteojenik, adipojenik ve kondrojenik olmak üzere trilenaj farklılaşma göstermelidir (Dominici ve ark. 2006).

PDLMKH'lerin ayrıca sementoblastlara ve nöronal hücrelere GMKH'lerinde nöronal, glia ve endoderm hücrelerine farklılaşma potansiyelleri olduğu belirtilmektedir (Egusa ve ark. 2012).

Bu çalışmada diş eti ve PDL dokusundan izolasyonu yapıp kültüre edilen kök hücrelerin morfolojik görüntüleri mikroskopta incelenmiş olup fibroblast benzeri morfolojiye sahip oldukları, akım sitometri analizi ile inceleme sonucu immünojenotipik olarak spesifik CD105, CD146, CD90, CD29 ve CD73 MKH yüzey markerlarını eksprese ettikleri ve osteojenik, kondrojenik ve adipojenik farklılaşma potansiyeli gösterebildikleri tespit edilerek bu hücrelerin mezenkimal kök hücre oldukları kanıtlanmıştır.

Diş eti epitel hücrelerinin karakterizasyonu için yapılan çalışmalarda epitel hücrelerine özgü CK13, Vimentin genlerinin PCR ile belirlenmesi yöntemi, hücrelerin fenotipik özelliklerinin transmisyon elektron mikroskobu ile analizi, spesifik bir epitelyal marker olan cytokeratinin immunofloresans yöntem ile belirlenmesi, Papanicolau boyama yöntemi ile hücrelerin boyanıp ışık mikroskobunda analizi gibi yöntemler kullanılmıştır (Russo ve ark. 2016).

Bu çalışmada diğer yöntemlere göre uygulaması daha kolay ve çabuk olan, ayrıca daha uygun maliyette olan hücrelerin lam üzerine alkol ile fiksasyonundan sonra hematoksilin ve eozin boyalarıyla boyanarak ışık mikroskobunda hücrelerin analizi yapılmış, epitel hücrelerin varlığı tespit edilmiştir.

Hücre kültür çalışmalarında hücre canlılığının saptanmasında pek çok in vitro test kullanılmaktadır. Anneksin V floresan bir madde ile işaretlenip hücrenin dış yüzeyindeki fosfatidilserine bağlanarak kültür ortamındaki apoptotik hücrelerin görünür hale gelmesini sağlamaktadır. Nekrotik hücrelerin de görünür hale gelebilmesi için Anneksin V içerisine ikinci bir boya olan propidium iyodür eklenmektedir (Güleş ve Eren 2008).

Akım sitometri analizi hücre canlılığı ve sitotoksite değerlendirmede diğer yöntemlere göre daha güvenilir, hızlı ve hassas sonuçlar vermesi bakımından sıklıkla önerilmektedir (Zhou ve ark. 2013). Hücre canlılığının belirlenmesinin yanında bu yöntem ile hücrelerin immünojenotipik özellikleri, enzim aktiviteleri, hücrenin spesifik belirteçleri gibi farklı özellikleri ile ilgili bilgiler elde edilebilmektedir (Kanev ve ark. 2016). Ayrıca bu yöntem ile apoptotik ve nekrotik hücre ayrımının yapılması bu iki ölüm tipinin farklı biyolojik yanıtlar oluşturması açısından önem taşımaktadır (Coşkun ve Özgür 2011).

Hücre canlılığının belirlenmesinde MTT, trypan blue exclusion testinin yanı sıra mikronukleus yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalar da bulunmaktadır (Ghapanchi ve ark. 2015; Fiori ve ark. 2011; Eyüboğlu ve ark. 2015; Kalil Bussadori ve ark. 2010; Fernandes ve ark. 2012; Olgun Erdemir ve ark. 2007; Cvikl ve ark. 2015; Cvikl ve ark. 2017).

Bu çalışmada hücre kültür çalışmalarında kullanılan alternatif yöntemlere göre daha hızlı, hassas ve güvenilir sonuçlar verdiği için diş eti hücrelerinin ve MKH'lerin Anneksin V ve propidium iodide boyaları ile işaretlenmeleri yapıldıktan sonra akım sitometri analizi ile canlı, erken apoptotik, geç apoptotik ve nekrotik hücrelerin belirlenmesi sağlanmıştır.

Sürfaktan olarak da bilinen deterjanlar, hidrofilik ve hidrofobik özelliklerine bağlı olarak diş yüzeylerinde sağladıkları temizleme ve antimikrobiyal etkilerinden dolayı diş macunları içerisine eklenen bileşenler arasındadır. Bu bileşenlerden diş macunları içerisinde yaklaşık 50 yılı aşkın süredir en sık kullanılanı ise SLS'dir.

Üreticiler tarafından ucuz olması nedeniyle sıklıkla kullanılan bu deterjan grubunun bildirilen bazı tahriş edici yan etkilerinden dolayı bazı üretici firmalar alternatif deterjanları diş macunları içerisinde kullanmaya başlamıştır (Salzer ve ark. 2016).

Tekrarlayan oral aftöz ülserlere sahip olan bireylerde SLS içerikli diş macunlarının negatif bir etkiye sahip olabileceği, koruyucu müsin tabakalarındaki denatürasyon sonucu oral mukozanın direncinin azalabileceği de literatürlerde bildirilmektedir (Salzer ve ark. 2016; Healy ve ark. 1999; Barkvoll ve ark. 1989; Siegel ve Gordon 1986).

Artmış oral deskuamasyon ile SLS içerikli diş macunlarının kullanımı arasında da bir ilişki olduğu belirtilmiştir (Stec 1972; Allen ve ark. 1975).

Shim ve ark. Oral aftöz ülserlere sahip bireylerde SLS içermeyen diş macunlarının kullanımının ülserlerin iyileşme süresini ve hastaların ağrı skorlarını SLS içeren diş macunlarına göre belirgin bir şekilde azalttığını bildirmişlerdir (Shim ve ark. 2012).

Bu olumsuz özelliklerine rağmen önde gelen diş macunu üreticileri köpürtücü etkileri, tadı ve düşük maliyetli olması nedeniyle SLS'yi kullanmaya devam etmektedir.

Şu an pazarlanan diş macunlarının sadece çok az bir kısmı SLS'den başka bir deterjan içermektedir (Salzer ve ark. 2016).

Çocuk ve yetişkin diş macunları arasında sürfaktanların çeşitleri, seviyesi, tatlandırıcılar ve florür oranları arasında farklılıklar bulunmaktadır. Ayrıca çocuk ve yetişkinlerde diş etlerinin kalınlığı, morfolojisi ve keratinizasyon derecesi bakımından da farklılıklar bulunmaktadır. Yetişkin diş macunlarının hücreler üzerindeki etkileri ile yapılan çalışmalar literatürde az sayıda bulunurken, çocuk diş macunlarının oral hücreler üzerine olan etkilerinin incelendiği çalışmalar ise literatürde sadece bir tane ile sınırlıdır. (Cvikl ve ark. 2015; Cvikl ve ark. 2017).

Çocuk diş macunlarının içeriklerine bakıldığında da bir çok macun içeriğinin deterjan çeşidi olarak SLS taşıdığı görülmektedir. Bu yan etkiler düşünüldüğünde çocukların diş etlerindeki keratinizasyon derecesinin yetişkin diş etlerindeki keratinizasyondan daha az olmasından dolayı bu yan etkilerin çocuklarda daha fazla ortaya çıkabileceği ön görülmektedir. Özellikle sistemik hastalıklar nedeniyle diş eti problemleri olan çocuklarda SLS'nin olumsuz etkilerinin daha da belirgin şekilde ortaya çıkabileceği düşünülmektedir. Diş eti problemleri sırasında meydana gelen diş eti kanamaları, diş eti oluşu sıvısındaki inflamatuvar faktörlerin artması ile birlikte SLS'nin bu hastalık belirtilerini diş eti oluşu sıvısındaki IL-6, IL-8 gibi inflamasyondan sorumlu faktörleri arttırarak şiddetlendirebileceği, iyileşme süresini geciktirebileceği düşünülmektedir. Bu nedenle diş macunu içerisindeki deterjan çeşidi, diş eti sorunları olan bireyler ile çocuklarda yetişkinlere oranla daha büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın canlılık ve farklılaşma deneylerinde; çocuk diş macunları içerisinde en sık kullanılan deterjan çeşidi olan SLS içerikli çocuk diş macununun yanında, sodium lauryl sarcosinate, sodium C14-16 olefin sulfonate ve CAPB içerikli farklı deterjan gruplarına sahip çocuk diş macunları, deterjan içeriği olmayan çocuk diş macunu ve CDMEM hücre kültür besiyeri çalışma gruplarını oluşturmuştur.

Bu çalışmada kullanılan farklı diş macunlarının konsantrasyonlarını belirlerken, çalışmanın amacına yönelik olarak diş macunlarının hücreler üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar incelenerek diş macunu konsantrasyonları diğer çalışmalara benzer olacak şekilde % 0.4, %20, %50 ve % 80 olarak optimize edilmiştir (Cvikl ve ark. 2015; Cvikl ve ark. 2017; Ghapanchi ve ark. 2015). Cvikl ve ark. (2015) yetişkin diş macunlarının diş eti fibroblastları üzerinde hücre canlılığını incelemişler

ayrıca diş macunlarının hücreler üzerindeki yarı letal doz konsantrasyonlarını hesaplamışlardır. Yaptıkları bu çalışmada diş macunu konsantrasyonlarını % 0,3; % 0,6; % 1,1; % 2,3; % 4,5; %9; %18; %50 ve % 72 kullanmışlardır. Cvikl ve ark. (2017) çocuk diş macunlarının diş eti fibroblastları, epitel hücreleri ve L929 hücre hattı üzerinde yarı letal doz konsantrasyonlarını hesaplayabilmek için % 80 ile % 0,4 arasında değişen diş macunları solüsyonlarını kullanmışlardır. Ayrıca oral fibroblastların canlılığını değerlendirmek için de % 6; % 12 ve % 25 konsantrasyonda diş macunu solüsyonlarını deney grubu olarak belirlemişlerdir. Ghapanchi ve ark. (2015) diş macunlarının HeLa ve epitel hücrelerindeki sitotoksik etkilerini incelemişler, ayrıca diş macunlarının S. Mutans üzerindeki antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları bu çalışmada % 2, % 4, % 8, % 16, % 64 ve % 128 konsantrasyonlardaki diş macunları solüsyonlarını kullanmışlardır. Aynı şekilde bu çalışmada diş macunu solüsyonlarının hücreler ile stimülasyon süreleri yapılan in vitro çalışmalar değerlendirildikten sonra ve diş fırçalama süresinin normal şartlar altında 2 dk olması nedeniyle 2 dk olarak belirlenmiştir (Cvikl ve ark. 2015; Cvikl ve ark. 2017; Ghapanchi ve ark. 2015; Moore ve ark. 2008).

Diş macunları içerisindeki deterjanların etkilerinin araştırıldığı çalışmalar incelendiğinde;

Herlofson ve Barkvoll (1996) 28 sağlıklı kadın hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, deterjan içerikleri ve konsantrasyonları farklı 7 diş macununun oral mukoza üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Katılımcılar sistemik bir hastalığa sahip olmayan, ilaç kullanmayan ve oral mukozal hastalığı bulunmayan hasta grupları arasından seçilmiştir. SLS ile CAPB deterjan içeriğine sahip iki farklı diş macunu ve deterjan içeriği olmayan bir diş macunu çalışmada kullanılmıştır. SLS içeren diş macunu % 0,5; 1.0 ve 1.5 olmak üzere üç farklı konsantrasyonda, CAPB içeren diş macunu, % 0.64; 1.27 ve 1.90 olmak üzere üç farklı konsantrasyonda ve deterjan içeriği bulunmayan diş macunu deney gruplarını oluşturmuştur. Katılımcılar rastgele 7 gruba ayrılmış ve 10 gün boyunca her bir gruba farklı bir diş macunu ile günde 2 kez 2 dk boyunca diş fırçalaması yapmaları sağlanmıştır. 10 gün sonunda katılımcılar oral deskuamasyon açısından değerlendirilmeye alınmıştır. Toplamda 27 hastanın (1 hasta il değiştirdiği için çalışmadan çıkarılmıştır) 21'inde 45 ayrı bölgede deskuamasyon gözlenmiştir. Deskuamasyon bölgeleri, klinikte grimsi beyaz, jelatinimsi mukoza olarak

değerlendirilmiştir. Deskuamasyon alanlarının 42'si SLS içerikli diş macunu, diğer geriye kalan 3 bölge ise CAPB içerikli diş macunu ile ilişkili bulunmuştur. Deterjan içermeyen diş macunlarını kullanan hasta grubunda ise deskuamasyona rastlanılmamıştır (Herlofson ve Barkvoll 1996).

Shim ve ark. (2012) SLS'nin rekürrent aftöz stomatitler üzerindeki etkisini araştırmak için 90 hasta üzerinde çift kör randomize kontrollü klinik çalışma yapmışlardır. 90 gönüllü katılımcı 3 gruba ayrılmıştır. Katılımcılar en az 6 ay boyunca tekrarlayan aftlara sahip olan hasta grupları arasından seçilmiştir. Birinci gruba SLS içeren (SLS-A) ve SLS içermeyen diş macunları, ikinci gruba SLS içeren iki farklı diş macunu (SLS-A, SLS-B), üçüncü gruba ise SLS içeren (SLS-B) ve SLS içermeyen diş macunu kullandırılmıştır. Kullanılacak iki farklı diş macunu arasında hastaların daha önce çalışmaya katılmadan önce kullandıkları diş macunları 2 hafta süreyle kullandırılarak 2 haftalık bir ara dönem oluşturulmuştur. Klinik parametreler olarak ülser sayısına, ülserlerin tekrarlama sıklığına, ülserlerin ağızda kalma süresine ve ağrı duyusuna bakılmıştır. 1. grupta, SLS içermeyen diş macunu ile fırçalama sırasında hissedilen ağrı skoru, SLS-A ile fırçalama sırasında hastalar tarafından hissedilen ağrı skoru ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Diğer klinik parametrelerde ise istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır. 2. grupta, SLS içerikli SLS-A ve SLS-B olarak iki farklı diş macunu kullanan hastalarda değerlendirilen klinik parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. 3. Grupta, SLS içermeyen diş macunu ve SLS içeren SLS-B diş macunu kullanan hastalarda, SLS-B içerikli diş macunu kullanım periyodunda ülserlerin oluşma sıklığı ($p<0.022$), ülserlerin ağızda kalma süresi ($p<0.026$) ve ağrı skoru ($p<0.001$) açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar gözlenmiştir (Shim ve ark. 2012).

Moore ve ark. (2008) oral mukoza hücrelerinin farklı deterjan içerikli diş macunlarına verdikleri yanıtı in vitro olarak incelemişlerdir. Çalışmalarında TERT-1 keratinosit hücrelerini kullanmışlardır. Her bir diş macununu çeşitli konsantrasyonlarda hazırlayarak kültür ortamındaki hücreler üzerinde 2 dk boyunca bekletmişlerdir. Deterjan içerikleri SLS, Adinol, Tego Betain ve pluronik olan 4 farklı diş macunu çalışmada kullanılmıştır. PBS ve medyum kontrol grubu olarak çalışma gruplarına eklenmiştir. Hücrelerin deney gruplarına 2 dk'lık maruz kalmasından sonra hücreler

yıkanmış ve 24 saat yeni ortamda inkübe edilmiştir. Deney süreleri tamamlandıktan sonra, hücrelerin canlılığını değerlendirmek için hücreler üzerine MTT solüsyonu ilave edilmiştir. Hücre canlılığı MTT boyasının sadece canlı hücrenin mitokondrisine bağlanabilme ve formazon kristali oluşturabilme özelliğine dayanan MTT deneyi ile belirlenmiştir. Hücre canlılığının çok olduğu gruplarda MTT absorpsiyonunun çok fazla olması nedeniyle daha koyu bir renk izlenmiştir. Hücre ölümleri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Elde edilen verilere göre pluronik haricindeki deterjan içerikli diş macunu gruplarında hücre canlılığı artan konsantrasyonlarda pozitif kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin şekilde az bulunmuştur. Pluronik, etilen oksit ve propilen oksidin triblok kopolimerleri olan bir deterjandır. Bu kopolimer, yüksek hacimli reaktif alkalize edici bir ajan olarak tanımlanmaktadır. Yapılan bu çalışmada pluronik için elde edilen sonuçlar kontrol grubu ile kıyaslandığında hücre canlılığını artırdığını göstermiştir (Moore ve ark. 2008). Ancak Farooqi ve ark.'nın pluronik ajanların fare kemik iliği hücrelerine etkileri üzerine yaptıkları bir çalışmada, bu ajanların intraperitoneal olarak enjekte edildiğinde kromozomal sapmaları, mikronükleusları ve kardeş kromatit arası gen geçişlerini indüklediklerini bildirmişlerdir (Farooqi ve ark. 1993). Esas olarak, genotoksik ajanlar olarak bilinmelerine rağmen çalışma sonuçlarında elde edilen verilerde pluronik kopolimerlerin MTT testinde hücre canlılığını arttırıcı sonuç göstermeleri, bu ajanların mitokondriyal sistemdeki elektron taşıma zincirinin aktivitesinin azalmasına sebep olarak ölümcül olmayan bir oksidatif strese karşı mitokondri içindeki metabolik aktivitenin artmasına bağlı olduğu yorumunu yapmışlardır (Moore ve ark. 2008).

Pretty ve ark. (2003) deterjan içermeyen bir diş macunu ile deterjan içerikli bir diş macununun antimikrobiyal ve plak inhibisyon özelliklerini karşılaştırmışlardır. Deney grubu olarak deterjan içeriği olmayan zeytin yağ içeriği olan (Airlift, Madrid, Spain, Fluorid 1500 ppm) diş macunu ve kontrol grubu olarak deterjan içerikli (cocamidopropyl betaine) diş macunu kullanılmıştır. Yaşları ortalama 35 olan 20 hasta araştırmaya katılmıştır. Katılımcılar oral hijyeni yüksek, gingival sağlığı iyi durumda olan, ağızda sabit ya da hareketli protez bulunmayan, sistemik hastalık varlığı olmaya, ilaç kullanmayan, hamilelik durumu olmayan, klorheksidin kullanmayan ve son 6 ay içinde antibiyotik almamış olan hasta gruplarından seçilmiştir. Fırçalama sırasında, hastalara standart bir diş macunu ve düzenli oral hijyen ürünlerinin yerine kullanılmak üzere fırça verilmiştir. Her deney periyodunun başlangıcında (1.gün Pazartesi günü)

denekler çağırılmış ve PlaqueFinder (Pro-Dentec, Rota-Dent, Cambridge UK) boya ile plak gözle görünür hale getirilmiştir. Plağı ortadan kaldırmak için hastalara profilaksi uygulanıp plak varlığı ortadan kaldırılmıştır. Bunu takiben, katılımcılara ilk diş macunu verilmiş ve 1 dakika boyunca Pazartesi öğleden sonra ve Cuma öğleden sonraya kadar her gün 2 kez fırçalamaları sağlanmıştır (toplam 10 kez fırçalama). Bu süre zarfında başka herhangi bir oral hijyen ürününü kullanmamaları talimatı verilmiştir. Fırçalama işlemleri sabah 8.00 ile 9.00, öğleden sonra 16.30 ile 17.30 arasında standartize edilmiştir. 5. gün (Cuma), katılımcılar çağırılmış ve plak, Quigley ve Hein plak indeksinin modifikasyonu kullanılarak hem bukkal hem de lingual yüzeylerde tekrar değerlendirilmiştir. Planimetrik plak analizi için üst ve alt altı ön dişin dijital fotoğrafları çekilmiştir. Daha sonra 9 günlük bir aradan sonra araştırmanın ikinci safhası başlamıştır ve ikinci diş macunu hastalara aynı protokoller doğrultusunda kullanırılmıştır. Planimetrik analiz, görüntü analiz paketi (Scion Image, Scion Corporation, ABD) kullanılarak tek bir muayene uzmanı tarafından yapılmıştır. Her diş ayrı ayrı seçilmiş ve plak alanı piksel seviyesinde hesaplanmıştır. Elde edilen istatistiksel değerlere göre zeytin yağı içerikli diş macununun plak inhibisyonunu deterjan içerikli diş macunundan anlamlı olarak daha fazla arttırdığı belirtilmiştir. Sonuç olarak plak kaldırılmasına yardımcı olduğu düşünülen zeytinyağı içeren diş macunun, sodium lauryl sulfate (SLS) yokluğunda plak inhibisyonunun etkinliğini etkilemediğini ve ayrıca zeytin yağının tükürük pütrefaksiyon sistemi ürünleri olan volatil sülfid ve 2-ketobütiratı azaltarak ağız kokusunun oluşumunu azalttığını bildirmişlerdir (Pretty ve ark. 2003). Ayrıca yağların diş macunlarına ve ağız gargaralarına katılmasının, diş üzerindeki pelikula bakteri yapışmasını azaltarak plak inhibisyonunu artırdığı Moran ve ark. tarafından da belirtilmiştir (Moran ve ark. 2001).

Rantanen ve ark. (2003) sodium lauryl sulfate (SLS) yanında betain içeren ve betain içermeyen diş macunu formülasyonlarının insan oral mukozasındaki etkilerini in vivo olarak incelemişlerdir. Sonuçlar, SLS içermeyen bir diş macununun etkisi ile karşılaştırılmıştır. 20 kişi çift kör, çapraz klinik çalışmaya katılmıştır. % 1.2 SLS, % 1.2 SLS ve % 4 betain ve % 4 betain içeren diş macunları bir test odasında bukkal mukoza üzerine yerleştirilmiş ve 15 dakika yerinde tutulmuştur. Mukozanın durumu görsel olarak ve 45 dakikaya kadar elektriksel empedans (EI) kullanılarak incelenmiştir. SLS içeren diş macunlarının, hem mukozanın görünümü hem de EI ölçümleri değerlendirildiğinde mukozada, tahriş edici bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

SLS içermeyen diş macunu ise (sadece betain içeren) mukozada belirgin bir tahriş göstermemiştir. İki bileşeni birlikte içeren diş macununda ise betain, SLS'nin mukoza tahriş edici etkisini azaltamamış, bununla birlikte mukoza tahriş edici etkisi SLS içeren diş macunu ile yakın bulunmuştur (Rantanen ve ark. 2003).

Bruun ve ark. (1987) NaF ve MFP içerikli diş macunlarının içerisinde yer alan tatlandırıcıların ve deterjanların, diş fırçalama işleminden sonra tükürükteki florür varlığı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çeşitli bileşenlerden oluşan belirli diş macunları oranlarıyla diş fırçalanmasının ardından 60 dakika sonrasına kadar çalışmaya katılan 13 kişiden farklı zamanlarda tükürük örnekleri toplanmıştır. Tüm tükürükteki florürün varlığı Weibull fonksiyonunun uygulanması ile verilerin doğrusallaştırılmasından sonra eliminasyon eğrileri altındaki alanlar (AUC) açısından belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda deterjan içeriğinin MFP'nin intraoral hidrolizi üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Bruun ve ark. 1987).

Melsen ve ark. (1983) sodium lauryl sulfate'ın, topikal uygulama sırasında sodyum monoflorofosfat ile birlikte kullanıldığında florürün karyostatik etkisini azaltabileceğini göstermişlerdir. Yaptıkları in vitro çalışmada asitlenmiş mine tabakası üzerine topikal olarak 2 günde bir, % 3 sulandırılmış sodyum mono flurofosfat solüsyonuna % 2 sodium lauryl sulfate eklenmesiyle oluşan solüsyonu uygulamışlardır. Sodium lauryl sulfate ile kombinasyon halinde olan sodyum florür preperatının asitlenmiş mine üzerine topikal uygulama sonrası florürün in vitro çökmesini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda sodium lauryl sulfate'ın mine tarafından alınan florür miktarını azalttığını belirtmişlerdir. Buna bağlı olarak da SLS'nin çürük önleme potansiyelini önemli ölçüde azalttığı ileri sürülmüştür. Bu durumun, oral kavitede bulunan monofluorofosfat molekülünden serbest florür açığa çıkartan denatüre edici bakteriyel enzimlerin SLS tarafından inhibe edilmesinden dolayı kaynaklanabileceği literatürlerde belirtilmiştir (Barkvoll 1991; Melsen ve Rølla 1983).

Salzer ve ark. (2016) (randomize kontrollü çift kör) yaşları 18 ile 34 arasında değişen orta derecede diş eti iltihabı bulunan (sondamada kanama değerleri % 40-70 arasında değişen) 120 hasta üzerinde SLS içeren ve içermeyen iki farklı diş macununun gingivitis, plak skorları ve gingival abrazyon üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Rastgele seçime bağlı olarak, bir grup dişlerini SLS içermeyen diş macunu, diğer grup

SLS içeren diş macunu ile 8 hafta boyunca fırçalamışlardır. Deney sonunda gingival inflamasyon marjinal sondalamada kanama (BOMP) ile belirlenmiş, BOMP başlangıçta ortalama 0.80 iken, SLS içermeyen grupta 0.60'a, SLS içeren grupta 0.56'ya yükselmiştir. Plak ölçümü ise Modifiye Quigley-Hein Index'ine göre diş yüzeyinin 6 noktasından ölçüm yapılarak 0-5 skorları kullanılarak belirlenmiştir. Son olarak da gingival abrazyonu ölçmek için Mira Ton Blue kullanılarak abrazyon alanlarının maviye boyanması sağlanmış ve mavi abrazyon alanları PQ-William's periodontal sonda ile ölçülerek 2 mm'ye eşit ve altındaki ölçümler küçük, 3 mm'ye eşit ve 5 mm'ye kadar olan ölçümler orta, 5 mm'den büyük ölçümler ise geniş abrazyon alanlarını belirtmek için kullanılmıştır. Sonuç olarak gruplar arasında BOMP, plak ve diş eti aşınması yönünden istatistiksel bir fark bulunmamıştır. SLS içermeyen diş macununun diş eti kanaması ve plak skorlarında SLS içerikli diş macunu kadar etkili olduğu, rekürrent aftöz ülserli hastalarda SLS yokluğunun yararlı bile olabileceği belirtilmiştir (Salzer ve ark. 2016).

Cvikl ve ark. (2015) dört farklı deterjan içeren 9 diş macununun in vitro sitotoksitesini incelemişlerdir. Diş macunları, serum içermeyen ortamda seyreltilmiş, santrifüje konulmuş ve filtre ile sterilize edilmiştir. Elde edilen diş macunu solüsyonlarının gingival fibroblastlar, oral skuamöz hücreli karsinoma HSC-2 hücreleri ve L929 hücreleri üzerindeki yarı letal doz konsantrasyonları hesaplanmıştır. Hücre çoğalması analiz edilmiş ve hücreler % 1 diş macunu ile hazırlanan solüsyona (% 1 TCM) maruz kaldıktan sonra canlı ve ölü hücreler için boyama yapılmıştır. Sodium lauryl sulfate ve amin florür içeren diş macunlarının, yaklaşık % 1 diş macunu ile hazırlanan solüsyonlar (%1 TCM) ile yarı letal doz konsantrasyonla hücre canlılığının büyük oranda inhibe edildiği ortaya konulmuştur. Cocamidopropyl betaine ve Steareth-20 içeren diş macunlarının yarı letal doz konsantrasyonun, sırasıyla % 10 (% 10 TCM) ve % 70 (% 70 TCM) diş macunu ile hazırlanan solüsyonlarla elde edildiği ve daha yüksek yarı letal doz konsantrasyon değerleri gösterdiği bildirilmiştir. Proliferasyon testleri ile birlikte ölü canlı hücre analizleri bu veriler ile tutarlılık göstermiştir. Bu sonuçlar, diş macunu içeriğinde yer alan deterjan türünün in vitro hücre toksitesindeki değişikliklerle ilişkili olduğunu öne sürmüştür (Cvikl ve ark. 2015).

Cvikl ve ark. (2017) 12 yaşına kadar kullanılabilen 17 farklı çocuk diş macununun, diş eti fibroblastları, oral squamöz hücreli karsinoma HSC-2 hücreleri ve

L929 fare fibroblastları üzerindeki sitotoksitesini değerlendirmişlerdir. Hücreler üzerindeki yarı letal doz konsantrasyonu (LC50) hesaplanmış, 10 çocuk diş macununun (Dontodent 6+, Mentadent Kids -6, Candida -6, Theramed 6+, Elmex® 6+, Colgate® -6, Dontodent -6, Odol-med3® 6+, Candida 6+ ve Odol-med3® -6) LC50 değerleri % 5'in altında, 4 çocuk diş macununun (Elmex® -6, Odol-med3® -5, Nenedent®baby -2 ve Nenedent® -6) LC50 değerleri % 5-20 arasında orta düzeyde bir sitotoksite gösterirken, 3 çocuk diş macununun (Sensodyne® 6+, Theramed -6 ve Blendi -6) LC50 değerleri % 95'in üzerinde tespit edilip neredeyse hiç sitotoksite göstermediği belirtilmiştir. Bu değerlerin hesaplanmasından sonra diş macunu solüsyonları ile 2 dk boyunca stimüle edilen hücrelerin canlılığına MTT testi ile bakılıp LC50 bulguları bu sonuçlarla desteklenmiştir. MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5- diphenyltetrazolium bromide, 0.5 mg/ml, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) ile hücrelerin mitokondriyal aktiviteleri incelenmiş, NAD(P)H-bağımlı oksidoredüktaz tarafından oluşturulan ve dimetil sülfoksit içinde çözülmüş olan formazan kristallerinin optik yoğunluğunun bir mikropilaka okuyucu ile ölçülmesiyle hücre canlılığı tespit edilmiştir. Hücre proliferasyonu ise BrdU (5-bromo-2'-deoxyuridine) kiti kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen proliferasyon sonuçları da diğer test sonuçlarını destekleyici bulgular vermiştir. Bu çalışmada, sodium lauryl sulfate (SLS) içeren diş macunları % 5'in altında LC50 değerleri sergilemiştir ve bu durum yetişkin diş macunları verileri ile uyumlu bulunmuştur. Bununla birlikte, çoğu çocuk diş macununun farklı deterjanlar içerdiği görülmüştür. Cocamidopropyl betaine (CAPB), çocuk diş macunlarında yüksek oranda tercih edilen başka bir deterjan türü olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmada, CAPB, en yüksek LC50 değerlerini gösteren üç çocuk diş macunu içerisinde yer alan tek deterjandır, ancak başka bir deterjanla kombine kullanıldığında, LC50 değerinin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (Cvikl ve ark. 2017).

Bu çalışmada, gömük 20 yaş dişlerinden izole edilerek 3. pasaja gelen PDLMKH, GMKH ve diş eti epitel hücreleri, 4 farklı konsantrasyonda hazırlanmış Colgate, Sensodyne, Splat, Nenedent, Perlodent diş macunu solüsyonları ve CDMEM kontrol grubu ile 2 dk boyunca stimüle edilerek 3. gün sonunda hücre tiplerinin akım sitometri ile hücre canlılık oranları değerlendirilmiştir. Diğer çalışmalarda yalnızca diş eti epitel ve fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkiler araştırılırken bu çalışmada diş eti epitel hücreleri yanında kök hücreler üzerindeki sitotoksik etkiler de incelenmiştir. Özellikle diş macunu içerisindeki deterjanların oral mukozada diş eti

dokusunun lamina propria gibi daha derin dokularına penetre olabileceği bildirilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda periodontal dokulardaki hasarların onarımında ve rejenerasyonunda büyük öneme sahip GMKH ve PDLMKH'lerinin de farklı deterjan içerikli diş macunlarındaki canlılık oranları epitel hücrelerinin yanında ayrıca değerlendirilmiştir. Periodontal doku hastalıklarında enfeksiyon nedeniyle oral mukoza geçirgenliğinde ayrı bir artış olmakta ve bu durumda kullanılan diş macunu daha derin dokulara daha kolayca penetre olabilmektedir. Bu nedenle bu durumlarda periodontal dokuların onarımının sağlanması mezenkimal kök hücrelere olumsuz etkisi olmayan diş macunu içeriklerinin kullanılmasının daha da önemli olacağı düşünülmektedir. Ayrıca diğer çalışmalardan farklı olarak canlılık oranları dışında erken apoptotik, geç apoptotik ve nekrotik hücre oranları da çalışmamızda incelenmiştir.

Canlılık oranlarının konsantrasyonla olan ilişkisine bakıldığında genel olarak tüm gruplarda konsantrasyon artışıyla birlikte canlı hücre oranlarında anlamlı derecede azalma saptanmıştır. % 0,4'lük konsantrasyondaki hücre canlılık oranı tüm deney gruplarında fazla olup % 80'lik konsantrasyonda ise deney gruplarındaki hücre canlılık oranı en düşük bulunmuştur.

Aynı konsantrasyondaki farklı deney grupları tüm hücre tiplerinde karşılaştırıldığında hücre canlılık oranları açısından farklılık görülmektedir. SLS içerikli Colgate deney grubu 4 farklı konsantrasyonda da canlı hücre oranları bakımından diğer gruplardan anlamlı derecede düşük değere sahiptir. En yüksek canlılık oranı genel olarak kontrol grubunda bulunurken, diş eti epitel hücrelerinde ve GMKH tipinde % 0,4 konsantrasyondaki canlılık oranlarında kontrol grubu ve deterjan içeriği olmayan Splat deney grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. % 0,4'lük konsantrasyonda hücre canlılığı açısından Splat ve kontrol grubu genel olarak birbirine yakın oranlara sahiptir. Diğer tüm konsantrasyonlarda kontrol grubundan sonra en iyi canlılık oranlarını gösteren deney grubu deterjan içeriği olmayan Splat diş macunu grubu olup, bunu CAPB deterjan içerikli Sensodyne deney grubu takip etmektedir. Nenedent ve Perlodent deney grubunda ise bazı konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmasına rağmen ortalama canlılık değerleri birbirine yakın bulunmaktadır. Bu iki deney grubu Colgate deney grubundan daha iyi canlılık oranlarına sahip olmasına rağmen diğer gruplardan daha düşük canlı hücre değerleri göstermektedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz canlılık değerleri farklı deterjan içerikli diş macunlarının hücreler üzerindeki etkilerinin incelendiği Cvıkl ve ark. (2015)'nın çalışmasıyla benzer bulunmuştur. Cvıkl ve ark.'nın çalışmasında devamlı hücre hatları kullanılmış ve farklı deterjan içerikli çocuk diş macunlarının HSC-2 ile L929 hücre hatlarındaki yarı letal doz konsantrasyonu hesaplanmıştır. En düşük yarı letal konsantrasyonu SLS içerikli diş macunlarında tespit edilirken, en yüksek yarı letal doz konsantrasyonları CAPB ve Streath-20 içeren diş macunlarında görülmüştür. Ayrıca % 0,3 ile % 72 konsantrasyonlar arasında değişen farklı konsantrasyonlardaki hücre canlılığı MTT testi ile analiz edilmiş ve hücre canlılığı CABP ve Streath-20 içeren grupta yüksek bulunurken, SLS ve amin florür içerikli diş macunlarında hücre canlılığı düşük tespit edilmiştir. Civkl ve ark. (2017) çocuk diş macunları ile yaptıkları başka bir çalışmada gingival fibroblastlar üzerinde yarı letal doz konsantrasyonunu hesaplamışlar en yüksek yarı letal doz konsantrasyonu sadece CABP içerikli diş macunlarında elde edilmiştir. Bu çalışmada da SLS içerikli Colgate deney grubunun % 20'lik konsantrasyonda tüm hücre tiplerindeki canlı hücreleri yaklaşık % 50 oranında azalttığı, CAPB içerikli Sensodyne grubunun ise % 80'lik konsantrasyonda canlı hücreleri yaklaşık % 50 oranında azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca aynı konsantrasyondaki farklı deney gruplarının canlılık değerleri açısından karşılaştırılmasında genellikle SLS içerikli Colgate deney grubunda canlı hücre oranları diğer gruplar arasında anlamlı derecede düşük olarak tespit edilmiştir.

Aynı konsantrasyondaki aynı deney grubundaki diş macunu solüsyonları farklı hücre tiplerindeki canlı hücre oranları bakımından karşılaştırıldığında genel olarak hücre canlılığı diş eti epitel hücrelerinde daha fazla bulunurken, PDLMKH tipi ise diğer hücre tiplerine göre diş macunu solüsyonlarından daha fazla etkilenerek en düşük hücre canlılığını gösteren grup olmuştur. Bu sonuçlardan yola çıkarak ve diş macunu içerisindeki deterjanların derin dokulara penetrasyonunun oral mukozada daha fazla olduğu göze alınarak, periodontal doku hasarı bulunan hasta grubunda onarımdan sorumlu PDLMKH'leri üzerine daha az negatif etkiye sahip diş macunu seçimi alternatif olarak düşünülebilmektedir.

Farklı deterjan içerikli çocuk diş macunlarının hücreler üzerindeki toksik etkisinin incelendiği çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz oranlarının ayrıca incelendiği her hangi bir çalışmaya ise rastlanmamıştır.

Ayrıca genelde hücre hatları ile çalışılmış olup primer mezenkimal kök hücreler üzerindeki canlılık oranlarının değerlendirildiği ve farklılaşma potansiyeline etkilerinin incelendiği başka bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular detaylı olarak tartışılmamıştır.

Ölü hücre oranlarının da değerlendirildiği bu çalışmada, konsantrasyon artışına bağlı olarak deney gruplarının kendi içinde erken apoptotik, geç apoptotik ve nekrotik hücrelerdeki oranların konsantrasyonla ilişkili olarak arttığı tespit edilmiştir.

Diş eti epiteli, PDLMKH ve GMKH tipleri aynı konsantrasyondaki aynı deney grubundaki ölü hücre oranları karşılaştırıldığında, PDLMKH tipinde genellikle erken apoptotik hücre oranları diğer hücre tiplerinden daha yüksek bulunurken, GMKH tipinde geç apoptotik hücre oranları, diş eti epitel hücrelerinde ise nekrotik hücre oranları daha yüksek tespit edilmiştir.

Gruplar arası karşılaştırmalarda erken apoptotik, geç apoptotik ve nekrotik hücre oranları açısından en yüksek değeri genellikle Colgate grubu gösterirken, Splat ve kontrol grubu genel olarak hücre ölüm tipi oranları bakımından birbirine benzer değerlere sahiptir.

Literatürde diş macunlarının hücreler üzerindeki etkileri sadece canlı hücre oranları bakımından incelenmiştir. Ancak diş macunları içerisindeki triklosanın ve sigaranın diş eti epitel hücrelerinin apoptozuna neden olduğunu belirten çalışmalar vardır (Semlali ve ark. 2011; Zuckerbraun ve ark. 1998).

Bu çalışmalarda apoptotik hücrelerin artışı Bax proteinlerinde meydana gelen artışla ilişkilendirilmiş olup, Bax artışı ve Bcl-xL inhibisyonu yoluyla gingival epitelyal hücrelerdeki apoptoz/nekrozun modüle edildiği gösterilmiştir. Bax artışının ve Bcl-xL düşüşünün, mitokondriyal apoptoz yolundaki proapoptotik ve antiapoptotik dengenin bozulmasıyla gingival epitel hücre apoptozunun modülasyonunda rol oynadığı öne sürülmüştür (Semlali ve ark. 2011; Zuckerbraun ve ark. 1998)

Bu çalışmada da SLS nin hücre proteinlerinde denatürasyona sebebiyet vermesi ile hücre geçirgenliği arttırdığı göz önüne alındığında hücreler arası geçiş porlarının açılması sonucu Bax'ın mitokondriye aktivasyonu ve translokasyonu ile apoptozu indükleyen proteinlerin sitozol içine salınmasına neden olabileceğini ve sonuçta apoptoz/nekroz mekanizmalarını uyarabildiğini düşünmekteyiz.

Gingival epitel hücrelerdeki apoptoz ve nekroz mekanizmalarının uyarılmasının periodontal yara iyileşmelerini engelleyebileceği ya da iyileşme sürecini uzatacağı bildirilmektedir (Semlali ve ark. 2011).

Diş eti epiteli ağız boşluğunun toksik ajanlar ve periodontopatojenler gibi bakterilere karşı ilk savunma hattını oluşturmaktadır. Dış ortama karşı koruyucu fizikokimyasal bariyer olarak işlevine ek olarak, oral epitel, sıvı ve iyon taşınımı düzenleme, mukus üretimi, doğal ve adaptif bağışıklığın yanı sıra enflamasyon, hücre göçü, onarım süreçleri gibi bir dizi metabolik ve immünolojik role sahiptir. Bu fonksiyonlar mukozal homeostazın korunmasında önemlidir. Bu sebeple epitel hücrelerindeki apoptotik yolların uyarılmasıyla epitel ve mezenkimal hücre proliferasyonunun inhibe edilmesi hücre göçünü ve yara iyileşmesini engelleyebilmektedir (Rouabhia 2002; Weindl ve ark. 2010, Bahri ve ark. 2010).

Bu çalışmada SLS içerikli diş macununun apoptotik ve nekrotik hücre oranlarında artışa neden olmasının periodontal hastalıkların ve oral aftöz ülserlerin iyileşme süresini geciktirebileceğini, yara iyileşmesini olumsuz etkileyebileceğini düşündürmektedir. Shim ve ark. yaptıkları çalışmada SLS içerikli diş macunlarının oral aftöz ülserlerin iyileşmesinde negatif etkiye sahip olduklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmadaki SLS içerikli diş macunu grubundaki ölü hücre oranları göz önüne alındığında, Shim ve ark.'nın çalışma sonuçlarındaki SLS içerikli diş macunlarının oral aftöz ülserlerin iyileşme süresini negatif etkileyebildiklerini, ülserlerin tekrarlama sıklığını arttırdıklarını öne sürmeleri iki çalışmanın birbirini destekleyebilir nitelikte olduğunu düşündürmektedir (Shim ve ark. 2012). Bu çalışmalar göz önüne alındığında epitel hücrelerinde ölü hücre oranlarının artmasına neden olabilecek deterjan çeşidine sahip diş macunlarının özellikle periodontal sorunlu hastalarda ilk seçenek olarak tavsiye edilmemesi kanısına varabiliriz.

Literatürde fizyolojik olarak, kemik oluşum mekanizmasında mezenkimal kondensasyonlar için MSC birikiminin rol oynadığı belirtilmektedir. Kemikte meydana gelen küçük defektlerde kondroblastlar, osteoblastlar, endotelyositler ve fibroblastlar da dahil olmak üzere o bölgenin yakınında bulunan hücreler ve MSC lerin farklılaşmasıyla o bölgeye göç eden hücreler etkilenmiş dokunun iyileşmesinde rol oynamaktadır (Gronthos ve ark. 2000; Hall ve Miyake 2000). Onarımın ötesinde gelişen büyük

defektlerde ise kök hücre tedavisinin kemik rejenerasyonunda bir seçenek olabileceği bildirilmiştir.

Yapılan in vitro kök hücre çalışmalarında çeşitli kimyasal ve büyüme faktörlerinin etkileriyle bu hücrelerin farklılaşma yönündeki potansiyelleri gösterilmiştir (Dimitriou ve ark. 2011).

Bunlara ek olarak kök hücrelerin eşsiz ve dinamik moleküller içerdikleri ve toksik ilaç ya da maddelere maruz kalma sonucu bu moleküllerin hücre içi seviyelerini değiştirebileceği, bu durumun da potansiyel gelişimsel bozukluklar ile sonuçlanan biyolojik değişimler dizisine sebep olabileceği bildirilmiştir (Davila ve ark. 2004; Kang ve Trosko 2011).

Bu çalışmada diş macunlarının ağız içi dokulardaki hücre canlılığı üzerindeki etkilerinin yanında, diş eti ve periodontal dokulardaki küçük defektlerin onarımının devam etmesi için mezenkimal kök hücrelerin özellikle osteojenik ve kondrojenik farklılaşmaları üzerinde de negatif yönde etki yaratmaması gerektiği düşünülmektedir. Özellikle sistemik hastalıkların varlığına bağlı ya da hastalıklardan bağımsız olarak gelişen diş eti ve periodontal hastalığı bulunan çocuklarda diş macunu ile fırçalama sırasında mezenkimal kök hücrelerin farklılaşma potansiyelerinde yarattıkları negatif etkilerin tedavi prognozunu olumsuz etkileyerek var olan diş eti problemlerinin şiddetini arttırabileceği ön görülmektedir. Bu nedenle kullanılan diş macunlarının sitotoksik etkileri yanında MKH'ların farklılaşmalarına olan etkileri ile meydana gelecek biyolojik değişimler de önem taşımaktadır.

Osteojenik farklılaşma fibroblastik içi şeklindeki hücrelerin erken dönemlerde kübik, poligonal forma dönüşmesi ile morfolojik olarak ayırt edilebilmektedir (Coelho ve Fernandes 2000). Osteojenik farklılaşmanın belirlenmesinde sıklıkla kullanılan erken dönem belirteçleri alkalen fosfotaz ve tip I kollajen olarak tanımlanırken, geç dönem belirteçleri ise osteopontin, osteonektin ve osteokalsin seviyeleri olarak bildirilmiştir (Lin ve ark. 2011).

Osteojenik farklılaşmanın belirlenmesinde farklılaşmış hücrelerden sentezlenen alkalen fosfataz enziminin ölçülmesinin yanı sıra Alizarin-Kırmızısı ya da Von Kossa boyaması ile farklılaşmış hücrelerden sentezlenen kalsiyum birikintilerinin kantitatif ölçümü kolorimetrik yöntemler kullanılarak da gerçekleştirilmektir. Ayrıca osteojenik farklılaşma için osterix, Cbfa-1, osteopontin, osteokalsin gibi yüzey

markerlarının immünohistokimyasal yöntemlerle belirlenmesi ya da gen aktivite düzeylerinin PCR ile analizi yöntemlerinin kullanıldığı literatürlerde belirtilmiştir (Jaiswal ve ark. 1997; Pittenger ve ark. 1999)

Yapılan osteojenik farklılaşma çalışmalarında genellikle kalsiyum şelatlarını oluşturan hücreler boyanarak farklılaşma potansiyelleri değerlendirilmiştir. Sıklıkla Alizarin-Kırmızı boyama tekniği kullanılmış ve kalsiyum şelasyonları histolojik olarak gösterilmiştir (Mitrano ve ark. 2010; Tomar ve ark. 2010, Wang ve ark. 2012). Alizarin boyama tekniğindeki gibi kalsiyum birikintilerinin boyanmasının yanı sıra fosfat ve karbonat iyonlarının da boyanmasını sağlayan Von Kossa tekniğinin çalışmalarda kullanılmasına rağmen, bazı literatürlerde Alizarin-Kırmızı boyama tekniğinin daha hassas bir yöntem olduğundan dolayı daha fazla tercih edildiği bildirilmiştir (Puchtler ve ark. 1969, Bonewald ve ark. 2003).

Bu çalışmada PDLMKH ve GMKH'ler farklı deterjan içerikli % 0,4'lük dış macunları solüsyonlarına 2 dk boyunca maruz kaldıktan sonra hücreler osteojenik farklılaşma besiyeri ile 3 hafta boyunca stimüle edilmişler ve 3 hafta sonunda deney gruplarının osteojenik farklılaşma potansiyelleri Mitrano ve ark. (2010), Seo ve ark. (2004), Tomar ve ark. (2010), Wang ve ark. (2012), Yao ve ark. (2008), Nagatomo ve ark. (2006), Frasheri ve ark. (2016), Sonoyama ve ark. (2008), Collado-Gonzalez ve ark. (2017), Jin ve ark. (2014)'nın çalışmalarındaki gibi Alizarin-Red boyaması ile yapıp boyamalar histolojik olarak mikroskopta değerlendirilmiştir.

Kondrojenik farklılaşmada kök hücrelerin kontrositlere farklılaşması ve farklılaşan hücrelerin ekstrasellüler matriks üreterek ortaya çıkan proteoglikanların varlığı boyama yöntemleri ile histolojik olarak incelenebilmektedir. Kondrojenik farklılaşmanın belirlenmesinde kullanılan kondrositlerin spesifik boyalarla boyama yönteminin yanı sıra PCR yöntemi ile COL2A1, COL10A1 ve SOX9 gibi kondrositlere özgü spesifik markerların tespit edildiği yöntemlerde çalışmalarda belirtilmektedir (Park ve ark. 2014; Luisi ve ark. 2017; Isobe ve ark. 2015; Ghaderi ve ark. 2018).

Kondrojenik farklılaşma potansiyelinin belirlenmesinde maliyetin PCR yöntemlerine göre daha uygun olması nedeniyle çalışmalarda sıklıkla kullanılan yöntemler boyama yöntemleridir. Alcian Blue ile boyama literatürlerde en sık kullanılan boyama yöntemlerinden biridir. Bunun yanı sıra Safranin-O ve Toluidine Blue ile boyama da bazı çalışmalarda kolorimetrik yöntemler olarak kondrojenik farklılaşmanın

belirlenmesinde kullanılmıştır (Moshaverinia ve ark. 2013; Nikolic ve ark. 2011; Isobe ve ark. 2015; Ghaderi ve ark. 2018).

Bu çalışmada PDLMKH ve GMKH'ler farklı deterjan içerikli % 0,4'lük diş macunları solüsyonlarına 2 dk boyunca maruz kaldıktan sonra hücreler kondrojenik farklılaşma besiyeri ile 3 hafta boyunca stimüle edilmişler ve 3 hafta sonunda deney gruplarının kondrojenik farklılaşma potansiyelleri Luisi ve ark. (2017), Jin ve ark. (2014), Park ve ark. (2014), Telles ve ark. (2016), Alvarez ve ark. (2015)'nın çalışmalarındaki gibi Alcian Blue boyaması ile yapıp boyamalar histolojik olarak mikroskopta değerlendirilmiştir.

Yapılan literatür incelemesinde diş macunlarının insan mezenkimal kök hücrelerin farklılaşma potansiyeli üzerine olan etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak ağız bakım ürünlerinde sıklıkla kullanılan triklosan (TCS)'nin mezenkimal kök hücrelerin adipojenik farklılaşmalarına etkilerinin incelendiği birkaç çalışma yapılmıştır (Wiaderkiewicz ve ark. 2007; Schmid ve ark. 2005).

Wiaderkiewicz ve ark. (2007) yaptıkları in vitro çalışmada preadiposit 3T3-L1 fare hücre hatları üzerinde ve Sprague-Dawley sıçanları ile yaptıkları in vivo çalışmada TCS'nin hücreler üzerine etkilerini incelemişler ve adiposit farklılaşmanın inhibe olduğunu belirtmişlerdir (Wiaderkiewicz ve ark. 2007).

Bu çalışmalarda kemirgen modelleri üzerinde çalışıldığı için insan kök hücrelerinin bu kimyasallara karşı farklı hassasiyet sergileyebileceği düşünülmektedir. Schmid ve ark. (2005) insan kök hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmada ise TCS nin hMSC'lerin differansiasyonunu inhibe ettiklerini, hem morfolojik hem moleküler düzeyde önemli değişikliklere yol açtığını göstermişlerdir. Ayrıca adipojenaz ile ilişkili birkaç farklılaşma markerının da önemli derecede azaldığını bildirmişlerdir (Schmid ve ark. 2005).

Guo ve ark. (2012), in vitro larak TCS'nin hMSC'ler üzerine olan etkilerini incelemişler, yüksek konsantrasyonda bu maddenin sitotoksik olduğu için 3 günden sonra hücrelerin çoğunda apoptoz olduğu için farklılaşma deneylerini en düşük konsantrasyondaki TCS ile planlayıp, adipojenik farklılaşmada inhibisyon olduğunu göstermişlerdir (Guo ve ark. 2012).

Bu çalışmada PDLMKH ve GMKH tiplerinin farklı diş macunu solüsyonları ile 2 dk boyunca stimüle edilmesinden sonra hem osteojenik hem de kondrojenik farklılaşma potansiyelindeki değişimler incelenmiştir. Canlılık deneylerinde kullanılan 4 farklı konsantrasyondan en düşük konsantrasyondaki diş macunu solüsyonları Guo ve ark.'nın çalışmasında olduğu gibi farklılaşma deneyleri için deney grubunu oluşturmuştur. Ayrıca canlılık deneylerindeki canlı hücre oranları göz önüne alındığında bazı gruplarda hücre canlılığının konsantrasyonun arttığı oranda azalması da düşünülerek farklılaşma deneylerinde canlı hücre oranlarının birbirine en yakın olduğu en düşük konsantrasyon seçilmiştir.

Her iki hücre tipinde osteojenik farklılaşma potansiyeli değerlendirildiğinde SLS içerikli Colgate diş macunu solüsyonunun hücrelerin osteojenik farklılaşmasını inhibe ettiği görülmüştür. Osteoblast benzeri hücrelerin ve kalsiyum depozitlerinin varlığına rastlanmamıştır. Bu deney grubunda hücrelerin osteojenik olarak farklılaşmamaları hücreler arasındaki adezyonun bozulmasıyla ve canlı hücre oranlarının 3 haftalık farklılaşma süresince azalmasıyla açıklanabilmektedir. Ayrıca deney aşamalarında Colgate deney grubunda SLS içeriğinden kaynaklandığı düşünülen aşırı köpürme özelliğinden dolayı kök hücrelerin plastisite özelliklerini olumsuz etkilediği ve bunun da hücreler arasındaki adezyonu azaltıp apoptotik hücre oranını arttırdığını düşünmekteyiz.

CAPB içerikli Sensodyne deney grubunda CDMEM ve Splat deney gruplarına oranla az olmasına rağmen osteoblast benzeri hücre varlığı ve kalsiyum birikintileri gözlenmiştir. Perlodent ve Nenedent deney grubunda ise hücre adezyonunda meydana gelen kopmalara bağlı olarak ölü hücre oranlarının arttığı az miktarda farklılaşmış hücre gruplarının ve kalsiyum birikintilerinin olduğu görülmüştür.

Kondrojenik farklılaşma potansiyeli değerlendirildiğinde SLS içerikli Colgate diş macunu solüsyonu ile birlikte anyonik deterjanlar sınıfında yer alan sodium lauryl sarcosinate içeren Nenedent diş macunu solüsyonu ve sodium C14-C16 olefin sulfanate içeren Perlodent diş macunu solüsyonunun her iki hücre tipinde de kondrojenik farklılaşmayı inhibe ettiği görülmüştür. Bu üç deney grubunda kondroblast benzeri hücrelerin ve proteoglikanların varlığına rastlanmamıştır. Bu deney grubuplarında hücrelerin kondrojenik olarak farklılaşmamaları hücreler arasındaki adezyonun bozulmasıyla açıklanabilmektedir. Ayrıca köpürtücü özelliği yüksek olan anyonik

deterjan içeriğine sahip bu 3 deney grubunda köpürme özelliğinden dolayı hücrelerin adezyonunda bozulmalara yol açtığı düşünülmektedir. Hücre adezyonunda meydana gelen kopmalara bağlı olarak ölü hücre oranlarının arttığı görülmektedir.

CAPB içerikli Sensodyne deney grubunda CDMEM ve Splat deney gruplarına oranla az olmasına rağmen kondroblast benzeri hücre varlığı ve proteoglikanların varlığı gözlenmiştir. Amfoterik bir deterjan olan CAPB'nin köpürtücü özelliğinin az olmasından ve hücre düzeyinde SLS gibi toksik özelliklere sahip olmamasından dolayı hücre adezyonunda çok büyük olumsuzluklara sebebiyet vermediği sonucuna varabilmekteyiz. Bu çalışmada elde ettiğimiz veriler, CAPB'nin SLS ile kıyaslandığında daha biyouyumlu olduğunu, tahriş edici etkisinin daha az olduğunu ve hücre canlılığı oranlarına etkisinin daha olumlu olduğunu öne süren çalışmaların sonuçlarıyla tutarlılık göstermektedir (Cvikl ve ark. 2015; Cvikl ve ark. 2017; Rantanen ve ark. 2013).

SONUÇLAR

Farklı deterjan içeriğine sahip çocuk diş macunlarının 4 farklı konsantrasyonda hazırlanarak primer diş eti epiteli, diş eti mezenkimal kök hücreleri ve periodontal ligament kök hücreleri ile 2 dk boyunca stimüle edilmesinden sonra flow sitometri ile canlı ve ölü hücre oranlarının yanında kök hücrelerin osteojenik ve kondrojenik farklılaşma potansiyelinin de değerlendirildiği bu çalışmada şu sonuçlar elde edilmiştir:

- 1) SLS içerikli Colgate diş macununun 4 farklı konsantrasyon grubu arasında yapılan karşılaştırmalarda ortalama canlılık, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz oranları 3 farklı hücre tipinde de konsantrasyonlara göre farklılık göstermiştir. Genellikle konsantrasyon artışına bağlı olarak canlı hücre oranlarında azalma olurken, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz oranlarında artış tespit edilmiştir.
- 2) Deterjan içeriği olmayan Splat diş macununun 4 farklı konsantrasyon grubu arasında yapılan karşılaştırmalarda ortalama canlılık, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz oranları diş eti epitelindeki erken apoptoz oranları hariç 3 farklı hücre tipinde de konsantrasyonlara göre farklılık göstermiştir. Genellikle

konsantrasyon artışına bağlı olarak canlı hücre oranlarında azalma olurken, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz oranlarında artış tespit edilmiştir.

- 3) CABP içerikli Sensodyne diş macununun 4 farklı konsantrasyon grubu arasında yapılan karşılaştırmalarda ortalama canlılık, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz oranları 3 farklı hücre tipinde de konsantrasyonlara göre farklılık göstermiştir. Genellikle konsantrasyon artışına bağlı olarak canlı hücre oranlarında azalma olurken, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz oranlarında artış tespit edilmiştir.
- 4) Sodium Lauryl Sarcosinate içerikli Nenedent diş macununun 4 farklı konsantrasyon grubu arasında yapılan karşılaştırmalarda ortalama canlılık, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz oranları 3 farklı hücre tipinde de konsantrasyonlara göre farklılık göstermiştir. Genellikle konsantrasyon artışına bağlı olarak canlı hücre oranlarında azalma olurken, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz oranlarında artış tespit edilmiştir.
- 5) Sodium C14-16 Olefin Sulfanate içerikli Perlodent diş macununun 4 farklı konsantrasyon grubu arasında yapılan karşılaştırmalarda ortalama canlılık, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz oranları 3 farklı hücre tipinde de konsantrasyonlara göre farklılık göstermiştir. Genellikle konsantrasyon artışına bağlı olarak canlı hücre oranlarında azalma olurken, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz oranlarında artış tespit edilmiştir.
- 6) PDLMKH tipinde gruplar arası karşılaştırmalarda tüm konsantrasyonlarda en düşük canlı hücre oranı SLS içerikli Colgate grubunda elde edilirken, en yüksek canlılık oranları sırasıyla kontrol grubu, Splat grubu ve Sensodyne grubunda tespit edilmiştir. Nenedent ve Perlodent grupları genel olarak canlı hücre oranları açısından benzerlik göstermiştir.
- 7) GMKH tipinde gruplar arası karşılaştırmalarda tüm konsantrasyonlarda en düşük canlı hücre ortalaması genellikle SLS içerikli Colgate grubuna aitken, en yüksek canlı hücre oranları sırasıyla kontrol, Splat ve Sensodyne gruplarında elde edilmiştir. Nenedent grubu ise genellikle Perlodent grubundan % 0,4'lük konsantrasyon hariç yüksek canlı hücre oranları göstermiştir.
- 8) Diş eti epiteli hücre tipinde gruplar arası karşılaştırmalarda tüm konsantrasyonlarda en düşük canlı hücre oranları SLS içerikli Colgate grubunda bulunmuşken, en yüksek oranlar sırasıyla kontrol, Splat ve Sensodyne grubunda

tespit edilmiştir. Nenedent grubu ise genel olarak Perlodent grubundan daha yüksek canlı hücre oranına sahip olarak belirlenmiştir.

- 9) Tüm hücre tiplerinin gruplar arası karşılaştırmalarında tüm konsantrasyonlarda en düşük erken apoptoz oranları sırasıyla kontrol grubu ve Splat grubunda saptanırken, en yüksek değerler Colgate, Nenedent ve Perlodent grubunda tespit edilmiştir. Bu üç grubu Sensodyne deney grubu izlemiştir. Genel olarak konsantrasyon arttıkça tüm gruplarda erken apoptoza uğrayan hücre oranlarında artış gözlenmiştir.
- 10) Tüm hücre tiplerinin gruplar arası karşılaştırmalarında tüm konsantrasyonlarda en düşük geç apoptoz oranları sırasıyla kontrol grubu ve Splat grubunda saptanırken, en yüksek değerler genel olarak Colgate grubunda tespit edilmiştir. Colgate grubunu takiben Nenedent ve Perlodent grubunda da yüksek geç apoptotik hücre oranları tespit edilmiştir. Bazı konsantrasyonlarda Nenedent grubu Perlodent grubundan anlamlı derecede yüksek geç apoptoz oranları sergilerken, bazı konsantrasyonlarında iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Sensodyne grubunda ise kontrol ve Splat gruplarını takiben düşük geç apoptoz oranları gözlenmiştir.
- 11) Tüm hücre tiplerinin gruplar arası karşılaştırmalarında tüm konsantrasyonlarda en düşük nekroz oranları sırasıyla kontrol grubu ve Splat grubunda saptanırken, en yüksek değerler genel olarak Colgate grubunda tespit edilmiştir. Colgate grubunu takiben Nenedent ve Perlodent grubunda da yüksek nekrotik hücre oranları tespit edilmiştir. Genel olarak Nenedent grubu ve Perlodent grubu arasında nekroz oranları açısından anlamlı derecede bir fark bulunamamıştır. Sensodyne grubunda ise kontrol ve Splat gruplarını takiben düşük nekroz oranları tespit edilmiştir.
- 12) Toplam ölü hücre oranlarının (erken apoptoz+ geç apoptoz+ nekroz) deney gruplarına, hücre tiplerine ve konsantrasyonlara bağlı olarak değişiminin incelendiği çoklu karşılaştırmalarda; ölü hücre oranları gruplara göre anlamlı farklılık göstermiştir. Tüm grupların ortalama ölü hücre oranları arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. En yüksek ölü hücre oranları Colgate grubunda saptanırken, en düşük ölü hücre oranları kontrol grubunda tespit edilmiştir. Kontrol grubunu Splat ve Sensodyne deney gruplarının izlediği görülmüştür.

- 13) Ölü hücre oranlarına hücre tipinin ana etkisi incelendiğinde; tüm hücre tipleri arasında ölü hücre oranları açısından anlamlı farklılık saptanmıştır. En yüksek ölü hücre oranları PDLMKH tipinde saptanırken, bunu GMKH tipi izlemiş ve en düşük ölü hücre oranları diş eti epitel hücrelerinde tespit edilmiştir.
- 14) Ölü hücre oranlarına konsantrasyonun ana etkisi incelendiğinde; tüm konsantrasyonlar arasında farklılık gözlenmiştir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak ölü hücre oranlarında artış saptanmıştır.
- 15) Mezenkimal kök hücreler üzerinde diş macunu solüsyonlarının sitotoksisite deneylerinin yanı sıra farklılaşma potansiyeline etkileri de incelendiğinde; % 0,4'lük diş macunu solüsyonlarına maruz bırakılan GMKH tipinde en iyi osteojenik farklılaşma potansiyeli kontrol grubunda saptanırken, bunu Splat, Sensodyne deney grupları izlemiştir. Nenedent ve Perlodent deney gruplarının osteojenik farklılaşma potansiyelleri birbirine yakın bulunurken; Colgate deney grubuyla stimüle edilen hücrelerde osteojenik farklılaşma potansiyeli gözlenememiştir.
- 16) GMKH tipinde kondrojenik farklılaşma potansiyeli incelendiğinde; en iyi farklılaşma potansiyeli kontrol grubunda tespit edilmiş, bunu Splat ve Sensodyne deney grupları izlemiştir. Nenedent, Perlodent ve Colgate deney gruplarında ise farklılaşmış hücre gruplarına rastlanılmamıştır.
- 17) PDLMKH tipinde osteojenik farklılaşma potansiyeli gruplara göre incelendiğinde; en iyi osteojenik farklılaşma potansiyeli kontrol grubunda tespit edilirken bunu sırası ile Splat, Sensodyne, Perlodent ve Nenedent grupları izlemiştir. Colgate deney grubunda ise osteojenik farklılaşmaya uğrayan hücre grubu tespit edilememiştir.
- 18) PDLMKH tipinde kondrojenik farklılaşma potansiyeli incelendiğinde; en iyi farklılaşma potansiyeli kontrol grubunda tespit edilmiş, bunu Splat ve Sensodyne deney grupları izlemiştir. Nenedent, Perlodent ve Colgate deney gruplarında ise farklılaşmış hücre gruplarına rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada SLS içerikli diş macunu, CAPB deterjan içeriğine sahip diş macunu ve deterjan içeriği olmayan diş macunu ile kıyaslandığında hücre canlılığı açısından tüm konsantrasyonlarda oldukça düşük değerler göstermiştir. SLS içerikli diş

macununun ağız içi dokulardaki hücreler üzerinde diğer diş macunlarına göre sitotoksik bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Deterjan içeriği olmayan ya da SLS'ye göre bir çok avantajının literatürlerde belirtildiği CABP deterjan çeşidinin oral dokular üzerinde daha biyoyumlu oldukları düşünülmektedir.

Bu çalışmada diş macunları içerisindeki deterjanların hücre canlılığının yanı sıra kök hücrelerin farklılaşma potansiyellerine etkileri incelenmiş olup, SLS içerikli diş macununun kök hücrelerin osteojenik ve kondrojenik farklılaşma potansiyelini de olumsuz etkiledikleri tespit edilmiştir. Periodontal hastalıkların iyileşmesinde ve periodontal dokuların rejenarasyonunda rol alan kök hücrelerin farklılaşma potansiyelleri ile doku iyileşmesine ve onarımına katkıda bulundukları bilinmektedir. SLS içerikli diş macunlarının kök hücrelerin farklılaşma potansiyellerini negatif etkilemelerinin periodontal doku hastalıklarının iyileşmesini de negatif yönde etkileyerek iyileşme sürecinin uzamasına neden olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca SLS içerikli diş macunundaki ölü hücre oranlarındaki artışın literatürlerde belirtilen SLS içerikli diş macunlarının oral aftöz ülserlere sebebiyet vermesi hipotezini destekleyebileceğini düşünmekteyiz.

Farklı deterjan içerikli diş macunlarının hücre canlılığı üzerine olan etkilerinin incelendiği çalışmaların sayısının çok az olduğu, ayrıca mezenkimal kök hücrelerin farklılaşmasına etkilerinin incelendiği herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmaması, bu alanda yapılacak daha fazla çalışma ile deterjan çeşidinin hücreler üzerindeki etkilerinin açıklanmasını daha da netleştireceği düşüncesindeyiz.

Bu çalışmada deterjan içeriklerinin saf halde temin edilememesinden dolayı diş macunu solüsyonlarının çalışmada kullanılması diş macunu içerisindeki diğer bileşenlerin de toksik etki yaratabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu sınırlandırmayı ortadan kaldırmak için çalışmamızda benzer yaş gruplarında kullanılan ve benzer içeriğe sahip olan diş macunları çalışma gruplarını oluşturmuştur.

Bunun dışında in vitro deneyler, tükürüğün olmaması, doku bariyerlerinin koruyucu ve immünolojik özelliklerini içermemesinden dolayı bazı sınırlamalara sahiptir. Bu nedenle bu konunun başlangıç çalışma basamaklarını oluşturan in vitro deneylerden sonra, ayrıca in vivo çalışmalarla da desteklenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda hastalara diş macunu tavsiye ederken hastanın periodontal doku hastalığına sahip olup olmaması, hastanın diş

fırçalama sırasındaki şikayetleri göz önüne alınarak daha biyouyumlu deterjan içeriğine sahip diş macunları önerisinin yapılabileceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Addy, M., Hunter, M.L. (2003). Can tooth brushing damage your health? Effects on oral and dental tissues. *Int Dent J*, **53**, 177- 86.
- Ahlfors, E.E., Lyberg, T. (2001). Contact sensitivity reactions in the oral mucosa. *Acta Odontol Scand*, **59**, 248-254.
- Ahn, K.B., Baik, J.E., Park, O.J., Yun, C.H., Han, S.H. (2018). Lactobacillus plantarum lipoteichoic acid inhibits biofilm formation of Streptococcus mutans. *PLoS ONE*, **13**, 1-16.
- Alhadlaq, A., Mao J.J. (2004). Mesenchymal stem cells: Isolation and therapeutics. *Stem Cells Dev*, **13**, 436-48.
- Allen, A.L., Hawley, C.E., Cutright, D.E., Seibert, J.S. (1975). An investigation of the clinical and histologic effects of selected dentifrices on human palatal mucosa. *J Periodontol*, **46**, 102–112.
- Allison, D.G. (2003). The biofilm matrix. *Biofouling*, **19**, 139-150.
- Alvarez, R., Lee, H.L., Wang, C.Y. ve Hong, C. (2015). Characterization of the osteogenic potential of mesenchymal stem cells from human periodontal ligament based on cell surface markers. *International Journal of Oral Science*, **7**, 213-219.
- Ananthapadmanabhan, K.P., Moore, D.J., Subramanyan, K., Misra, M., Meyer, F. (2004). Cleansing without compromise: the impact of cleansers on the skin barrier and the technology of mild cleansing. *Dermatol Ther*, **17**, 16–25.
- Arenholt-Bindslev, D., Bleeg, H. (1990). Characterization of two types of human oral fibroblast with a potential application to cellular toxicity studies; tooth pulp fibroblasts and buccal mucosa fibroblasts. *Int Endod J*, **23**, 84-91.
- Babich, H., Reisbaum, A.G., Zuckerbraun, H.L. (2000). In vitro response of human gingival epithelial S-G cells to resveratrol. *Toxicol Letter*, **114**, 143–53.
- Bahri, R., Saidane-Mosbahi, D., Rouabhia, M. (2010). Candida famata modulates toll-like receptor, beta-defensin, and proinflammatory cytokine expression by normal human epithelial cells. *J Cell Physiol*, **222**, 209–218.
- Baksh, D., Davdes, J.E., Zandstra, P.W. (2003). Adult human bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells are capable of adhesion independent survival and expansion. *Exp Hematol*, **31**, 723-32.

- Banas, J.A. (2004). Virulence properties of *Streptococcus mutans*. *Front Biosci*, **9**, 1267-1277.
- Barbier, O., Arreola-Mendoza, L., Del Razo, L.M. (2010). Molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Chem Biol Interact*, **188**, 319-33.
- Barkvoll, P. (1991). Effect of sodium lauryl sulfate on the uptake of fluoride from NaF and MFP by etched enamel in vitro. *J Biol Buccale*, **19**, 235-9.
- Barkvoll, P., Rolla, G., Svendsen, A.K. (1989). Interaction between chlorhexidine digluconate and sodium lauryl sulfate in vivo. *J Clin Periodontol*, **16**, 593–595.
- Battula, V.L., Treml, S., Bareiss, P.M., Gieseke, F., Roelofs, H., Zwart, P. ve ark. (2009). Isolation of functionally distinct mesenchymal stem cell subsets using antibodies against CD56, CD271, and mesenchymal stem cell antigen-1. *Haematologica*, **94**, 173–84.
- Bedran TB, Mayer MP, Spolidorio DP, Grenier D. (2014). Synergistic antiinflammatory activity of the antimicrobial peptides human beta-defensin-3 (hBD-3) and cathelicidin (LL-37) in a three-dimensional coculture model of gingival epithelial cells and fibroblasts. *PLoS One*, **9**, 1-10.
- Beloin, C., Ghigo, J.M. (2005). Finding gene-expression patterns in bacterial biofilms. *Trends Microbiol*, **13**, 16–19.
- Bernimoulin, J.P. (2003). Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontol*, **5**, 7-9.
- Bishop, A.E., Butterly, L.D., Polak, J.M. (2002). Embryonic stem cells. *Journal of Pathology*, **197**, 424-429.
- Blau, H.M., Brazelton, T.R., Weimman, J.M. (2001). The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell*, **106**, 829-41.
- Bonewald, L.F., Harris, S.E., Rosser, J., Dallas, M.R., Dallas, S.L., Camacho, N.P. ve ark. (2003). Von kossa staining alone is not sufficient to confirm that mineralization in vitro represents bone formation. *Calcif. Tissue Int.*, **72**, 537-547.
- Bongso, A., Lee, E.H. (2005). Stem Cells: Their definition, Classification and Sources, in Stem cells from bench to bedside. Erişim 10.11.2018, Department of Obstetrics & Gynaecology, National University of Singapore, Kent: <https://pdfs.semanticscholar.org/8e8b/26f1c529df8d791fc138b3b6f77a6747ff72.pdf>.
- Bouillaguet, S., Shaw, L., Gonzalez, L., Wataha, J.C., Krejci, I. (2002). Long-

term cytotoxicity of resin-based dental restorative materials. *J Oral Rehabil*, **29**, 7–13.

Bowen, W.H., Koo, H. (2011). Biology of *Streptococcus mutans* derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Res*, **45**, 69–86.

Bradshaw, D.J., Marsh, P.D. (1998). Analysis of pH-driven disruption of oral microbial communities in vitro. *Caries Res*, **32**, 456-462.

Bruun, C., Qvist, V., Thylstrup, A. (1987). Effect of Flavour and Detergent on Fluoride Availability in Whole Saliva after Use of NaF and MFP Dentifrices. *Caries Res*, **21**, 427-434.

Bühning, H.J., Battula, V.L., Tremel, S., Schewe, B., Kanz, L., Vogel, W. (2007). Novel markers for the prospective isolation of human MSC. *Ann N Y Acad Sci*, **1106**, 262–71.

Buma, R., Maeda, T., Kamei, M., Kourai, H. (2006). Pathogenic bacteria carried by companion animals and their susceptibility to antibacterial agents. *Biocontrol Sci*, **11**, 1-9.

Cameron, A.C., Widmer, R.P. (2008). Handbook of Pediatric Dentistry. (3th ed). London, UK: Elsevier Health Sciences.

Caufield, P.W., Li, Y., Dasanayake, A. (2005). Dental caries : an infectious and transmissible disease. *Compend Contin Educ Dent*, **26**, 10-16.

Caulin, C., Salvesen, G.S., Oshima, R.G. (1997). Caspase cleavage of keratin 18 and reorganization of intermediate filaments during epithelial cell apoptosis. *Journal of Cell Biology*, **138**, 1379-1394.

Chambers, H.F. (2007). Miscellaneous Antimicrobial Agents; Disinfectants, Antiseptic & Sterilants. İçinde Katzung, B.G. (Ed.), Basic&Clinical Pharmacology. (10th ed.) Connecticut, Appleton & Lange; 803-811.

Churchley, D., Schemehorn, B.R. (2013). In vitro assessment of a toothpaste range specifically designed for children. *International Dental Journal*, **63**, 48-56.

Claydon, N.C. (2008). Current concepts in toothbrushing and interdental cleaning. *Periodontol 2000*, **48**, 10-22.

Coelho, M.J., Fernandes, M.H. (2000). Human bone cell cultures in biocompatibility testing. Part II: effect of ascorbic acid, β -glycerophosphate and dexamethasone on osteoblastic differentiation. *Biomaterials*, **21**, 1095-1102.

Çoğulu, D., Menderes, M., Ersin, N. (2009). Süt dişlenme döneminde biyofilm varlığının ağız ve diş sağlığı üzerine etkisi. *Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **18**, 63-67.

Collado-Gonzalez, M., Garcia-Bernal, D., Onate-Sanchez, R.E., Ortolani-Seltenerich, P.S., Alvarez-Muro, T., Lozano, A. ve ark. (2017). Cytotoxicity and bioactivity of various pulpotomy materials on stem cells from human exfoliated primary teeth. *International Endodontic Journal*, **50**, 19-30.

Coşkun, G., Özgür, H. (2011). Molecular Mechanism of Apoptosis and Necrosis. *Archives Medical Review Journal*, **20**, 145-158.

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

Cury, J.A., Tenuta, L.M. (2014). Evidence-based recommendation on toothpaste use. *Braz Oral Res*, **28**, 1-7.

Cvikl, B., Lussi, A., Moritz, A., Gruber, R. (2015). The in vitro impact of toothpaste extracts on cell viability. *Eur Oral Sci*, **123**, 179- 185.

Cvikl, B., Lussi, A., Moritz, A., Gruber, R. (2017). Dentifrices for children differentially affect cell viability in vitro. *Clin Oral Invest*, **21**, 453-461.

d'Aquino, R., De Rosa, A., Lanza, V., Tirino, V., Laino, L., Graziano, A. ve ark. (2009). Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *Eur Cell Mater*, **18**, 75-83.

Dağ, C., Özalp, N. (2013). Ağız-diş sağlığının vazgeçilmezi: Diş macunları. *Acta Odontol Turc*, **30**, 149-56.

Danial, N.N., Korsmeyer, S.J. (2004). Cell death: critical control point. *Cell*, **116**, 205-219.

Danov, K.D., Kralchevska, S.D., Kralchevsky, P.A., Ananthapadmanabhan, K.P., Lips, A. (2004). Mixed solutions of anionic and zwitterionic surfactant (Betaine): surface-tension isotherms, adsorption, and relaxation kinetics. *Langmuir*, **20**, 5445-5453.

Davies, L.C., Locke, M., Webb, R.D., Roberts, J.T., Langley, M., Thomas, D.W. ve ark. (2010). A multipotent neural crest-derived progenitor cell population is resident within the oral mucosa lamina propria. *Stem Cells Dev*, **19**, 819-830.

Davies, R., Scully, C., Preston, J. (2010). Dentifrices an update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, **15**, 976-82.

Davila, J.C., Cezar, G.G., Thiede, M., Strom, S., Miki, T., Trosko, J. (2004). Use and application of stem cells in toxicology. *Toxicol. Sci.*, **79**, 214–223.

de Mendonca Costa, A., Bueno, D.F., Martins, M.T., Kerkis, I., Kerkis, A., Fanganiello, R.D. ve ark. (2008). Reconstruction of large cranial defects in nonimmunosuppressed experimental design with human dental pulp stem cells. *J Craniofac Surg*, **19**, 204-210.

Deery, C., Heanue, M., Deacon, S., Robinson, P.G., Walmsley, A.D., Worthington, H. ve ark. (2004). The effectiveness of manual versus powered toothbrushes for dental health: A systematic review. *J Dent*, **32**, 197-211.

Dimitriou, R., Jones, E., McGonagle, D., Giannoudis, P.V. (2011). Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Medicine*, **9**, 66.

Dinçel, G.Ç., Oğuz, K. (2016). Patolojik Apoptozis ve tanı yöntemleri. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **5**, 86-108.

Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F.C., Krause, D.S. ve ark. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, **8**, 315-7.

Dunphy, C.H. (2004). Applications of Flow Cytometry and immunohistochemistry to Diagnostic Hematopathology. *Arch Pathol Lab Med* , **128**, 1004-1022.

Edinger, A.L., Thompson, C.B. (2004). Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. *Curr Opin in Cell Biol*, **16**, 663- 669.

Effendy, I., Maibach, H. (1996). Detergent and skin irritation. *Clinics in Dermatology*, **14**, 15-21.

Egusa, H., Sonoyama, W., Nishimura, M., Atsuta, I., Akiyama, K. (2012). Stem cells in dentistry-Part I: Stem cell sources. *Journal of Prosthodontic Research*, **56**, 151-165.

Elmore, S. ((2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*, **35**, 495-516.

Evans, A., Leishman, S.J., Walsh, L.J. (2015). Inhibitory effects of children's toothpastes on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* and *Lactobacillus acidophilus*. *Eur Arch Paediatr Dent*, **16**, 219-226.

Eyüboğlu, G.B., Yeşilyurt, C., Ertürk, M. (2015). Evaluation of cytotoxicity of dentin desensitizing products. *Operative Dentistry*, **40**, 503-514.

Farooqi, Z., Tornqvist, M., Ehrenberg, L., Natarajan, A.T. (1993). Genotoxic effects of ethylene oxide and propylene oxide in mouse bone marrow cells *Mut Res*, **288**, 223-228.

Fawzy El-Sayed, K.M., Dörfer, C.E. (2016). Gingival mesenchymal stem/progenitor cells: A unique tissue engineering gem. *Stem Cells Int*, **2016**, 1-16.

Fernandes, J.P.S., Mello Moura, A.C.V., Marques, M.M., Nicoletti, M.A. (2012). Cytotoxicity evaluation of Curcuma zedoaria Roscoe fluid extract used in oral hygiene products. *Acta Odontologica Scandinavica*, **70**, 610-614.

Fiori, J., Teti, G., Gotti, R., Mazzotti, G., Falconi, M. (2011). Cytotoxic activity of guaiazulene on gingival fibroblasts and influence of light exposure on guaiazulene-induced cell death. *Toxicology In Vitro*, **25**, 64-72.

Fortier, L.A. (2005). Stem cells: Classifications, controversies, and clinical applications. *Vet Surg*, **34**, 415-423.

Forward, G.C., James, A.H., Barnett, P., Jackson, R.J. (2000). Gum health product formulations: what is in them and why? *Periodontol*, **15**, 32- 9.

Foster, J.S., Kolenbrander, P.E. (2004). Development of a multispecies oral bacterial community in a saliva conditioned flow cell. *Appl Environ Microbiol*, **70**, 4340-8.

Fraseri, I., Ern, C., Diegritz, C., Hickel, R., Hristov, M. ve Folwaczny, M. (2016). Full-length amelogenin influences the differentiation of human dental pulp stem cells. *Stem Cell Research&Therapy*, **7**, 1-12.

Freshney, I.A., Stacey, G., Auerbach, J.M. (2007). Culture of Human Stem Cells. USA: John Wiley and Sons, Inc.

Freshney, R.I. (2005). Cytotoxicity. İçinde Freshney, R.I. (Ed.), Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique. (7th ed.). USA: John Wiley&Sons; 359-373.

Friedenstein, A.J., Gorskaja, J.F., Kulagina, N.N. (1976). Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol*, **4**, 267-74.

Fuchs, E., Serge, JA. (2000). Stem cells A new Lease on Life. *Cell*, **100**, 143-155.

Fuchs, E., Tumber, T., Guasch, G. (2004). Socializing With the Neighbors: Stem cells and their niche. *Cell*, **116**, 769-778.

Galluzzi, L., Aaronson, S.A., Abrams, J., Alnemri, E.S., Andrews, D.W., Baehrecke, E.H. ve ark. (2006). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death Differ*, **16**, 1093-1107.

Garcia-Godoy, F., Hicks, M.J. (2008). Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *Journal of the American Dental Association*, **139**, 25-34.

Gay, I.C., Chen, S., MacDougall, M. (2007). Isolation and characterization of multipotent human periodontal ligament stem cells. *Orthod Craniofac Res*, **10**, 149–60.

Ghaderi, H., Razmkhah, M., Kiany, F., Chenari, N., Haghshenas, M.R. ve Ghaderi, A. (2018). Comparison of osteogenic and chondrogenic differentiation ability of buccal fat pad derived mesenchymal stem cells and gingival derived cells. *J Dent Shiraz Univ Med Sci*, **19**, 124-131.

Ghapanchi, J., Kamali, F., Moattari, A., Poorshahidi, S., Shahin, E., Rezazadeh, F. ve ark. (2015) In vitro Comparison of cytotoxic and antibacterial effects of 16 commercial toothpastes. *Journal of International Oral Health*, **7**, 39-43.

Gordin, F.M., Schultz, M.E., Huber, R.A., Gill, J.A. (2005). Reduction in nosocomial transmission of drug resistant bacteria after introduction of an alcohol-based handrub. *Infect Cont Hosp Ep*, **26**, 650-653.

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

Gronthos, S., Mankani, M., Brahimi, J., Robey, P.G., Shi, S. (2000). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci*, **97**, 13625-30.

Güleş, Ö., Eren, Ü. (2008). Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **19**, 73-78.

Guo, L.W., Wu, Q., Green, B., Nolen, G., Shi, L., Lo Surdo, J. ve ark. (2012). Cytotoxicity and inhibitory effects of low concentration triclosan on adipogenic

differentiation of human mesenchymal stem cells. *Toxicology and Applied Pharmacology* 262, **2012**, 117-123.

Güven, E.P., Yalvaç, M.E., Şahin, F., Yazıcı, M.M., Rizvanov, A.A., Bayırlı, G. (2011). Effect of dental materials calcium hydroxide-containing cement, mineral trioxide aggregate, and enamel matrix derivative on proliferation and differentiation of human tooth germ stem cells. *J Endod*, **37**, 650-656.

Hall, B.K., Miyake, T. (2000). All for one and one for all: condensations and the initiation of skeletal development. *Bioessays*, **22**, 138–147.

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

Harris, R., Nicoll, A.D., Adair, P.M., Pine, C.M. (2004). Risk factors for dental caries in young children: a systemic review of the literature. *Community Dental Health*, **21**, 71-85.

Hatoya, S., Torii, R., Kondo, Y., Okuno, T., Kobayashi, K., Wijewardana, V. ve ark. (2006). Isolation and characterization of embryonic stem-like cells from canine blastocysts. *Mol Reprod Dev*, **73**, 298-305.

Hayashi, Y., Murakami, M., Kawamura, R., Ishizaka, R., Fukuta, O., Nakashima, M. (2015). CXCL14 and MCP1 are potent trophic factors associated with cell migration and angiogenesis leading to higher regenerative potential of dental pulp side population cells. *Stem Cell Res Ther*, **6**, 111.

Healy, C.M., Cruchley, A.T., Thornhill, M.H., Williams, D.M. (2000). The effect of sodium lauryl sulphate, triclosan and zinc on the permeability of normal oral mucosa. *Oral Diseases*, **6**, 118-123.

Healy, C.M., Paterson, M., Joyston-Bechal, S., Williams, D.M., Thornhill, M.H. (1999). The effect of a sodium lauryl sulfate-free dentifrice on patients with recurrent oral ulceration. *Oral Dis*, **5**, 39-43.

Herlofson, B.B., Barkvoll, P. (1996). Oral mucosal desquamation caused by two toothpaste detergents in an experimental model. *Eur J Oral Sci*, **104**, 21–26.

Herlofson, B.B., Brodin, P., Aars, H. (1996). Increased Human Gingival Blood Flow Induced by Sodium Lauryl Sulfate. *J Clin Periodontol*, **123**, 1004-1007.

Hermann, A., Liebau, S., Gastl, R., Fickert, S., Habisch, H.J., Fiedler, J. ve ark. (2006). Comparative analysis of neuroectodermal differentiation capacity of human

bone marrow stromal cells using various conversion protocols. *J Neurosci Res*, **83**, 1502-1514.

Herrwerth, S., Leidreiter, H., Wenk, H., Farwick, M., Ulrich Brehm, I., Gruning, G. (2008). Highly concentrated cocamidopropyl betaine the latest developments for improved sustainability and enhanced skin care. *Tenside Surfact Deterg*, **45**, 304-308.

Herzog, E.L., Chai, L., Krause, D.S. (2003). Plasticity of marrow derived stem cells. *Blood*, **102**, 3483-93.

Hicks, J., Garcia-Godoy, F., Flaitz, C. (2003). Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part1). *J Clin Pediatr Dent*, **28**, 47-52.

Horwitz, E.M., Le Blanc, K., Dominici, M., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F.C. ve ark. (2005). Clarification of the nomenclature for MSC: the International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, **7**, 393-5.

Huang, G.T., Gronthos, S., Shi, S. (2009). Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res*, **88**, 792-806.

Huang, G.T., Sonoyama, W., Liu, Y., Liu, H., Wang, S., Shi, S. (2008). The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. *J Endod*, **34**, 645-651.

Huang, G.T.J., Haake, S.K., Kim, J.W., Park, N.H. (1998). Differential expression of interleukin-8 and intercellular adhesion molecule-1 by human gingival epithelial cells in response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* or *Porphyromonas gingivalis* infection. *Oral Microbiol Immunol*, **13**, 301-309.

Huang, R., Li, M., Gregory, R.L. (2011). Bacterial interactions in dental biofilm. *Virulence*, **2**, 435-444.

Igarashi, A., Segoshi, K., Sakai, Y., Pan, H., Kanawa, M., Higashi, Y. ve ark. (2007). Selection of common markers for bone marrow stromal cells from various bones using real-time RT-PCR: Effects of passage number and donor age. *Tissue Eng*, **13**, 2405-17.

Illeperuma, R.P., Park, Y.J., Kim, J.M., Bae, J.Y., Che, Z.M., Son, H.K. ve ark. (2012). Immortalized gingival fibroblasts as a cytotoxicity test model for dental materials. *J Mater Sci Mater Med*, **23**, 753-762.

International Organization for Standardization (2009). Dentistry- Biological evaluation of medical devices. Tests for in vitro cytotoxicity. ISO 10993-5. Erişim 13.02.2019, <https://www.iso.org/standard/36406.html>.

Ishii, M., Koike, C., Igarashi, A., Yamanaka, K., Pan, H., Higashi, Y. ve ark. (2005). Molecular markers distinguish bone marrow mesenchymal stem cells from fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun*, **332**, 297–303.

Isobe, Y., Koyama, N., Nakao, K., Osawa, K., Ikeno, M., Ymanaka, S. ve ark. (2015). Comparison of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, snovial fluid, adult dental pulp, and exfoliated deciduous tooth pulp. *Int. J.Oral Maxillofac. Surg.*: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijom.2015.06.022>.

Jaiswal, N., Haynesworth, S.E., Caplan, A.I., Bruder, S.P. (1997). Osteogenic differentiation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells in vitro. *Journal of Cellular Biochemistry*, **64**, 295-312.

Jin, S.H., Lee, J.E., Yun, J.H., Kim, I., Ko, Y., Park, J.B. (2014). Isolation and characterization of human mesenchymal stem cells from gingival connective tissue. *J Periodont Res*, **2014**, 1-7

Kalil Bussadori, S., Marcilio Santos, E., Cardoso Guedes, C., Jansiski Motta, L., Santos Fernandes, K.P., Mesquita-Ferrari, R.A. ve ark. (2010). Cytotoxicity assessment of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) paste. *ConScientiae Saude*, **9**, 354-359. Erişim 7.09.2018, <https://www.redalyc.org/html/929/92915180002/>.

Kanev, M.O., Gökalp Muranlı, F.D. (2016). Flow sitometri ve kullanım alanları. *SAÜ Fen Bil Der*, **20**, 33-38.

Kang, K.S., Trosko, J.E. (2011). Stem cells in toxicology: Fundamental biology and practical considerations. *Toxicol Sci*, **120**, 269-289.

Keiser, K., Johnson, C., Tipton, D.A. (2000) Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *J Endod*, **26**, 288-291.

Kemoun, P., Laurencin-Dalicieux, S., Rue, J., Farges, J.C., Gennero, I., Conte-Auriol, F. ve ark. (2007). Human dental follicle cells acquire cementoblast features under stimulation by BMP-2/-7 and enamel matrix derivatives (EMD) *in vitro*. *Cell Tissue Res*, **329**, 283-294.

Kerkis, I., Ambrosio, C.E., Kerkis, A., Martins, D.S., Zucconi, E., Fonseca, S.A. ve ark. (2008). Early transplantation of human immature dental pulp stem cells from

baby teeth to golden retriever muscular dystrophy (GRMD) dogs: Local or systemic? *J Transl Med*, **6**, 35.

Kfoury, Y., Scadden, D.T. (2015). Mesenchymal cell contributions to the stem cell niche. *Cell Stem Cell*, **16**, 239–253.

Kinane, D.F. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, **25**, 8-20.

Koçyiğit, I., Kaynar, L., Çetin, M. (2008). Hematopoietic stem cell Biology. *Türkiye Klinikleri J Hem Onc-Special Topics*, **1**, 16-22.

Kolenbrander, P.E. (2000). Oral microbial communities: Biofilms, interactions and genetic systems. *Annu Rev Microbiol*, **54**, 413-437.

Kolenbrander, P.E., Andersen, R.N., Blehert, D.S., Eglund, P.G., Foster, J.S., Palmer, R.J. (2002). Communication among oral bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **66**, 486-505.

Kolltveit, K.M., Schreurs, O., Ostrem, J., Soland, T.M., Khuu, C., Berge, T. ve ark. (2010). Expression of the T-cell-specific adapter protein in oral epithelium. *Eur J Oral Sci*, **118**, 159–167.

Konstantinov, I.E. (2000). In search of Alexander A. Maximow: The man behind the unitarian theory of hematopoiesis. *Perspect Biol Med*, **43**, 269-76.

Kubo, H., Shimizu, M., Taya, Y., Kawamoto, T., Michida, M., Kaneko, E. ve ark. (2009). Identification of mesenchymal stem cell (MSC)-transcription factors by microarray and knockdown analyses, and signature molecule-marked MSC in bone marrow by immunohistochemistry. *Genes Cells*, **14**, 407–24.

Kullaa, A.M., Asikainen, P., Herrala, M., Ukkonen, H., Mikkonen, J.J. (2014). Microstructure of oral epithelial cells as an underlying basis for salivary mucosal pellicle. *Ultrastruct Pathol*, **38**, 382-386.

Kuroda, Y., Kitada, M., Wakao, S., Nishikawa, K., Tanimura, Y., Makinoshima, H. ve ark. (2010). Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations. *Proc Natl Acad Sci*, **107**, 8639-8643.

Laheij, A.M., Soet, J.J., Veerman, E.C.I., Bolscher, J.G.M., Loveren, V.C. (2013). The influence of oral bacteria on epithelial cell migration in vitro. *Mediat Inflamm*, **2013**, 1-6.

Landa, A.S., Van de Belt-Gritter, B., Van de Mei, H.C., Busscher, H.J. (1999). Recalcitrance of *Streptococcus mutans* biofilms towards detergent-stimulated detachment. *Eur J Oral Sci*, **107**, 236–243

Law, V., Seow, W.K. (2006). A longitudinal controlled study of factors associated with mutans streptococci infection and caries lesion initiation in children 21 to 72 months old. *Pediatr Dent*, **28**, 58–65.

Lawrence, L.M., Farquharson, A., Brown, R.S., Vatanka, H.O. (2013). Oral tissue irritants in toothpaste: a case report. *J Clin Pediatr Dent*, **38**, 75–78.

Le Blanc, K., Mougiakakos, D. (2012). Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system. *Nature Reviews Immunology*, **12**, 383–96.

Lemos, J.A., Burne, R.A. (2008). A model of efficiency: stress tolerance by *Streptococcus mutans*. *Microbiology*, **154**, 3247–3255.

Lenander-Lumikari, M., Loimaranta, V. (2000). Saliva and dental caries. *Adv Dent Res*, **14**, 40–47.

Lin, P.S., Chang, M.C., Chan, C.P., Lee, S.Y., Lee, J.J., Tsai, Y.L. ve ark. (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**, 394–400.

Lindroos, B., Maenpää, K., Ylikomi, T., Oja, H., Suuronen, R., Miettinen, S. (2008). Characterisation of human dental stem cells and buccal mucosa fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun*, **368**, 329–35.

Lippert, F. (2013). An introduction to toothpaste- its purpose, history and ingredients. *Monogr Oral Sci*, **23**, 1–14.

Loeffler, M., Roeder, I. (2002). Tissue Stem Cells: Definition, Plasticity, Heterogeneity, Self-Organization and Models - A Conceptual Approach. *Cells Tissues Organs*, **171**, 8–26.

Luisi, B.L., Filho, M.S. ve Pranke, P. (2017). Isolation, immunophenotypic characterization and pluripotency of dental pulp stem cells. *Dental, Oral and Craniofacial Research*, **3**, 1–3.

Lundqvist, C., Baranov, V., Teglund, S., Hammarström, S., Hammarström, M.L. (1994). Cytokine profile and ultrastructure of intraepithelial T cells in chronically inflamed human gingiva suggest a cytotoxic effector function. *J Immunol*, **153**, 2302 – 2312.

Lymperi, S., Ligoudistianou, C., Taraslia, V., Kontakiotis, E., Anastasiadou, E. (2013). Dental Stem Cells and their Applications in Dental Tissue Engineering. *The Open Dentistry Journal*, **7**, 76-81.

Mabuchi, Y., Morikawa, S., Harada, S., Niibe, K., Suzuki, S., Renault-Mihara, F. ve ark. (2013). $\text{LNGFR}^+\text{THY-I}^+\text{VCAM-I}^{\text{hi}}$ cells reveal functionally distinct subpopulations in mesenchymal stem cells. *Stem Cell Reports*, **1**, 152–165.

Macdonald, J.M., Tobin, C.A, Burkemper, N.M., Hurley, M.Y. (2015). Oral Leukoedema with mucosal desquamation caused by toothpaste containing sodium lauryl sulfate. *Case Letter*, **97**, 4-5.

Mak, T. (2003). The E. Donnall Thomas Lecture-Apoptosis: "Tis death that makes life live". *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, **9**, 483-8.

Manella, J.A., Pepino, M.Y., Reed, D.R. (2005). Genetic and environmental determinants of bitter perception and sweet preferences. *Pediatrics*, **115**, 216–222.

Mao, J.J., Giannobile, W.V., Helms, J.A., Hollister, S.J., Krebsbach, P.H., Longaker, M.T., Shi, S. (2006). Craniofacial tissue engineering by stem cells. *J Dent Res*, **85**, 966-79.

Marques, E., Miguel, M., Dias, R., Melnikov, S., Khan, A., Lindman, B. (2000). Gel formation and association in systems of cationic surfactant vesicles and oppositely charged polymers. *Polym Prep*, **8**, 41-737.

Marsh, P.D. (2006). Dental plaque as a biofilm and a microbial community-implications for health and disease. *BMC Oral Health*, **6**, 1-7.

Martens, W., Sanen, K., Georgiou, M., Struys, T., Bronckaers, A., Ameloot, M. ve ark. (2014). Human dental pulp stem cells can differentiate into Schwann cells and promote and guide neurite outgrowth in an aligned tissue-engineered collagen construct *in vitro*. *FASEB J*, **28**, 1634-1643.

Martinez-Agosto, J.A., Mikkola, H.K, Hartenstein, V., Banerjee, U. (2007). The hematopoietic stem cell and its niche: a comparative view. *Genes & Development*, **21**, 3044-3060.

Martin-Rendon, E., Watt, S.M. (2003). Exploitation of stem cell plasticity. *Transfus Med*, **13**, 325-49.

Marynka-Kalmani, K., Treves, S., Yafee, M., Rachima, H., Gafni, Y., Cohen, M.A. ve ark. (2010). The lamina propria of adult human oral mucosa harbors a novel stem cell population. *Stem Cells*, **28**, 984-995.

Matsui, R., Cvitkovitch, D. (2010). Acid tolerance mechanisms utilized by *Streptococcus mutans*. *Future Microbiol*, **5**, 403-417.

McLachlan, A.A., Marangoni, D.G. (2006). Interactions between zwitterionic and conventional anionic and cationic surfactants. *J Colloid Interface Sci*, **295**, 243-248.

Melsen, B., Rølla, G. (1983). Reduced Clinical effect of monofluorophosphate in the presence of sodium lauryl sulphate. *Caries Res*, **17**, 549-553.

Merta, J, Stenius, P. (1999). Interactions between cationic starch and mixed anionic Surfactants. *Colloids Surf*, **77**, 149-367.

Mitrano, T.I., Grob, M.S., Carrion, F., Nova-Lamperti, E., Luz, P.A., Fierro, F.S. ve ark. (2010). Culture and characterization of mesenchymal stem cells from human gingival tissue. *J Priodontol*, **81**, 917-925.

Miura, M., Gronthos, S., Zhao, M., Lu, B., Fisher, L.W., Robey, P.G. ve ark. (2003). SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci*, **100**, 5807-12.

Moharamzadeh, K., Brook, I., Noort, R. (2009). Biocompatibility of Resin-based Dental Materials. *Materials*, **2**, 514-548.

Moore, C., Addy, M. (2005). Wear of dentine in vitro by toothpaste abrasives and detergents alone and combined. *J Clin Periodontol*, **32**, 1242-6.

Moore, C., Addy, M., Moran, J. (2008). Toothpaste detergents: a potential source of oral soft tissue damage? *Int J Dent Hygiene*, **6**, 193- 198.

Moran, J., Addy, M., Corry, D., Newcombe, R.G., Haywood, J. (2001). A study to asses the plaque inhibitory action of a new zinc citrate toothpaste formulation. *Journal of Clinical Periodontology*, **28**, 157-61.

Moran, J., Addy, M., Newcombe, R. (1988). The antibacterial effect of toothpastes on the salivary flora. *J Clin Periodontol*, **15**, 193-199.

Moran, J., Addy, M., Newcombe, R. (1989). Comparison of the effect of toothpastes containing enzymes or antimicrobial compounds with a conventional fluoride toothpaste on the development of plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol*, **16**, 295–299.

Morsczech, C., Gotz, W., Schierholz, J., Zeilhofer, F., Kühn, U., Möhl, C. ve ark. (2005). Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol*, **24**, 155-65 .

Moshaverinia, A., Xu Xingtian, X., Chen, C., Akiyama, K., Snead, M.L. ve Shi, S. (2013). Dental mesenchymal stem cells encapsulated in an alginate hydrogel co-delivery microencapsulation system for cartilage regeneration. *Acta Biomaterialia*, **9**, 9343-9350.

Murray, P.E., Garcia Godoy, C., Garcia Godoy, F. (2007). How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, **12**, 258-66.

Nadig, R.R. (2009). Stem cell therapy - Hype or hope? A review. *J Conserv Dent*, **12**, 131-8.

Nagatomo, K., Komaki, M., Sekiya, I., Sakaguchi, Y., Noguchi, K., Oda, S. ve ark. (2006). Stem cell properties of human periodontal ligament cells. *J Periodont Res*, **41**, 303-310.

Nakajima, R., Ono, M., Hara, E.S., Oida, Y., Shinkawa, S., Pham, H.T. ve ark. (2014). *J Dent Res*, **93**, 1133-1140.

Nakonieczna-Rudnicka, M., Bachanek, T., Strycharz-Dudziak, M., Kobylecka, E. (2010). Oral hygiene habits among tobacco-smoking and non- smoking students of the Medical University of Lublin--chosen aspects. *Przegl Lek*, **67**, 871-4.

Neppelberg, E., Costea, D.E., Vintermyr, O.K., Johannessen, A.C. (2007). Dual effects of sodium lauryl sulphate on human oral epithelial structure. *Experimental Dermatology*, **16**, 574-579.

Nicander, I., Rantanen, I., Rozell, B.L., Söderling, E., Ollmar, S. (2003). The ability of betaine to reduce the irritating effects of detergents assessed visually, histologically and by bioengineering methods. *Skin Research and Technology*, **9**, 50-58.

Nicholson, J.W. (2007). Polyacid-modified composite resins ‘compomers’ and their use in clinical dentistry. *Dental Material*, **23**, 615-622.

Nielsen, A.D., Borch, K., Westh, P. (2000). Thermochemistry of the specific binding of C12 surfactants to bovine serum albumin. *Biochim Biophys Acta* 1479, **1**, 321-331.

Nikolic, N., Krstic, A., Trivanovic, D., Mojsilovic, S., Kocic, J., Santibanez, J.F. ve ark. (2011). Mesenchymal stem cell properties of dental pulp cells from deciduous teeth. *Arch. Biol. Sci.*, **63**, 933-942.

Nombela-Arrieta, C., Ritz, J., Silberstein, L.E. (2011). The elusive nature and function of mesenchymal stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **12**, 126-131.

Nordstrom, A., Mystikos, C., Ramberg, P., Birkhed, D. (2009). Effect on denovo plaque formation of rinsing with toothpaste slurries and water solutions with a high fluoride concentration (5,000 ppm). *Eur J Oral Sci*, **117**, 563-567.

Öktem, S., Özhan, M.H., Özol, D. (2001). Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*, **2**, 91-95.

Olgun Erdemir, E., Şengün, A., Ülker, M. (2007). Cytotoxicity of mouthrinses on epithelial cells by micronucleus test. *European Journal of Dentistry*, **1**, 80-85.

Owen, M., Friedenstein, A.J. (1988). Stromal stem cells: marrow- derived osteogenic precursors. *Ciba Found Symp*, **136**, 42-60.

Oyar, P. (2016). Dental kök hücre kaynakları ve kemik doku rejenerasyonunda kullanılma potansiyelleri. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.*, **15**, 96-101.

Özbakkaloğlu, B. (2003). Hastane ortamında kullanılacak yüzey dezenfektanları. İçinde Günaydın, M., Sünbül, M. (Eds), 3. Sterilizasyon, Dezenfeksiyon Kongresi, Kongre Kitabı. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara; 131-138.

Özkoçak, C.B.B., Karaarslan, Ş.E., Aytac, F. (2017). Tükürük proteinleri ve çürük üzerindeki etkileri. *Türkiye Klinikleri J Dental Sci*, **23**, 56-64.

Özyurt, M. (2005). Aldehid, peroksijen ve perasetik asit ile klor verici ajan içermeyen ve alet dezenfektanı olarak önerilen diğer dezenfektanlar, genel kullanım alanları ve antimikrobiyal etkinlikleri. İçinde Günaydın, M., Saniç, A., Gürler, B. (Eds), 4. Ulusal sterilizasyon dezenfeksiyon kongresi, Kongre Kitabı. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara; 180-199.

Paes Leme, A.F., Koo, H., Bellato, C.M., Bedi, G., Cury, J.A. (2006). The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation new insight. *J Dent Res*, **85**, 878–87.

Park, B.W., Jang, S.J., Byun, J.H., Kang, Y.H., Choi, M.J., Park, W.U. ve ark. (2014). Cryopreservation of human dental follicle tissue for use as a resource of autologous mesenchymal stem cells. *J Tissue Eng Regen Med*, **2014**, 1-12.

Pera, M.F., Reubinoff, B., Trounson, A. (2000). Human embryonic stem cells. *J Cell Sci*, **113**, 5-10.

Petersen, F.C., Assev, S., Scheie, A.A. (2006). Combined effects of NaF and SLS on acid and polysaccharide formation of biofilm and planktonic cells. *Arch Oral Biol*, **51**, 665-71.

Peterson, S.N., Meissner, T., Su, A.I., Snesrud, E., Ong, A.C., Schork, N.J. ve ark. (2014). Functional expression of dental plaque microbiota. *Frontiers in cellular and Infection Microbiology*, **4**, 1-13.

Pisciotta, A., Riccio, M., Carnevale, G., Lu, A., De Biasi, S., Gibellini, L. ve ark. (2015). Stem cells isolated from human dental pulp and amniotic uid improve skeletal muscle histopathology in mdx/SCID mice. *Stem Cell Res Ther*, **6**, 156.

Pittenger, M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C., Jaiswal, R.K., Douglas, R., Mosca, J.D. ve ark. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, **284**, 143-147.

Pitts, N.B., Zero, D.T., Marsh, P.D., Ekstrand, K., Weintraub, J.A., Ramos-Gomez, F. ve ark. (2017). Dental caries. *Nat Rev Dis Primers*, **3**, 1-16.

Pizzoferrato, A., Ciapetti, G., Stea, S., Cenni, E., Arciola, C., Granchi, D. (1994). Cell culture methods for testing biocompatibility. *Clin Mater*, **15**, 173-190.

Prasanth, M. (2011). Antimicrobial efficacy of different toothpastes and mouthrinses: an *in vitro* study. *Dent Res J (Isfahan)*, **8**, 85-94.

Prentice, D.A. (2006). Current science of regenerative medicine with stem cells. *J Invest Medicine*, **54**, 33-37.

Pretty, I.A., Gallagher, M.J., Martin, M.V., Edgar, W.M., Higham, S.M. (2003). A study to asses the effects of a new detergent-free, olive oil formulation dentifrice in vitro and in vivo. *Journal of Dentistry*, **31**, 327-332.

Prockop, D.J. (1997). Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*, **276**, 71-4 .

Prockop, D.J. (2009). Repair of tissues by adult stem/progenitor cells (MSCs): controversies, myths, and changing paradigms. *Mol Ther*, **17**, 939-946.

Prockop, D.J., Oh, J.Y. (2012). Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): Role as guardians of inflammation. *Mol Ther*, **20**, 14-20.

Puchtler, H., Meloan, S.N., Terry, M.S. (1969). On the history and mechanism of alizarin and alizarin red S stains for calcium. *Journal of Histochemistry&Cytochemistry*, **17**, 110-124.

Queiroz, A.B., Focchi, G., Dobo, C., Gomes, T.S., Ribeiro, D.A., Oshima, C.T.F. (2010). Expression of p27, p21 and p16 in normal oral epithelium, oral squamous papilloma, and oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res*, **30**, 2799–2801.

Rantanen, I., Jutila, K., Nicander, I., Tenovu, J., Söderling, E. (2003). The effects of two sodium lauryl sulphate-containing toothpastes with and without betaine on human oral mucosa *in vivo*. *Swed Dent J*, **27**, 31-4.

Rao, M.S., Mattson, M.P. (2001). Stem cells and aging: expanding the possibilities. *Mech Ageing Dev.*, **122**, 713-734.

Rastegar, F., Shenaq, D., Huang, J., Zhang, W., Zhang, B.Q., He, B.C. ve ark. (2010). Mesenchymal stem cells: Molecular characteristics and clinical applications. *World J Stem Cells*, **2**, 67-80.

Ratajczak, M.Z. (2008). Phenotypic and functional characterization of hematopoietic stem cells. *Curr Opin Hematol*, **15**, 293-300.

Repetto, G., del Peso, A., Zurita, J.L. (2008). Neutral Red Uptake Assay for the Estimation of Cell Viability/Cytotoxicity. *Nat Protoc*, **3**, 1125-31.

Richards, V.P., Alvarez, A.J., Luce, A.R., Bedenbaugh, M., Mitchell, M.L., Burne, R.A. ve ark. (2017). Microbiomes of site-specific dental plaques from children with different caries status. *Infection and Immunity*, **85**, 106-117.

Roddy, G.W., Oh, J.Y., Lee, R.H., Bartosh, T.J., Ylostalo, J., Coble, K. ve ark. (2011). Action at a distance: systemically administered adult stem/progenitor cells (MSCs) reduce inflammatory damage to the cornea without engraftment and primarily by secretion of TNF-alpha stimulated gene/ protein 6. *Stem Cells*, **29**, 1572-1579.

Rosan, B., Lamont, R.J. (2000). Dental plaque formation. *Microbes and Infection*, **2**, 1599-1607.

Rouabhia, M. (2002). Interactions between host and oral commensal microorganisms are key events in health and disease status. *Can J Infect Dis*, **13**, 47–51.

Russo, F.B., Pignatari, G.C., Fernandes, I.R., Dias, J.L.R.M. ve Beltrao-Braga, P.C.B. (2016). Epithelial cells from oral mucosa: How to cultivate them? *Cytotechnology*, **68**, 2105-2114.

Rutala, W.A., Weber, D.J. (2001). New disinfection and sterilization methods. *Emerg Infect Dis*, **7**, 348-353.

Sadeghi, M., Assar, S. (2009). An *in vitro* antimicrobial activity of ten Iranian-made toothpastes. *Dent Res J (Isfahan)*, **6**, 87-92.

Sakaguchi, R.L., Powers, J.M., Khajotia, S.S., Mitra, S.B. (2012). Biocompatibility and tissue reaction to biomaterials. İçinde Sakaguchi, R.L., Powers, J.M. (Eds.), *Craig's Restorative Dental Materials*. (13th ed.). USA: Elsevier; 110-130.

Sakanaka, A., Kuboniwa, M., Hashino, E.I., Bamba, T., Fukusaki, E. ve Amano, A. (2007). Distinct signatures of dental plaque metabolic byproducts dictated by periodontal inflammatory status. *Scientific Reports*, **7**, 1-10.

Salzer, S., Rosema, N.A.M., Maertin, E.C.J., Slot, D.E., Timmer, C.J., Dörfer, C.E. ve ark. (2016). The effectiveness of dentifrices without and with sodium lauryl sulfate on plaque, gingivitis and gingival abrasion- a randomized clinical trial. *Clin Oral Invest*, **20**, 443-450.

Sandhu, S.S., Nair, M. (2009). Stem cells: potential implications for tooth regeneration and tissue engineering in dental science. *People J Sci Res*, **2**, 41-45.

Santos R.M., Willenbring, H. (2007). On the origin of the term 'stem cell'. *Cell Stem Cell*, **1**, 35-8.

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

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

Schmalz, G., Arenholt-Bindslev, D. (2009). Basic aspects. İçinde Schmalz, G., Arenholt-Bindslev, D., (Eds.), *Biocompatibility of Dental Materials*. Berlin-Heidelberg, Germany: Springer; 1-12.

Schmid, B., Rippmann, J.F., Tadayyon, M., Hamilton, B.S. (2005). Inhibition of fatty acid synthase prevents preadipocyte differentiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **328**, 1073-1082.

Schnuch, A., Lessmann, H., Geier, J., Uter, W. (2011). Is cocamidopropyl betaine a contact allergen? Analysis of network data and short review of the literature. *Contact Dermat*, **64**, 203-211.

Schramm, L.L. (2000). *Surfactants: Fundamentals and Applications in the Petroleum Industry*. UK: Cambridge University Press.

Semlali, A., Chakir, J., Goulet, J.P., Chmielwski, W., Rouabhia, M. (2011). Whole cigarette smoke promotes human gingival epithelial cell apoptosis and inhibits cell repair processes. *J Periodont Res*, **46**, 533-541.

Seo, B.M., Miura, M., Gronthos, S., Bartold, P.M., Batouli, S., Brahimi, J. ve ark. (2004). Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*, **364**, 149-55.

Seo, B.M., Miura, M., Sonoyama, W., Coppe, C., Stanyon, R., Shi, S. (2005). Recovery of stem cells from cryopreserved periodontal ligament. *J Dent Res*, **84**, 907-912.

Seow, W.K., Cheng, E., Wan, V. (2003). Effects of oral health education and tooth-brushing on *mutans* streptococci infection in young children. *Pediatr Dent*, **25**, 223-8.

Shah, S.K., Niraula, T.P., Bhattarai, A., Chatterjee, S.K. (2012). A comparative study of cationic and anionic surfactants on the micellar behavior through different composition of methanol-water mixed solvent. *Conductometric Method Bibechna*, **8**, 37-45.

Shi, S., Bartold, P.M., Miura, M., Seo, B.M., Robey, P.G., Gronthos, S. (2005). The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthod Craniofac Res*, **8**, 191-199.

Shim, Y.J., Choi, J.H., Ahn, H.J., Kwon, J.S. (2012). Effect of sodium lauryl sulfate on recurrent aphthous stomatitis: a randomized controlled clinical trial. *Oral Diseases*, **18**, 655-660.

Shiomi, A., Izumi, K., Uenoyama, A., Saito, T., Saito, N., Ohnuki, H. ve ark. (2015). Cyclic mechanical pressure-loading alters epithelial homeostasis in a three-dimensional in vitro oral mucosa model: clinical implications for denture-wearers. *J Oral Rehabil*, **42**, 192-201.

Shizuko, I., Motoki, T., Takeshi, M., Ichiro, S. (2005). Morphological examination during in vitro cartilage formation by human mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Res*, **322**, 217-26.

Siegel, I.A., Gordon, H.P. (1986). Surfactant-induced alterations of permeability of rabbit oral mucosa in vitro. *Exp Mol Pathol*, **44**, 132-137.

Şimşek, F., Vatansever, H.S. (2014). Apoptotik ve otofajik ölümlerde hücre içi organizasyon. *Yeni Tıp Dergisi*, **31**, 1-6.

Skaare, A.B., Rolla, G., Barkvoll, P. (1997). The influence of triclosan, zinc or propylene glycol on oral mucosa exposed to sodium lauryl sulphate. *Eur J Oral Sci*, **105**, 527–533.

Smulders, E., Rybinski, W., Sung, E., Rahse, W., Steber, J., Wiebel, F., Nordskog, A. (2002). Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. İçinde Smulders, E. (Ed.), Laundry Detergents. Germany: Wiley- VCH, Weinheim; 38-98.

Söğüt, M.Ü. (2013). Jermisid ajanlardan katyonik deterjanlar. *J Exp Clin Med*, **30**, 75-79.

Sonoyama, W., Liu, Y., Fang, D., Yamaza, T., Seo, B.M., Zhang, C. ve ark. (2006). Mesenchymal stem cell mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS ONE*, **1**, 1-8.

Sonoyama, W., Liu, Y., Yamaza, T., Tuan, R.S., Wang, S., Shi, S. ve ark. (2008). Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod*, **34**, 166-171.

Sonoyama, W., Seo, B.M., Yamaza, T., Shi, S. (2007). Human Hertwig's epithelial root sheath cells play crucial roles in cementum formation. *J Dent Res*, **86**, 594-599.

Southall, T.D., Egger, B., Gold, K.S., Brand, A.H. (2008). Regulation of self-renewal and differentiation in the Drosophila nervous system. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, **73**, 523-528.

Souza Rodrigues, R.D., Ferreira, S.S., Dalmeida Couto, R.S., Lachowski, K.M., Sobrol, M.A.P., Marques, M.M. (2015). Choice of toothpaste for the elderly: an in vitro study. *Braz Oral Res*, **29**, 1-7.

Spangrude, G.J. (2003). When is a stem cell really a stem cell? *Bone Marrow Transplantation*, **32**, 7-11.

Squier, C.A., Kremer, M.J. (2001). Biology of oral mucosa and esophagus. *J Natl Cancer Inst Monogr*, **29**, 7-5.

Stec, I.P. (1972). A possible relationship between desquamation and dentifrices. A clinical study. *J Am Dent Hyg Assoc*, **46**, 42–45.

Stovell, A.G., Newton, B.M., Lynch, R.J.M. (2013). Important considerations in the development of toothpaste formulations for children. *International Dental Journal*, **63**, 57-63.

Takeshita, T., Yasui, M., Shibata, Y., Furuta, M., Saeki, Y., Eshima, N. ve ark. (2015). Dental plaque development on a hydroxyapatite disk in young adults observed by using a barcoded pyrosequencing approach. *Scientific Reports*, **5**, 1-8

Tang, L., Li, N., Xie, H., Jin, Y. (2011). Characterization of mesenchymal stem cells from human normal and hyperplastic gingiva. *J Cell Physiol*, **226**, 832-842.

Telles, C., Silva, A.D., Wiltgen, A., Kijner, M., Camassola, M. ve Borba, P. (2016). Isolation and characterization of dental pulp stem cells from permanent third molars. *Stomatos*, **22**, 33-41.

Tomar, G.B., Srivastava, R.K., Gupta, N., Barhanpurkar, A.P., Pote, S.T., Jhaveri, H.M. ve ark. (2010). Human gingiva-derived mesenchymal stem cells are superior to bone marrow-derived mesenchymal stem cells for cell therapy in regenerative medicine. *Biochem Biophys Res Commun*, **393**, 377-83.

Touger-Decker, R., Van Loveren, C. (2003). Sugars and dental caries. *Am J Clin Nutr*, **78**, 881-892.

Trubey, R.J., Moore, S.C., Chestnutt, I.G. (2014). Parents reasons for brushing or not brushing their child's teeth: a qualitative study. *Int J Paediatr Dent*, **24**, 104-12.

Trump, B.F., Berezsky, I.K., Chang, S.H., Phelps, P.C. (1997). The pathways of cell death: oncosis, apoptosis, and necrosis. *Toxicol Pathol*, **25**, 82-8.

Tuncer, S., Demirci, M. (2011). Dental Materyallerde Biyouyumluluk Değerlendirmeleri. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.*, **21**, 141-149.

Türkcani İ., Nalbant, A.D. (2016). Dental Protetik Materyallerin Biyolojik Uyumluluğu ve Test Yöntemleri. *Acta Odontologica Turcica*, **33**, 145-52.

Türkmen, B., Ayhan, K., Altuntaş, E.G. (2016). Dental plak oluşumundan sorumlu mikroorganizmalar ve bunların tüketilen gıdalarla ilişkisi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, **2016**, 51-61.

Van Ruyven, F.O.J., Lingstrom, P., Van Houte, J., Kent, R. (2000). Relationship among mutans, "low-pH" bacteria, and iodophilic polysaccharide-producing bacteria in dental plaque and early enamel caries in humans. *J Dent Res*, **79**, 778-784.

Venkatesh, D., Mohan Kumar, K.P., Jyoti, B. (2017). Gingival mesenchymal stem cells. *Journal of Oral Maxillofacial Pathology*, **21**, 296-298.

Waddington, R.J., Youde, S.J., Lee, C.P., Sloan, A.J. (2009). Isolation of distinct progenitor stem cell populations from dental pulp. *Cells Tissues Organs*, **189**, 268-274.

Walsiluk, A. (2017). Fluoride compounds in dental caries prophylaxis in children and adolescents - Review of polish literature. *Przegl Epidemiol*, **71**, 603-611.

Walters, K.A., Bialik, W., Brain, K.R. (1993). The effects of surfactants on penetration across the skin. *Int J Cosmetics Sci*, **15**, 260-270

Wang, F., Yu, M., Yan, X., Wen, Y., Zeng, Q., Yue, W. ve ark. (2011). Gingiva-derived mesenchymal stem cell-mediated therapeutic approach for bone tissue regeneration. *Stem Cells Dev*, **20**, 2093-102.

Wang, L., Shen, H., Zheng, W., Tang, L., Yang, Z., Gao, Y. ve ark. (2011). Characterization of stem cells from alveolar periodontal ligament. *Tissue Eng*, **17**, 1015-1026.

Wang, X., Sha, X.J., Li, G.H., Yang, F.S., Ji, K., Wen, L.Y. ve ark. (2012). Comparative characterization of stem cells from human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells. *Archives of Oral Biology*, **57**, 1231-1240.

Wang, Y., Wang, X., Jiang, W., Wang, K., Luo, J., Li, W. ve ark. (2018). Antimicrobial peptide GH12 suppresses cariogenic virulence factors of *Streptococcus mutans*. *Journal of Oral Microbiology*, **10**, 1-11.

Wataha, J.C. (2001). Principles of Biocompatibility for Dental Practitioners. *J Prosth Dent*, **86**, 203-9.

Weindl, G., Wagener, J., Schaller, M. (2010). Epithelial cells and innate antifungal defense. *J Dent Res*, **89**, 666-675.

Wiaderkiewicz, R., Czekaj, P., Bogus, K., Wiaderkiewicz, A., Komarska, H., Walczuk, B. ve ark. (2007). Differentiation potential of liver mesenchymal stem cells (MSC) from rats exposed to EMF and/or triclosan. *Toxicology Letters*, **172**, 125-126.

Wilder, R.S., Bray, K.S. (2016). Improving periodontal outcomes: merging clinical and behavioral science. *Periodontol 2000*, **71**, 65-81.

Wydro, P., Paluch, M. (2005). A study of the interaction of dodecyl sulfobetaine with cationic and anionic surfactant in mixed micelles and monolayers at the air/water interface. *J Colloid Interface Sci*, **286**, 387-391.

Ximenez Fyvie, L.A., Haffajee, A.D., Socransky, S.S. (2000). Comparison of microbiota of supra and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol*, **27**, 648-657.

Yalçın Çakır, F., Gürkan, S., Attar, N. (2010). Çürük mikrobiyolojisi. *Hacettepe Diş Hekimliği Dergisi*, **34**, 78-91.

Yalvaç, M.E., Rizvanov, A.A., Kılıç, E., Şahin, F., Mukhamedyarov, M.A., Islamov, R.R. ve ark. (2009). Potential role of dental stem cells in the cellular therapy of cerebral ischemia. *Curr Pharm Des*, **15**, 3908-3916.

Yao, S., Pan, F., Prpic, V., Wise, G.E. (2008). Differentiation of stem cells in the dental follicle. *J Dent Res*, **87**, 767-771.

Yıldırım, S., Zibandeh, N., Genc, D., Ozcan, E.M., Goker, K., Akkoc, T. (2015). Comparison of the Immunological Properties of Stem Cells Isolated from Human Exfoliated Deciduous Teeth, Dental Pulp, and Dental Follicles. *Stem cells international*, **2015**, 1-15.

Yıldırım, Z.S., Bakır, E.P., Bakır, Ş., Aydın, M.S. (2017). Diş Hekimliğinde Biyouyumluluk ve Değerlendirme Yöntemleri. *Selcuk Dent J*, **4**, 162-9.

Yohannes, E., Ghosh, S.K., Jiang, B., McCormick, T.S., Weinberg, A., Hill, E., Faddoul, F., Chance, M.R. (2011). Proteomic signatures of human oral epithelial cells in HIV-infected subjects. *PLoS One*, **6**, 1-14.

Yokoi, T., Saito, M., Kiyono, T., Iseki, S., Kosaka, K., Nishida, E. ve ark. (2006). Establishment of immortalized dental follicle cells for generating periodontal ligament *in vivo*. *Cell Tissue Res*, **327**, 301-311.

Yumoto, H., Nakae, H., Fujinaka, K., Ebisu, S., Matsuo, T. (1999). Interleukin-6 (IL-6) and IL-8 are induced in human oral epithelial cells in response to exposure to periodontopathic *Eikenella corrodens*. *Infect Immun*, **67**, 384-394.

Zhang, Q., Nguyen, A.L., Shi, S., Hill, C., Wilder-Smith, P., Krasieva, T.B. ve ark. (2011). Three-dimensional spheroid culture of human gingiva-derived mesenchymal stem cells enhances mitigation of chemotherapy-induced oral mucositis. *Stem Cells Dev*, **21**, 937-947.

Zhang, Q., Shi, S., Liu, Y., Uyanne, J., Shi, Y., Shi, S. ve ark. (2009). Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation related tissue destruction in experimental colitis. *J Immunol*, **183**, 7787-98.

Zhang, Q.Z., Nyugen, A.L., Yu, W.H., Le, A.D. (2012). Human oral mucosa and gingiva: A unique reservoir for mesenchymal stem cells. *J Dent Res*, **91**, 1011-1018.

Zhao, H., Chai, Y. (2015). Stem Cells in Teeth and Craniofacial Bones. *Journal of Dental Research*, **94**, 1495-1501.

Zhou, H., Shen, Y., Wang, Z., Li, L., Zheng, Y., Hakkinen, L. ve ark. (2013). In Vitro Cytotoxicity Evaluation of a Novel Root Repair Material. *J Endod*, **39**, 478-483.

Zhou, Y., Hutmacher, D.W., Sae-Lim, V., Zhou, Z., Woodruff, M., Lim, T.M. (2008). Osteogenic and adipogenic induction potential of human periodontal cells. *J Periodontol*, **79**, 525-534.

Zuckerbraun, H.L., Babich, H., May, R., Sinensky, M.C. (1998). Triclosan, cytotoxicity, mode of action, and induction of apoptosis in human gingival cells in vitro. *European Journal of Oral Sciences*, **106**, 628-636.

FORMLAR

EK 1: Gönüllü Bilgilendirme ve Onam Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

“Bu gereklilikleri yerine getirirken, araştırmanın amacı ve yöntemine göre gönüllü olur formunun gerektiğinde hastaların yanı sıra çocuklar, kısıtlılar ve bilinci kapalı bireyler gibi onam yeteneği olmayan ya da kısıtlı olanlar, hasta yakınları, ve sağlıklı kişiler için ayrı ayrı ve dili tıbbi kelimelerden arındırılarak, katılımcıların anlayabileceği şekilde hazırlanmasına özen gösterilmelidir”

I-Araştırmayla İlgili Bilgi Verilmesi

- **Araştırma Adı:** Çocuk diş macunlarının diş eti hücrelerinin canlılığına ve mezenkimal kök hücrelerinin farklılaşma potansiyeline etkilerinin in vitro olarak incelenmesi

Sizin İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı tarafından yürütülen bu çalışmaya katılmanızı arzu ediyoruz. Aşağıda bu çalışma ile ilgili bazı bilgiler bulacaksınız. Bu bilgiler sizin çalışmaya katılmanızın kolaylaştırılması ve öneminin anlaşılabilmesi için hazırlanmıştır.

- **Ne tür bir araştırma olduğu:** Çekilmiş dişlerden kök hücrelerin elde edilmesi elde edilen hücreler üzerinde laboratuvar ortamında diş macunlarının toksik etkileri araştırılacaktır.
- **Amacı:** Diş çürüğü ve diş eti hastalıklarının önlenmesinde dental plağın kaldırılarak oral hijyenin sağlanmasında en sık kullanılan ağız bakım ürünleri diş macunlarıdır. Diş macunlarının yapısında her birinin etkisi ve görevi farklı olan birçok bileşen bulunmaktadır. Bu bileşenler aşındırıcılar, nemlendiriciler, deterjanlar, bağlayıcı ajanlar, tatlandırıcılar, terapötik ajanlar, renklendiriciler ve koruyucular olarak sıralanmaktadır. Diş macunlarının içerisindeki bileşenlerin yanan ağız sendromu, epitelyal deskuamasyon gibi klinik intraoral istenmeyen etkilerinin yanı sıra hücre canlılığındaki azalmayı gösteren özellikle yetişkin diş macunları üzerinde yapılmış in vitro çalışmalar literatürde bulunmaktadır. Ancak çocuk diş macunlarının oral kavitedeki hücreler üzerindeki etkilerinin gösterildiği çalışmalar çok az sayıdadır. Bu çalışmanın amacı, farklı deterjan içerikli çocuk diş macunlarının oral mukozadaki hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerini in vitro olarak incelemektir.
- **Neler uygulanacağı:** Ortodonti uzmanının kararı ya da herhangi bir şikayete sebebiyet vermesi nedeniyle uzman diş hekimi tarafından çekim kararı verilmiş gömülü yirmi yaş dişlerinin çekimi İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş-Çene Cerrahisi Anabilim Dalı’nda gerçekleştirilecektir. Bu işlem Ağız, Diş-Çene Cerrahisi kliniklerinde uygulanan rutin bir işlemdir ve sıklıkla uygulanmaktadır.
- **Nasıl uygulanacağı:** Sizden çekilmiş olan diş bir solüsyon içinde laboratuvara

götürülecek ve çalışmalar burada devam edecektir. Hiçbir hastadan özellikle çalışmada kullanılmak amacıyla diş çekimi yapılması durumu söz konusu değildir. Bu çalışmaya katılıp katılmamanız tamamen sizin kendi iradeniz ile vereceğiniz karara bağlıdır.

- **Hangi yöntem/lerle gerçekleştirileceği:** Sizden çekilmiş olan diş bir solüsyon içinde laboratuvara götürülecek ve çalışmalar burada devam edecektir. Uygulanacak deneyler sizden çekilen diş üzerinde uygulanacaktır.
- **Çıkabilecek istenmeyen etkilerini ve risklerini:** Araştırmada uzman diş hekimi tarafından çekim kararı verilmiş gömülü yirmi yaş dişleri çekim sonrasında hastanın izni alınarak kullanılacaktır. Bu nedenle çalışmada herhangi bir risk söz konusu değildir.
- **Ortaya çıkan istenmeyen etki ve risklerin tedavi edilebilirliğini:** Herhangi bir risk söz konusu değildir.
- **Bilime ve tıbbı katkıları:** Hastaların rutin işlemleri planlandığı gibi, çalışmamızdan bağımsız olarak devam edecektir. Hastalardan alınan örneklerle yapılacak deneylerle diş macunları içindeki deterjanların toksik etkilerinin belirlenmesinde katkıda bulunulacaktır.
- **Süresi:** Uzman diş hekimi tarafından çekim kararı verilmiş gömülü yirmi yaş dişleri çekim sonrasında hastanın iznini takiben alınacaktır. Herhangi bir katılım süresi söz konusu değildir.
- **Yaklaşık katılımcı sayısı (Çok merkezli ise kurum ve toplam katılımcı sayısını):** Çalışmamızda katılımcı sayımız 20 olarak belirlenmiştir.

II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgi Verilmesi

- Araştırma yöntemi dışında hangi alternatif tedavilerin bulunduğunu; bu tedavilerin neler olduğunu
- Gönüllüye araştırmaya katılmayı red etme hakkına sahip olduğunun bildirilmesi
- Gönüllünün istediği anda araştırmacıya haber vererek çalışmadan çekilebileceği ya da araştırmacı tarafından gerek görüldüğünde araştırma dışı bırakılabileceğinin bildirilmesi
- Gönüllünün araştırmayı kabul etmemesi durumunda veya herhangi bir nedenle çalışma programından çıkarılması veya çıkması halinde, hastalığı ile ilgili tedavisinde bir aksama olmayacağı güvencesi verilmesi
- Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyeceğinin ayrıca kendisine de bir ödeme yapılmayacağının belirtilmesi gerekmektedir. Ulaşım masrafı ve sigorta gibi ödenekler mevcutsa mutlaka gönüllü olurda bilgi verilmelidir.
- Gönüllüden alınacak numunelerin (serum vs.) yalnızca adı geçen çalışmada kullanılacağı belirtilmesi,
[Araştırmanın Açık Adı] araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar vb.); “Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum” veya “İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum”

veya “hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum” şeklinde uygun ifadenin işaretlendiği bilgi yer almalıdır.

- Kimlik bilgilerinin gizli tutulacağına dair güvence

1. Red etme hakkı

Bu araştırmaya katılmayı red etme hakkına sahipsiniz. Katılmak mecburiyetinde değilsiniz. Araştırmayı kabul etmemeniz durumunda veya herhangi bir nede çalışma programından çıkarılmanız veya çıkmanız halinde, hastalığı ile ilgili tedavisinde bir aksama olmayacaktır.

2. Çalışmadan Çıkmak

İstedığınız takdirde başlangıçta çalışmaya katılmayı red edebilirsiniz. İstedığınız takdirde önceden araştırmacıya haber vererek çalışma kapsamı dışında kalabileceğiniz gibi araştırmacı tarafından gerek görüldüğünde araştırma dışı bırakılabileceğiniz. Çalışma kapsamı dışında kalmanız Diş hekimliği Fakültesinin tedavi hizmetlerinden yararlanmanızı etkilemeyecektir.

3. Çalışmadan çekilmek

Gönüllünün istediği anda araştırmacıya haber vererek çalışmadan çekilebileceği ya da araştırmacı tarafından gerek görüldüğünde araştırma dışı bırakılabileceğinin bildirilmesi

4. Araştırmayı kabul etmemeniz durumunda

Araştırmayı kabul etmemeniz durumunda veya herhangi bir nedenle çalışma programından çıkarılmanız veya çıkmanız halinde, hastalığı ile ilgili tedavisinde bir aksama olmayacaktır.

5. Mali Sorumluluk

Katılımcı, araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyecektir. Ayrıca katılımcıya da bir ödeme yapılmayacaktır

6. Gönüllüden alınacak numunelerin (serum vs.) yalnızca adı geçen çalışmada kullanılacağına belirtilmesi

Sizden alınacak dişin veya dişler yalnızca adı geçen bu çalışmada kullanılacaktır.

[Çocuk diş macunlarının diş eti hücrelerinin canlılığına ve mezenkimal kök hücrelerinin farklılaşma potansiyeline etkilerinin in vitro olarak incelenmesi] araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (çekilen diş);

- ☐ Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

7. Gizlilik

Bu konudaki tüm kayıtlar gizli tutulacaktır. Herhangi bir yayında isminiz geçmeyecektir.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Sayın Dt. Sinem Birant tarafından İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dt. Sinem Birant'a 0 535 365 60 56 no'lu telefondan ve Pedodonti Ana Bilim Dalı Çapa/İstanbul'dan arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

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

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı

İmzası

Tarih

Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının

Adı-soyadı

İmzası

Tarih

Gerekliyse olur işlemine tanık olan kişinin

Adı-soyadı

İmzası

Tarih

Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Gerekliyse yasal temsilcisinin

Adı-soyadı

İmzası

Tarih

Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

EK 2: Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarı Çalışma İzni Yazısı



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi

31.03.2017

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Sorumlu yürütücülüğünü Pedodonti Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Figen SEYMEN'in ve Marmara Üniversitesi Çocuk Allerji ve İmmünoloji Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Tunç AKKOÇ'un üstlendiği 'Çocuk Diş Macunlarının Diş Eti Hücrelerinin Canlılığına ve Mezenkimal Kök Hücrelerinin Farklılaşma Potansiyeline Etkilerinin İn Vitro Olarak İncelenmesi' başlıklı araştırma önerisi bölümümüzde incelenerek kurumumuzda yapılması uygun görüldü.

Önerinin etik kurulda görüşülmesi için gereğini bilgilerinize sunarız.

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Ayşe Gülnur TOKUÇ

Çocuk Allerji ve İmmünoloji

Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Tunç AKKOÇ

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı :170

13.04.2017

Konu :Prof. Dr. Figen Seymen

Sayın Prof. Dr. Figen SEYMEN
Pedodonti Anabilim Dalı

İlgi: Pedodonti Anabilim Dalının 04/04/2017 gün ve 129562 sayılı yazısı.

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz 2017/19 dosya nolu "Çocuk Diş Macunlarının Diş Eti Hücrelerinin Canlılığına ve Mezenkimal Kök Hücrelerinin Farklılaşma Potansiyeline Etkilerinin İn Vitro Olarak İncelenmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 13/04/2017 tarih ve 51 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr. Faruk Haznedaroğlu
İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik
Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Ekt: İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ÇOCUK DIŞ MACUNLARININ DIŞ ETİ HÜCRELERİNİN
CANLILIĞINA VE MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİNİN
FARKLILAŞMA POTANSİYELİNE ETKİLERİNİN İN VİTRO
OLARAK İNCELENMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

% 10	% 8	% 5	% 4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 2
2	library.neu.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
3	www.istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	acikarsiv.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	www.arastirmax.com İnternet Kaynağı	% 1
6	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<% 1
8	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	SİNEM	Soyadı	Birant
Doğ.Yeri	EDİRNE	Doğ.Tar.	11.07.1989
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	16492950174
Email	sinemmuzz@gmailcom	Tel	05353656056

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti A.D.	-
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2014
Lisans	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2014
Lise	Edirne Anadolu Lisesi	2007

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Diş Hekimi (Dokt. Öğr.)	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı	2014-halen
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	İyi	81,25	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	82	81	68
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office (Word, Excel, Powerpoint)	İyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Yayınları

Birant, S., Koruyucu, M., Topcuoglu, N., Kulekci, G. ve Seymen, F. (2018) Investigation of the in vitro antibacterial effects of different toothpastes and fluoride gels: An in vitro study. *EC Dental Sci*, 17(9), 1508-1514.

Koruyucu, M., **Uz, S.**, Bayram, M., Keklioglu, N., Cankaya, A.B. ve Seymen, F. (2018). Sealing ability of different root end filling materials: An in vitro study. *EC Dental Science*, 17(5), 423-429.

Bildirileri

Ceren Aydın, Ceren İlisulu, **Sinem Birant**, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Apexification of immature teeth with NeoMTA Case Series. AAPD Annual Session 24-27 May 2018, Honolulu, Hawaii. (International Presentation).

Figen Seymen, **Sinem Uz**, Mine Koruyucu. Zirconia-Prefabricated Crowns for Pediatric Patients with Early Childhood Caries: Case Series. IAPD Global Summit on Early Childhood Caries. 2-4 November 2018, Bangkok, Thailand. (Oral Presentation).

Mine Koruyucu, **Sinem Birant**, Figen Seymen. Clinical association between malocclusion and bad oral habits in monozygotic and dizygotic twin pairs. IAPD regional meeting and 25th Congress of TPD. 12-14 October 2018, Istanbul , Turkey. (Oral Presentation).

Yelda Kasımoğlu, **Sinem Birant**, Mine Koruyucu, Koray Gencay, Figen Seymen. A comparison of dental maturation in twins. IAPD regional meeting and 25th Congress of TPD. 12-14 October 2018, Istanbul , Turkey. (Oral Presentation).

Sinem Birant, Mine Koruyucu, Yelda Kasimoglu, Nural Bekiroglu, Figen Seymen. Assessment of dental arch parameters in Turkish twins. IAPD regional meeting and 25th Congress of TPD. 12-14 October 2018, Istanbul , Turkey. (Oral Presentation).

Ceren İlisulu, **Sinem Birant**, Mine Koruyucu, Elif Bahar Tuna İnce, Figen Seymen. Clinical assessment between bad oral habits and dental caries-periodontal parameters between monozygotic and dizygotic twins. IAPD regional meeting and 25th Congress of TPD. 12-14 October 2018, Istanbul , Turkey. (Oral Presentation).

Ceren Aydın, Ceren İlisulu, Hazal Özcan, **Sinem Birant**, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Apexification of immature teeth with NeoMTA case series. IAPD regional meeting and 25th Congress of TPD. 12-14 October 2018, Istanbul , Turkey. (Poster).

S. Ceren İlisulu, Onur Çınar Kaya, **Sinem Birant**, Hazal Özcan, Mine Koruyucu, Derya Toparlak, Figen Seymen. Investigation of Psychosocial effects of anterior tooth fractures in children. 24th International Dental Congress. 27-30 September 2018, Ankara, Turkey. (Poster).

Hazal Özcan, Buse Yılmaz, **Sinem Birant**, Sabiha Ceren İlisulu, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Correlation between height of children and crown dimensions of deciduous teeth. 24th International Dental Congress. 27-30 September 2018, Ankara, Turkey. (Oral Presentation).

Sinem Birant, Hazal Özcan, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Assessment of the compressive strength of the current restorative materials. 24th International Dental Congress. 27-30 September 2018, Ankara, Turkey. (Oral Presentation).

Ceren Aydın, Ceren İlisulu, **Sinem Birant**, Figen Seymen. Dental Luksasyon Yaralanmalarında Tedavi Yaklaşımı Management of Traumatic Dental Luxation. 24th International Dental Congress. 27-30 September 2018, Ankara, Turkey. (Poster).

İlisulu C, **Birant S**, Koruyucu M, Tuna B, Seymen F. Assessment of dental malocclusions in Turkish twins. 14 th EAPD Congress, Lugano, Switzerland, June 20-23, 2018. (Poster).

Seymen F, **Birant S**, Koruyucu M, Kasimoglu Y, Bekiroglu N. Assessment of dental caries and periodontal parameters in Turkish twins. 14th EAPD Congress, Lugano, Switzerland, June 20-23, 2018. (Poster).

Mine Koruyucu, **Sinem Birant**, Hazal Özcan, Ceren İlisulu, Nural Bekiroğlu, Figen Seymen. Investigation of the self-reported attitude of dentists towards fluoride applications. International Congress of Preventive Dentistry March 5-8, 2018 Erzurum/Turkey. (Poster).

Mine Koruyucu, **Sinem Birant**, Hazal Ozcan, Ceren Ilisulu, Yelda Kasımoğlu, Nilüfer Ustün, Simin Kocaaydın, Dilara Dinç, Gülsevim Usta, Cansu Akay, Nural Bekiroğlu, Figen Seymen. Investigation the level of knowledge of the community about oral and dental health. International Congress of Preventive Dentistry March 5-8, 2018 Erzurum/Turkey. (Oral Presentation).

Sinem Uz Birant, Yelda Kasımoğlu, Figen Seymen. Rezin infiltrasyon tekniği ile mikro-invaziv tedavi: olgu sunumu. 23th TDA International Dental Congress 21-24 September 2017, İstanbul, Turkey. (Poster).

Ceren İlisulu, **Sinem Birant**, Hazal Özcan, Yelda Kasımoğlu, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Reattachment of anterior teeth fragments: case report. 26th IAPD Congress 4-7 October 2017 Santiago,Chile. (Poster).

Koruyucu M, Kasimoglu Y, **Uz S**, Bahar Tuna E, Seymen F. Association Between Bad Oral Habits and Malocclusion in Monozygotic Twins. 22nd BaSS Congress Contemporary Challenges in Dentistry. Thessaloniki, Greece. 4-6 May 2017. (Oral Presentation).

Sabiha Ceren Ilisulu, **Sinem Birant**, Yeliz Güven, Figen Seymen. Multidisciplinary treatment approach for traumatically extruded permanent teeth. 10th Interim Seminar of the European Academy of Pediatric Dentistry (EAPD) 21 and 22 April 2017, Turin, Italy. (Poster).

Sinem Birant, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Torg-Winchester syndrome. 10th Interim Seminar of the European Academy of Pediatric Dentistry (EAPD) 21 and 22 April 2017, Turin, Italy. (Poster).

UZ S, Kasimoglu Y, Yilmaz DO, Tabakcilar D, Gencay K, Seymen F. Tricho-Rhino-Phalangeal Sendromu Tip II. International Oral Research Association (Orad) 1. International Scientific Congress. Büyük Anadolu Oteli, Ankara, 18-20 Kasım 2016. (Poster).

İlisulu C, **Uz S**, Tabakçılar D, Koruyucu M, Seymen F, Gencay K. Erken dönemde koruyucu ortodontik tedaviler:Olgu serisi. Türk Pedodonti Derneği 23. Bilimsel Kongresi, 24-28 Eylül 2016. (Poster).

S. Uz, Y. Kasimoglu, A. B. Cankaya, N. Aksakalli, F. Seymen. Peripheral cemento-ossifying fibroma associated with an unerupted tooth. 13th Congress of the European Academy of Paediatric Dentistry, June 2-5 2016, Belgrade, Serbia. (Poster).

Sinem Uz, Yelda Kasımoğlu, Figen Seymen, Koray Gençay. Correction of anterior crossbite in mixed dentitions: Case series. 22nd TDA International Dental Congress. 19-21 May 2016, İzmir Turkey. (Poster).

Sinem Uz, Yelda Kasımoğlu, Dilek Özge Yılmaz, **Figen Seymen**, Koray Gençay. Tricho-Rhino-Phalangeal Sendromu Tip II. 22. Türk Pedodonti Derneği Bilimsel Kongresi, 2-5 Kasım 2015. (Poster).

Sertifikalar

Katılım Sertifikası, Dental Travmatoloji Güncelleme Eğitimi, 7 Ocak 2018, Hacettepe/Ankara.

Course Certificate, Statistical Data Analysis with IBM SPSS, 25th Congress of Turkish Society of Paediatric Dentistry, 12-14 October 2028, Istanbul/ Turkey.

Certificate of attendance, International Association of Paediatric Dentistry Regional Meeting& 25th Congress of Turkish Society of Paediatric Dentistry, 12-14 October 2028, Istanbul/ Turkey.

Certificate of attendance, International Congress on Preventive Dentistry, 5-8 March 2018, Palandöken, Erzurum/Turkey.

Certificate of attendance, 24th TDA International Dental Congress, 27-30 September 2018, Ankara/ Turkey.

Certificate of Oral Presentation. Assesment of the compressive strength of the current restorative materials. 27-30 September 2018, Ankara/ Turkey.

Certificate of completion for esthetic crowns in padiatric dentistry. 12 March 2017, Istanbul.

İntihal ve yayın etiği çalıştay katılım belgesi, 12 Nisan 2017, İstanbul.

Certificate of attendance, 10th Interim Seminar&Workshop of the European Academy of Paediatric Dentistry, 20-22 April 2017, Turin/ Italy.

Certificate of Course Attendance, Acil Yaşam Desteği Kursu. 23rd TDA International Dental Congress, 21-24 September 2017, Istanbul/ Turkey.

Certificate of attendance, 23rd TDA International Dental Congress, 21-24 September 2017, Istanbul/ Turkey.

Certificate of course attendance, Using anatomically prefabricated activators for the treatment of malocclusion in the primary and mixed dentition. 1st EAPD Athena Master Class, 27-28 October 2017, München/Germany.

Kurs katılım sertifikası, Posterior dişlerde direkt ve indirekt adeziv restorasyonlar, 10Aralık 2017, İstanbul/ Türkiye,

Certificate of Pre-Congress course attendance, Management of Dental Trauma in a growing child patient. Tradition versus a bright new future. 13th Congress of European Academy of Paediatric Dentistry, 2nd June 2016, Belgrade/Serbia

Certificate of Pre-Congress course attendance, Lasers in Paediatric Dentistry. 13th Congress of European Academy of Paediatric Dentistry, 2nd June 2016, Belgrade/Serbia

Certificate of attendance, 13th Congress of European Academy of Paediatric Dentistry, 2-5 June 2016, Belgrade/ Serbia.

Certificate of attendance, 22nd TDA International Dental Congress, 19-21 May 2016, İzmir/ Turkey.

Katılım sertifikası, 22. Türk Pedodonti Derneği Kongresi, 2-5 Kasım 2015, KKTC.