

T.C
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ PEDODONTİ ANABİLİM DALI

DİŞ SÜRME DÖNEMİNDE KULLANILAN FARKLI DİŞ
JELLERİNİN VE BİTKİSEL YAĞLARIN İNSAN GİNGİVAL
FİBROBLASTLARI ÜZERİNDE SİTOTOKSİSİTELERİNİN VE
YARA İYİLEŞMESİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hazırlayan
Sıdika Beril FALAY

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL

Tez No: 16

2022 – AFYONKARAHİSAR

**T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ
FAKÜLTESİ PEDODONTİ ANABİLİM DALI**

**DİŞ SÜRME DÖNEMİNDE KULLANILAN FARKLI DİŞ JELLERİNİN VE
BİTKİSEL YAĞLARIN İNSAN GİNGİVAL FİBROBLASTLARI ÜZERİNDE
SİTOTOKSİSİTELERİNİN VE YARA İYİLEŞMESİNE ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Hazırlayan
Arş. Gör. Dt. Sıdika Beril FALAY
DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ**

**Bu çalışma; Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Birimi tarafından 20.DUS.005 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

2022-AFYONKARAHİSAR

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI

Çalışmamızın etik kurul onayı Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı’ndan alınmıştır. (06.11.2020
tarihli 2020/473 sayılı karar) (EK-1)



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca akademik bilgisi ve klinik tecrübesiyle her daim yoluma ışık tutan, tezimin her aşamasında emeği ve desteğini esirgemeyen, hayatımla ilgili attığım her adımda olumlu tavrı ve tecrübesiyle yanımda hissettiğim değerli tez danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL’a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini her daim benimle paylaşan değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Özgür DOĞAN, Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ÜNAL ve Dr. Öğr. Üyesi İsmail Haktan ÇELİK’e,

Tezimin deney aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle bana destek olan hocalarım Prof. Dr. Sefa ÇELİK ve Öğr. Gör. Serkan ŞEN’e,

Tezimin uygulama aşamasındaki desteği ve güzel dostluğu için Arş. Gör. Dt. Melike TIRAŞ’a, Afyon’daki ikinci ailem gibi olan dostlarım Uzm. Dt. Edanur GÖKCE MEYDAN, Arş. Gör. Dt. Duygu DERTLİ, Arş. Gör. Dt. Gözde UĞUR, Arş. Gör. Dt. Hatice TÜRKOĞLU, Arş. Gör. Dt. Ayşenur TANRIKULU ve Arş. Gör. Dt. Mert Hüseyin DENİZLİ’ye,

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım Pedodonti Anabilim Dalı’ndaki bütün asistan arkadaşlarıma ve tüm yardımcı sağlık personeline,

Beni bu günlere getiren, hayatım boyunca destek ve sevgileriyle yanımda yer alan, annem Ülfet FALAY, babam Süleyman FALAY, kardeşim Kenan Baran FALAY ve halam Dilek BAŞPEHLİVAN’a,

Ve hayatımdaki her alanında olduğu gibi tezimin hazırlık sürecinde de daima sevgisi, özverisi, desteği ve sabrı ile yanımda yer alan sevgili Burak CİVELEK’e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

DİŞ SÜRME DÖNEMİNDE KULLANILAN FARKLI DİŞ JELLERİNİN VE BİTKİSEL YAĞLARIN İNSAN GİNGİVAL FİBROBLASTLARI ÜZERİNDE SİTOTOKSİSİTELERİNİN VE YARA İYİLEŞMESİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Sıdıka Beril FALAY

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi
Mart 2022

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL

ÖZET

Amaç: Çalışmamızın amacı, diş sürme döneminde kullanılan farklı diş jelleri ve bitkisel yağların insan gingival fibroblast hücreleri (HGF-1) üzerindeki sitotoksik etkisi ve *in vitro* yara modeli üzerindeki etkisinin değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda kullanılan preparatların HGF-1 üzerindeki sitotoksik etkisi MTT testi ile değerlendirildi ve LD50 değerleri hesaplandı. Ardından *in vitro* yara modeli oluşturuldu ve preparatların LD50 değerindeki konsantrasyonu mikropalakalara uygulandı. *In vitro* yara modeli alanının preparatların uygulanmasından önce, uygulandıktan sonra 24. saatte ve 48. saatteki görüntüleri mikroskop üzerinden alındı ve yara alanları Image J (National Institutes of Health, New York, U.S.A) yazılım programı ile hesaplandı. Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde, IBM SPSS istatistiksel paket yazılım programı (Statistical Package for Social Science, Version 26, IBM SPSS®, Chicago, U.S.A) kullanıldı.

Bulgular: İnsan gingival fibroblastları üzerinde yapılan sitotoksikite testi sonucunda en fazla sitotoksik etki gösteren preparatın çay ağacı yağı olduğu, en az sitotoksik etki gösteren preparatın ise Jack N' Jill® diş jeli olduğu bulunmuştur. Yapılan *in vitro* yara modeli testi sonucunda ise 24. saatte sayısal olarak en yüksek yara iyileşme yüzdesine sahip olan preparat çay ağacı yağı iken, 48. saatte ise Aftadur® diş jeli olarak bulunmuştur. Sayısal olarak en düşük yara iyileşme yüzdesi gösteren preparat ise, hem 24. saatte hem de 48. saatte Calgel® diş jeli olarak bulunmuştur. ($p>0,05$) Çalışmamızda kullanılan preparatlardan hiçbirisinin yara iyileşme yüzdesi kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmamıştır. ($p>0,05$)

Sonuç: Diş sürme döneminde kullanılan preparatların insan gingival fibroblastları üzerinde çeşitli oranlarda sitotoksik etkilere sahip olduğu ve bu ürünlerin yara iyileşmesine anlamlı bir olumlu etkilerinin olmadığı bulunmuştur. Sağlık çalışanlarının diş sürme döneminde kullanılan preparatlarla ilgili bilinçlenmesi ve ebeveynlere yol göstermesi, reçetesiz ulaşılabilen bu ürünlerin bilinçsiz kullanımının önüne geçilmesi açısından oldukça önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Çay ağacı yağı, diş sürmesi, karanfil yağı.

**EVALUATION OF THE EFFECTS OF DIFFERENT TEETHING GEL AND
HERBAL OILS USED IN THE TEETHING PERIOD ON THE CYTOTOXICITY AND
WOUND HEALING ON HUMAN GINGIVAL FIBROBLASTS**

Sıdıka Beril FALAY

**Afyonkarahisar Health Sciences University Faculty of Dentistry Department of
Pediatric Dentistry Specialization Thesis**

March 2022

Supervisor: Assist.Prof. Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL

ABSTRACT

Objective: The aim of our study is to evaluate the cytotoxic effect of different teething gels and herbal oils used in the teething period on human gingival fibroblast cells and the effect on the *in vitro* wound model.

Material and method: The cytotoxic effect of the preparations used in our study on HGF-1 was evaluated with the MTT test and LD50 values were calculated. Then, an *in vitro* wound model was created and the LD50 concentration of the preparations was applied to the microplates. Images of the *in vitro* wound model area before, at the 24th and 48th hours after the application of the preparations were taken over the microscope and the wound areas were calculated with the Image J (National Institutes of Health, New York, U.S.A) software program. In the statistical evaluation of the findings obtained in the study, the IBM SPSS statistical package software program (Statistical Package for Social Science, Version 26, IBM SPSS®, Chicago, U.S.A) was used.

Results: As a result of the cytotoxicity test performed on human gingival fibroblasts, it was found that the preparation with the highest cytotoxic effect was tea tree oil, and the preparation with the least cytotoxic effect was Jack N' Jill® teething gel. As a result of the *in vitro* wound model test, the preparation with the highest numerical wound healing percentage at the 24th hour was tea tree oil, while at the 48th hour Aftadur® teething gel was found. The preparation with the lowest numerical wound healing percentage was found to be Calgel® teething gel at both the 24th hour and the 48th hour. ($p>0.05$) Wound healing percentage of any of the preparations used in our study was not statistically significantly higher than the control group. ($p>0.05$)

Conclusion: It has been found that the preparations used in the eruption period have cytotoxic effects on human gingival fibroblasts at various rates and these products do not have a significant positive effect on wound healing. It is very important to raise awareness of healthcare professionals about these preparations and to guide parents in this regard, in order to prevent the unconscious use of these products, which can be accessed without a prescription.

Key words: Clove oil, tea tree oil, tooth eruption.

İÇİNDEKİLER:

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI.....	İİ
KABUL VE ONAY.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
ÖZET	İV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER:.....	VI
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	İX
TABLolar DİZİNİ.....	Xİ
ŞEKİLLER DİZİNİ	Xİİ
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. DİŞ SÜRMESİ VE MEKANİZMASI	3
2.1.1. Diş Sürmesi ile İlgili Teoriler	4
2.1.1.1. Diş Kökünün Uzaması Teorisi	4
2.1.1.2. Periodontal Ligament Teorisi	5
2.1.1.3. Sürmenin Hormonal Kontrolü	5
2.1.1.4. Dental Folikül Teorisi	5
2.1.1.5. Diş Sürmesinin Hücresel, Moleküler ve Genetik Temeli.....	6
2.1.1.6. Diş Sürme Mekanizması ile İlgili Diğer Teoriler.....	7
2.1.2. Diş Sürmesi Sırasında Sürme Yolunun Oluşumu	7
2.1.3. Diş Sürme Mekanizmalarına Güncel Bakış Açısı	8
2.1.4 Çocuklarda Diş Sürme Zamanı	8
2.2. DİŞ SÜRME DÖNEMİNDE GÖZLENEN SEMPTOMLAR.....	11
2.2.1. Diş Sürme Dönemindeki Lokal Semptomlar	11
2.2.1.1. Diş Etlerinde İnflamasyon	11
2.2.1.2. Salyada Artış	12
2.2.1.3. Isırma Çiğneme İsteğinde Artış.....	12
2.2.2. Diş Sürme Dönemindeki Sistemik Semptomlar	13
2.2.2.1. Ateş	13
2.2.2.2. İshal	13
2.2.2.3. Huzursuzluk ve Uykusuzluk	13
2.2.2.4. Kusma.....	14
2.2.2.5. Kulak Kaşıma ve Kulak Çekme Davranışı.....	14
2.2.2.6. Vücutta Oluşan Kızarıklıklar ve Döküntüler.....	14
2.2.2.7. Öksürük	14

2.2.2.8. İştahsızlık.....	15
2.3. DIŞ SÜRME DÖNEMİNDE KULLANILAN TEDAVİ YÖNTEMLERİ.....	16
2.3.1.Diş Sürme Dönemi Semptomlarının Tedavisinde Kullanılan Farmakolojik Olmayan Yöntemler	16
2.3.1.1. Diş Sürme Bölgesine Masaj Yapılması.....	17
2.3.1.2. Diş Sürme Bölgesine Soğuk Uygulanması	17
2.3.1.3. Diş Kaşıyıcılarının Kullanımı	17
2.3.1.4. Soğutulmuş Sebze ve Meyvelerin Kullanımı	17
2.3.1.5. Sarılma Terapisi Uygulanması	18
2.3.1.6. Diş Sürme Döneminde Homeopatik Tedavilerin Kullanımı	18
2.3.2.Diş Sürme Dönemi Semptomlarının Tedavisinde Kullanılan Farmakolojik Yöntemler.....	19
2.3.2.1.Diş Sürme Döneminde Analjeziklerin Kullanımı	20
2.3.2.2. Diş Sürme Döneminde Topikal Diş Jellerinin Kullanımı	21
2.4. BİYOUYUMLULUK VE SİTOTOKSİSTE.....	23
2.4.1. Sitotoksisite Testleri	24
2.4.1.1.Hücre Kültürü Testleri.....	24
2.4.1.2. Agar Difüzyon Testi.....	26
2.4.1.3. Filtre Difüzyon Testi	26
2.4.1.4. Dentin Bariyer Testi	26
2.4.2. Sitotoksisite Testlerinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler	27
2.4.2.1. Canlılık değerlendirme testleri	27
2.4.2.2. Yaşam Değerlendirme Testleri.....	27
2.4.2.3.Hücre Proliferasyonu Değerlendirme Testleri	27
2.4.2.4.Hücre Metabolizması Değerlendirme Testleri	28
2.5. YARA İYİLEŞMESİ.....	29
2.5.1. Yara İyileşme Tipleri	29
2.5.1.1. Primer İyileşme	29
2.5.1.2. Sekonder İyileşme	29
2.5.1.3. Tersiyer İyileşme	29
2.5.2. Yara İyileşme Mekanizması	30
2.5.2.1. Hemostaz ve İnflamasyon Fazı	30
2.5.2.2. Proliferasyon Fazı.....	30
2.5.2.3. Rejenerasyon (Matürasyon) Fazı.....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. HÜCRE KÜLTÜRÜNÜN HAZIRLANMASI.....	35

3.2.ÇALIŞMADA KULLANILACAK PREPARATLARIN HAZIRLANMASI, UYGULANMASI VE MTT TESTİ.....	41
3.2.1. Çalışmada Kullanılacak Preparatların Hazırlanması	41
3.2.2. Preparatların Uygulanması	42
3.2.3. MTT Testi	42
3.3. İN VİTRO YARA İYİLEŞME MODELİ.....	44
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	47
4.BULGULAR	48
4.1. FARKLI KONSANTRASYONLARDA HAZIRLANAN PREPARATLARIN SİTOTOKSİSİTE DEĞERLENDİRİLMELERİ	48
4.2. PREPARATLARIN ZAMANA BAĞLI OLARAK İN VİTRO YARA İYİLEŞME MODELİ SONUÇLARI	49
4.2.1.Grupların Kontrol Grubuna Göre 24. Saat ve 48. Saatteki Yara İyileşme Yüzdesi Grafikleri:.....	55
5.TARTIŞMA	63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	81
7. KAYNAKLAR.....	83
8. EKLER.....	104

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

AAPD	Amerikan Pediatrik Diş Hekimliği Akademisi
ATCC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
°C	Santigrat derece
Cbfa1	Çekirdek Bağlama Faktörü a-1
CO ₂	Karbondioksit
CSF-1	Koloni Sitünilasyon Faktörü
DMSO	Dimetil Sülfoksit
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi
Gr	Gram
HeLa	İnsan Servikal Adenokarsinom Hücreleri
IL-1 β	İnterlökin-1 β
ISO	Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu
LD50	Letal Doz 50
LDH	Laktat Dehidrogenaz
mg	Miligram
ml	Mililitre
MTT	Dimetiltiyazol Difenil Tetrazolyum Bromür

NSAİ	Non-Steroidal Antiinflamatuvar
ODF	Osteoklast Farklılaşma Faktörü
®	Tescilli
RANKL	Reseptör Aktivatör Nükleer Kappa B
Rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
SPSS	Statistical Package for Social Science
TGF- α	Transforme Edici Büyüme Faktörü
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
WST	Suda Çözünen Formazan-1
XTT	Metoksi Nitro Sulfofenil Tetrazolyum Karboksanilid

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Süt dişlerinin sürme zamanları

Tablo 2.2. Daimi dişlerin sürme zamanları

Tablo 2.3. Ebeveynlerin topikal jel/ilâç kullanım yüzdeleri

Tablo 3.1. Çalışmamızda kullanılan preparatlar ve içerikleri

Tablo 4.1. Çalışmamızda kullanılan preparatların LD50 değerini veren konsantrasyonları

Tablo 4.2. Çalışmamızda kullanılan preparatların 24. saatte ve 48. saatteki yara iyileşme yüzdesi sonuçları

Tablo 4.3. Çalışmamızda kullanılan preparatların 24. saatte ve 48. saatteki yara iyileşme yüzdelerinin ikili karşılaştırmaları

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Çalışmamızda kullanılan diş jellerine ait görseller

Şekil 3.2. Çalışmamızda kullanılan bitkisel yağlara ait görseller

Şekil 3.3. İnsan primer gingival fibroblast hücresi (HGF-1)

Şekil 3.4. Besi yeri solüsyonu hazırlanması

Şekil 3.5. Isıtmalı su banyosu cihazı

Şekil 3.6. Santrifüj cihazı

Şekil 3.7. 25cm²'lik flaskın ters mikroskop altında incelenmesi

Şekil 3.8. Ters mikroskoptaki hücre görüntüsü

Şekil 3.9. İnkübatör

Şekil 3.10. Hücrelerin tabana tutunduktan sonraki ters mikroskop görüntüsü

Şekil 3.11. 75cm²lik flaska pasajlanan hücreler

Şekil 3.12. 96 kuyucuklu mikroplakaya hücre ekimi

Şekil 3.13. Vortex cihazı ile jellerin ve yağların karıştırılması

Şekil 3.14. Ana stok olarak hazırlanan preparatlar

Şekil 3.15. Mikroplaka okuyuculu spektrofotometre

Şekil 3.16. *In vitro* yara iyileşme modeli testi basamakları

Şekil 3.17. Hücre ekimi yapılmış altılı mikroplaka görüntüsü

Şekil 3.18. Hücre kültüründe *in vitro* yara modeli oluşturulması

Şekil 3.19. Gengigel® diş jelinin yara sınırlarının alanını bozması

Şekil 3.20. Image J yazılım programı ile *in vitro* yara modelindeki yara alanının hesaplanması

Şekil 4.1. Çalışmamızda kullanılan preparatların LD50 değerini veren konsantrasyon grafiği

Şekil 4.2. Çalışmamızda kullanılan preparatların *in vitro* yara modelindeki 0. saat, 24. saat ve 48. saat fotoğrafları

Şekil 4.3. Jack N' Jill® diş jeli ve kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

Şekil 4.4. Aftamed® diş jeli ve kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

Şekil 4.5. Dencol® jel sprej ve kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

Şekil 4.6. Dentinox® diş jeli ve kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

Şekil 4.7. Aftadur® diş jeli ve kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

Şekil 4.8. Calgel® diş jeli ve kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

Şekil 4.9. Çay ağacı yağı, kontrol grubu ve DMSO kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

Şekil 4.10. Grupların 24. saatteki yara iyileşme yüzdeleri

Şekil 4.11. Grupların 48. saatteki yara iyileşme yüzdeleri

Şekil 4.12. Grupların 24. ve 48. saatlerdeki yara iyileşme yüzdeleri

DİŞ SÜRME DÖNEMİNDE KULLANILAN FARKLI DİŞ JELLERİNİN VE BİTKİSEL YAĞLARIN İNSAN GİNGİVAL FİBROBLASTLARI ÜZERİNDE SİTOTOKSİSİTELERİNİN VE YARA İYİLEŞMESİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Diş sürmesi; dişin alveol kemiği içerisindeki pozisyonundan ağız içerisindeki fonksiyonel konumuna hareket ettiği süreçtir (1). Bu süreçte yaşanan salya miktarında artış, diş etlerinde irritasyon, ısırma-çiğneme isteğinde artış gibi lokal semptomlar ve ateş, uykusuzluk ve huzursuzluk gibi sistemik semptomlar diş sürme dönemi ile sıklıkla ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, diş sürme dönemindeki semptomların yönetimi için pek çok farmakolojik ve farmakolojik olmayan yöntem kullanılmaktadır. Diş sürme dönemindeki semptomları yönetmek amacıyla kullanılan farmakolojik yöntemler; ağrı kesici ve ateş düşürücü ilaç kullanımı ve diş jellerinin kullanımı iken, farmakolojik olmayan yöntemler ise sarılma terapisi, soğuk uygulanması, diş kaşıyıcıların kullanımı, soğuk meyve sebzeler ile diş etine masaj yapılması ve çeşitli bitkisel yağların bölgeye uygulanmasıdır.

Diş sürme dönemindeki lokal semptomları rahatlatmak amacıyla diş jelleri reçetesiz olarak satılmaktadır ve ebeveynler tarafından sıklıkla tercih edilmektedir. Ebeveynler üzerinde yapılan bir anket çalışması incelendiğinde; bu dönemde bebeklere aylarca hatta yıllarca topikal ürünlerin uygulanabildiği bildirilmiştir (2). Bu ürünler diş sürme döneminde kullanımının yanı sıra, oral aftların tedavisinde, periodontal hastalıklarda antiinflamatuvar etkinlik sağlamak amacıyla, postoperatif dönemde iyileşmeyi hızlandırmak gibi çeşitli amaçlarla da kullanılabilir (3-5). Bu ürünlerin prospektüsleri incelendiğinde ise olası yan etkisi, kullanılması gereken doz ile ilgili net bir bilginin yer almadığı görülmektedir. Bununla birlikte, literatürde bu ürünlerin olası yan etkileri ile ilgili pek çok çalışma ve vaka raporuna rastlanmıştır (6-8).

Diş jellerinin yanı sıra diş sürme dönemi semptomlarını rahatlatmak amacıyla ebeveynler sıklıkla homeopatik yöntemlere de başvurmaktadır. Bu yöntemler çeşitli kültürlere göre değişiklik göstermektedir, çay ağacı yağı, karanfil yağı, meyan kökü, yeşil soğan, rezene, papatya ve sarımsak diş sürme döneminde kullanılan homeopatik yöntemlerdendir. Ancak, bu ürünlerin diş sürme dönemindeki semptomlar üzerine etkisi belirsizdir (9). Homeopatik ürünlerin kullanım dozu belirsizdir ve bu ürünlerin kullanımı sırasında ilaçlarla ve kullanılan diğer bitkisel ürünlerle etkileşime girebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca, bu bitkisel yağların olası yan etkileri ile ilgili de kapsamlı çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Çalışmamızın amacı diş sürme döneminde kullanılan farklı diş jelleri ile karanfil yağı ve çay ağacı yağlarının insan gingival fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi ve *in vitro* yara modeli üzerindeki etkisinin değerlendirilmesidir.

Birinci başlangıç hipotezimiz; çalışmaya dahil edilen diş jelleri ve bitkisel yağların LD50 değerleri arasında fark bulunmamaktadır. İkinci başlangıç hipotezimiz ise, çalışmaya dahil edilen diş jelleri ve bitkisel yağların *in vitro* yara modelinde yara iyileşme yüzdeleri arasında kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Diş Sürmesi ve Mekanizması

Dişin çevre kemik dokusundaki remineralizasyonu-demineralizasyonu ve çevre bağ dokusundaki değişimini kapsayan alveol kemiği içerisindeki pozisyonundan ağız içerisindeki fonksiyonel konumuna doğru olan hareketine diş sürmesi denmektedir. Diş sürme işlemine başlarken öncelikle alveol kemiği içerisinde üç boyutlu olarak gelişir ve hareket eder. Ardından alveol kemiği içindeki konumundan yükselir ve karşıt diş ile fonksiyonel kapanışa gelir (10-12).

Carlson (1944) çalışmasında diş sürmesi ile ilgili olarak incelemiş olduğu bazı görüşleri bildirmiştir (13).

- 1)Diş sürmesi diş kronunun oluşumu ile başlamaktadır.
- 2)Diş kronu hareketine başlamadan önce diş kökü oluşumu alveol kemiği içerisinde başlamaktadır.
- 3)Diş kökünün büyük bir kısmı diş fonksiyonel kapanışa gelmeden önce oluşmaktadır.
- 4)Dişin kök yapısının tamamı alveol kemiği içerisinde meydana gelmektedir.
- 5)Dişin sürme hareketi ömür boyu devam etmektedir.

Diş sürme süreci 5 adım şeklinde gerçekleşir.

1. adım; kronun tamamen oluşumu öncesi gerçekleşen diş germinin ön sürme hareketi: Bu hareketler serisinde kronda sürme yönü dışında küçük hareketlenmeler yaşanır.
2. adım; kemik içinde diş germinin sürme hareketi: Diş sürmesi kök oluşumu ile başlar.
3. adım; mukozanın diş tarafından penetre edilmesi: Diş tüberkülü alveol kretine ulaşır diş üzerindeki mine epiteli kalınlaşma gösterir ve mine epiteliyle ağız içerisindeki epitel birleşir. Bu hareket ile kemik içerisinde diş sürmesinin gerçekleşeceği sürme yolu oluşmuş olur. Bu durum diş sürmesini hızlandırır.

4. adım; sürme hareketinin oklüzal düzleme doğru devam etmesi: Dişin ağız içindeki hareketi oklüzal düzleme ulaşana kadar devam eder. Bu hareket sırasında kök gelişmeye devam etmektedir.

5. adım; oklüzal düzleme ulaşma sonrası sürme hareketi: dişler kapanışa geldikten sonra sürme hareketi sonlanmaz, diş sürmesi ömür boyu devam etmektedir. Dişlerin kapanışa geldikten sonra çiğneme kuvvetleri, bruksizm gibi sebeplerle aşınması sonucu oluşan ve kemiklerde zamanla meydana gelen deformasyonlar sonucu oluşan vertikal boyuttaki azalma gibi sebeplerle dişler sürmeye devam etmektedir.

Diş sürmesi ile ilgili geçmişten günümüze pek çok teori öne sürülmüş fakat, diş sürmesi hala tam olarak anlaşılamamış ve sürmeyi açıklayan ortak bir görüş ortaya konulamamıştır. Öne sürülen diş sürme teorisinin biyolojik ve klinik anlamda kabul edilebilir olması için bir takım gerçek gözlemler içermelidir (12-18).

Bunlar;

- 1) Dişlerin sürme sırasındaki hareketleri sadece uzun aksı doğrultusunda değil, üç boyutludur.
- 2) Diş sürme döneminin kendine özgü bir karakteristiği vardır. Örneğin; sürme adımları sırasında diş sürme hızı değişkendir.
- 3) Dişler genetik olarak belirlenen bir fonksiyonel pozisyona gelir.

2.1.1. Diş Sürmesi ile İlgili Teoriler

2.1.1.1. Diş Kökünün Uzaması Teorisi

Diş sürmesinin kök oluşumu ile başlaması ve sürme sürecinde kök oluşumunun devam etmesi diş sürme nedeni olarak kök boyu uzamasını düşündürmüştür (19,20). Fakat yapılan hayvan çalışmalarında, maymun ve köpeklerin diş kökü oluşumu durdurulmuş veya kökleri çıkarılmış, buna rağmen diş sürmesinin devam ettiği gözlenmiştir (21-23). Bunun yanı sıra kök formasyon bozukluğuna sahip sadece krondan oluşan dişlerin de sürmeye devam ettiği gözlenmiştir (19,20). Bu bulgular ışığında, diş

sürmesinin diş kökünün uzaması ile gerçekleştiği teorisi yetersiz kalmıştır. Diş köklerinin oluşumu diş sürme sürecinin paralelinde ilerlemektedir fakat, diş sürmesinin nedeni değildir. Ancak diş kökü oluşumu diş sürme hızını arttırabilir (1,14,24).

2.1.1.2. Periodontal Ligament Teorisi

Diş sürmesiyle ilgili yapılan hayvan deneyleri sırasında kökler enine kesilmiş ve takip edilmiştir. Takipler sonucunda distal parçada sürme devam etmiş ve böylece diş sürme mekanizmasının temelinde pulpal hücrelerdeki çoğalma, dokulardaki sıvı basıncında artış gibi faktörlerin yer almadığı düşünülmüştür. Bu da sürme hareketinin periodontal ligament kaynaklı olduğu teorisine dönülmesini sağlamıştır (25,26). Fakat yapılan hayvan deneylerinde üzerinde durulması gereken iki nokta vardır. Bunlardan birincisi; periodontal ligament ile ilgili yapılmış çalışmalarda mevcut sonuçlar, sürmenin supraosseöz ve supragingival fazları için geçerlidir. Bu sonuçlar erüpsiyonun intraosseöz fazını kapsamamaktadır. İkincisi; yapılan deneylerde kullanılan hayvanların dişleri insan dişleri gibi sınırlı sürme kapasitesinde olan dişler olmayıp sürekli süren dişlerdir. Sınırlı sürme gösteren insan dişlerinde dental folikül lifleri alveolar kemiğe bağlı değildir ve sürmenin intraosseöz fazında diş hareket ettirme görevi yoktur. Bu dişlerde periodontal ligamentin sadece supraosseöz ve supragingival sürme fazlarında hareket sağladığı düşünülmektedir (27,28).

2.1.1.3. Sürmenin Hormonal Kontrolü

Diş sürme teorisi çalışmaları sırasında, büyüme gelişimde oldukça etkili olan endokrin sistemin diş sürme döneminde de etkili olabileceği düşünülmüştür. Bu teoride özellikle hipofiz bezi ve tiroid bezinin fonksiyonlarının diş sürmesi üzerinde etkili olabileceği fikri üzerinde durulmuştur (29).

2.1.1.4. Dental Folikül Teorisi

Dental folikül, mine organını çevreleyen ektomezenşimal bağ dokusudur ve ilerleyen zamanlarda periodontal ligamente dönüşür (1,30). Dişin sürme döneminde osteoblast ve osteoklast hücreleri ile etkileşim halinde olan dental folikülün çeşitli araştırmacılar tarafından diş sürmesi için gerekli olduğu bildirilmiştir (26). Yapılan

hayvan deneylerinde dental folikülün çıkarılması ile diş sürmesinin durduğu, diş folikülüne zarar verilmeden diş yerine dental amalgamdan yapılan yapay bir diş yerleştirilen deneylerde ise yerleştirilen yapay dişin sürme hareketi yaptığı gözlenmiştir (23,31).

Dental folikülün sürme sırasında osteoblast ve osteoklast hücreleri ile etkileşime girerek kemik rezorpsiyonu ve apozisyonunu sağladığı düşünülmektedir (27).

2.1.1.5. Diş Sürmesinin Hücresel, Moleküler ve Genetik Temeli

Diş sürmesi pek çok faktörün rol oynadığı belli bir program dahilinde gelişen her diş için bağımsız olarak gerçekleşen lokalize bir süreçtir. Diş sürme mekanizmasında epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü (TGF- α), koloni sitünilasyon faktörü (CSF-1), reseptör aktivatör nükleer kappa B (RANKL) gibi pek çok faktör rol oynamaktadır (32-37). Bu faktörlerden her biri farklı bir amaca hizmet etmektedir. Sürme için gerekli moleküllerden ilk tespit edilen molekül EGF'dir (32). Yapılan pek çok çalışmada EGF'nin dışarıdan enjeksiyonunun, diş sürmesinde hızlanmaya neden olduğu konusunda bir fikir birliği vardır (32,38,39). EGF'nin ardından TGF- α 'nın da EGF ile aynı reseptörü kullandığı ve sürme üzerinde benzer etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir (40-43). Fakat fareler üzerinde yapılan bir çalışmada TGF- α 'ya sahip olmayan farelerin diş sürmelerinin devam ettiği gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda EGF'nin diş sürmesinin başlamasından sorumlu olabileceği üzerinde durulmuştur (34). Ayrıca osteoporozlu fareler üzerinde yapılan çalışmalar da sürme mekanizmasında rol oynayan moleküllerle ilgili bilgi edinilmesini sağlamıştır. Bu fareler çok sayıda sürmemiş dişe sahiptir ve yapılan moleküler incelemelerde bu farelerde CSF-1 aktivitesinin olmadığı görülmüştür (44-46). Ayrıca yapılan çalışmalarda bu farelere doğumdan sonraki dönemde CSF-1 enjeksiyonu yapılmasının bu farelerde diş sürmesini başlattığı gösterilmiştir (47,48).

EGF ve CSF-1 üzerine yapılmış daha ileri çalışmalarda ise EGF'nin özellikle keser dişlerde sürmeyi hızlandırdığı fakat molar dişlerin sürmesini yavaşlattığı, CSF-1'in ise molar dişlerde sürmeyi hızlandırdığı fakat keser sürmesini yavaşlattığı bildirilmiştir (35).

Diş sürme döneminde etkinliği olan bir diğer molekül de RANKL molekülüdür (36,37). Bu molekül osteoklastları aktiveleştirmekte ve CSF-1 geninin ekspresyonunu arttırmaktadır (49,50). Osteoklast aktivasyonundan sorumlu bir diğer faktör de osteoklast farklılaşma faktörü (ODF)'dir. Yapılan bir çalışmada ODF molekülüne sahip olmayan farelerde diş sürmesi olmadığı bildirilmiştir (51).

Diş sürme mekanizmasında, osteoklast hücrelerinin aktivasyonunun yanı sıra osteoblastların aktivasyonu da önemlidir. Dişin sürme yolunda soketi oluşturacak kemik birikiminde osteoblast aktivasyonu rol oynamaktadır. Osteoblast farklılaşmasında rol oynayan ana faktör çekirdek bağlama faktörü a-1 (Cbfa1) molekülüdür (30). Bu faktör kusurlarına sahip fareler ile ilgili yapılan çalışmalarda fareler göğüs kafesinin gelişimindeki sıkıntılar nedeniyle solunum güçlüğü yaşamakta, membranöz kemiklerde gelişim geriliği, kusurlu iskelet sistemi gibi sıkıntılarla doğmaktadır (52,53). Bu farelerde yapılan çalışmalarda diş sürmesinde gecikme ya da dişlerin süremediği görülmüştür (54,55). Fakat Cbfa1 molekülü ve sürme problemleri konusunda hala yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu konuda daha fazla moleküler çalışma yapılması gerekmektedir.

2.1.1.6. Diş Sürme Mekanizması ile İlgili Diğer Teoriler

Dişin innervasyonunun oluşması, hücrel proliferasyon ve vaskülarizasyondaki artış, sürecele olan diş etrafında oluşan kemik miktarında artış ve çeşitli enzimatik aktivitelerin de diş sürmesi üzerinde etkisi olduğu düşünülmektedir (56-58).

2.1.2. Diş Sürmesi Sırasında Sürme Yolunun Oluşumu

Diş sürmesi gerçekleşirken diş çevresindeki çeşitli alanlarda osteoklastik ve osteoblastik aktivite oluşmaktadır. Osteoklastik aktivitenin fazla olduğu noktalar; dental folikülün çevresi ve mandibular kanalın üst sınırındır. Osteoblastik aktivitenin fazla olduğu noktalar ise dental folikülün bazal kısmıdır (59-61).

Diş sürme yolunun oluşumunda ilk etapta üzerinde durulan teori; dişin sürme hareketi sırasında kemiğe basınç uygulaması ve kemik üzerinde sürme yolu oluşturmasıdır. Fakat yapılan bir çalışmada, diş sürme hareketi engellenmiş ve böylece dişin kemiğe uyguladığı basınç elimine edilmiştir ve buna rağmen sürme yolunun

oluştugu gözlenmiştir (24). Böylece dişin sürme yolunun oluşma sürecinin kemiğe uygulanan basınçtan daha kompleks olduğu anlaşılmıştır ve bunun sonucunda diş sürme yolunun genetik faktörlerle kontrol altında olduğu teorisi üzerinde durulmuştur (30).

Sürme yolunun oluşumunda kilit role sahip olan osteoklastlar dental foliküldeki mononükleer hücrelerden diş sürmesinin başlaması öncesinde diferansiye olmaktadır. Bu durum sürme yolu oluşumunda genetik faktörlerin etkisine işaret etmektedir (62). Ayrıca yapılan çalışmalarda dental folikülü çıkarılan dişlerin çevresinde sürme yolu oluşumu da meydana gelmediği bildirilmiştir (63,64).

2.1.3. Diş Sürme Mekanizmalarına Güncel Bakış Açısı

Diş sürme mekanizmasına günümüzde hala tam anlamıyla ışık tutulamamıştır. Öne sürülen teoriler sürme mekanizmasının tam anlamıyla açıklanmasında yeterli olamamakta, sadece sürme sırasında gerçekleşen basamakları tanımlamaktadır.

Diş sürmesi ile ilgili bilinen basamaklar; diş sürmesi için dental folikül ve bundan oluşan periodontal ligamentin mevcut olması gerekmekte ve diş fonksiyonel pozisyonuna doğru hareket ettiren bir kuvvet gerekmektedir. Bunların yanı sıra diş sürme mekanizmasında pek çok lokal ve sistemik faktörün rol oynadığı bilinmektedir.

Diş sürme mekanizmasının detaylı anlaşılabilmesi için insanlar ve hayvanlar üzerinde daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır. Araştırmacılar, diş sürme mekanizmasının moleküler ve genetik boyutunu aydınlatabilmek için insan genom projesi ışığında çalışmalı, DNA çipleri, proteomik diziler gibi güncel teknolojilerden yararlanmalıdır (30). Diş sürme mekanizmasının tam anlamıyla açığa kavuşturulması, sürme bozukluklarının çözümü ile ilgili de yol gösterici olacaktır.

2.1.4 Çocuklarda Diş Sürme Zamanı

Diş sürme zamanlaması her çocukta farklı ilerlemektedir. Süt dişlerinin sürme dönemi genellikle ilk süren dişler olan mandibular santral dişlerin yaklaşık 6. ayda ağız içindeki konumunu alması ile başlar ve 24-30. aylar arasında 2. süt azı dişlerin ağızda

konumunu alması ile sonlanır (10,11). Süt ve daimi dişlerin sürme zamanları Tablo 2.1 ve Tablo 2.2’de görülmektedir (65).

Tablo 2.1: Süt dişlerin sürme zamanları

Süt dişlenme	Sürme zamanı
Üst Çene Dişleri:	
Santral keser diş	7,5. ay
Lateral keser diş	9. ay
Kanin diş	18. ay
1.süt molar	14. ay
2.süt molar	24. ay
Alt Çene Dişleri:	
Santral keser diş	6. ay
Lateral keser diş	7. ay
Kanin diş	16. ay
1.süt molar	12. ay
2.süt molar	20. ay

Tablo 2.2: Daimi dişlerin sürme zamanları

Daimi dişlenme	Sürme zamanı
Üst Çene Dişleri:	
Santral keser diş	7-8 yaş
Lateral keser diş	8-9 yaş
Kanin diş	11-12 yaş
1. premolar	10-11 yaş
2. premolar	10-12 yaş
1.molar	6-7 yaş
2.molar	12-13 yaş
Alt Çene Dişleri:	
Santral keser diş	6-7 yaş
Lateral keser diş	7-8 yaş
Kanin diş	9-10 yaş
1.premolar	10-12 yaş
2.premolar	11-12 yaş
1.molar	6-7 yaş
2.molar	11-13 yaş

Dişler normalde kök uzunluğunun 2/3'ü tamamlandığında sürmektedir ve dişlerin tek tek sürmesi sırasında simetriği ve karşıt çenesindeki ile önemli bir korelasyonu vardır (66,67).

Farklı bölgelerdeki diş grupları arasında ise diş sürme zamanları açısından bir korelasyon gözlenmemiştir (66). Bunun yanı sıra, vücut büyüme hızının yüksek olduğu dönemlerde çene gelişimi ve alveolar büyüme daha hızlı gerçekleşirken, diş sürme zamanı ile kronolojik yaş arasındaki bireysel korelasyon ise zayıftır (68-70).

2.2. Diş Sürme Döneminde Gözlenen Semptomlar

Çağlar boyunca diş sürme dönemi ve semptomları ile ilgili pek çok fikir öne sürülmüştür. 19. yy'a kadar diş sürme döneminde yaşanan semptomların bebekler için ölümcül olduğu düşünülmüş; Hipokrat, Celsus, Aristoteles, Homer gibi pek çok bilgin diş sürme dönemi semptomlarının bebek ölümlerinde önemli rol oynadığını bildirmiştir (71). Yazılan metinlerde insanların üçte birinin 20 tane süt dişinin tamamı sürmeden öldüğü bildirilmiş, Londra'da yapılan ölüm listelerinde diş sürmesi çocuk ölümlerinin başlıca sebeplerinden birisi olarak gösterilmiştir (72,73). Bunların yanı sıra, geçmişte diş sürme dönemi semptomlarının ölümcül olması ile ilgili karışık görüşler de yer almıştır. Bazı araştırmacılar diş sürme dönemine atfedilen bu ölümcül semptomları reddetmiştir (74,75).

Günümüzde de diş sürme dönemi tartışma yaratmaya devam etmektedir. Diş sürme dönemine pek çok lokal ve sistemik semptom atfedilmektedir. Bu dönemde salya miktarında artış, diş etlerinde irritasyon, ısırma-çiğneme isteğinde artış gibi lokal semptomların yanı sıra ebeveynler tarafından ateş, ishal, uykusuzluk ve huzursuzluk, kulaklarda kaşıntı, öksürük, vücutta döküntüler, kusma, iştahsızlık gibi sistemik semptomların da görüldüğü bildirilmiştir (15,76-78).

2.2.1. Diş Sürme Dönemindeki Lokal Semptomlar

2.2.1.1. Diş Etlerinde İnflamasyon

Çeşitli ülkelerde yapılan diş sürme dönemi semptomları ile ilgili ebeveyn anketleri incelendiğinde; Türkiye'deki ebeveynlerin %76,7'si, Suudi Arabistan'daki ebeveynlerin %71-84'ü, Etiyopya'daki annelerin %72,9'u, Ürdün'lü annelerin ise %93,6'sı bebeklerinde diş sürme döneminde diş etlerinde inflamasyon şikayeti görüldüğünü bildirmiştir (76,78-80). Fakat, ebeveyn anketlerinin sonuçları subjektif bir veri elde edilmesini sağlar ve çocukluk dönemindeki herpetik gingivostomatit lezyonları gibi oral lezyonlar, sürme sırasında diş etlerinde oluşan lokal semptomlar ile karıştırılabilmektedir (81).

Yapılan çalışmalarda, diş sürmesinin diş eti travması nedeniyle fibroblastlardan ve diğer mezenkimal hücrelerden inflamatuvar sitokin salınımına neden olduğu ve diş eti

oluğu sıvısındaki IL-1 β miktarı ile diş eti inflamasyonu arasında doğrudan bir ilişki olduğu bildirilmiştir (79,82,83).

2.2.1.2. Salyada Artış

Salyada artış ebeveynler tarafından diş sürme döneminde en sık bildirilen lokal semptomlardandır (80). Ebeveynlerin diş sürme dönemi semptomları ile ilgili tutumlarını değerlendiren çalışmalarda, salyada artış semptomunu %64,8-84 arasında bildirdiği görölmüştür (2,74,76,79). Ayrıca, bir çalışmada ebeveynlere bebeklerinin diş sürme dönemindeki 8 günlük periyotta günlük anketler yapılmış ve diş sürmesi öncesindeki 4 günde salya miktarındaki artış %92 oranında bildirilirken, sürme gününde bu oranın %63 olduğu, diş sürdükten sonraki üç gün yapılan anketlerde ise %21.7 oranında olduğu bildirilmiştir (84).

Sağlık alışanlarının yaptığı çalışmalar incelendiğinde ise; salyada artış semptomunu bazı sağlık çalışanları diş sürme dönemi ile ilişkilendirirken, bazı sağlık çalışanları ise bu durumun tükürük bezlerinin gelişim döneminden kaynaklanabileceğini bildirmiştir (74,85-87).

2.2.1.3. Isırma-ığneme İsteğinde Artış

Diş etlerindeki inflamasyona bağlı kaşıntıyı gidermek amacıyla çocuklar çeşitli nesneleri ağızlarına götürüp ısırma isteği duymaktadır. Yapılan çeşitli anket çalışmalarının sonuçlarında, ebeveynler tarafından diş sürme döneminde en sık görölen lokal semptom olarak ısırma-çığneme isteğinde artış bildirilmiş, ısırma isteğinde artışın özellikle diş sürmesinden önceki dönemde fazla olduğu vurgulanmıştır (2,84). Ebeveynlerin, çeşitli ölkelerde yapılan anketlerde ısırma-çığneme isteğinde artış semptomunu %78-97,5 arasında değişen oranlarda bildirildiği görölmüştür (2,76,78,79). Sağlık alışanlarının görüşü de bu konuda ebeveyn anketlerini desteklemektedir ve diş sürmesi ile ısırma-çığneme isteğindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (86).

2.2.2. Diş Sürme Dönemindeki Sistemik Semptomlar

2.2.2.1. Ateş

Diş sürme dönemi ile ateş varlığı özellikle ebeveynler tarafından ilişkilendirilirken, sağlık çalışanları arasında bu konuda fikir birliği bulunmamaktadır (79,80,87,88).

Literatürde diş sürme döneminde ateş semptomu ile ilgili çalışmalara bakıldığında; bazı araştırmacılar tarafından diş sürmesinin ateş semptomu ile ilişkili olduğu bildirilirken (86,89), bazı araştırmacılar ise diş sürmesi ve ateş semptomu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadığını bildirmiştir (74,87).

2.2.2.2. İshal

İshal semptomu sıklıkla ebeveynler tarafından diş sürme döneminin bir bulgusu olarak yorumlanmaktadır (2,76,78,79). Fakat, sağlık çalışanlarının genel fikri ise, ishal semptomunun ağza sürekli olarak kontamine nesnelerin götürülmesi ve çocuğun o dönemde vücut direncinin azalmasının bir sonucu olduğu, ishalin diş sürmesine özgü bir bulgu olmadığı şeklindedir (86,87,90).

2.2.2.3. Huzursuzluk ve Uykusuzluk

Ebeveynler yapılan anket çalışmalarında, genel olarak diş sürme döneminde huzursuzluk ve uykusuzluk semptomları ile karşılaştıklarını bildirmiştir (2,76,80). Yapılan çalışmalar incelendiğinde ise, bu konuda literatürde farklı görüşler bulunduğu görülmüştür. Wake ve ark.(2000)'ları ebeveynlerin ortak kanısının aksine uyku bozukluklarının diş sürme dönemi ile ilişkili olmadığını bildirmiştir (87). Bu çalışmada bebeklerin uyku problemlerinin 6. ay-30. aylar arasında görülen gelişimsel aşamalarının bir parçası olduğu ve ebeveynlerin bu dönem yaşanan semptomları diş sürme dönemine atfetmeye yatkın olduğu bildirilmiştir (87). Macknin ve ark.(2000)'nın yaptığı çalışma ise bu konuda ebeveynlerin bulgularını desteklemektedir. Bu çalışmaya göre bebeklerde uykusuzluk, huzursuzluk semptomu ve diş sürmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (86).

2.2.2.4. Kusma

Çeşitli ülkelerde yapılan anket çalışmalarında, ebeveynlerin %22,1-49,4 oranlarında kusma semptomunu diş sürme dönemine bağladığı görülmektedir (2,76,78,79). Literatürdeki prospektif çalışmalar incelendiğinde ise; kusma ile diş sürmesi arasında önemli bir ilişki bulunmadığını bildirmiştir (86,87).

2.2.2.5. Kulak Kaşıma ve Kulak Çekme Davranışı

Ebeveynler diş sürme dönemi semptomlarından biri olarak kulak kaşınması, kulak çekme davranışını da tanımlamıştır. (2,76-80) Yapılan çalışmaların sonuçlarında ise kulak kaşıma ve çekme davranışıyla ilgili farklı fikirler mevcuttur. Yapılan bir çalışmada, kulak kaşıma davranışının diş sürme dönemi ile ilişkili olduğunu bildirilirken (86), bir başka çalışmada ise bu davranışın diş sürme dönemi ile herhangi bir istatistiksel ilişkisi bulunmadığı bildirilmiştir. (74)

2.2.2.6. Vücutta Oluşan Kızarıklıklar ve Döküntüler

Yapılan anketlerde ebeveynler, %5,7-%13,2 arasında değişen oranlarda vücutta kızarıklık ve döküntü semptomunu, diş sürme dönemi semptomları arasında bildirmiştir. (2,76,78,80) Literatürde ise bazı çalışmalarda diş sürme döneminde yüz bölgesinde kızarıklıklar oluşabileceği bildirilmiş fakat, yapılan prospektif çalışmaların çoğunda vücutta oluşan kızarıklığın diş sürme dönemi ile ilişkisi olmadığı üzerinde durulmuştur (79,86,91,92). Yüzde özellikle çene bölgesindeki döküntülerin bebeklerde salya akışı nedeniyle cildin tahriş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, bebeklerin ağız çevresi gün boyu temiz bir bez ile kurulmalıdır (93). Ayrıca, yüzde ve vücutta döküntüler oluşması durumunda çocukluk çağı enfeksiyonları ile ilişkisi olabileceği göz önünde tutulmalı ve ebeveynler de bu konuda bilgilendirilmelidir (94).

2.2.2.7. Öksürük

Literatür incelendiğinde, bazı çalışmalarda bebeklerdeki salya artışı nedeniyle diş sürme döneminde öksürük oluşabileceği görüşü yer alırken, prospektif çalışmalarda öksürük ve diş sürmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı bildirilmiştir

(86,93). Ebeveynler üzerinde yapılan anket çalışmalarında ise, bazı ebeveynlerin öksürük semptomunu diş sürme dönemi semptomlarından birisi olarak değerlendirdiği görülmüştür (78). Öksürük semptomunu diş sürme dönemine bağlamanın bronkopnömoni gibi önemli rahatsızlıkların teşhisinin koyulmasını geciktirebileceği göz önüne alınmalı ve ebeveynler bu konuda aydınlatılmalıdır (76,79).

2.2.2.8. İştahsızlık

Literatür incelendiğinde, diş sürme döneminde görülen iştahsızlık ile ilgili sağlık çalışanları ve ebeveynlerin genel anlamda fikirlerinin paralel seyrettiği görülmektedir. Yapılan anket çalışmalarında, ebeveynler diş sürme döneminde iştahsızlık semptomunu %23,8-%76,5 oranları arasında bildirmektedir. Bazı ebeveyn çalışmalarında iştahsızlık semptomu, katı ve sıvı gıdalar için iştahsızlık olarak detaylandırılmış ve bu çalışmalarda diş sürme döneminde özellikle katı yiyeceklere yönelik iştah kaybı yaşandığı sonucuna ulaşılmıştır (78,95).

Yapılan çalışmalarda, diş sürme döneminde diş eti oluğu sıvısında artan interlökin-1β (IL-1β)'nın iştahsızlık semptomu ile ilişkisi olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca prospektif çalışmaların sonuçları incelendiğinde, diş sürme döneminde iştahsızlık semptomu görüldüğü bildirilmiştir (74,86).

Bu bilgiler ışığında bakıldığında, günümüzde diş sürme döneminde oluşan semptomlara sağlık profesyonellerinin bakış açısı ile ebeveynlerin bakış açısının farklı olduğu görülmektedir. Ebeveynler daima bebeklerinin yanında olması nedeniyle diş sürme dönemi semptomlarıyla ilgili araştırmalara sıklıkla dahil edilmiştir. Fakat bu noktada ebeveynlerin semptomlarla ilgili yönlendirmeleri mutlak doğru olarak kabul edilmemeli, ebeveynlerden elde edilen bulguların yanıltıcı olabileceği göz önüne alınmalıdır. Muhtemelen ebeveynler tarafından 6. ayda ilk diş sürmesi ile başlayan ve son diş sürene kadar geçen sürede oluşan semptomların çoğu diş sürme dönemi ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca ebeveynler retrospektif çalışmalarda prospektif çalışmalara göre daha fazla semptom bildirme eğilimindedir (96).

Normal gelişim seyrinde karşılaşılan, 6. ve 30. aylar arasında oluşan salyada artış, uykusuzluk gibi semptomların bebek gelişiminin aşamalarını temsil edebileceği göz ardı edilmemelidir. Ayrıca ateş, kulaklarda kaşıntı, kusma, ishal gibi belirtilerin ciddi sistemik hastalıkların belirtisi olabileceği, ebeveynler tarafından bu semptomların dış sürme dönemine atfedilmesi bu sistemik hastalıkların erken teşhis ve tedavisini zorlaştırabilmektedir. Bu nedenle, ebeveynlerin dış sürme dönemi semptomları ile ilgili bilgilendirilmesi oldukça önemlidir.

2.3. Dış Sürme Döneminde Kullanılan Tedavi Yöntemleri

Dış sürme dönemi semptomlarını rahatlatmak amacıyla geçmişten günümüze kadar pek çok yöntem kullanılmıştır. Geçmişte dış sürme dönemi semptomlarını rahatlatmak için afyon, civa, kurşun asetat, bromür gibi zehirli maddeler içeren sistemik ilaçlar; süt, tereyağı, bal, tuz gibi karışımlardan hazırlanan topikal ilaçlar kullanılmıştır (10,97). Ayrıca bebeklerin vücuduna nergis ve şebboy çiçeklerinin yağları ile masaj yapılmasının bu süreçte bebekleri rahatlatılabileceği de önerilmektedir. (98) Bunların yanı sıra geçmişte dış sürme semptomlarını hafifletmek için dış etlerini kanatmak, dış etleri üzerinde kesiler oluşturmak, dış eti üzerine sülük yerleştirmek, başın arka kısmına koter uygulamak gibi ilkel yöntemlere de başvurulmaktaydı (99,100).

Günümüzde ise dış sürme dönemindeki semptomları rahatlatmak amacıyla farmakolojik ve farmakolojik olmayan pek çok yöntemle başvurulmaktadır.

2.3.1.Dış Sürme Dönemi Semptomlarının Tedavisinde Kullanılan Farmakolojik Olmayan Yöntemler

Dış sürme dönemi semptomlarını rahatlatmak için günümüzde de pek çok yöntemle başvurulmaktadır. Bu dönemde kullanılan farmakolojik olmayan yöntemler;

- Dış sürme bölgesine masaj yapılması
- Dış sürme bölgesine soğuk uygulanması
- Dış kaşıyıcıların kullanımı
- Soğutulmuş sebze meyvelerin kullanımı

-Sarılma terapisi uygulanması

-Diş sürme döneminde homeopatik tedavilerin kullanımı'dır.

2.3.1.1. Diş Sürme Bölgesine Masaj Yapılması

Diş sürme dönemi semptomlarını rahatlatmak için ilgili bölgeye masaj yapılması sıklıkla kullanılan yöntemlerden biridir. Masaj dişin süreceği bölgeye temiz bir parmak ya da gazlı bez yardımı ile yapılabilir (94). Masaj sırasında uygulanan basınç ilgili bölgede rahatlama sağlar (1,23,101).

2.3.1.2. Diş Sürme Bölgesine Soğuk Uygulanması

Bölgeye yapılacak soğuk uygulamanın da bölgedeki semptomları hafiflettiği bildirilmiştir. Diş sürme bölgesine lokal olarak soğuk uygulanması bölgede vazokonstriksiyon yaratarak rahatlama sağlayabilir (91). Soğuk uygulama temiz ve ıslak bir gazlı bezle, soğuk kaşıkların uygulanması ile yapılabileceği gibi diş sürme dönemi için üretilmiş diş kaşıyıcılarının soğutulması ile de yapılabilir.

2.3.1.3. Diş Kaşıyıcılarının Kullanımı

Bebeklerin bu dönemde ısırma isteğini karşılamak için diş kaşıyıcılar kullanılabilir. Eğer diş kaşıyıcı kullanılacaksa zararlı madde içermemesine dikkat edilmeli, diş kaşıyıcı soğutulacaksa soğutma işlemi dondurucuda değil buzdolabında yapılmalı ve diş kaşıyıcı üretici onayı olmadan bulaşık makinesi ve kaynar su ile temizlenmemelidir. Ayrıca, diş kaşıyıcılar bebeğin üzerine tutturulmamalı, boynun etrafına dolanmamalıdır (10). Amerikan Pediatrik Diş Hekimliği Akademisi (AAPD) diş sürme dönemi semptomlarının rahatlatılması amacıyla soğutulmuş diş kaşıyıcılarının kullanılabileceğini bildirmiştir (102).

2.3.1.4. Soğutulmuş Sebze ve Meyvelerin Kullanımı

Bebeklerin ısırma-çiğneme isteğini gidermek için doğal olması nedeniyle sıklıkla soğutulmuş sebze ve meyveler kullanılmaktadır. Bu sebze ve meyvelerin seçiminde çürük

yapıcı yüksek şeker içerikli olmamalarına dikkat edilmelidir ve katı gıdaya geçmemiş bebeklere verilmemelidir (10).

2.3.1.5. Sarılma Terapisi Uygulanması

Diş sürmesi nedeniyle sıkıntı çeken bebeğe bu dönemde sarılmak ve şefkat göstermek bebeğin kendini güvende hissetmesine ve rahatlamasına yardımcı olur. Bunun yanı sıra bebeğe şarkılar söylemek, oyunlar oynatmak dikkatini dağıtarak rahatlamasına sebep olabilir (103).

2.3.1.6. Diş Sürme Döneminde Homeopatik Tedavilerin Kullanımı

Diş sürme dönemi semptomlarını yönetmek için sıklıkla doğal ve zararsız olduğu düşünülmektedir homeopatik tedaviler kullanılmaktadır. Diş sürme döneminde meyan kökü, yeşil soğan, rezene, papatya, sarımsak gibi bitkilerin yanı sıra karanfil yağı, çay ağacı yağı gibi bitkisel yağların bölgeye masaj yaparak uygulanması tercih edilen alternatif tıp yöntemlerindendir (9,94,104).

Karanfil yağı:

Literatür incelendiğinde, ağız ve diş eti hastalıkları ile ilgili tıbbi kullanımı olan bitkiler içerisinde en sık kullanılan bitkinin karanfil olduğu görülmektedir (105). Karanfil yağı, karanfil bitkisinden ekstrakte edilerek üretilir ve ana bileşenleri ise öjenol, beta-karyofillen ve öjenol asetat, benzil alkoldür (106-108). Yapılan çalışmalarda, karanfil yağının analjezik, antibakteriyel, antifungal, antikanserojenik ve antialerjik etkinliği olduğu öne sürülmektedir (109,110). Karanfil yağı, diş ağrılarını hafifletmek ve periodontal hastalıklarda tercih edilmesinin yanı sıra bebeklerde diş sürme dönemi semptomlarını rahatlatmak amacıyla da kullanılmaktadır (111). Fakat karanfil yağının sitotoksik etkisini değerlendiren çalışmalarda, karanfil yağının sitotoksik özellikte olduğu bildirilmiştir (112,113). Dolayısıyla, yan etki riskinin iyi değerlendirilmesi gerekmektedir.

Çay ağacı yağı:

Çay ağacı yağı, 80 seneye yakın zamandır bilinmekte ve böcek ısırıkları, enfeksiyonlar, soğuk algınlığı ve baş ağrısı gibi durumlarda tıbbi amaçlı kullanılmaktadır. (114) Yapılan çalışmalarda, bu yağın antibakteriyel, antiviral, antifungal, antikanserojenik etkisi olduğu belirtilmiştir (115). Çay ağacı yağının ana bileşenleri; terpinen-4-ol ve monoterpenlerdir. Terpinen-4-ol içeriğinin çay ağacı yağının antimikrobiyal özelliğinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (116). Tamamlayıcı ve alternatif tıp uygulamalarında çay ağacı yağının diş sürme döneminde bölgeye topikal olarak uygulanması önerilmektedir. (9)

Çay ağacı yağı ve karanfil yağı gibi homeopatik yöntemlerden hiçbirinin diş sürme dönemindeki etkinliği kanıtlanamamasının yanı sıra bu bitkisel karışımlar, kullanılan ilaçların da farmakokinetiğini bozabilir (94,104).

Bitkisel yöntemlerin yanında doğal taşların da hastalıkları iyileştirici, belirli semptomları rahatlatıcı etkileri olduğu düşünülmektedir (117). Ağaç reçinesinin fosilleşmesi ile oluşan kehribar taşının, içerisinde bulunan süksinik asit bileşenleri nedeniyle doğal bir analjezik, antiinflamatuvar, antipiretik etkisi olduğu ve diş sürme dönemi semptomlarını rahatlattığı öne sürülmektedir (2,118,119). Günümüzde kehribar taşından yapılmış takıların faydaları ile ilgili herhangi bir bilimsel kanıt bulunmamasına rağmen ebeveynler tarafından oldukça fazla ilgi görmektedir (120). Yapılan çalışmalar incelendiğinde ise; kehribar takıların kullanımının boğulma, ciltte peteşiler gibi ciddi yan etkiler oluşturabileceği bildirilmiştir (121-123).

Bu nedenle homeopatik tedavi yöntemlerinin kullanımında kar-zarar hesabı iyi yapılmalı ve bu yöntemlerle ilgili bilimsel araştırmalar genişletilerek alternatif tıp uygulamalarının endikasyonları ve olası komplikasyonları detaylı değerlendirilmelidir.

2.3.2.Diş Sürme Dönemi Semptomlarının Tedavisinde Kullanılan Farmakolojik Yöntemler

Diş sürme döneminin yönetiminde farmakolojik yöntemlerin etkinliğini destekleyen net bir kanıt bulunmamaktadır. Fakat, ebeveynler ve sağlık çalışanları bu

dönemde lokal ve sistemik semptomların yönetiminde farmakolojik yöntemlerden sıklıkla yararlanmaktadır (2,124,125). Bu dönemde farmakolojik olarak analjezikler ve topikal diş jelleri kullanılabilmektedir.

2.3.2.1.Diş Sürme Döneminde Analjeziklerin Kullanımı

Parasetamol (Asetaminofen) Kullanımı:

Parasetamol grubu ilaçlar diş sürme dönemi semptomlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Parasetamol grubu ilaçlar merkezi sinir sisteminde siklooksijenaz-3'ü inhibe ederek prostoglandin sentezini azaltır. Analjezi etkisi, nosiseptif impulsların periferik blokajından kaynaklanırken ateş düşürücü etkinliği ise hipotalamik ısı düzenleyici merkezin inhibisyonu ile gerçekleşir (126,127). Parasetamol grubu ilaçların kullanımı, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve AAPD tarafından çocuklarda semptomatik tedavi için ilk seçenek olarak önerilmektedir. Ayrıca parasetamol grubu ilaçlar Reye sendromu açısından güvenlidir (128). Fakat, parasetamol doz aşımının hepatoselüler nekroz ve renal tübüler nekroza neden olabileceği göz önüne alınmalı, kontrolsüz ve gereksiz kullanımından kaçınılmalıdır (129).

Non-Steroidal Antiinflatuar İlaçların (NSAİİ) kullanımı:

NSAİ ilaçlardan çocuklarda en sık tercih edilen ibuprofen grubu ilaçlardır (130). İbuprofenler siklooksijenaz 1, siklooksijenaz 2 ve prostoglandinlerin periferik inhibisyonu ile etkisini gösterir (131,132). Parasetamol ile karşılaştırıldığında, ibuprofen daha fazla yan etkiye sebep olmasına rağmen ağrı ve ateş tedavisinde daha etkilidir (133). İbuprofenin en sık gözlenen yan etkileri, gastrointestinal sistemde oluşan yan etkiler, pıhtılaşma bozuklukları, böbrek üzerindeki yan etkilerdir (134). Kontrolsüz ibuprofen kullanımı sonucunda, akut böbrek yetmezliği, intertisyel nefrit, nefritik sendrom görülebilir (135). Ayrıca, diş sürme döneminde NSAİ ilaçlardan kolin salisilatlar da kullanılabilmektedir. Kolin salisilatlar sistemik kullanımlarının yanı sıra bölgedeki ağrıyı hafifletmek için topikal olarak da kullanılabilmektedir (6,136,137). Kolin salisilat kullanımında, özellikle viral enfeksiyon geçiren çocuklarda Reye sendromuna sebep olma riski bulunmaktadır (138).

2.3.2.2. Diş Sürme Döneminde Topikal Diş Jellerinin Kullanımı

Diş sürme döneminde tercih edilen yöntemlerden birisi de bu dönemde topikal diş jellerinin kullanımıdır. Piyasada pek çok farklı içerikte diş jeli bulunmaktadır. Bu jellerin içeriğinde lidokain, benzokain gibi lokal anestezik maddeler, kolin salisilat gibi analjezik maddeler, hyaluronik asit gibi vücudun temel yapısında bulunan maddeler ve karadut özü, papatya özü gibi bitkisel içerikler bulunabilmektedir.

Tablo 2.3.: Ebeveynlerin topikal jel/ilâç kullanım yüzdeleri:

Çalışmanın yazarı ve yayın yılı:	Çalışmanın yapıldığı ülke:	Topikal jel/ilâçların kullanım yüzdesi (%):
Wake M. ve ark., 1999 (2)	Avustralya	%55
Bölükbaş N. ve ark., 2009 (139)	Türkiye (Ordu)	%25,6
Feldens A. ve ark., 2010 (90)	Brezilya	%25,1
Owais A. ve ark., 2010 (80)	Ürdün	%65,6
Plutzer K. ve ark., 2010 (95)	Avustralya	%73,4
Uğurlu E. ve ark., 2014 (140)	Türkiye (İzmir)	%50
Elbur A. ve ark., 2015 (76)	Suudi Arabistan	%67,5
Kowalczyk D. ve ark., 2016 (88)	Polonya	%63,3
Gilany A. ve ark., 2017 (141)	Mısır	%15,5
Almaz E. ve ark., 2018 (142)	Türkiye (Kırıkkale)	%72,3
Adimorah G. ve ark., 2011 (143)	Nijerya	%46,9
Kakatkar G. ve ark., 2012 (77)	Hindistan	%45,6
Alessandra M. ve ark., 2013 (144)	Brezilya	%4,44
Elbur A. ve ark., 2015 (76)	Suudi Arabistan	%67,5
Alshukairi H. ve ark., 2020 (145)	Suudi Arabistan	%73
Yousif M. ve ark., 2020 (146)	Irak	%29
Ahmed M. ve ark., 2021 (147)	Sudan	%25,8
Erkut Z. ve ark. , 2021 (148)	Türkiye (İstanbul)	%43,4

Literatür incelendiğinde, diş sürme dönemi ile ilgili yapılmış çalışmaların genellikle diş sürme döneminde görülen semptomlar ve bu semptomların yönetimi ile ilgili olduğu, diş jelleri ile ilgili mevcut çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir.

Diş jelleri ile ilgili çalışmalar incelendiğinde, jellerin oral aftların tedavisi ve ağızda oluşan yaraların iyileşme sürecinde de kullanılabildiği görülmüştür (3-5,149). Lokal anestezi içerikli diş jellerinden, diş sürme döneminde ve oral aftlarda bölgedeki ağrının geçici olarak kontrol altına alınmasını sağlayan topikal anestezi etkinliği sebebiyle ve kolin salisilat içerikli diş jellerinden ise topikal kullanımda bölgede sağladığı analjezik ve antiinflamatuvar etkinlik sebebiyle faydalanılmaktadır (3). Hyaluronik asit içerikli diş jelleri son yıllarda diş hekimliği alanında sıklıkla tercih edilmektedir. Hyaluronik asit diş hekimliğinde; diş çekimi sonrasında sokette kemik oluşumunu arttırmak, interdental papilla bölgesinde siyah üçgen alan bulunan durumlarda enjeksiyonu yapılarak papillayı rekonstrükte etmek, periodontal hastalıklarda antiinflamatuvar etki sağlamak, oral aftlarda ve postoperatif dönemde iyileşmeyi hızlandırmak gibi pek çok amaçla kullanılmaktadır (3-5,149).

Günümüzde sağlıklı yaşama olan ilginin artması, doğal içerikli ürünlere olan talebin de artmasına sebep olmuş, dolayısıyla piyasaya pek çok doğal içerikli diş jeli sunulmuştur. Bu jellerin içeriğinde; karadut ekstraktı, alman papatyası, aynısefa çiçeği özü, karanfil yağı, nane yağı gibi doğal içerikler bulunmaktadır fakat bu jeller ile ilgili erişilebilir literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Diş jelleri ile ilgili mevcut literatür incelendiğinde jellerin olası yan etkileri ile ilgili pek çok çalışma bulunduğu görülmektedir (6-8,150,151). İngiltere’de diş jelleri ile ilgili yapılan bir çalışmada jeller içerisinde şeker ve alkol bulunabildiği tespit edilmiştir. Çalışmada, diş jelleri içerisinde şeker bulunmasının çürük oluşumuna yol açabileceği, alkol içeriğinin ise bebeklerde gelişimsel problemlere yol açabileceği bildirilmiştir (7). Diş jellerinin içeriğinde kolin salisilat, benzokain, lidokain gibi etken maddeler bulunabilmektedir. Lidokain bir lokal anestezi maddesidir ve lidokain toksisitesi sonucu parestezi, hipotansiyon, bradikardi, kardiyak arrest ve nöbet görülebilmektedir (151,152).

Literatürde lidokain kaynaklı, değişen şiddetlerde pek çok yan etki bildiren vaka raporu bulunmaktadır. Bu vaka raporlarındaki çocuk ve bebeklerde; solunumun durması, nöbet gelişmesi, Stevens-Johnson sendromu, ölüm gibi ciddi yan etkiler oluşmuştur (153-158). Benzokain, genellikle topikal amaçlı kullanılan bir lokal anestezi madde ve bazı diş jellerinin içeriğinde bulunmaktadır. Benzokain içeren diş jelleri kullanımı metemoglobinemi oluşumuna neden olabilmektedir (150). Bu nedenle Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) 2 yaşının altındaki çocuklarda benzokain içeren ürünlerin kullanımını tavsiye etmemektedir (159). Salisilatlar, NSAİ ilaçlar grubunda bulunan analjezik ajanlardır. Diş jelleri içerisinde topikal etkisinden yararlanmak amacıyla kullanılabilir. Literatür incelendiğinde, kolin salisilat içeren diş jeli kullanımına bağlı konjestif kalp yetmezliği, metabolik asidoz görülebildiği bildirilmiştir (6,160). Doğal içerikli jellerin ise faydası ile ilgili herhangi bir bilgi bulunmadığı gibi olası zararları ile ilgili de erişilebilir literatürde herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Bu ürünlerin olası yan etkileri araştırılmalı, ilaç etkileşimleri değerlendirilmeli ve kullanım dozu konusunda ebeveynler bilgilendirilmelidir.

2.4. Biyouyumluluk ve Sitotoksikite

Biyouyumluluk; bir materyalin canlı dokularla temasında lokal ya da sistemik bir toksik, mutajenik, alerjik, karsinojenik etki oluşturmada ve sağlığı kötü yönde etkilemeden mevcut fonksiyonunu yerine getirmesi, doku ile uyumlu davranmasıdır. Biyolojik sistemlerle etkileşim için tasarlanmış, biyolojik olarak uyumlu materyallere biyomateryaller denilmektedir (161,162).

Biyouyumlu olmayan materyaller canlı sistemler ile etkileşime geçtiğinde doku reaksiyonu yaratmaktadır ve materyal toksik olarak değerlendirilmektedir. Biyouyumluluğun belirleyici etkeni olan sitotoksikite ise, makromoleküllerin sentez zincirinin aksaması sonucu hücre fonksiyonu ve yapısının hasar görmesi olarak tanımlanabilir (163-166).

Klinik kullanım öncesi materyallerin biyouyumluluğunu belirlemek için çeşitli testler ile değerlendirmeler yapılmaktadır (167). Materyalin biyouyumluluğunun test edilmesinde öncelikle temel olarak *in vitro* testler kullanılır, ardında hayvan deneyleri

yapılır ve istenilen sonuçlar elde edilirse kullanım testleri ile değerlendirmelere devam edilir. (164) *In vitro* olarak biyouyumluluğu değerlendirmek amacıyla kullanılan çeşitli sitotoksisite testleri mevcuttur. Sitotoksisite testleri ile; hücrede membran hasarı oluşumu, hücrenin canlılığı, hücrenin gelişimi, hücre sayısı, hücrede gerçekleşen metabolik aktiviteler, hücrenin enzimatik aktivitesi gibi değerlendirmeler yapılabilir (168).

2.4.1. Sitotoksisite Testleri

Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu (ISO) testlerin belirli standartlarda yapılması amacıyla *in vitro* sitotoksisite testleri için ISO 10993-5 isiminde genel bir test protokolü yayınlamıştır (169).

ISO standartlarına göre *in vitro* sitotoksisite test yöntemleri;

1)Hücre kültürü testleri

a) Direkt hücre kültürü metodu

-Direkt temas testi

-Ekstrakt testi

b) Bariyer test metodu

2)Agar difüzyon testi

3)Filtre difüzyon testi

4)Dentin bariyer testi

2.4.1.1.Hücre Kültürü Testleri

Hücre kültürü testleri materyallerin biyouyumluluğunu değerlendirmek için sıklıkla kullanılan testlerdir (170-172). Hücre kültürü testleri; standart şartlarda tekrarlanabilir, hücreler üzerinde direkt gözlem yapılarak standart ölçümler yapılabilir, deneysel aşamalar kontrol altında tutulabilir, kolaylıkla tekrarlanabilir ve bireysel faktörlerden etkilenmez. Fakat, hücre kültürü testlerinde dikkat edilmesi gereken nokta,

hücre hatları devam ettikçe hücreler farklılaşabilir ve deney aşamasında sterilizasyon koşullarına dikkat edilmezse hücre kültür hatları kontamine olabilir (172-176).

Hücre kültürü çalışmalarında primer hücre kültürleri, diploid hücre kültürleri ve devamlı hücre kültürleri kullanılabilir. Primer hücre kültürü; canlı bir dokudan ya da organdan alınarak kültüre koyulur ve genotip, fenotip özellikleri bakımından orijinal doku hücresi ile aynı özelliklere sahiptir. Primer hücre kültürlerinin insandan izolasyonu zordur, hücrelerin yaşam süresi kısadır ve değişik bireylerden alındığı için fonksiyonel durumları yansıtmada farklılıklar görülebilir. Diploid hücre kültürü, primer hücre kültürünün farklı bir kültür ortamında çoğaltılması ile elde edilen, primer hücre kültürüne göre daha homojen olan ve köken hücreyi en az %75 oranında yansıtmaya devam eden hücre kültürüdür. Devamlı hücre hatları ise; elde edilen diploid hücre kültürlerinin bir kültür ortamından diğerine seri şekilde taşınması ile elde edilir (162,164).

Hücre kültürü testlerinde canlı dokulardan elde edilen hücreler, plastik doku kültür kaplarında vücut ısısı, karbondioksit miktarı, pH, osmotik basınç, nem miktarları uygun seviyede tutularak besiyeri içerisinde çoğaltılır (164).

Direkt Hücre Kültürü Metodu:

Direkt hücre kültürü metodunda, sitotoksikite deneyi yapılacak olan materyal hücre kültürü üzerine doğrudan 24 saat veya daha uzun bir süre uygulanır. Testin sonucunda materyalin doza bağlı oluşturduğu hücresel etki değerlendirilir.

Suda çözünebilir materyallerde bu test, materyalin hücre kültüründe kullanılan besiyeri solüsyonu içerisinde çözünmesi ile gerçekleştirilir ve bu test direkt temas testi olarak isimlendirilir. Suda çözünmeyen materyallerde ise, materyal çözücü bir sıvı içerisinde çözülür ve bu ekstrakt hücre kültürü üzerine uygulanır. Bu test ise ekstrakt testi olarak isimlendirilmektedir (166,177,178). Suda çözünmeyen materyallerin çözünmesi için DMSO (dimetil sülfoksit) , Tween 20 solüsyonu, Tween 80 solüsyonu gibi çeşitli solüsyonlar kullanılmaktadır (179). Direkt hücre kültürü metodu oldukça hassas bir yöntemdir ve düşük sitotoksik değerlerin bile ölçülebilmesine olanak sağlamaktadır (180).

Bariyer Test Metodu:

Dental materyallerin kullanımında, dentin dokusunun pulpa ile materyal arasında bariyer işlevi gördüğü göz önüne alınarak bu materyallerin ağız ortamına benzer şekilde incelenmesi için bariyer test metodu geliştirilmiştir. Bu test metodunda materyal ile hücreler arasına dentin dokusunu taklit edecek bir poroz membran yerleştirilir ve bu membran bariyer görevi görerek materyalden çözünen bileşenlerin hücrelerle temas etmesini sağlar (166,181).

2.4.1.2. Agar Difüzyon Testi

Agar difüzyon testinde, kültürdeki hücrelerin üzerini %1,5'lik agar besiyeri örter ve bu besi yerinden difüze olan bileşenlerin toksisitesi incelenir. Bu testin yapılabilmesi için, incelenecek olan materyallerin agar içerisinde çözünmesi gerekmektedir. (164,166,172,182,183).

2.4.1.3. Filtre Difüzyon Testi

Filtre difüzyon testinde, test edilecek olan materyal ve hücreler birbirinden 0.45 µm genişliğinde porları olan bir selüloz asetat filtre ile ayrılmıştır. Materyalin sitotoksitesinin ölçülebilmesi için, bu filtreden difüze olması gerekmektedir (166,177,184).

2.4.1.4. Dentin Bariyer Testi

Dentin bariyer testi, dentinin geçirgenliğinden yararlanarak bir bariyer olarak kullanılması fikrinden ortaya çıkmıştır. Bu yöntemde insan ya da sıgır dentin dokusu steril edilerek disk şekline getirilir, hücrelere dönük olan yüzü asit ile dağlanır ve diskin diğer yüzüne materyal uygulanır ve diş yapısı taklit edilerek sitotoksite değerlendirilmesi amaçlanır. Bu testin dezavantajları; yeterli dentin diski elde etmenin zor olması ve dentin diskinin dişin alınan kesitine göre geçirgenlik özelliğinin değişmesi nedeniyle standart bir değerlendirme yapmanın zor olmasıdır (166,185-187).

2.4.2. Sitotoksosite Testlerinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler

Bir materyal hücre kültürü üzerine uygulandığında hücrenin membran yapısını değiştirebilir, metabolik faaliyetlerinde bozulmaya sebep olabilir, kromozom yapısında değişikliğe sebep olabilir. Bu oluşan sitotoksik etkiler değerlendirilirken çeşitli test yöntemleri kullanılır.

Sitotoksosite değerlendirme testleri 4 başlık altında ele alınabilir (186,188,189).

- 1)Canlılık değerlendirme testleri
- 2)Yaşam değerlendirme testleri
- 3)Hücre proliferasyonu değerlendirme testleri
- 4)Hücre metabolizması değerlendirme testleri

2.4.2.1. Canlılık değerlendirme testleri

Canlılık değerlendirme testleri, uygulanan materyalin hücreler üzerinde oluşturduğu toksik reaksiyon sonucu kültürde hayatta kalan hücre oranının belirlenmesinde kullanılmaktadır (175). Bu testlerde sadece hücre membran geçirgenliği ölçülebilmektedir, ölen hücrelerin son evrelerinden biri olan sub-letal hücre değişiklikleri ölçülememektedir (175,182,190).

2.4.2.2. Yaşam Değerlendirme Testleri

Yaşam değerlendirme testlerinde, hücrelerin koloni oluşturabilme yeteneği test edilmektedir. Fakat bu yöntemde toksik etkiye maruz kalan hücrelerin kısa dönemde oluşan sonuçları değerlendirilebilmektedir (164,175,191).

2.4.2.3.Hücre Proliferasyonu Değerlendirme Testleri

Materyalin hücrede yarattığı sitotoksik etkiyi belirlemek için, proliferasyon miktarının kullanımı en eski ve yaygın yöntemlerden birisidir. Hücre proliferasyonu

değerlendirme testlerinde, uygulanan materyalin hücre proliferasyonuna olan etkisini değerlendirmek için kültürdeki hücrelerin sayımı ile elde edilen bir büyüme eğrisi kullanılır. Testte kullanılan hücre sayımının etkili bir sonuç verebilmesi için, testin erken aşamalarında yapılan bir hücre sayımından elde edilen büyüme eğrisi ile desteklenmesi gereklidir. Bu yöntem, çok sayıda örnek bulunan durumlarda kullanılamamaktadır. (164,175,192)

2.4.2.4.Hücre Metabolizması Değerlendirme Testleri

Hücre metabolizması değerlendirme testleri ile hücrelerin metabolik ve proliferatif aktivitelerine bakılarak, hücrelerde oluşan toksik etkiyi değerlendirilmektedir. Bu testler membran bütünlüğünü değerlendiren testlerden daha kompleks bir yapıdadır ve daha hassas bir çalışma gerektirir. Bu testlerde hücre canlılığını değerlendirmek için mikropkara okuyuculu spektrofotometre kullanılır ve hücreler üzerinde oluşan kısa dönem zararları değil daha uzun dönemde oluşan toksisiteyi değerlendirir. Metabolik aktivitenin değerlendirildiği testler; MTT (dimetiltiyazol difenil tetrazolyum bromür), alamar mavisi, LDH (laktat dehidrogenaz), WST (suda çözünen formazan-1), XTT (metoksi nitro sulfonil tetrazolyum karboksanilid) testleridir (175,193). Bu testler içerisinde en fazla kullanılan hücrenin mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesinin ölçülmesini sağlayan MTT testidir (168,194).

MTT sitotoksitesite testi:

Biyouyumluluk testlerinden biri olan MTT testi daha hassas bir testtir dolayısıyla düşük dozlardaki toksisitenin değerlendirilmesine imkan tanır. MTT testi diğer test yöntemlerine göre uygulama anlamında daha basittir ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilebilir (192,195). Bu nedenle MTT testi, dental materyallerin sitotoksitesitesinin değerlendirilmesi amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır (192).

MTT testinde, canlı ve ölü hücreleri belirleyebilmek için bir tetrazolyum tuzu olan MTT boyası kullanılır. Canlı hücrelerdeki mitokondriler MTT boyasının tetrazolyum halkasını süksinat dehidrogenaz enzimi ile parçalayarak MTT boyasını indirgeyebilirken, ölü hücreler bu boyayı indirgeyemez. MTT boyasındaki tetrazolyum halkasının

parçalanması ile sarı renkli olan MTT boyası mavi-mor renkli formazan kristallerine dönüşür. Bu testin sonucunda canlı hücreler mavi-mor renge boyanırken, ölü hücreler boyanmamaktadır. Ardından spektrofotometre ile formazan kristallerinin konsantrasyonu ölçülerek bir canlılık değeri elde edilir. MTT testi diğer test yöntemlerine göre uygulama anlamında daha basittir ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilebilir (191,195).

2.5. Yara İyileşmesi

Canlı dokunun çeşitli nedenlerle fonksiyonel ve anatomik devamlılığının bozulmasına “yara” denir. Yara iyileşmesi ise, bozulmuş doku devamlılığının hemostaz ve inflamasyon ile başlayıp, dokunun fonksiyonel ve anatomik özelliklerinin yeniden oluşturulması ile sonuçlanan bir süreçtir. Yara iyileşmesi karmaşık, çoklu parametrelerin etkisi altında olan ve organize bir olaylar zinciriyle gerçekleşmektedir (196-198).

2.5.1. Yara İyileşme Tipleri

2.5.1.1. Primer İyileşme

Herhangi bir doku kaybı oluşmamış temiz yara hatlarının sütür, stapler, yapışkan bantlarla doğrudan yaklaştırılıp kapatılmasıdır. Primer iyileşme ile daha az skar dokusu oluşur ve daha hızlı bir şekilde iyileşir.

2.5.1.2. Sekonder İyileşme

Enfekte olmuş yaralar, açık yaralar, doku kaybı olan yaralarda yara bölgesini granülasyon dokusu doldurur ve yara kenarları kontrakte olarak birbirine yaklaşır. Bu iyileşme tipinde öncelikle yara kenarlarında granülasyon dokusu oluşur ardından epitelizasyon gerçekleşir.

2.5.1.3. Tersiyer İyileşme

Bu yara iyileşme tipinin bir diğer adı, gecikmiş primer iyileşmedir. Geniş yara alanlarında, ciddi anlamda kontamine olmuş yaralarda yara bölgesindeki enfeksiyonun inflamatuvar hücreler tarafından sınırlandırılması için yara birkaç gün açık bırakılır ve yara

alanında sekonder iyileşme başlar. Zamanla yara kenarları yaklaşır ve sutureasyon kapatılır (199,200).

2.5.2. Yara İyileşme Mekanizması

Yara iyileşmesi oldukça karmaşık bir süreçtir ve bu süreç birbirini etkileyen ve birbiri içerisine geçmiş halde ilerleyen bir olaylar dizisi ile gerçekleşmektedir. Yara iyileşme mekanizması temel olarak 3 fazdan oluşmaktadır. Bunlar; hemostaz ve inflamasyon fazı, proliferasyon fazı, rejenerasyon fazıdır. (200,201)

2.5.2.1. Hemostaz ve İnflamasyon Fazı

Hemostaz ve inflamasyon fazı, yara oluşumu ile başlar ve 3-4 gün kadar sürer. Bu dönemde anahtar rolü kan damarları oynamaktadır (199). Yaralanma ile birlikte kan kaybının önüne geçmek için vazokonstriksiyon oluşur, ardından yara bölgesinde trombositler ile primer tıkaç oluşur (202-204). Ardından trombositler ve zarar görmüş olan dokudaki hücreler koagülasyon sistemini aktive eden çeşitli mediatörler salgılar. Bu süreç basamaklar şeklinde ilerleyerek trombositlerin salgıladığı mediatörler ile inflamatuvar hücreler ve fibroblastlar bölgeye gelmeye başlar. Yaralanma sonrası oluşan vazokonstriksiyon 5-10 dakikalık zaman diliminin sonucunda sonlanır ve histamin, prostoglandin E2 gibi mediatörlerin hasarlı endotel hücrelerinden salgılanması ile vazodilatasyon görülür. Bölgeye monositler, lökositler ve nötrofillerin göçü ile yara iyileşmesinin inflamatuvar fazına geçilmiş olur. Bölgeye gelen savunma hücreleri bakterileri, nekrotik dokuyu ve oluşan debrisleri fagosit ederek yara bölgesini temizler. İnflamatuvar fazda vazodilatasyon ile damar içindeki plazmanın doku aralığına geçmesi nedeniyle ödem oluşur ve kan akımı arttığı için bölgede kızarıklık oluşur (199,200,205,206).

2.5.2.2. Proliferasyon Fazı

Proliferasyon fazı, yaralanmadan yaklaşık 3 gün sonra başlar ve 14 gün kadar sürer. Bu dönemde granülasyon dokusu oluşumu, kolajen sentezi, re-epitelizasyon ve angiogenez gerçekleşir. Re-epitelizasyondan temel olarak sorumlu olan hücreler keratinositlerdir. Bazal tabakadaki keratinosit hücrelerinin farklılaşması ve proliferasyonu

ile epitelizasyon oluşur. Yara bölgesindeki tamir sürecinde temel rol oynayan molekül ise kolajendir. Kolajen ve bağ dokusunun ana maddeleri elastin, proteoglikan ve retikülin fibroblast hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Fibroblastlar yara bölgesine göç eder, proliferer olur, bir yandan da farklılaşarak miyofibroblastlara dönüşür ve yara hattında kontraksiyon sağlarlar. Kolajen sentezi, fibroblast çoğalması, miyofibroblastlarla yara hattının kontrakte olması ile granülasyon dokusu oluşur. Bir yandan da fibroblastlar yara içerisinde göç ederken yeni kapiller oluşum ile paralel hareket ederler ve yara bölgesinde endotel hücrelerinin öncülüğünde anjiogenez şekillenir (172,207).

2.5.2.3. Rejenerasyon (Matürasyon) Fazı

Rejenerasyon fazı yaralanmadan yaklaşık 21 gün sonra başlar ve 1-2 yıl kadar sürer (200,208,209). Bu evrede kolajen sentezinin yanında yıkımı da gerçekleşir bu nedenle kolajen miktarında artış görülmez. Bu yapım yıkım döngüsü içerisinde, kolajen yeniden yapılır ve kolajen fibrilleri çapraz bağlarla bağlanır ve bu durum yara geriminin zamanla artmasını sağlar. Fakat bu uzun süreç ve kompleks yapılanmaya rağmen, yara gerimi eski gerim gücüne tam anlamıyla ulaşamamaktadır (200,208,210).

Yara iyileşmesinin bu kompleks yapısı göz önüne alındığında, yara iyileşme durumunu etkileyebilecek pek çok faktörden bahsedilebilir. Beslenme, sigara kullanımı, radyasyon, kronik hastalıklar, yaş, obezite gibi faktörlerin yanı sıra çeşitli ilaçların da yara iyileşmesi üzerinde farklı türlerde etkileri olabilmektedir (206,211-215).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın etik kurul onayı Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul’undan alınmıştır. (2020/473 sayılı karar) Çalışma, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 20.DUS.005 nolu proje olarak desteklenmiş ve çalışmanın deney aşaması Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında yürütülmüştür.

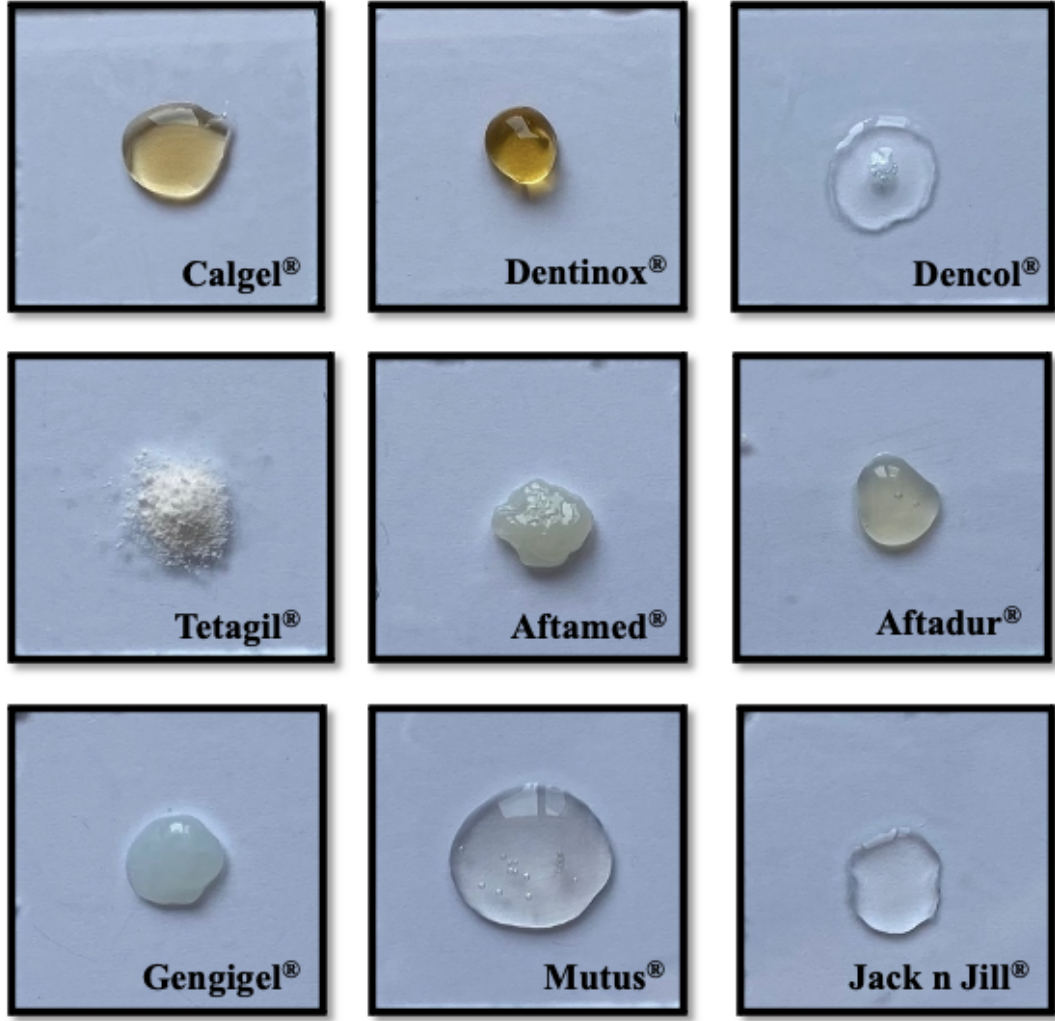
Çalışmada kullanılan preparatlar, içerikleri, üretici firmaları Tablo 3.1.’de görülmektedir. Çalışmada kullanılan diş jellerinin görselleri Resim 3.1.’de, bitkisel yağların görselleri ise Resim 3.2.’de görülmektedir.

Tablo 3.1.: Çalışmamızda kullanılan preparatlar ve içerikleri

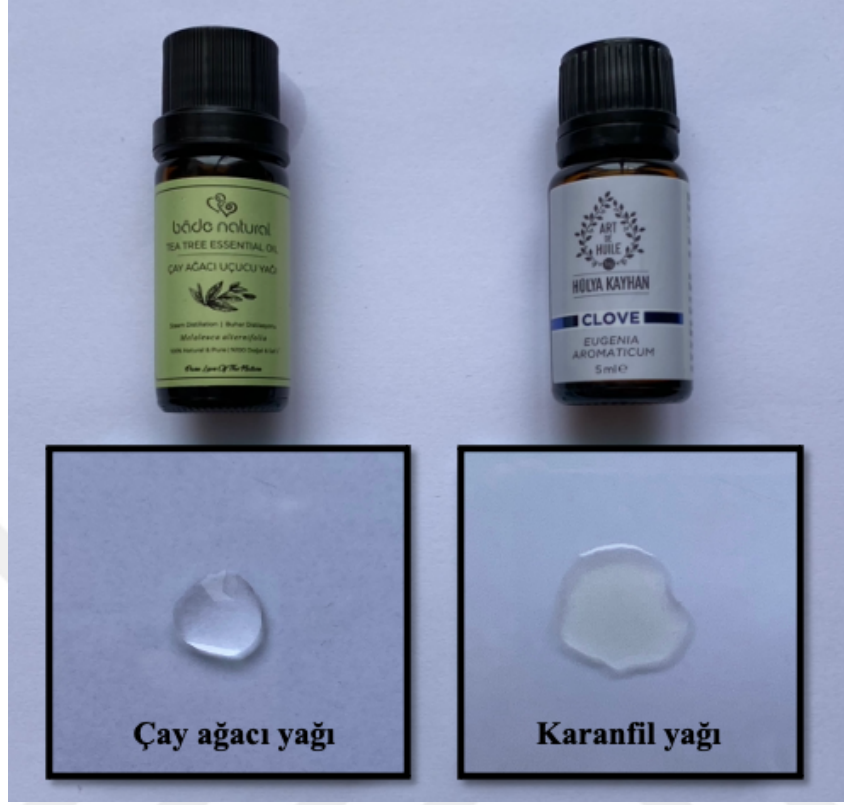
Preparat ismi	İçerik	Üretici firma	LOT Numarası
Calgel®	Ana içerik: Lidokain hidroklorür, setilpiridinyum klorür, alkol. Yan içerik: Sorbitol, ksilitol, sodyum sakkarin, mentol, tatlandırıcı, karamel.	GlaxoSmithKline (Brenthford, United Kingdom)	21G018
Dentinox®	Ana içerik: Lidokain hidroklorür, hidroksipolietoksi dodekan, kamomil tentürü, setilpiridinyum klorür. Yan içerik: Ksilitol, sorbitol, propilen glikol, karbomer 934 P, %10'luk sodyum hidroksit solüsyonu, polisorbitat 20, sodyum sakarin, mentol, distile su.	Abdi İbrahim (İstanbul, Türkiye)	19L017
Dencol®	Ana içerik: Kolin salisilat Yan içerik: Klorheksidin glukonat, gliserin, sorbitol, povidon K90, PEG 40 hidrojenize hint yağı, sitrik asit monohidrat ve deiyonize su.	Berko ilaç (İstanbul, Türkiye)	2001209
Tetagit®	Alman papatyası, kalsiyum fosfat, kalsiyum karbonat, magnezyum fosfat, demir fosfat, karadut ekstraktı, ksilitol, nişasta.	Medfors Farma (İstanbul, Türkiye)	TTG 330

Tablo 3.1.'in devamı

Preparat ismi	İçerik	Üretici firma	LOT Numarası
Aftamed®	Ana içerik: Hyaluronik asit. Yan içerik: EDTA, su, PEG 400, ksilitol, polivinil alkol, selüloz gum, PEG 40, hidrojenize hint yağı, PVP, PVM/MA kopolimer, VP eikosen kopolimer, gliseril, laurat, polikarbofil, sodyum sakkarinat, sodyum fosfat, aroma, kolin alfosterat, trisodyum fosfat, dodekahidrat, laktik asit, sodyum hidroksit.	Bioplax Pharma (Wallington, United Kingdom)	1902253019
Aftadur®	Ana içerik:Hyaluronik asit, aleo vera. Yan içerik: EDTA, su, PEG 400, ksilitol, polivinil alkol, selüloz gum, PEG 40, hidrojenize hint yağı, PVP, PVM/MA kopolimer, VP eikosen kopolimer, gliseril, laurat, polikarbofil, sodyum sakkarinat, sodyum fosfat, aroma, kolin alfosterat, trisodyum fosfat, dodekahidrat, laktik asit, sodyum hidroksit.	Avicenna Farma (İstanbul, Türkiye)	0AAL2TU00007
Gengigel®	Ana içerik:Hyaluronik asit. Yan içerik: Su, PEG 400, ksilitol, polivinil alkol, selüloz gum, PEG 40 hidrojenize hint yağı, PVP, PVM/MA kopolimer, VP/eikosen kopolimer, gliseril laurat, karbomer, sakkarin, sodyum fosfat, gliserofosfokolin, trisodyum fosfat, sodyum laktat.	Dentocare (London, United Kingdom)	1806100
Mutus®	Karanfil yağı, nane yağı, okaliptus yağı.	NBT ilaç (İstanbul, Türkiye)	20011019
Jack N' Jill®	Su, gliserin, hidroksietil selüloz, aynisefa çiçeği özü, ksilitol, potasyum sorbat, alman papatyası özü, vanilya lezzeti, sitrik asit.	Jack N'Jill (Melbourne, Australia)	B70649A
Karanfil yağı		Atalier Aromaterapi by Hülya Kayhan (İstanbul,Türkiye)	RH21D159
Çay ağacı yağı		Bade Natural (İstanbul, Türkiye)	1020/28



Şekil 3.1. Çalışmamızda kullanılan diş jellerine ait görseller



Şekil 3.2. Çalışmamızda kullanılan bitkisel yağlara ait görseller

3.1. Hücre kültürünün hazırlanması



Şekil 3.3.: İnsan primer gingival fibroblast hücresi (HGF-1)

Çalışmamızda Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (ATCC®, Virginia, U.S.A) insan primer gingival fibroblast hücreleri (HGF-1) kullanıldı. (Şekil 3.3.) Hücreler, kuru buz ile dolu strafor kutu içerisinde teslim alındı ve deney zamanına kadar -150°C’de muhafaza edildi.

Çalışmamızda kullanılmak üzere HGF-1 hücrelerine özel besi yeri hazırlandı. (Şekil 3.4.) ATCC®(Virginia, U.S.A) firmasının önerileri doğrultusunda 500 ml besi yeri içerisinde;

- %10 fetal bovine serum (Capricorn FBS (Ebsdorfergrund,Germany)) (50ml)
- %1 penisilin-streptomisin antibiyotik solüsyonu (Capricorn penisilin/streptomycin solution (Ebsdorfergrund,Germany)) (5ml)
- %1 sodyum prüvat (BI biological industries (Beit-Haemek, Israel)) (5ml)
- %88 DMEM (Dulbecco’s Modified Eagle Medium (Capricorn, Ebsdorfergrund,Germany)) (440ml) bulunmaktadır.



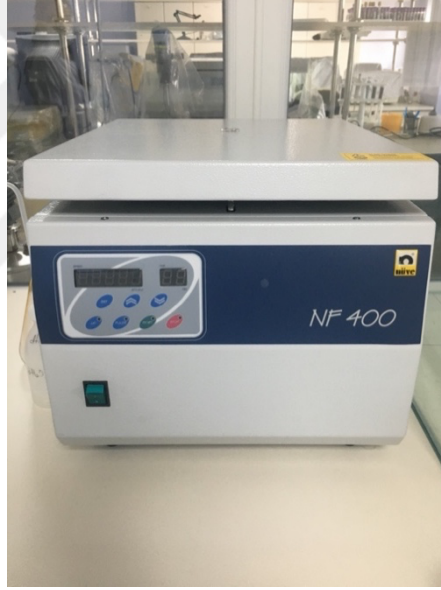
Şekil 3.4.: Besi yeri solüsyonu hazırlanması

Dondurulmuş hücreler 37°C’lik ısıtmalı su banyosu cihazında (GFL®, Lauda, Germany) çözündürüldü ve laminar akım kabini içerisinde besi yeri solüsyonu içeren falkon

tüpüne alındı. Ardından falkon tüpü santrifüj cihazına (Nüve® NF 400, Ankara, Türkiye) yerleştirildi ve hücreler 5dk boyunca 1500 rpm devirde santrifüj edildi.

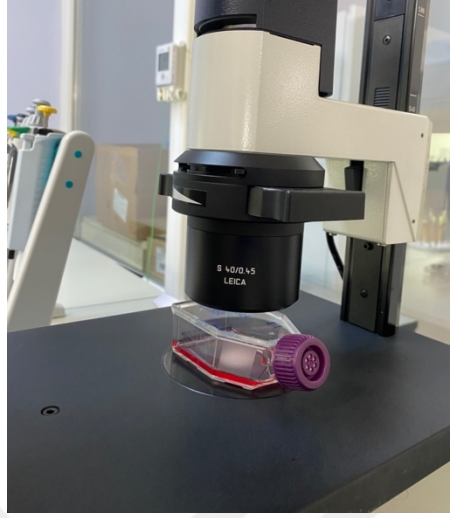


Şekil 3.5.: Isıtmalı su banyosu cihazı



Şekil 3.6.: Santrifüj cihazı

Santrifüj sonrasında üstteki DMSO ve besi yeri karışımı içeren sıvı kısım (süpernatant bölüm) çekildi ve tekrar besi yeri solüsyonu eklenerek santrifüj işlemi tekrarlandı. Santrifüj işlemi sonrası üstte kalan sıvı kısım bir kez daha çekilip besi yeri solüsyonu eklendi, hücrelerin sıvı içerisinde dağılması için pipetaj işlemi yapıldı ve hücreler 25cm²'lik flasklara pasajlandı. Flasktaki hücreler, ters mikroskopta (Leica®, Wetzlar, Germany) kontrol edildi.



Şekil 3.7.: 25cm²'lik flaskın ters mikroskop altında incelenmesi



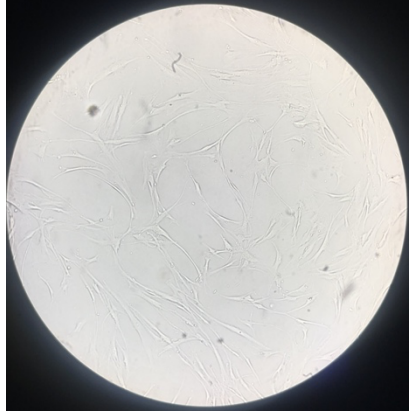
Şekil 3.8.: Ters mikroskoptaki hücre görüntüsü

25'lik flastaktaki hücreler 37°C'de %5 CO₂ (karbondioksit) 'li inkübatöre (Thermo scientific®, Massachusetts, U.S.A) kaldırıldı ve hücrelerin tabana tutunup çoğalması beklendi.



Şekil 3.9.: İnkübatör

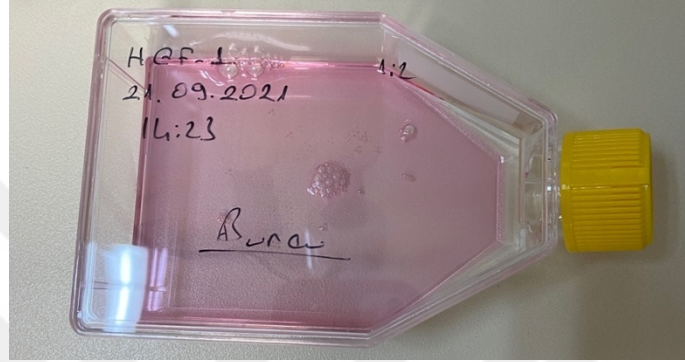
Hücrelerin düzenli olarak takibi yapıldı ve hücreler flask tabanında tek tabaka olarak tutunup, yeterli alan kaplamasının ardından (1 hafta sonra) ikinci pasajlama aşamasına geçildi.



Şekil 3.10.: Hücrelerin tabana tutunduktan sonraki ters mikroskop görüntüsü

25cm²'lik flask içerisindeki besi yeri, tabana tutunan hücelere zarar vermeden çekildi ve tabandaki hücreleri kaldırmak için ortama %0,05'lik tripsin-etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) (BI biological industries®, Beit-Haemek, Israel) eklendi, flask hücreler tabandan ayrılana kadar 3dk %5 CO₂ içeren 37°C'lik inkübatöre kaldırıldı. Hücreler ters mikroskop altında kontrol edilerek tabandan ayrıldıkları doğrulandı. Hücreler tripsin-EDTA solüsyonundan arındırılmak üzere 10 ml besi yeri solüsyonu ile

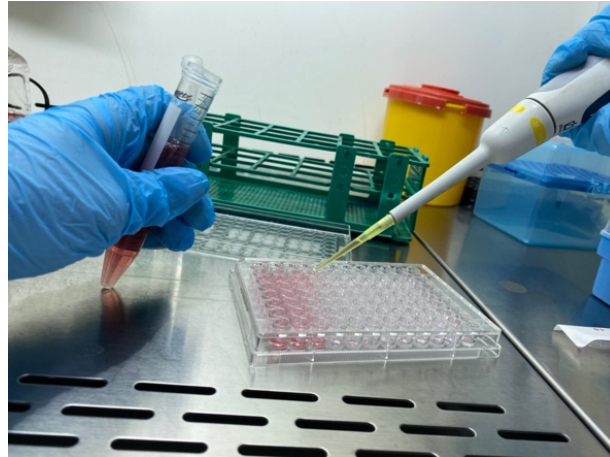
seyreltildi ve 1500 rpm devirde santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Santrifüj sonrası tabana toplanan hücelere zarar verilmeden üstteki süpernatant kısım uzaklaştırıldı. Hücreler üzerine tekrar besi yeri solüsyonu eklenerek süspansiyon haline getirildi ve 75cm²'lik 2 adet flaska pasajlandı.



Şekil 3.11.: 75cm²lik flaska pasajlanan hücreler

Pasajlama işlemine yeterli hücre sayısına ulaşana kadar devam edildi ve 6. pasajlama işlemi sonucunda yeterli hücre sayısına ulaşıldı.

Yeterli hücre sayısına ulaşılmasının ardından poli-D-lysin kaplı 96 kuyucuklu mikrolakaların her kuyucuğuna 100 µl hücre ekildi ve hücre tutulumu için 24 saat inkübatörde bekletildi.

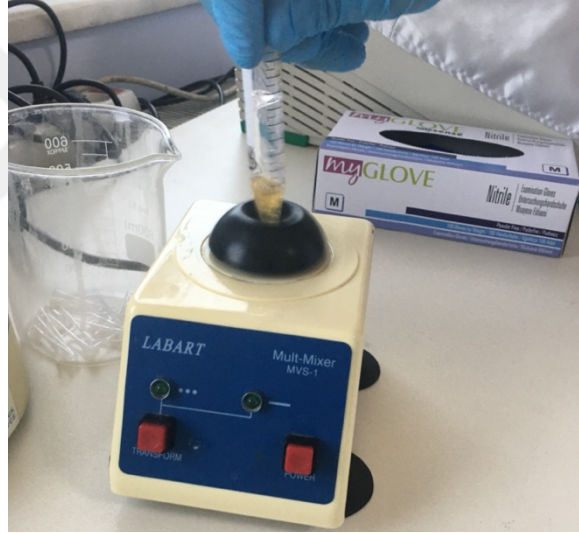


Şekil 3.12.: 96 kuyucuklu mikrolakaya hücre ekimi

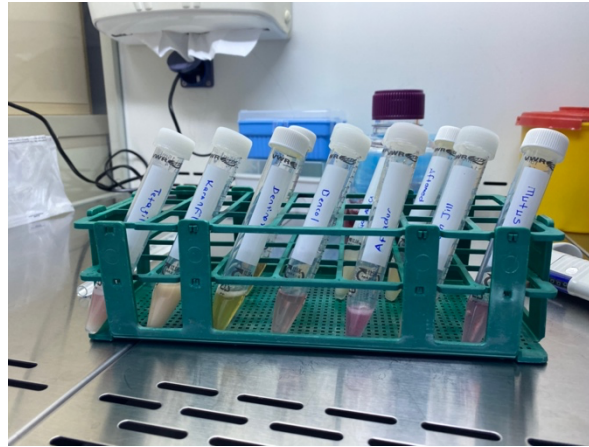
3.2.Çalışmada Kullanılacak Preparatların Hazırlanması, Uygulanması ve MTT Testi

3.2.1. Çalışmada Kullanılacak Preparatların Hazırlanması

Ardından jellerin ve yağların kullanım miktarını standardize etmek amacıyla hassas tartı ile 1gram (gr) preparat falkon tüpler içerisine alındı. Suda çözünen preparatlar üzerine 1 mililitre (ml) besi yeri solüsyonu eklendi ve ana stok hazırlandı. Suda çözünmeyen bitkisel yağlara ise 1ml DMSO solüsyonu (Sigma Aldrich®,Darmstad, Germany) eklenerek ve ana stok hazırlandı. Stok jel ve yağların vortex cihazı ile homojen şekilde karışması sağlandı.



Şekil 3.13.: Vortex cihazı ile jellerin ve yağların karıştırılması



Şekil 3.14.: Ana stok olarak hazırlanan preparatlar

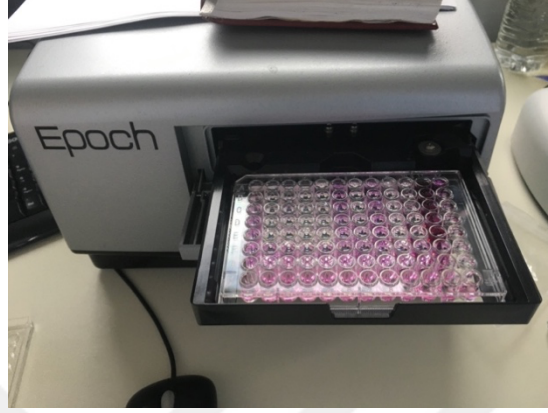
3.2.2. Preparatların Uygulanması

24 saat inkübatörde bekleyen 96'lık mikropalakalardaki hücreler ters mikroskop ile kontrol edildi ve hücrelerin mikropalaka tabanına tutunmuş olduğu görüldü. 96'lık mikropalakalardaki kuyucuklara ana stoktan seyreltilerek dış jelleri ve yağlar uygulandı. Dış jelleri; 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024 oranlarında ana stoktan besi yeri solüsyonu ile seyreltilerek uygulandı, karanfil yağı ve çay ağacı yağı ise öncelikle dış jelleri gibi 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024 oranlarında uygulandı fakat bu oranların fazla sitotoksik etki göstermesi nedeniyle kuyucuklarda hiç canlı hücre kalmadı. Bunun üzerine yağlar daha fazla seyreltildi ve %0,5, %0,25, %0,125, %0,1, %0,01, %0,001, %0,0001 oranlarında uygulama yapıldı. Ardından 96'lık mikropalakalar tekrar inkübatöre kaldırıldı ve inkübatörde 24 saat bekletildi. 24 saatin sonunda 96'lık mikropalakalar inkübatörden çıkarıldı ve MTT testi ile 24. saatteki sitotoksisiteyi değerlendirildi.

3.2.3. MTT Testi

24 saatlik inkübasyondan sonra 96'lık mikropalakaların kuyucuklarındaki besi yeri uzaklaştırıldı ve dış jellerinin 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024 oranlarında seyreltilmiş konsantrasyonları karanfil ve çay ağacı yağının ise %0,5, %0,25, %0,125, %0,1, %0,01, %0,001, %0,0001 oranlarında seyreltilmiş konsantrasyonları kuyucuklara uygulandı. 96'lık mikropalaka inkübatöre kaldırıldı ve 24 saat inkübatörde bekletildi. Bu sırada testte kullanılmak üzere, 1ml PBS (Phosphate Buffered Saline, Sigma Aldrich®, Darmstad, Germany) içerisinde 5 miligram (mg) MTT boyası (Sigma Aldrich®, Darmstad, Germany) çözüldü ve MTT stok solüsyonu elde edildi. Her kuyucuğa 20 mikrolitre (µL) MTT solüsyonu eklendi ve mikropalaka bu şekilde 4 saat inkübe edildi. Ardından mikropalaka inkübatörden çıkarıldı ve MTT solüsyonu kuyucuklardan uzaklaştırıldı. MTT solüsyonunun oluşturduğu formazan kristallerini çözmek için kuyucuklara 300µL DMSO (Sigma Aldrich®, Darmstad, Germany) solüsyonu eklendi. Mikropalaka formazan kristallerinin çözünmesi için oda ısısında ve karanlık bir ortamda

10 dakika bekletildi ve bu sürenin sonunda mikrolaka okuyucu spektrofotometre (Biotek Instruments®, Vermont, U.S.A) ile 570 nanometrede (nm) okundu.



Şekil 3.15.: Mikrolaka okuyucu spektrofotometre

Materyallerin uygulandığı kuyucukların optik dansite değeri, herhangi bir materyal eklenmemiş olan kontrol kuyucuklarının optik dansite değeri ile kıyaslanarak materyallerin canlılık değerleri elde edildi. Her materyalin canlılık değeri aşağıdaki formül ile hesaplandı.

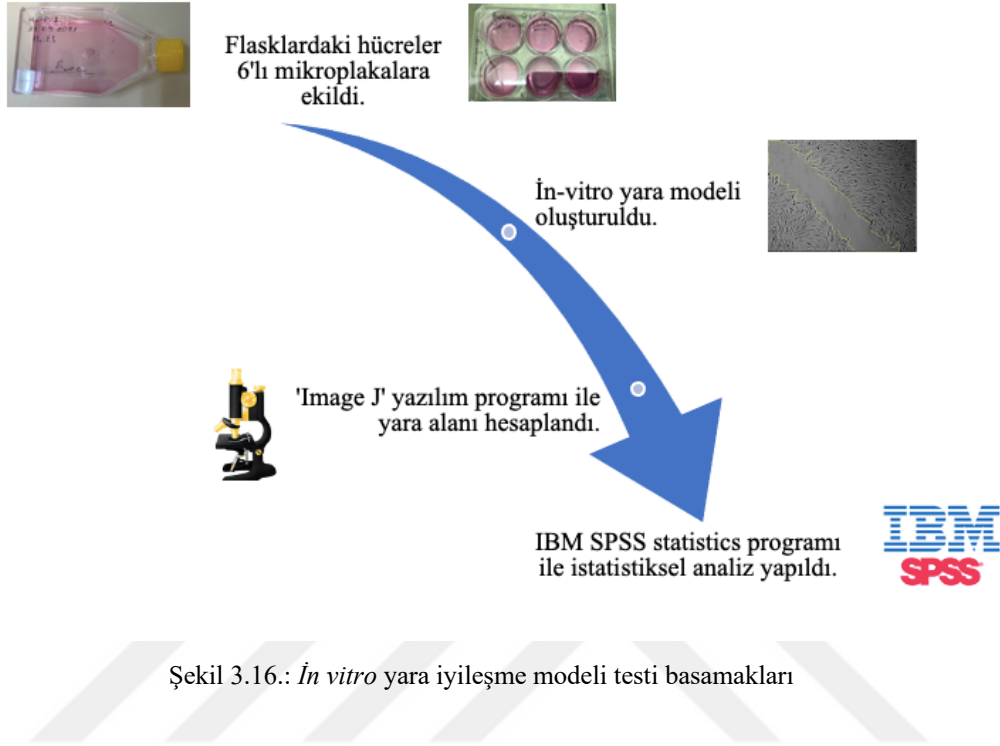
$$\text{Canlılık değeri (\%)} = \frac{\text{Kuyucuğun optik dansite değeri}}{\text{Kontrol grubunun optik dansite değeri}} \times 100$$

Materyallerin her bir konsantrasyonu için 6 adet kuyucuğa uygulama yapıldı ve elde edilen verilerin ortalaması alındı.

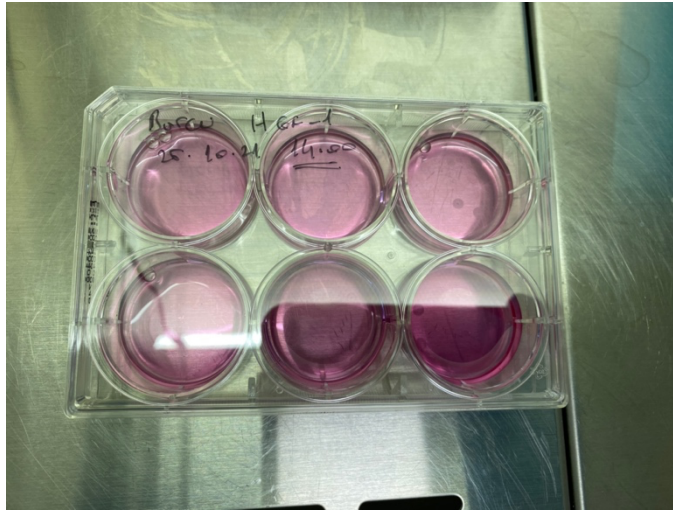
Kuyucuklardaki hücrelerin %50'sinin canlı kalmasını, %50'sinin ölmesini sağlayan konsantrasyonlar not edilerek materyallerin canlılık değerleri kullanılarak 'Letal doz 50 (LD50)' değerleri bulundu.

Tetagil® dış granülü ve Mutus® dış jeli tekrarlı denemelerde besi yeri solüsyonu içerisinde çözünmedi ve tabana çökerek kuyucuklar içindeki hücreleri öldürdü. Bu nedenle çalışma dışı bırakılmalarına karar verildi. Karanfil yağı ise tekrarlı deneylerde doza bağlı tutarsız değişken değerler gösterdi ve LD50 değerinin hesaplanması için standart canlılık değerlerine ulaşamadı. Bu nedenle çalışma dışı bırakıldı.

3.3. *In vitro* Yara İyileşme Modeli



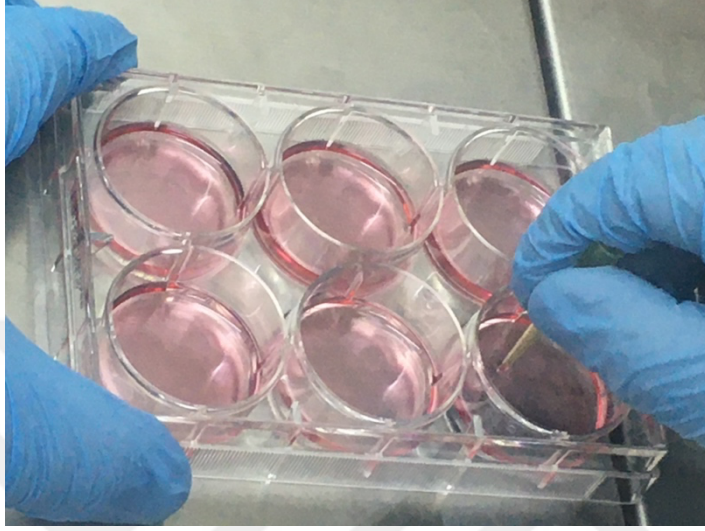
In vitro yara iyileşme testi için 6'lı mikrolakalara hücre ekimi yapıldı. (Şekil 3.17.)



Şekil 3.17.: Hücre ekimi yapılmış altılı mikrolaka görüntüsü

Hücreler 5×10^5 hücre/kuyu konsantrasyonuna gelinceye kadar %5 CO₂ içeren 37°C'lik inkübatöre kaldırıldı. Hücreler gereken yoğunluğa gelince, 20µl'lik steril pipet

ucu ile kuyucuğun üst ucundan alt ucuna doğru hat şeklinde bir yara alanı oluşturuldu. (Şekil 3.18.)

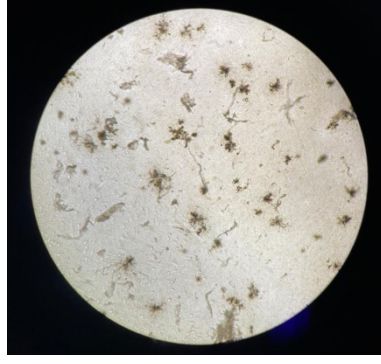


Şekil 3.18.: Hücre kültüründe *in vitro* yara modeli oluşturulması

Yüzeyden ayrılan ölü hücreleri içeren besi yeri solüsyonu uzaklaştırıldı ve kuyucuklara taze besi yeri solüsyonu eklendi.

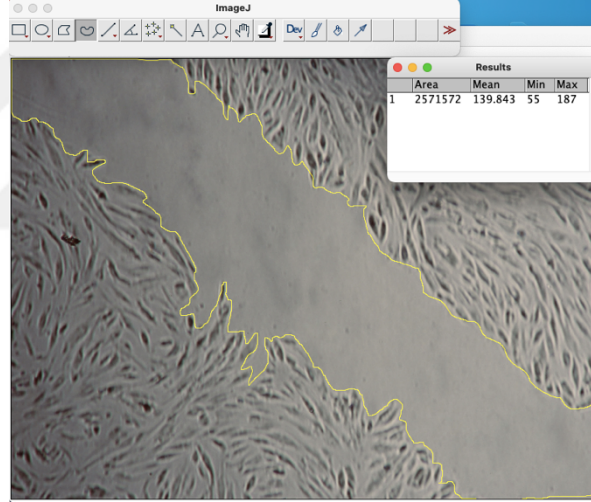
Yara alanı oluşturulan kuyucukların jel uygulamasından önceki fotoğrafları mikroskop kullanılarak alındı. Ardından kuyucuklara jellerin LD50 değerini veren dozları uygulandı ve mikropalakalar inkübatöre kaldırılarak 24 saat inkübe edildi, 24. saatin sonunda kuyucuklar kontrol edilip yeniden mikroskop görüntüleri alındı. Mikropalakalar tekrar inkübatöre kaldırılarak 24 saat daha inkübe edildi ve 48. saatin sonunda yeniden mikroskop görüntüleri alındı.

Gengigel® diş jeli yoğun kıvamı nedeniyle tabanda çökelti oluşturdu ve yara alanının sınırlarını bozdu. Bu nedenle Gengigel® diş jelinin çalışmanın yara iyileşmesi bölümünün dışında bırakılmasına karar verildi.



Şekil 3.19.: Gengigel® diş jelinin yara sınırlarının alanını bozması

In vitro yara modelinde yara hatlarının alanı ‘Image J’ (National Institutes of Health, New York, USA) yazılım programı ile hesaplandı, tekrarlı ölçümler not edildi.



Şekil 3.20.: Image J yazılım programı ile *in vitro* yara modelindeki yara alanının hesaplanması

In vitro yara modelindeki yara iyileşme yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (216):

$$\text{Yara iyileşme yüzdesi (\%)} = \frac{\text{ilk yara alanı} - \text{son yara alanı}}{\text{ilk yara alanı}} \times 100$$

3.4. İstatistiksel analiz

Çalışmada elde edilen bulguların değerlendirilmesinde istatistiksel analizler için, IBM SPSS Statistics version 26 (Statistical Package for Social Science, IBM SPSS®, Chicago, U.S.A) istatistik paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama, ortanca, standart sapma, minimum ve maksimum değerler olarak verildi. Elde edilen veriler değerlendirilirken parametrelerin normallik dağılımına Shapiro Wilks testi ile bakıldı ve parametrelerin normal dağılım göstermediği saptandı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arasındaki yara iyileşme miktarı karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve ikili karşılaştırmalar için post-hoc Dunn testi kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

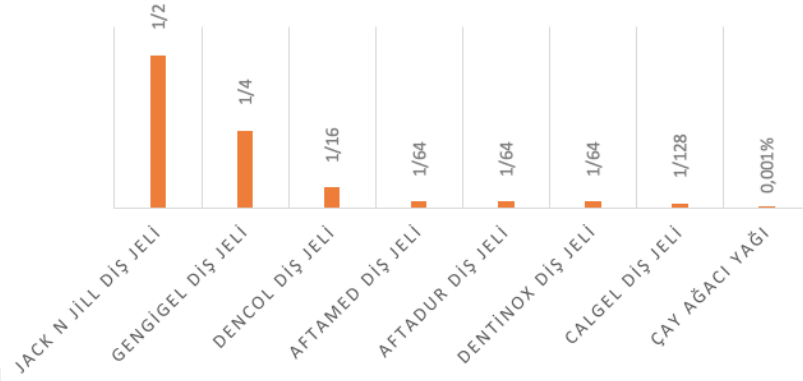
4.1. Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanan Preparatların Sitotoksosite Değerlendirilmeleri

Çalışmamızda kullandığımız diş jellerinin HGF-1 hücreleri üzerindeki *in vitro* sitotoksik etkilerini değerlendirmek için 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024 oranlarında seyreltilmiş konsantrasyonları, bitkisel yağlar için ise %0,5, %0,25, %0,125, %0,1, %0,01, %0,001, %0,0001 oranlarında seyreltilmiş konsantrasyonları direkt temas yöntemiyle uygulanmış ve 24. saatteki optik dansite değerleri üzerinden canlılık değerleri hesaplanmıştır ve çalışma gruplarının LD50 değerini veren konsantrasyonlar ve bu konsantrasyonlara ait grafik Tablo 4.1. ve Şekil 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1.: Çalışmamızda kullanılan preparatların LD50 değerini veren konsantrasyonları

Grup	Optik dansite değeri	LD50 değerini veren konsantrasyon
Jack N' Jill®	0,194	1/2
Gengigel®	0,155	1/4
Dencol®	0,131	1/16
Aftamed®	0,136	1/64
Aftadur®	0,099	1/64
Dentinex®	0,101	1/64
Calgel®	0,094	1/128
Çay ağacı yağı	0,111	%0,001

LD50 DEĞERİNİ VEREN KONSANTRASYON

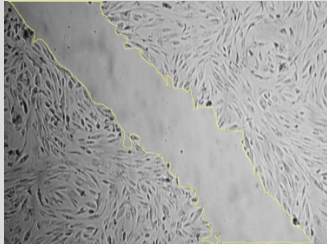
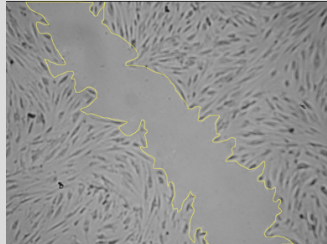
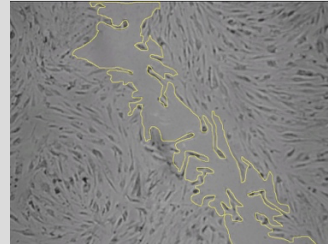
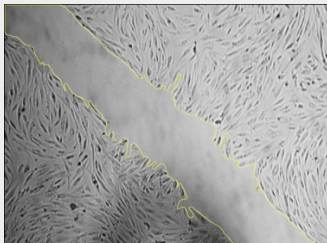
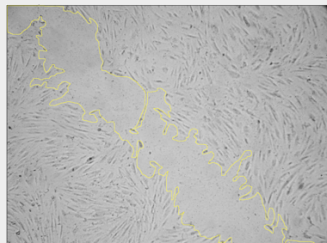
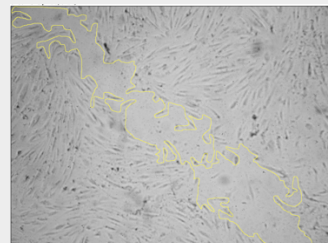
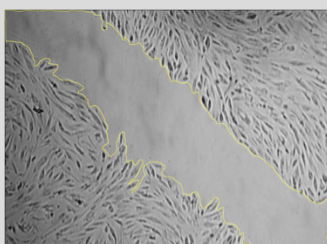
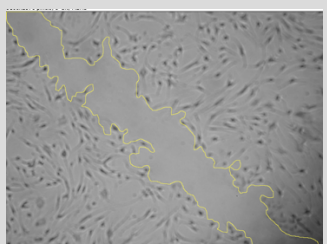
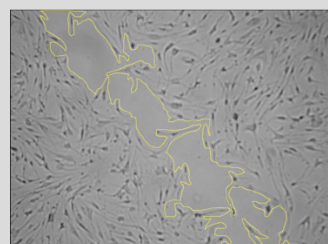
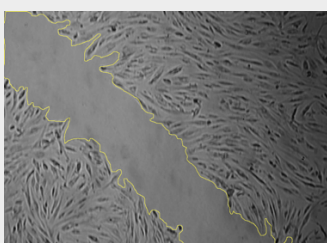
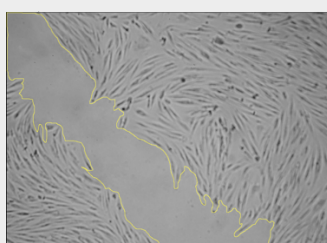
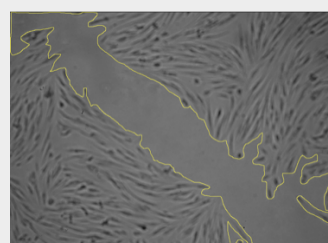
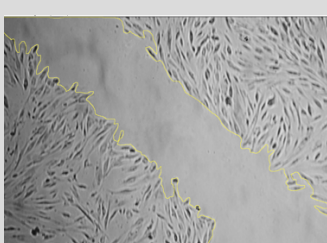
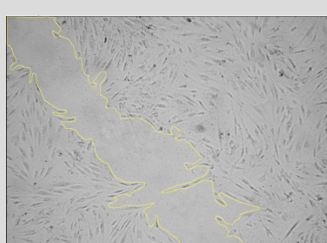
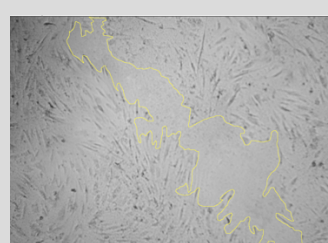


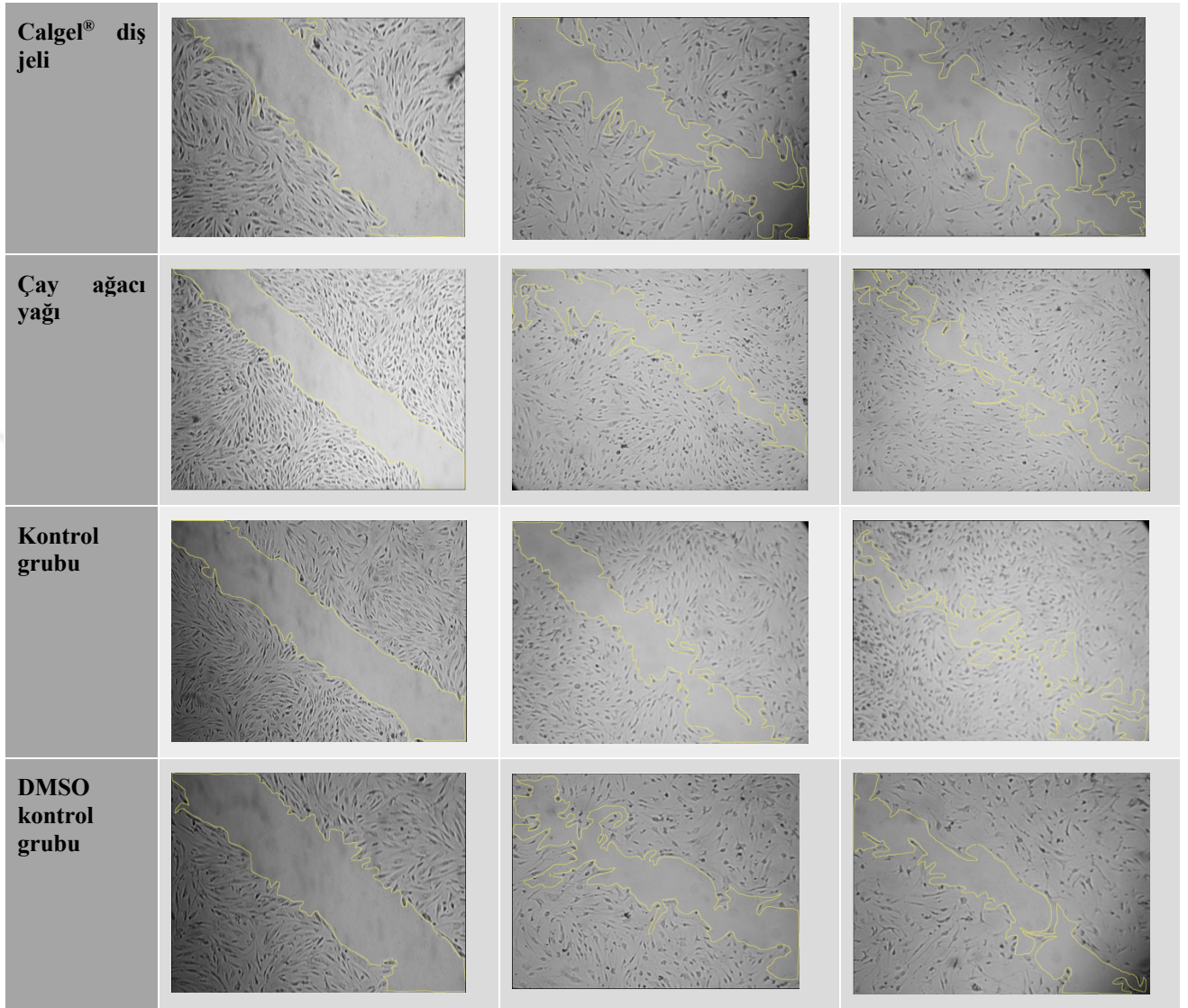
Şekil 4.1.: Çalışmamızda kullanılan preparatların LD50 değerini veren konsantrasyon grafiği

Yapılan MTT testi sonucunda hesaplanan LD50 değerleri incelendiğinde Jack N' Jill® diş jelinin en yüksek konsantrasyonda LD50 değerini verdiği ve çalışmamızda kullanılan jeller arasında HGF-1 hücreleri üzerinde en az sitotoksik etki gösteren jel olduğu bulunmuştur. Jack N' Jill® diş jelini sırasıyla Gengigel® diş jeli ve Dencol® jel-sprey takip etmiş ve çalışmamızda HGF-1 hücreleri üzerinde en fazla sitotoksik etki gösteren diş jeli ise Calgel® diş jeli olmuştur. Çalışmamızdaki preparatlardan HGF-1 hücreleri üzerinde en fazla sitotoksik etki gösteren preparat ise %0,001 konsantrasyonunda HGF-1 hücrelerinin %50'lik kısmının ölümüne sebep olan çay ağacı yağı olarak bulunmuştur.

4.2. Preparatların Zamana Bağlı Olarak *İn vitro* Yara İyileşme Modeli Sonuçları

İn vitro yara iyileşme modelinde preparatlar arasında standardizasyonu sağlayabilmek amacıyla HGF-1 hücreleri üzerinde oluşturulan yara modellerine her preparatın LD50 değerini veren konsantrasyonu uygulanmış, yara modelleri uygulama öncesi (0. saat), 24. saat ve 48. saatte fotoğraflanmıştır ve *in vitro* yara modellerinin 0.saat, 24. saat ve 48. saat fotoğrafları Şekil 4.2.'de verilmiştir.

	0.saat	24.saat	48.saat
Jack N' Jill® diş jeli			
Aftamed® diş jeli			
Aftadur® diş jeli			
Dencol® jel- sprey			
Dentinox® diş jeli			



Şekil 4.2.: Çalışmamızda kullanılan preparatların *in vitro* yara modelindeki 0. saat, 24. saat ve 48. saat fotoğrafları

Yapılan ölçümler ve tanımlayıcı istatistiksel analiz sonucu 24. saatte kontrol grubu %18,45 iyileşme gösterirken, çay ağacı yağı ise %33,18 yara iyileşmesi göstermiş ve 24. Saatte en fazla yara iyileşmesi gösteren grup olarak bulunmuştur. Jack N' Jill® diş jeli %30,46 yara iyileşmesi göstermiş ve 24. saatte en fazla yara iyileşmesi görülen ikinci grup olmuştur. Bu grupları ise %26,17 yara iyileşmesi ile Aftadur® diş jeli, %25,41 yara iyileşmesi ile Dencol® jel-sprey, %22,12 yara iyileşmesi ile Dentinox® diş jeli, %19,05 yara iyileşmesi ile Aftamed® diş jeli izlemektedir. Çalışmamızda 24. saatte en az yara iyileşmesi gösteren grup ise %3,49 yara iyileşmesi gösteren Calgel® diş jeli olarak

bulunmuştur. Çalışmamızın 48. saat sonuçları incelendiğinde ise kontrol grubunun %51,44 yara iyileşmesi gösterdiği, en fazla yara iyileşmesi gösteren grup olan Aftadur® diş jelinin ise %52,74 yara iyileşmesi gösterdiği bulunmuştur. Aftadur® diş jeli %50,36 yara iyileşmesi ile Jack N' Jill® diş jeli, %46,65 yara iyileşmesi ile Dentinox® diş jeli, %46,56 yara iyileşmesi ile çay ağacı yağı, %39,32 yara iyileşmesi ile Aftamed® diş jeli, %26,67 yara iyileşmesi ile Dencol® jel-sprey izlemektedir. Çalışmamızda 48. saatte de 24. saate benzer şekilde en az yara iyileşmesi gösteren grup %24,84 yara iyileşmesi ile Calgel® diş jeli olarak bulunmuştur.

Tablo 4.2.: Çalışmamızda kullanılan preparatların 24. saatte ve 48. saatteki yara iyileşme yüzdesi sonuçları

		24. saatte yara iyileşme yüzdesi (%)	48. saatte yara iyileşme yüzdesi (%)
Jack N' Jill®	Ortalama±SS	24,93 ± 15,1	43,4 ± 16,29
	Ortanca(Min-Maks)	30,46 (3,79 - 43,23)	50,36 (14,69 - 66,45)
Aftamed®	Ortalama±SS	17,8 ± 6,25	39,98 ± 4,89
	Ortanca(Min-Maks)	19,05 (9,26 - 24,27)	39,32 (34,92 - 50,73)
Dencol®	Ortalama±SS	24,47 ± 2,21	27,44 ± 3,25
	Ortanca(Min-Maks)	25,41 (20,92 - 26,25)	26,67 (23,55 - 31,43)
Dentinox®	Ortalama±SS	26,44 ± 11,44	45,43 ± 10,61
	Ortanca(Min-Maks)	22,12 (6,6 - 39,82)	46,65 (34,32 - 63,92)
Aftadur®	Ortalama±SS	24,15 ± 10,45	52,5 ± 4,21
	Ortanca(Min-Maks)	26,17 (7,53 - 38,55)	52,74 (46,59 - 56,99)
Calgel®	Ortalama±SS	4,68 ± 3,98	28,53 ± 13,14
	Ortanca(Min-Maks)	3,49 (1,02 - 13,4)	24,84 (17,33 - 48,72)
Çay ağacı yağı	Ortalama±SS	32,43 ± 8,8	53,29 ± 15,49
	Ortanca(Min-Maks)	33,18 (18,98 - 46,31)	46,56 (37,62 - 78,3)
Kontrol	Ortalama±SS	17,66 ± 8,11	51,53 ± 8,46
	Ortanca(Min-Maks)	18,45 (8,08 - 32,35)	51,44 (39,67 - 64,77)
DMSO-Kontrol	Ortalama±SS	16,31 ± 7,94	33,7 ± 14,55
	Ortanca(Min-Maks)	20,39 (0,49 - 24,4)	39,32 (10,44 - 53,72)

(SS, Standart Sapma, Min; Minimum, Maks; Maksimum, p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı)

Bağımsız örnekler Kruskal Wallis testi sonucunda, gruplar arasında 24. ve 48. saatler arasında anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur. (Test istatistiği 24. Saat: 34,52 , $p<0,001$; test istatistiği 48. Saat 37,09, $p<0,001$.)

Grupların 24. ve 48. saat yara iyileşme yüzdelerinin ikili karşılaştırmaları ise Tablo 4.4.'de verilmiştir.

Tablo 4.3.: Çalışmamızda kullanılan preparatların 24. saatte ve 48. saatteki yara iyileşme yüzdelerinin ikili karşılaştırmaları

		24. saatte yara iyileşme yüzdesi		48. saatte yara iyileşme yüzdesi	
		Test istatistiği	p değeri	Test istatistiği	p değeri
Jack N' Jill®	Aftamed®	15,667	1,000	9,556	1,000
	Dencol®	-1,333	1,000	29,889	0,253
	Dentinox®	-1,111	1,000	-1,222	1,000
	Aftadur®	1,222	1,000	-17,667	1,000
	Calgel®	41,222	0,007	24,111	1,000
	Çay ağacı yağı	-13,778	1,000	-10,444	1,000
	Kontrol Grubu	15,667	1,000	-13,444	1,000
Aftamed®	Dencol®	-17	1,000	20,333	1,000
	Dentinox®	-16,778	1,000	-10,778	1,000
	Aftadur®	-14,444	0,253	-27,222	0,507
	Calgel®	25,556	0,763	14,556	1,000
	Çay ağacı yağı	-29,444	0,285	-20	1,000
	Kontrol Grubu	0,444	1,000	-23	1,000

Tablo 4.3'ün devamı

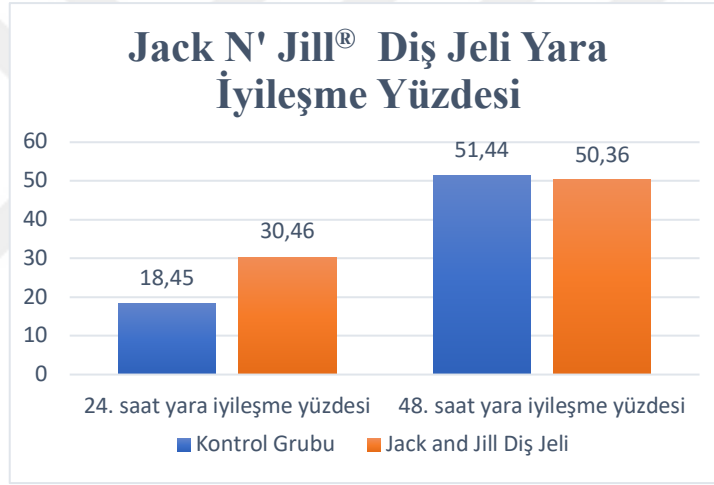
Dencol®	Dentinox®	0,222	1,000	-31,111	0,181
	Aftadur®	2,556	1,000	-47,556	0,001
	Calgel®	42,556	0,004	-5,778	1,000
	Çay Ağacı Yağı	-12,444	1,000	-40,333	0,01
	Kontrol Grubu	17,444	1,000	-43,333	0,003
Dentinox®	Aftadur®	2,333	1,000	-16,444	1,000
	Calgel®	42,333	0,005	25,333	0,805
	Çay Ağacı Yağı	-12,667	1,000	-9,222	1,000
	Kontrol Grubu	17,222	1,000	-12,222	1,000
Aftadur®	Calgel®	40	0,011	41,778	0,006
	Çay Ağacı Yağı	-15	1,000	7,222	1,000
	Kontrol Grubu	14,889	1,000	4,222	1,000
Calgel®	Çay Ağacı Yağı	-55	<0,001	-34,556	0,066
	Kontrol Grubu	-25,111	0,848	-37,556	0,025
Çay Ağacı Yağı	Kontrol Grubu	29,889	0,253	-3	1,000
	DMSO Kontrol Grubu	33,778	0,084	26,667	0,582

(p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı)

Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu 24. saatte Jack N' Jill®, Dencol®, Dentinox®, Aftadur® diş jellerinin ve çay ağacı yağının Calgel® diş jeline göre *in vitro* yara modelinde

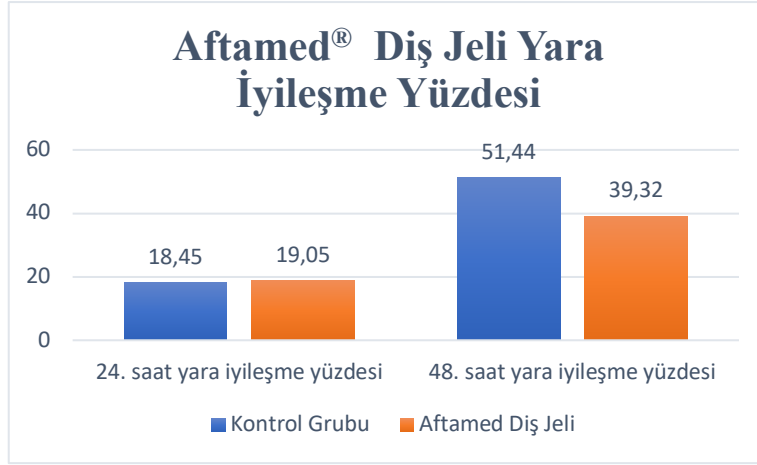
istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla yara iyileşmesi sağladığı bulunmuştur. ($p<0,05$) 48. saat *in vitro* yara modeli sonuçları incelendiğinde ise Dencol® diş jeli; Aftadur® diş jeli, çay ağacı yağı ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az yara iyileşmesine sebep olurken, Calgel® diş jeli de kontrol grubu ve Aftadur® diş jeline göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az yara iyileşmesine sebep olmuştur. ($p<0,05$) Diğer grupların *in vitro* yara iyileşme testi sonuçları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunamamıştır. ($p>0,05$)

4.2.1. Grupların Kontrol Grubuna Göre 24. Saat ve 48. Saatteki Yara İyileşme Yüzdesi Grafikleri



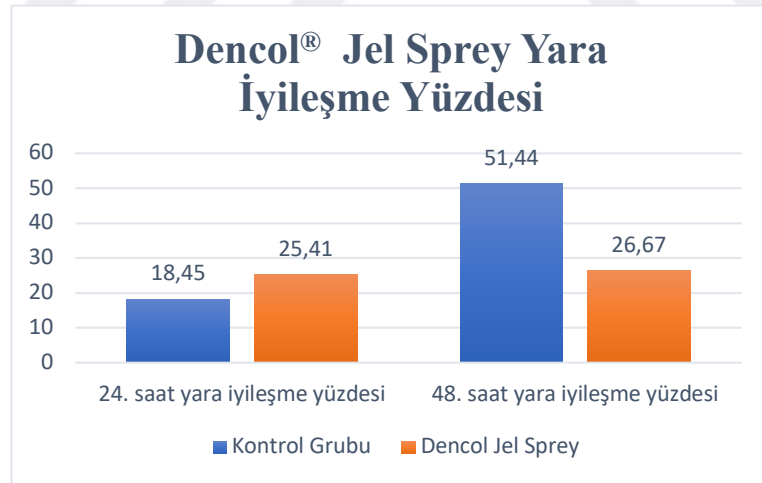
Şekil 4.3.: Jack N' Jill® diş jeli ve kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

Jack N' Jill® diş jelinin 24. saatteki yara iyileşme yüzdesi %30,46 iken, kontrol grubunun yara iyileşme yüzdesi %18,45'dir. 48. saat sonuçlarında ise, Jack N' Jill® diş jelinin %50,36 yara iyileşmesi gösterdiği, kontrol grubunun ise %51,44 yara iyileşmesi gösterdiği bulunmuştur. Jack N' Jill® diş jelinin ve kontrol grubunun yara iyileşme yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark bulunmamıştır. ($p>0,05$)



Şekil 4.4.: Aftamed® diş jeli ve kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

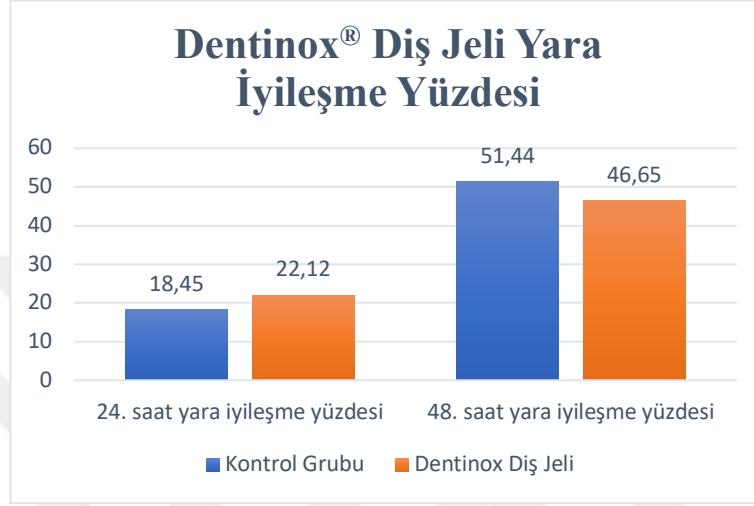
Aftamed® diş jelinin 24. saatteki yara iyileşme yüzdesi %19,05, kontrol grubunun ise %18,45’dir. 48. saat sonuçlarında ise, Aftamed® diş jelinin %39,32 yara iyileşmesi gösterdiği, kontrol grubunun ise %51,44 yara iyileşmesi gösterdiği bulunmuştur. Aftamed® diş jeli ve kontrol grubunun yara iyileşme yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($p>0,05$)



Şekil 4.5.: Dencol® jel sprej ve kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

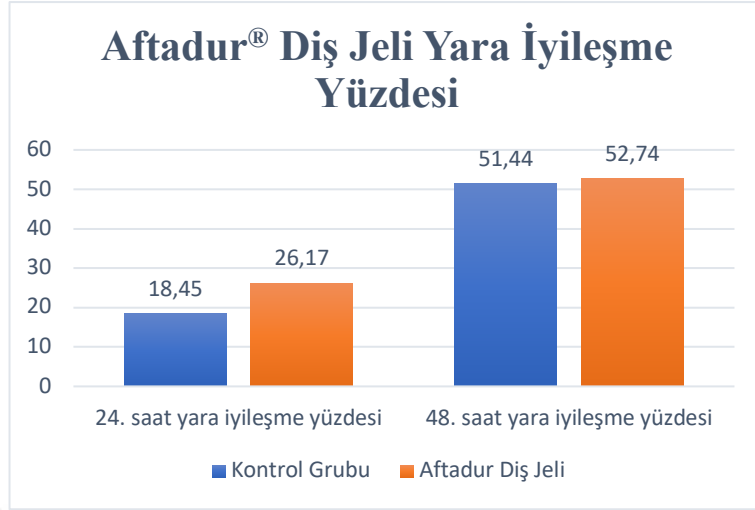
Dencol® jel sprejin 24. saatteki yara iyileşme yüzdesi %25,41 iken, kontrol grubunun yara iyileşme yüzdesi ise %18,45’dir. 48. saat sonuçları incelendiğinde ise, Dencol® jel sprejin %26,67 yara iyileşmesi gösterdiği, kontrol grubunun ise %51,44 yara iyileşmesi gösterdiği bulunmuştur. Dencol® jel sprej ve kontrol grubunun yara iyileşme yüzdeleri arasında 24. saatte istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark bulunmazken ($p>0,05$), 48.

saat sonuçları incelendiğinde Dencol® jel spreyn kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az yara iyileşmesi gösterdiği bulunmuştur. ($p<0,05$)



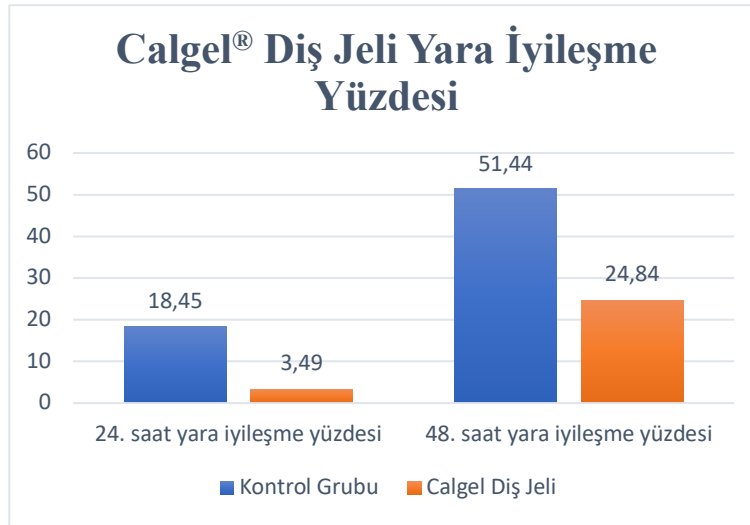
Şekil 4.6.: Dentinox® diş jeli ve kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

Dentinox® diş jelinin, 24. saatteki yara iyileşme yüzdesi incelendiğinde %22,12 yara iyileşmesi gösterirken, kontrol grubu %18,45 yara iyileşmesi göstermiştir. 48. saat sonuçları incelendiğinde ise, Dentinox® diş jelinin %46,65 yara iyileşmesi gösterdiği, kontrol grubunun ise %51,44 yara iyileşmesi gösterdiği bulunmuştur. Dentinox® diş jeli ve kontrol grubunun yara iyileşme yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farklılık bulunmamıştır. ($p>0,05$)



Şekil 4.7.: Aftadur® diş jeli ve kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

Aftadur® diş jelinin, 24. saatteki yara iyileşme yüzdesi incelendiğinde %26,17 yara iyileşmesi gösterirken, kontrol grubu %18,45 yara iyileşmesi göstermiştir. 48. saat sonuçları incelendiğinde ise, Aftadur® diş jelinin %52,74 yara iyileşmesi gösterdiği ve sayısal olarak 48. saatte en fazla yara iyileşme yüzdesi görülen preparat olduğu, kontrol grubunun ise %51,44 yara iyileşmesi gösterdiği bulunmuştur. Aftadur® diş jeli ve kontrol grubunun 24. ve 48. saatlerdeki yara iyileşme yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark bulunmamıştır. ($p>0,05$)



Şekil 4.8.: Calgel® diş jeli ve kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

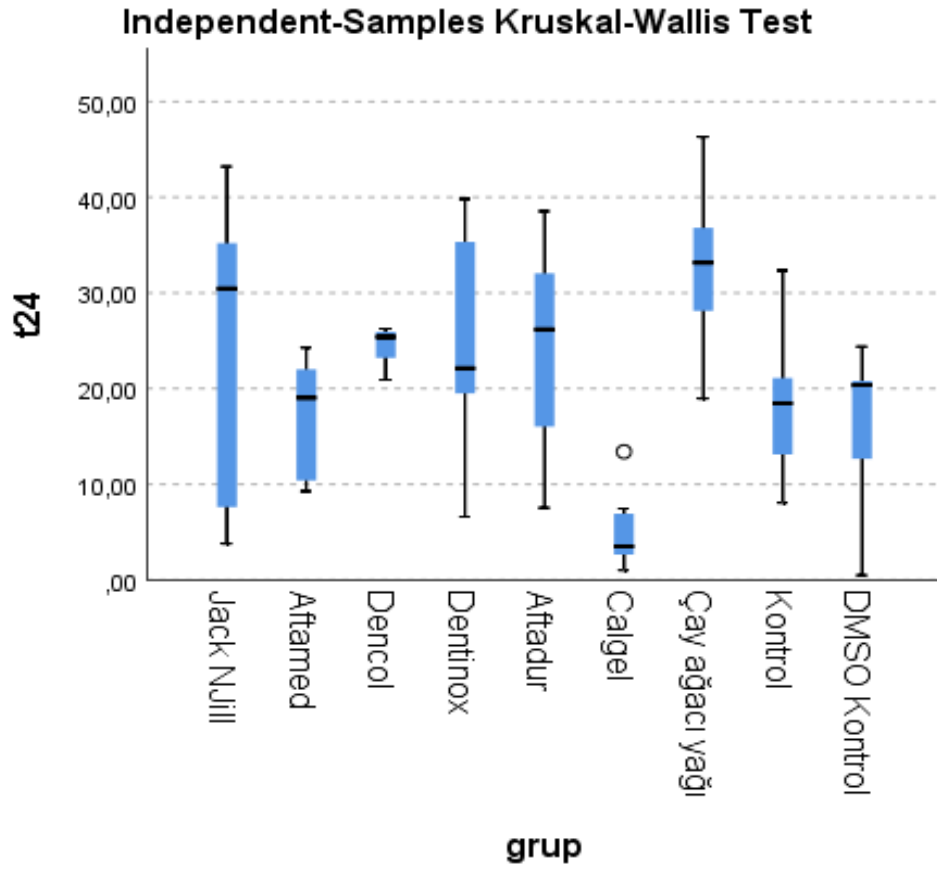
Calgel® diş jelinin, 24. saatteki yara iyileşme yüzdesi %3,49, kontrol grubu ise %18,45'dir. 48. saat sonuçlarında ise, Calgel® diş jelinin %24,84 yara iyileşmesi gösterdiği, kontrol grubunun ise %51,44 yara iyileşmesi gösterdiği bulunmuştur. Calgel®, hem 24. hem de 48. saatte sayısal olarak en az yara iyileşme yüzdesi gösteren diş jeli olarak bulunmuştur. Calgel® diş jelinin 24. saat yara iyileşme yüzdesi ile kontrol grubunun 24. saat yara iyileşme yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmazken ($p>0,05$), Calgel® diş jelinin 48. saatte kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az yara iyileşme yüzdesi gösterdiği bulunmuştur. ($p<0,05$)



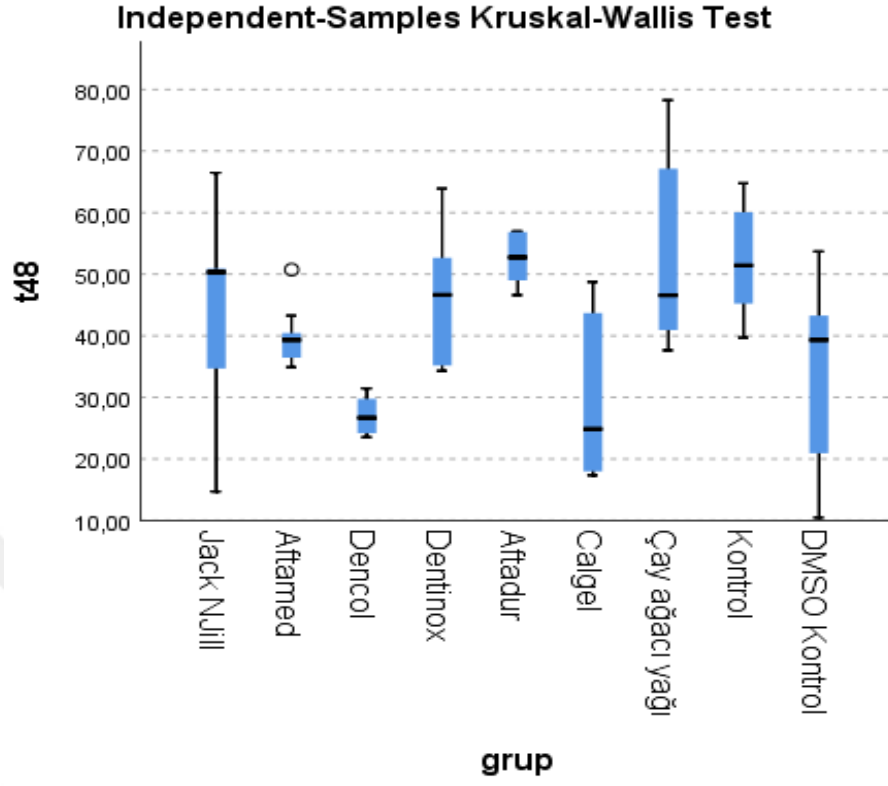
Şekil 4.9.: Çay ağacı yağı, kontrol grubu ve DMSO kontrol grubu yara iyileşme yüzdeleri

Çay ağacı yağının, 24. saatteki yara iyileşme yüzdesi incelendiğinde %33,18 yara iyileşmesi gösterirken, kontrol grubu %18,45, DMSO kontrol grubu %20,39 yara iyileşmesi göstermiştir. 24. saat sonuçları incelendiğinde sayısal olarak en fazla yara iyileşme yüzdesi gösteren preparatın çay ağacı yağı olduğu bulunmuştur. 48. saat sonuçları incelendiğinde ise, çay ağacı yağının %46,56 yara iyileşmesi gösterdiği, kontrol grubunun %51,44, DMSO kontrol grubunun ise %39,32 yara iyileşmesi gösterdiği bulunmuştur. Çay ağacı yağı ile kontrol ve DMSO kontrol gruplarının yara iyileşme yüzdeleri arasında hem 24. saatte hem de 48. saatte istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmamıştır. ($p>0,05$)

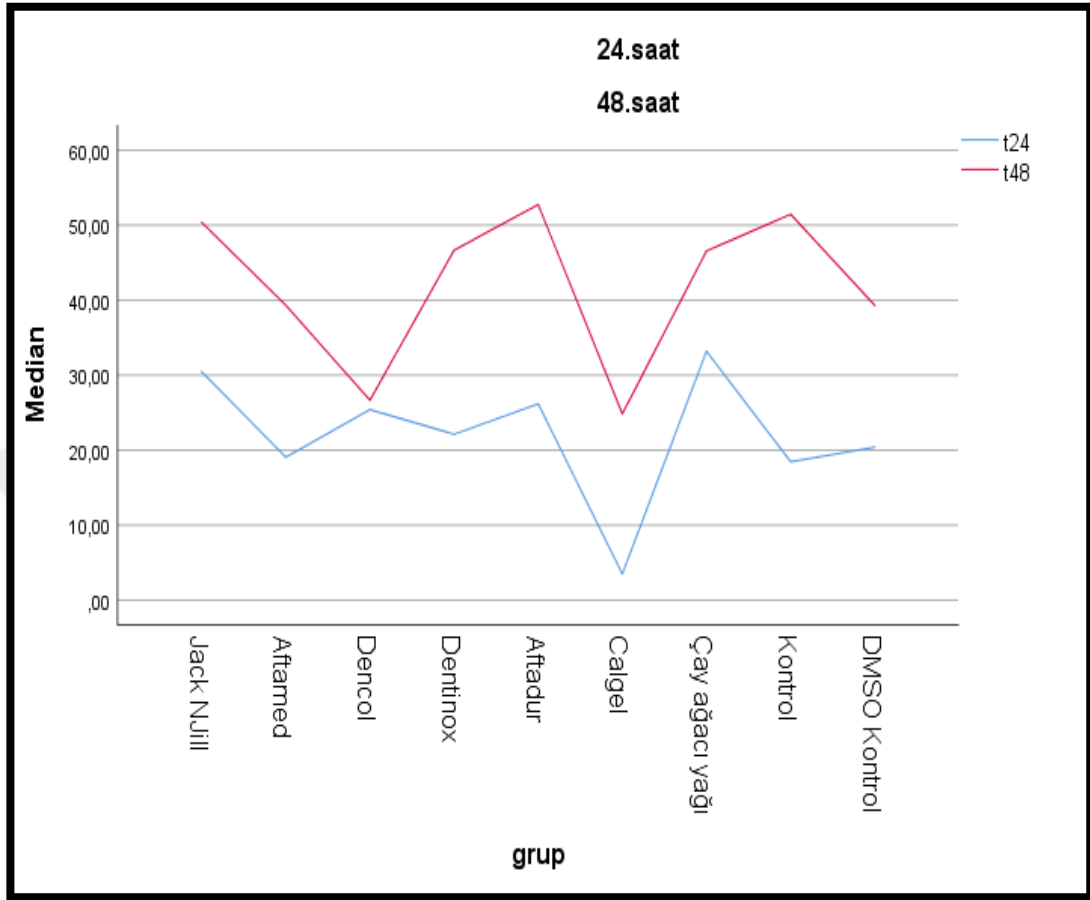
Çalışmamıza dahil edilen grupların 24. ve 48. saatlerdeki yara iyileşme yüzdeleri Şekil 4.9., Şekil 4.10. ve Şekil 4.11.'de verilmiştir.



Şekil 4.10.: Grupların 24. saatteki yara iyileşme yüzdeleri



Şekil 4.11.: Grupların 48. saatteki yara iyileşme yüzdeleri



Şekil 4.12.: Grupların 24. ve 48. saatlerdeki yara iyileşme yüzdeleri

5.TARTIŞMA

Günümüzde diş jellerinin diş sürme dönemindeki etkinliğini destekleyen, yeterli bir bilimsel kanıt bulunmamasına rağmen, bu ürünler hem ebeveynler hem de sağlık profesyonelleri tarafından sıklıkla tercih edilmektedir. (9,125) Çeşitli ülkelerde yapılan ebeveyn anketleri incelendiğinde, diş sürme döneminde diş jeli kullanımının %4,4-%73,4 arasında değiştiği görülmektedir. Türkiye’de ise bu oran %25,6-%72,3 arasındadır (76,80,88,90,95,139-141,144). Sağlık çalışanları ile ilgili anket çalışmaları incelendiğinde ise, bir çalışmada sağlık çalışanlarının diş jeli kullanımı önerme oranı %19,3 iken, pediatristleri ele alan bir başka çalışmada ise bu oran %30 olarak bildirilmiştir (124,217).

Farklı içerikleriyle piyasaya sürülen diş jelleri, anestezi, analjezik özellikli farmakolojik etken maddeler içerebileceği gibi karanfil yağı, nane yağı, alman papatyası özü, aynisefa çiçeği özü gibi çeşitli doğal içeriklere de sahip olabilmektedir. Diş jellerinden lokal diş sürme dönemi semptomlarını yönetmenin yanı sıra, oral aftlardan kaynaklı ağrıyı hafifletmek ve aftların iyileşme sürecini hızlandırmak, periodontal hastalıkların tedavisinde antiinflamatuvar etkinlik sağlamak, postoperatif dönemlerde iyileşme hızını arttırmak gibi çeşitli amaçlarla da faydalanılabilmektedir (3-5,149).

Diş jellerinin yanı sıra çeşitli kültürlere göre değişkenlik gösteren farklı bitkisel yağlar da diş sürme dönemi semptomlarının giderilmesi amacı ile kullanılabilmektedir. Tamamlayıcı ve alternatif tıp uygulamalarında diş sürme döneminde bölgeye antiinflamatuvar ve analjezik etkinliğinden faydalanmak amacıyla çay ağacı yağı veya karanfil yağı uygulanması önerilmektedir (9). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, çay ağacı ve karanfil yağlarının sitotoksitesisi ile ilgili çeşitli alanlarda yapılmış çalışmalar olduğu görülmektedir. Fakat bu çalışmalar yağların antikanser etkinliğini belirlemek, cilt dokusu üzerindeki olası etkilerini belirlemek, pulpal hücreler üzerindeki etkinliğini belirlemek gibi alanlarda yapılmıştır. Bu yağların diş sürme döneminde kullanımı ile ilgili erişilebilir literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Literatürde çay ağacı yağı ve karanfil yağlarının yara iyileşme mekanizması üzerine etkisini inceleyen hayvan çalışmaları ve *in vitro* yara modeli çalışmalarına bakıldığında ise bu yağların yara iyileşmesini olumlu etkilediğine dair bulgular yer aldığı görülmektedir (218-220).

Çalışmamızda karanfil yağının sitotoksitesini kıyaslamak üzere LD50 değerine ulaşamamıştır. Bu nedenle karanfil yağının çalışma dışı bırakılmasına karar verilmiştir.

Diş jellerinin ebeveynler tarafından seçimi konusunda hekimlerin tavsiyesinin yanı sıra, mevcut reklam kampanyaları ışığında bu ürünlere reçetesiz olarak da ulaşılabilir. Diş jellerinin prospektüsleri incelendiğinde kullanım dozu ve olası yan etkileri ile ilgili net bir ifade yer almadığı görülmektedir. AAPD ve FDA diş jellerinin bilinçsiz kullanımı ve lokal anestezi içerikli diş jellerinin olası yan etkileri konusunda ebeveynleri ve sağlık çalışanlarını uarmıştır (145,221). Erişilebilir literatürde, diş jellerinin sitotoksik etkisi ve yara iyileşme mekanizması üzerine etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır.

In vitro hücre kültürü testleri, canlı dokuların fizyolojik durumunu taklit etmektedir ve materyallerin toksisitesinin belirlenmesi amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. *In vitro* testler; bireysel faktörlerden etkilenmez, hızlı uygulanabilir, tekrarlanabilir sonuçlar elde edilir, standardize etmek kolaydır, ucuz ve materyaller arasında kıyaslama yapılmasına izin verir. Ayrıca, hücre düzeyindeki olayları, karmaşık hücreler arası ilişkilerden izole olmuş bir şekilde incelemeye olanak tanır (164,170,222). Dental materyallerin biyouyumluluk değerlendirilmesinde kullanılacak *in vitro* sitotoksite testleri uluslararası standartlar tarafından (ISO 10993-5) belirlenmiştir (169). *In vitro* sitotoksite testlerinden biri olan direkt hücre kültürü metodunda incelenecek olan materyal besi yeri solüsyonu ya da ekstrakt içerisinde çözülür ve hücre kültürü üzerine direkt uygulanarak test gerçekleştirilir (166,177). Çalışmamızda, diş jelleri ve bitkisel yağların sitotoksite testlerinde de direkt hücre kültürü metodu kullanılmıştır.

In vitro hücre kültürü çalışmaları yapılırken göz önünde bulundurulması gereken bir diğer konu da testte kullanılacak hücre tipinin seçimidir. Materyalin klinik kullanımda etkileşimde bulunacağı doku diş pulpası ise odontoblast ve fibroblast hücreleri, ağız mukozası ya da periodontal dokular ise fibroblast hücrelerinin kullanımının daha uygun olacağı bildirilmiştir (223). Hücre kültürü çalışmalarında primer hücre kültürü ya da devamlı hücre hatları kullanılabilir. Devamlı hücre hatları, primer hücre kültürüne göre daha kolay elde edilir, üreme hızı daha yüksektir ve daha stabildir. Sitotoksite testlerinde en çok kullanılan devamlı hücre hatları; fare fibroblast hücreleri (L929, 3T3,

V79), insan servikal adenokarsinom hücreleri (HeLa), HGF-1 hücreleri ve MRC-5 hücreleridir (224-229). Hücre kültürü çalışmalarında kullanılması gereken hücre tipi ile ilgili net bir ifade bulunmamaktadır. Ağız içerisinde kullanılan diş jelleri ve bitkisel yağlar diş eti ve ağız mukozası ile temasta olduğu için çalışmamızda insan gingival fibroblast hücreleri kullanılmıştır.

Yapılan *in vitro* sitotoksosite testlerinin sonuçlarını değerlendirmek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Materyallerin sitotoksitelerinin değerlendirmesinde canlılık değerlendirme testleri, yaşam değerlendirme testleri, hücre proliferasyonu değerlendirme testleri ve hücre metabolizması değerlendirme testleri kullanılabilmektedir (186,188,189). Bu testlerden hücre metabolizması değerlendirme testleri daha kompleks yapıda ve hassas olması, sadece kısa dönem sonuçları değil, uzun dönem sonuçların elde edilmesini sağlaması gibi avantajları nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir (168,194). Çalışmamızda, hücre metabolizması değerlendirme testlerinden MTT testi tercih edilmiştir. MTT testi, günümüzde en sık kullanılan sitotoksosite değerlendirme testlerinin başında gelmektedir. Bu test; ucuzdur, güvenilir ve uygulanması basit bir testtir, tekrarlanabilir sonuçlar verir ve hassas bir test olması nedeniyle düşük dozlarda oluşan toksik etkinin ölçülebilmesini sağlar (192,195,230). Diş hekimliği alanındaki sitotoksosite çalışmaları incelendiğinde MTT testinin sıklıkla kullanıldığı görülmektedir. Yapılan bir çalışmada üç adet dental materyalin toksisitesi MTT, nötral kırmızı ve kolorimetrik yöntemlerle değerlendirilmiş ve HGF-1 hücrelerinde MTT testinin daha belirleyici olduğu bildirilmiştir (231). Bir başka çalışmada da HGF-1 hücreleri üzerinde rezin kompozit monomerlerinin toksisitesi değerlendirilmiş, LDH ve MTT testleri kıyaslanmıştır. Test sonucunda monomerlerin düşük dozlarında MTT testinin daha hassas ve güvenilir bir sonuç verdiği görülmüştür (232).

LD50 değeri sıklıkla bir materyalin toksisitesinin genel bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. İki materyal kıyaslanırken düşük LD50 değerine sahip olan materyal, yüksek LD50 değerine sahip olan materyalden daha toksik bir materyal olarak değerlendirilmektedir (233,234). Bir preparatın etkisinin açıkça bilinmediği durumlarda ve daha önce yapılan çalışmalarda belirtici denemeler yapılmamışsa, preparatın letal doz tanımı yapılması gerekmektedir (235). Çalışmamızda, MTT testi kullanılarak diş jelleri

ve bitkisel yağların canlılık değeri belirlenmiş ve canlılık değerleri kullanılarak bu preparatların LD50 değerini veren konsantrasyonları hesaplanmıştır. Çalışmamızdaki preparatların değerlendirilmesinde LD50 değerinin tercih edilmesinin sebebi, kimyasal içeriklerinin, kullanım dozunun tam olarak bilinmemesi ve yapısal olarak birbirinden farklı özellikte olan bu ürünlerin kıyaslanması sırasında standardizasyonu sağlayabilmektir.

Çay ağacı yağının, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antitümöral etkileri ve yara iyileşmesini olumlu etkilemesi gibi özellikleri nedeniyle son dönemlerde tıpta ve diş hekimliği alanında kullanımı yaygınlaşmıştır (236). Çay ağacı yağı, diş sürme dönemi semptomlarını rahatlatmak amacıyla bu dönemde kullanılan bir alternatif tıp yöntemi olması nedeniyle çalışmamıza dahil edilmiştir (9). Çay ağacı yağı, *Melaleuca alternifolia* bitkisinin yapraklarından elde edilir ve yaklaşık 100 adet bileşiğin çeşitli oranlarda karışımından oluşmaktadır (236). Esansiyel yağların içeriğindeki bileşen maddeler ve oranları; yağın elde edildiği bitkinin cinsine, üretim şekline, bitkinin hangi bölgesinden elde edildiğine, elde edildiği mevsime, yetiştirildiği bölgenin coğrafik yapısına ve iklimine bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle sabit bileşimli bir esansiyel yağ elde etmek son derece zordur (237,238). Ticari amaçla satılan çay ağacı yağlarının belirli bir aralıkta standardizasyonunu sağlayabilmek için içeriğindeki temel maddelerin bulunması gereken minimum ve maksimum değerler Uluslararası Standardizasyon Örgütü tarafından belirlenmiştir. Bu standardizasyona göre; çay ağacı yağının temel bileşeni olan ve antimikrobiyal aktivitesinden sorumlu olduğu düşünülen terpinen-4-ol bileşiğinin minimum %30 oranında olması gerekirken, iritan özelliği nedeniyle 1,8-sineol bileşiğinin ise maksimum %15 oranında olması gerektiği bildirilmiştir (239). Çalışmamızda kullanılan çay ağacı yağının bileşimindeki maddelerin oranı Uluslararası Standardizasyon Örgütü'nün şartlarına uymaktadır.

Erişilebilir literatürdeki çalışmalar incelendiğinde bazı çalışmalarda çay ağacı yağının sitotoksik özellikte olduğu bildirilirken, bazı çalışmalarda ise sitotoksitesinin düşük olduğu bulunmuştur. Çay ağacı yağının irritasyon potansiyelini düşürmek için düşük konsantrasyonlarda ve sağlıklı bölge üzerine uygulama yapılması önerilmiştir (240). Kozmetik ürünlerle ilgili Avrupa Konseyi Heyetinin 2001 yılında aldığı karar

doğrultusunda çay ağacı yağının; diş macunları ve gargaralarda %0,5, el kremlerinde %2, deodorantlarda %2, şampuan ve duş jellerinde ise %3 konsantrasyona kadar olan oranlarda kullanımına izin verilmiştir (240).

Çay ağacı yağı ile farklı hücrelerde yapılan çalışmalarda ise sitotoksik potansiyeli olduğu hakkında genel bir ortak kana varılmıştır. Yapılan bir çalışmada, çay ağacı yağının 20 saat maruziyet sonucunda monositler ve nötrofiller için toksik olduğu bildirilmiştir (241). Kanser hücreleri kullanılarak yapılan *in vitro* çalışmalarda insan akciğer kanseri hücre hattına (A 549), insan meme kanseri hücre hattına (MCF-7), insan prostat kanseri hücre hattına (PC-3), insan servikal adenokarsinom hücre hattına (HeLa) karşı güçlü bir toksik etkisi olduğu ve bu nedenle antitümör aktivitesinden yararlanılabileceği düşünülmüştür (242,243). Bu çalışmalara ek olarak bizim çalışmamıza benzer bir şekilde HGF-1 hücreleri kullanılarak çay ağacı yağının sitotoksik etkisini değerlendiren bir çalışmada %0,03 ve üstündeki konsantrasyonda çay ağacı yağına 1 saat maruziyetin sitotoksik etki yarattığı gösterilmiştir (244). Yapılan çalışmalarda, çay ağacı yağının sitotoksik etkisinin içeriğindeki terpinen-4-ol, α -terpineol ve 1,8-sineol bileşenlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (218). Bizim çalışmamızda ise preparatların LD50 değerleri üzerinden insan gingival fibroblast hücrelerindeki sitotoksisiteyi değerlendirilmiş ve en sitotoksik olan preparatın çay ağacı yağı olduğu bulunmuştur. Çalışmalar sonucunda çay ağacı yağının sitotoksik etki gösteren konsantrasyonlarının farklılık göstermesi, kullanılan hücre tipi, kullanılan çay ağacı yağı içeriğindeki bileşenler ve değişik test yöntemleri kullanılması ile ilişkilendirilmiştir.

Çalışmamızda lokal anestezi madde içeren iki farklı diş jeli kullanılmıştır. Bunlardan ana etken maddesi lidokain hidroklorür ve setilpiridinyum klorür olan ve yardımcı içerik olarak alkol bulunan Calgel® LD50 değerini 1/128 konsantrasyonu vermiş ve Calgel® çalışmamızda kullanılan diş jelleri arasında HGF-1 hücreleri üzerinde en yüksek sitotoksisiteyi gösteren diş jeli olmuştur. Çalışmamızda kullanılan ana etken madde olarak lidokain hidroklorür içeren Dentinox® diş jeli ise 1/64 konsantrasyonda LD50 değerini vermiş ve çalışmamızda kullanılan diş jelleri arasında 2. sırada sitotoksisite gösteren jellerden birisi olarak bulunmuştur. Lidokainin sitotoksik etkisini değerlendiren çalışmalara bakıldığında, çalışmamızla uyumlu olarak kontrol grubu ile kıyaslandığında

lidokain uygulanan gruplarda hücre canlılığının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı bulunmuştur (245-247). Ayrıca çalışmalarda, uygulanan lidokain konsantrasyonu arttırıldığında, canlı hücre sayısında daha fazla oranda azalma olduğu görülmüştür (245,247-249). Sitotoksik etkilerinin yanı sıra, lidokain içeren ürünlerin bilinçsiz kullanımına bağlı literatürde çok sayıda vaka raporu bulunmaktadır. Bu vaka raporlarında lidokain toksisitesine bağlı olarak solunum sıkıntıları, nöbet, ölüm gibi ciddi etkilerden bahsedilmekte ve bunlardan dolayı FDA lidokain içeren diş jellerinin bebeklerde diş sürme döneminde kullanımını onaylamamaktadır (153-158). Lidokain içeren ürünlerin özellikle çocuklar ve bebeklerde kullanımı hekim kontrolünde planlanmalıdır. Çalışmamızdaki lidokain hidroklorür içeren preparatlar arasındaki sitotoksikite farkının ise Calgel®'in içeriğindeki setilpiridinyum klorür ve alkolden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Setilpiridinyum klorür; diş macunları, kişisel bakım ürünleri, ağız gargaraları, antiseptik boğaz spreyları gibi çeşitli ürünlerde yer alan bir kuaterner amonyum bileşiğidir. Bir çalışmada, setilpiridinyum klorürün kanal içi irrigasyon solüsyonu olarak kullanılma potansiyelini değerlendirmek amacıyla HGF-1 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi araştırılmış ve tedavi süresinden bağımsız olarak HGF-1 hücreleri üzerinde güçlü bir sitotoksik etki yarattığı bildirilmiştir (250). Bir başka çalışmada ise %0,15 konsantrasyonda setilpiridinyum klorür içeren bir solüsyon hazırlanmış ve fare fibroblast hücreleri ve insan keratinosit hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda setilpiridinyum klorürün fare fibroblast hücreleri ve insan keratinosit hücreleri üzerinde ise düşük konsantrasyonlarda ve kısa maruziyet sürelerinde bile sitotoksik etkisi olduğu bildirilmiştir (251). Müller ve ark. (2017)'ları ise ağız çalkalama solüsyonlarının antimikrobiyal ve sitotoksik etkilerini değerlendirdikleri çalışmada setilpiridinyum klorür içeren gargaraların HGF-1 hücreleri için toksik özellikte olduğunu rapor etmişlerdir (252). Sitotoksik etkisinin yanı sıra literatürde, setilpiridinyum klorür bileşiğinin solunmasının pulmoner inflamasyona sebep olabileceği, surfaktan aktivitesini değiştirebileceği ve ilerleyen aşamalarda solunum fonksiyonlarında bozulmalara yol açabileceği üzerinde de durulmuştur (253). Olası yan etkileri göz önünde bulundurulduğunda, setilpiridinyum klorür bileşiği içeren ürünlerin bilinçsiz kullanımından kaçınılmalıdır.

Calgel® diş jeli içeriğinde yer alan bir diğer bileşen ise alkoldür. Yapılan çalışmalarda alkolün çeşitli hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi incelendiğinde, kullanılan konsantrasyon ve uygulama süresine bağlı olarak değişen oranlarda sitotoksik etki yarattığı bulunmuştur (254). HGF-1 hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada ağız gargaraları içerisindeki alkolün orta derecede sitotoksik etki yarattığı bildirilirken, bir başka çalışmada ise alkol oranı yüksek olan gargaraların HGF-1 hücreleri üzerinde toksik etki yaratabileceği üzerinde durulmuştur (255,256). Fakat, Calgel® diş jeli içeriğindeki alkol türü ile ilgili prospektüsünde net bir ifade yer almamaktadır. Gelecek dönemlerde yapılacak çalışmalarda Calgel® içeriğindeki alkol türünün netleştirilmesi ve spesifik olarak bu maddenin HGF-1 hücreleri üzerindeki etkisinin incelenmesi daha kesin sonuçlar bildirilmesini sağlayacaktır.

Diş hekimliği alanında diş jellerinin kullanımı incelendiğinde, literatürde ağız ve diş sağlığını ilgilendiren durumlarda en sık tercih edilen jellerin hyaluronik asit içerikli diş jelleri olduğu görülmektedir. Hyaluronik asit içerikli diş jelleri diş sürme döneminde kullanımının yanı sıra periodontal problemlerde, oral aftlarda, post operatif dönemde iyileşmeyi hızlandırmak amacıyla tercih edilmektedir (3-5,149). Çalışmamızda, hyaluronik asit içeren üç adet diş jeli incelenmiştir. Hyaluronik asit içeren jeller arasında Aftadur® ve Aftamed® diş jelleri 1/64 konsantrasyonda LD50 değerini verirken, Gengigel® diş jeli 1/4 konsantrasyonda LD50 değerini vermiş ve çalışmamızdaki hyaluronik asit içeren jeller arasında HGF-1 hücreleri üzerinde en az sitotoksik etki yaratan diş jeli olarak bulunmuştur. Aftamed®, Aftadur® ve Gengigel® diş jellerinin içeriğine bakıldığında Aftamed® ve Aftadur® diş jellerinde koruyucu olarak EDTA içeriği bulunurken, Gengigel® diş jeline ise EDTA içeriği bulunmadığı görülmüştür. EDTA'nın kozmetik, gıda, ilaç sektöründe, kağıt endüstrisinde ve diş hekimliğinde geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır (257). İlaç ve gıda sektöründe koruyucu içerik olarak EDTA kullanımı FDA tarafından onaylanmış olmasına rağmen EDTA'nın olası yan etkileri belirsizliğini korumaktadır (258). EDTA'nın sitotoksitesinin değerlendirildiği *in vitro* çalışmalara bakıldığında, çalışmaların genelinde EDTA uygulanmış grupların kontrol grubuna göre hücre canlılığını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığı bildirilmiştir (258, 259). Fakat, hepatoselüler karsinom hücre hattı üzerinde yapılmış bir *in vitro* çalışmada ise EDTA'nın sitotoksik etki göstermediği bildirilmiştir (257). Bunlara ek

olarak literatürdeki EDTA ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde; EDTA'nın oksidatif stres ve hücre apoptozunu indüklediği, EDTA'ya uzun süreli maruziyetin doku hasarı, böbrek nekrozu ve interstisyel kanamaya sebep olabileceği bildirilmiş, yapılan bir *in vivo* çalışmada ise EDTA'nın doku tahriş edici özellikte olduğu bulunmuştur (260-264). Yapılan literatür taramasında EDTA ile ilgili net bir sonuca varılamamıştır. Bazı çalışmalarda bileşiğin toksisitesinin kabul edilebilir seviyede olduğu bildirilirken, bazı çalışmalarda ise EDTA kullanımında dikkatli olunması gerektiği üzerinde durulmuştur (257,260,261,265). Bu durumun incelenen EDTA tiplerindeki farklar (alkalin EDTA, EDTA tuzları, nötral EDTA vb), çalışmalarda kullanılan EDTA konsantrasyonlarının farklı olması, değerlendirme yöntemleri arasındaki farklılıklar gibi sebeplerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızdaki hyaluronik asit içeren jellerin içeriğindeki etken maddelerin oranları, tam formülasyonları bilinmemektedir. Ayrıca, jellerin yardımcı içerikleri arasında da farklılıklar bulunmaktadır. Jellerin içerdiği hyaluronik asit miktarları, yardımcı maddelerin oranları ve tam kullanım formülasyonları ile ilgili ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Diş jellerinde kullanılan bir diğer etken madde de kolin salisilatıdır. Kolin salisilat, NSAİ ilaçların karboksilik asit türevleri grubunda yer alan, diş jellerinde analjezik ve antiinflamatuvar etkinliği nedeniyle tercih edilen bir etken maddedir (3,266). Literatürdeki kolin salisilat ile ilgili sitotoksikite çalışmaları incelendiğinde, bu çalışmaların göz damlalarında kolin salisilat kullanımına yönelik olduğu görülmüştür. Bir çalışmada %1, %2, %3 oranlarda kolin salisilat içeren solüsyonlar tavşan korneal hücre hattına uygulanmış, MTT ve nötral kırmızı testleri ile sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Sitotoksikite testlerinin sonuçları incelendiğinde, kontrol grubu ve farklı oranlarda kolin salisilat içeren preparatlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sitotoksikite farkı gözlenmemiştir (267). Benzer bir başka çalışmada da tavşan korneal hücre hattı üzerine kolin salisilat ve hyaluronik asit içeren göz damlaları uygulanmış, yapılan sitotoksikite değerlendirmelerinde %90'nın üzerinde hücre canlılığı olduğu ve damlaların iyi tolere edildiği rapor edilmiştir (268). Kolin salisilat içeren göz damlaları ile ilgili sitotoksikite çalışmalarının bizim çalışmamızdan farklı olduğu noktalardan biri, bu damlaların hücre kültürü üzerine 5-10 dakika gibi kısa süreler uygulanmasıdır. Farklı hücre kültürü, farklı değerlendirme kriteri ve farklı uygulama zamanı olan bizim çalışmamızda ise, kolin

salisilat içerikli Dencol® jel-sprey HGF-1 hücreleri üzerine 24 saat uygulanmış ve bu sürenin sonunda sitotoksitesi değerlendirilmiştir. Bu preparatın HGF-1 hücreleri üzerinde 1/16 konsantrasyonda LD50 değerini verdiği, çalışmamıza dahil edilen anestezi içerikli preparatlardan daha az sitotoksik olduğu, hyaluronik asit içerikli Aftamed® ve Aftadur®’dan daha az sitotoksik ancak Gengigel®’den daha fazla sitotoksik olduğu bulunmuştur.

Farmakolojik etken madde içeren ürünlerle ilgili dikkat edilmesi gereken önemli noktalardan biri, bu ürünlerin reçetesiz ve doz kontrolü yapılmadan kontrolsüz şekilde kullanımıdır. Avustralya’daki çocuklarda reçetesiz ilaç kullanımını inceleyen bir çalışmaya göre, çocuklar için reçetesiz olarak satın alınan ilaçlar arasında kolin salisilat içerikli ilaçlar parasetamol grubu ilaçlardan sonra ikinci sırada yer almaktadır (269). Kolin salisilat içeren ürünler sıklıkla tercih edilmesine rağmen, erişilebilir literatürde bu konuda yapılmış çalışmalar ise sınırlıdır. Literatürdeki bir vaka raporunda, düzenli olarak kolin salisilat içeren bir jel kullanan 39 yaşındaki erkek hastanın mide ve duodenumunda çoklu peptik ülser alanları tespit edilmiş, jel kullanımı kesildikten üç ay sonra hasta kontrole çağırılmış ve ülserasyon alanlarında iyileşme olduğu gözlenmiştir (270). İleride yapılacak çalışmalarda, kolin salisilat içeren dış jellerinin olası yan etkileri ile ilgili daha detaylı sonuçlar elde edilmesi ile çocuklardaki bilinçsiz kullanımı hakkında farkındalığın artırılabilceği düşünülmektedir.

Çalışmamızdaki preparatlar içerisinde HGF-1 hücreleri üzerinde en az sitotoksik etkisi olan preparat 1/2 konsantrasyonda LD50 değerini veren, doğal içerikli Jack N’ Jill® dış jeli olmuştur. Üretici firma tarafından içeriğinin doğal olduğu öne sürülen Jack N’ Jill® dış jeli incelendiğinde, ana etken madde olarak alman papatyası özü ve aynısefa çiçeği özü bulunduğu görülmektedir. Alman papatyasının, antiinflamatuvar, antialerjik, antioksidan, antimikrobiyal etkileri olduğu öne sürülmekte ve tıbbi amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır (271-273). Alman papatyası; flavonitler, kumarinler, poliholozitler, fenolik asitler, kamazulen, α -bisabolol, apigenin, gibi 120’ye yakın aktif bileşik içermektedir. Literatür incelendiğinde alman papatyasının sitotoksik etkisini değerlendiren kısıtlı araştırma olduğu görülmektedir. Yapılan bir araştırmada, altı adet papatya türünün insan kolon epitelyal hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi

değerlendirilmiş ve tüm papatya türlerinin kontrol grubuna göre hücre canlılığında azalmaya neden olduğu fakat kontrol grubu ile aralarındaki anlamlı farkın sadece 300 mikrogram/ml ve 500 mikrogram/ml konsantrasyonlarında bulunduğu bildirilmiştir. (274) Bir başka çalışmada ise alman papatyasından yapılan çayın kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi incelenmiş ve kronik myeloid lösemi hücreleri, insan servikal adenokarsinom hücreleri, malign meme dokusu stromal hücreleri ve langerhans tipi dev hücreler üzerine sitotoksik etki gösterirken, insan melanoma hücreleri üzerinde ise sitotoksik etki yaratmadığı bildirilmiştir (275). Erişilebilir literatürde, alman papatyası bitkisinin HGF-1 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi ile ilgili ise herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Jack N' Jill® diş jeli içeriğindeki bir diğer ana etken maddesi ise aynısefa çiçeği özütüdür. Aynısefa çiçeğinin, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antialerjik ve yara iyileştirici özellikte olduğu düşünülmektedir (276). İçeriğindeki başlıca aktif bileşikler; steroidler, flavanoidler, terpenoidler, fenolik asitler ve karotenlerdir (277). Erişilebilir literatürde aynısefa çiçeğinin sitotoksik etkisini değerlendiren bir çalışmaya rastlanamamıştır.

Yara iyileşmesi, çok sayıda hücre tipini içeren, çeşitli sitokinler ve mediatörlerin görev aldığı karmaşık bir olaylar dizisi şeklinde gerçekleşir (207,278). Yara iyileşmesini pek çok lokal ve sistemik faktör etkileyebilmektedir. Yara iyileşmesini etkileyen faktörlerin ortak özelliği yara kenarlarındaki kolajen fibrilleri üzerine etki göstermeleridir ve yara iyileşme mekanizmasında kolajen sentezi ise fibroblast hücreleri tarafından gerçekleştirilmektedir (279,280). Bu nedenle çalışmamızda kullandığımız *in vitro* yara iyileşme modelinde, insan gingival fibroblast hücrelerinin kullanımı tercih edilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan *in vitro* yara modeli testinin, hayvan deneyleri ve klinik çalışmalara göre; incelenecek maddenin toksisitesinin daha hassas bir şekilde değerlendirilebilmesi, hücrede yarattığı etkinin spesifik olarak test edilmesi, kolay standardize edilmesi, basit ve ekonomik olması gibi avantajları bulunmaktadır. Fakat bu ürünler ile ilgili kesin bir sonuç bildirebilmek için ilerleyen çalışmalarda, hayvan deneyleri ve klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Çünkü, *in vitro* çalışmalarda tek bir hücre üzerindeki spesifik etki test edilmektedir, kullanılan materyale

karşı dokunun cevabı gözlenememektedir ve test tek bir hücre üzerinde gerçekleştirilebilmektedir (223,281).

Çalışmamızda kullanılan preparatların 24. saatteki yara iyileşme yüzdeleri incelendiğinde, preparatların yara iyileşme yüzdeleri ile kontrol grubunun yara iyileşme yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı görülmüştür. Preparatların yara iyileşme yüzdeleri sayısal olarak incelendiğinde ise, yara iyileşme yüzdesi en fazla olan preparat çay ağacı yağıdır ve onu Jack N' Jill® diş jeli izlemektedir. 24. saatte yara iyileşme yüzdesi sayısal olarak en düşük olan preparat ise, Calgel® diş jelidir.

Preparatların 48. saatteki yara iyileşme yüzdeleri incelendiğinde ise, Calgel® diş jeli ve Dencol® jel-sprey preparatlarının, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az yara iyileşmesi sağladığı bulunmuştur. 48. saat yara iyileşme yüzdeleri sayısal olarak incelendiğinde ise, en yüksek yara iyileşme yüzdesi görülen preparatlar Aftadur® diş jeli ve Jack N' Jill® diş jeliyken, en düşük yara iyileşme yüzdesi olan preparatlar ise Calgel® diş jeli ve Dencol® jel-spreydir. Çalışmamızdaki preparatlardan hiçbirinin yara iyileşme yüzdesi 24. ve 48. saatlerde kontrol grubundaki yara iyileşme yüzdesinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmamış, bu çalışmadaki preparatların yara iyileşmesine anlamlı derecede olumlu bir etkisi olmadığı görülmüştür.

Çalışmamızdaki preparatlardan 24. saatte sayısal olarak en yüksek yara iyileşme yüzdesini gösteren çay ağacı yağının, antiinflamatuvar özellikte olduğu ve yara iyileşme sürecini olumlu etkilediği bildirilmiştir (219,220). Literatürde çay ağacı yağının yara iyileşmesi üzerine etkisi ile ilgili, çok sayıda *in vivo* çalışma vardır. Erişkinlerde yapılan klinik çalışmalarda, yara bölgesi *Staphylococcus aureus* ile kontamine olmuş, diyabetik ayağı olan, gazlı gangren gelişmiş hastalara çay ağacı ile düzenli pansuman yapılmış ve çay ağacı yağının yara iyileşmesini olumlu etkilediği bildirilmiştir (282-284). Çay ağacı yağı ile ilgili yapılan hayvan deneylerinde ise çeşitli yöntemlerle ratlarda yara bölgeleri oluşturularak çay ağacı yağının yara bölgesindeki etkinliği takip edilmiştir. Bu çalışmalarda; diyabetli ratlardaki cerrahi yaraların iyileşme süreçleri, radyasyon uygulaması ile kutanöz yaralar oluşan ratların yara iyileşme süreçleri gibi farklı yara tiplerinde çay ağacı yağının etkinliği değerlendirilmiş ve yara iyileşmesini olumlu

etkilediği bulunmuştur (285,286). Erişilebilir literatürde çay ağacı yağının yara iyileşme mekanizması üzerine etkisi ile ilgili *in vitro* çalışmaya ise rastlanamamıştır. Bu çalışmalardan farklı olarak, çalışmamızda *in vitro* koşullarda gingival fibroblastlara çay ağacı yağı uygulanmış ve yara iyileşmesi üzerindeki etkisi kontrol grubu ile kıyaslandığında hem 24. saat hem de 48. saat sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Yara iyileşmesinde sayısal olarak daha başarılı bulunan çay ağacının, literatürde olası yan etkileri ile ilgili ise fikir birliği bulunmamaktadır. Bazı vaka raporlarında ve hayvan deneylerinin sonucunda çay ağacı yağının ciltte belli bir bölgeye düzenli uygulanmasının kontak dermatite sebep olabileceği, ciltte irritasyon yaratabileceği bildirilirken, bazı çalışmalarda ise çay ağacı yağının irritasyon ve alerjik reaksiyon potansiyeli düşük olarak değerlendirilmiştir (116,240,287). Çalışmamızda da test edilen preparatlar arasında en sitotoksik ürünün çay ağacı yağı olduğu bulunmuştur. Dolayısıyla, doğal olduğu düşünülen preparatların özellikle küçük yaştaki çocuklarda kullanımında sadece tek bir olumlu etkisine odaklanılmamalı, olası diğer yan etkileri de göz önünde bulundurularak seçim yapılmalıdır.

Çalışmamızdaki preparatların 24. ve 48. saatteki yara iyileşme yüzdelere bakıldığında; sayısal olarak ikinci sırada Jack N' Jill® diş jeli gelmektedir. Jack N' Jill® diş jeli üretici firma tarafından doğal içerikli bir diş jeli olarak pazarlanmaktadır ve içeriğinde alman papatyası ve aynısefa çiçeği özü bulunmaktadır. Bu içeriklerin yara iyileşmesi üzerindeki etkisiyle ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış fakat, yara iyileşme etkisi ve mekanizması ile ilgili net bir sonuca ulaşılamamıştır. Alman papatyasının doku iyileştirici etkisinin içeriğindeki a-bisabolol ve flavonoidler gibi antiinflamatuvar, antibakteriyel, antifungal etkili bileşenlerden kaynaklandığı ve cilt yaraları, ağız yaraları ve hemoroit tedavisi gibi durumlarda kullanılabildiği bildirilmiştir (288-291). Yapılan bir klinik çalışmada, dermaabrazyon uygulaması ile dövme silme işlemi yapılan hastalarda papatya uygulaması tavsiye edilmiş ve 15. günde papatya kullanan gruptaki hastaların yara alanında kontrol grubuna göre daha iyi bir iyileşme görülmüştür (292). Bir başka çalışmada ise, alman papatyası içeriğindeki hekzan ve ethanol ekstraktlarının albino fare fibroblastları kullanılarak *in vitro* yara iyileşme testi yapılmış ve bu ekstraktların kontrol

grubuna göre daha kötü yara iyileşmesi sağladığı bildirilmiştir (293). Jack N' Jill® diş jeli içeriğindeki bir diğer bileşen olan aynısefa çiçeği özünün, yara iyileşmesi üzerine etkisi ile ilgili ise literatürde çok sayıda çalışma bulunduğu görülmektedir. Aynısefa çiçeği özü ile ilgili *in vivo* çalışmalar incelendiğinde, yapılan hayvan deneylerinde yanık ve radyasyon hasarı durumunda ratlardaki yara iyileşmesi değerlendirilmiş ve aynısefa çiçeği özü kullanılan grupta kontrol grubuna kıyasla daha iyi bir iyileşme olduğu bildirilmiştir (294,295). Klinik çalışmalarda ise aynısefa çiçeği özünün yara iyileşmesi üzerine etkisi ile ilgili sonuçlar net değildir. Yapılan çalışmalarda, kronik venöz ülseri olan hastalarda aynısefa çiçeği özü ile tedavi uygulanmış, radyasyon tedavisi sonrası dermatit gelişen hastalara aynısefa çiçeği özü içeren merhem önerilmiş ve bu çalışmaların sonucunda aynısefa çiçeği özü kullanılan gruplarda kontrol grubuna göre daha iyi yara iyileşmesi görüldüğü bildirilmiştir (296-298). Bazı klinik çalışmaların sonuçlarında ise, diyabetli hastalarda bacak ülseleri ve 2.-3. derece yanık lezyonlarında aynısefa çiçeği özü kullanımı önerilmiş fakat kullanım sonucunda, kontrol grubu ile aynısefa çiçeği özü kullanan grup arasında yara iyileşmesi açısından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (299,300). Aynısefa çiçeği özü içeriğindeki bileşenlerin *in vitro* yara iyileşmesi üzerindeki etkisini değerlendiren bir çalışmada ise, aynısefa özü bileşenlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla yara iyileşmesi gösterdiği bildirilmiştir (293). Erişilebilir literatürde, Jack N' Jill® diş jelinin yara iyileşmesi üzerine etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmadığından, yara iyileşme etkisi jelin ana bileşenleri olan alman papatyası veya aynısefa çiçeği ile ilişkilendirilmiştir. Ancak, daha kesin sonuçlar sunabilmek için jelin içerisindeki yan ürünlerin yara iyileşmesine olan etkilerini değerlendiren ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızdaki preparatlardan 48. saatte sayısal olarak en yüksek yara iyileşme yüzdesini gösteren preparat Aftadur® diş jelidir. Aftadur® diş jeli, yara iyileşme kaskatındaki önemli proteinlere bağlanan ve yara iyileşmesini olumlu etkilediği bildirilen hyaluronik asit içeren bir preparattır (301,302). Hyaluronik asitin yara iyileşmesi üzerine etkisi ile ilgili hayvan deneylerinde, ratların ve tavşanların ciltleri, korneaları üzerinde cerrahi yara alanları oluşturulmuş, eklem defektleri yaratılmıştır bu çalışmaların sonucunda, hyaluronik asit uygulaması yapılan grupta daha kalın ve iyi organize olmuş bir yara dokusu gözlenmiş, yara bölgesindeki kolajen içeriğinin daha fazla olduğu

görülmüştür (303-305). Hyaluronik asit ile ilgili klinik çalışmalar incelendiğinde ise, hyaluronik asitin cildin re-epitelizasyonunu olumlu etkilediği, venöz ülserlerin tedavisinde kontrol grubuna göre hem ülser sayısında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu hem de ülser boyutlarının küçüldüğü, gingivitisli hastalarda uygulama sonucu diş eti kanamasının azaldığı, kronik periodontitisli hastalarda hyaluronik asit kullanımı olan grupta kontrole göre cep sayısında azalma görüldüğü, diş çekim soketlerine uygulandığında kontrol grubuna göre daha fazla kemik oluşumu gözlemlendiği, rekkürrent aftöz ülserlerde kullanımının iyileşmeye katkı sağladığı bildirilmiştir (4,306-309). Hyaluronik asit ile ilgili *in vitro* çalışmalar incelendiğinde ise; *in vitro* insan cilt yararasındaki re-epitelizasyon incelenmiş ve amniyon sıvısı içerisindeki hyaluronik asitin yara iyileşmesini olumlu etkilediği bildirilmiştir (310). Ayrıca, fare kardiyomiyosit hücre hattındaki kalp iskemisi modelinde, hyaluronik asit kullanılmış ve hyaluronik asitin hücre sağkalımını modüle ettiği ve yara iyileşmesini desteklediği bildirilmiştir (311). Bu çalışmaların yanı sıra, HGF-1 hücreleri kullanılarak oluşturulan *in vitro* yara modelinde kuyucuklara 300 kilodalton ve 1300 kilodalton hyaluronik asit uygulanmış ve her iki kuyucukta da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde daha fazla yara iyileşmesi gözlenmiştir (312). Aftadur® diş jelinin diğer hyaluronik asit içerikli diş jeli olan Aftamed®’den farklı olarak içeriğindeki önemli bir diğer bileşen aloe veradır. Aloe vera, yara ve yanıkların tedavisinde uzun yıllardır kullanılmaktadır ve içeriği incelendiğinde yara iyileşmesini stimüle eden pek çok bileşenden oluştuğu görülmektedir (313). Aloe vera içeriğinde bulunan çinko, magnezyum, C vitamini, polisakkaritler, esansiyel yağ asitleri ve aminoasitler de yara iyileşme sürecini desteklemektedir (314-316). Yapılan çalışmalarda ratlarda oluşturulan cerrahi yaralar üzerine aloe vera jel uygulanmış ve aloe vera uygulanan ratlarda kontrol grubuna göre daha iyi yara iyileşmesi oluştuğu görülmüştür (317-319). Literatürdeki klinik çalışmalar incelendiğinde ise, diyabetik ayak ülseri olan, sezaryen yarası olan, kronik yarası olan, yanık lezyonu olan hastalara aloe vera jel kullanımı önerilmiş ve aloe vera kullanan gruplarda kontrol grubuna göre yara iyileşmesinin hızlandığı ve ülser yüzeylerinde daha fazla küçülme olduğu gözlenmiştir (320-325). Yapılan bir *in vitro* çalışmada ise, aloe vera içeriğindeki acemanan bileşiğinin gingival fibroblast hücrelerini uyarak tip 1 kolajen sentezi, vasküler endotelial büyüme faktörü ve keratinosit büyüme faktörü salgılanmasını

arttırdığı böylece yara iyileşmesini olumlu etkilediği bildirilmiştir (326). Erişilebilir literatürde Aftadur® dış jelinin yara iyileşmesi üzerine etkisi ile ilgili ise herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Aftadur® dış jeli içeriğinde pek çok yardımcı etken madde bulunmaktadır. Çalışmamızda HGF-1 hücrelerinde oluşturulan *in vitro* yara modelinde, diğer jellere kıyasla sayısal olarak daha iyi yara iyileşmesi sağlamanın nedeni hyaluronik asit ve aloe vera içeriğinin yanı sıra diğer yardımcı etken maddeler de olabilir. İlerleyen dönemlerde yapılacak çalışmalarda Aftadur® dış jeli içeriğindeki etken maddelerin izole şekilde çalışılması bu konuda daha aydınlatıcı rol oynayabilir.

Çalışmamızdaki preparatlardan 24. ve 48. saatte sayısal olarak en düşük yara iyileşme yüzdesi gösteren preparat ise Calgel® dış jelidir. Calgel® dış jeli içeriğinde lidokain hidroklorür, setilpiridinyum klorür ve alkol bulunmaktadır. Lidokain hidroklorürün yara iyileşmesine etkisi ile ilgili bazı çalışmalarda, lidokain uygulanan grupların kolajen üretiminin daha düşük olduğu, yaranın kopma dayanımının azaldığı, yara iyileşmesinin bozulduğu bildirilmiştir (327,328). Bazı çalışmalarda ise lidokain uygulamasının yara iyileşmesi üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı ve yara dayanımını etkilemediği bildirilmiştir (329,330). Bununla birlikte Fromm ve ark. (2015), setilpiridinyum klorürün antiseptik etkinliği nedeniyle kronik yaraların tedavisi için umut verici bir ajan olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir. Fakat aynı çalışmada, setilpiridinyum klorürün güçlü sitotoksik etkisi, değişken pH seviyesi, matriks metalloproteinaz gibi parçalayıcı enzimler üzerindeki etkisi gibi aktivitelerinin yara iyileşmesini azaltabileceği ya da sınırlayabileceği üzerinde durulmuştur (251). Calgel® dış jeli içeriğindeki etken maddelerden biri olan alkolün yara iyileşmesi üzerine etkisini değerlendiren çalışmalar incelendiğinde ise, alkolün yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı ve proliferasyon fazını negatif etkilediği ve endotel fonksiyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (331-333). Calgel® dış jelinin yara iyileşmesi üzerinde etkisi ile ilgili ise erişilebilir literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır.

Calgel® dış jelinden sonra 48. saatte sayısal olarak en düşük yara iyileşme yüzdesi ise kolin salisilat içerikli Dencol® jel-sprey preparatındadır. Literatürde kolin salisilatın yara iyileşmesi üzerine etkisi ile ilgili erişilebilir literatürdeki çalışmalar kısıtlıdır. Gelecek dönemde planlanacak çalışmalarda, kolin salisilat ve Dencol® jel-spreyin yara

iyileşmesi üzerindeki etkisinin araştırılması ile yara iyileşmesi üzerindeki mekanizmasının netleştirilmesi gerekmektedir.

Çalışmamızın bulgularına genel olarak bakıldığında doğal bir preparat olan çay ağacı yağı, çalışmamıza dahil edilen preparatlar arasında HGF-1 hücreleri üzerinde en yüksek sitotoksik etkiyi gösteren preparat olmuştur. Çalışmamıza dahil edilen diş jellerinde en sitotoksik olan diş jeli ise, Calgel® olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, Calgel® diş jelinin *in vitro* yara modelindeki etkisine bakıldığında da 24. ve 48. saatlerde sayısal olarak en düşük yara iyileşmesi gösteren preparat olduğu görülmüştür. Çalışmamızda *in vitro* yara modelinde hiçbir preparatın, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha fazla yara iyileşmesi sağlamadığı görülmektedir. Diş jelleri ile ilgili yapılan literatür incelemesinde, ölüme kadar gidebilen çeşitli yan etkileri içeren çok sayıda vaka raporuna ulaşılmıştır. Bu ürünlerin prospektüsleri incelendiğinde kullanılması gereken maksimum doz ve kullanım sırasında dikkat edilmesi gereken temel noktaların yer almadığı görülmektedir ve bu ürünlere reçetesiz olarak rahatlıkla ulaşılabilir. Reçetesiz olarak satılan bu ürünlerin kullanımı olası yan etkileri sebebiyle FDA tarafından da onaylanmamaktadır (334). Ayrıca, bu ürünler ebeveynler tarafından doz aşımına dikkat edilmeden kullanılmaktadır ve diş sürme dönemi semptomlarının devam ettiği iki yıl boyunca aylarca hatta yıllarca bu ürünler topikal olarak düzenli uygulanmaktadır (2). Bu nedenle hekimler diş sürme döneminde kullanılan bu ürünlerin kullanım şekli, dozları, içerikleri, olası yan etkileri ile ilgili bilinçlenmeli ve ebeveynlere de bu konuda yol gösterici olmalıdır. Dişlenme sürecinin doğal bir süreç olduğu göz önüne alınmalı ve hekimler bu süreci aktif olarak yönetmekten çok sürecin doğal seyrinde ilerlemesine izin vermelidir. Bu süreçte topikal uygulanan diş jelleri ve bitkisel yağların kullanımı yerine, diş etlerine masaj yapılması, soğutulmuş diş kaşıyıcıların ya da meyve sebzeler ile diş etlerinin kaşınması, sarılma terapisi ile bebeğin kendini güvende hissedebileceği ve rahatlayabileceği bir ortam yaratılması gibi yöntemler uygulanmasını tavsiye edilmektedir (10,91,103).

Çalışmamız diş jellerinin sitotoksitesisi ve *in vitro* yara iyileşmesi üzerine etkisinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Bu nedenle, çalışmamızın bulguları ilerleyen dönemlerde yapılacak çalışmalar için bir başlangıç noktası olabilir. Çalışmamızın sınırlı olduğu birkaç

konu bulunmaktadır. Çalışmamızda kullanılan preparatların sitotoksitesisi ve yara iyileşmesi üzerine etkisi HGF-1 hücreleri kullanılarak *in vitro* deney düzeneği ile test edilmiştir. *In vitro* test yöntemlerinin hücre üzerinde spesifik bir fonksiyonun değerlendirilmesi, kullanım testlerine göre toksik maddelerin daha hassas değerlendirilebilmesi, standardize edilmesinin kolay olması, hayvan deneyleri ve klinik testlere oranla daha basit ve ekonomik olması gibi çeşitli avantajları bulunmaktadır. Fakat *in vitro* testlerde hayvan deneyleri ve klinik çalışmalarda gözlenebilen doku cevabı gözlenememektedir ve her bir testte tek bir hücre test edilebilmektedir. Bunun yanı sıra, çalışmamızda HGF-1 hücreleri kullanılmıştır fakat, ağız ortamına uygulanan preparatlar çok sayıda hücre ile temasa geçmektedir ve yara iyileşmesinde çok sayıda hücre, sitokin yer almaktadır. Ayrıca, çalışmamızda kullanılan HGF-1 hücreleri sağlıklı hücrelerdir. Bu preparatlar ise ağız ortamında kullanılırken sıklıkla inflamasyon semptomları gözlenen doku üzerine uygulanmaktadır. İlerleyen dönemlerde yapılacak çalışmalarda, diş sürme döneminde kullanılan preparatların inflamatuvar sitokinler üzerindeki etkisi ve canlı dokular üzerindeki etkisinin *in vitro* ve *in vivo* testler ile incelenmesi bu konuyla ilgili daha net ifadelerin oluşmasını sağlayacaktır.

Çalışmamızda kullanılan preparatların sitotoksitesisinin değerlendirilmesi için HGF-1 hücreleri üzerine 24 saat uygulama yapılmış, yara iyileşmesi değerlendirilmesi için ise 24 ve 48 saatlik uygulamalar yapılmıştır. Fakat çalışmamızda kullanılan preparatların ağız içerisinde ne kadar süre kaldığı, ne kadar kısmının tükürük ile yıkanarak yutulduğu, ne kadar kısmının doku içerisine emilim gösterdiği veya ne kadarının ne kadar sürede vücut dışına atıldığı bilinmemektedir. Dolayısıyla bu ürünlerin farmakokinetik özellikleri üzerine detaylı çalışmalar yapılması, özellikle küçük yaştaki çocuklarda bilinçsiz kullanımında yol gösterici olacaktır. Ayrıca, çalışmamızda farklı viskozitedeki ve formdaki preparatlar arasında standardizasyon sağlamak amacıyla tüm preparatlar için hücrelerin %50'sinde ölüme neden olan, %50'sinin canlı kalmasını sağlayan LD50 dozu hesaplanmış, sitotoksite değerlendirmesi bu değer üzerinden yapılmış ve *in vitro* yara modelinde de hücreler üzerine preparatların LD50 değerini veren dozu uygulanmıştır. Bu nedenle preparatlar ile ilgili elde edilen bulgular kendi arasında kıyaslanmıştır. İleri dönemde yapılacak çalışmalarda bu preparatların mol/molarite değerleri, içeriğindeki maddelerin kimyasal analizi yapılarak doz hesaplaması yapıp, preparatların hesaplanan

dozlar üzerinden değerlendirilmesi ile daha net sonuçlar elde edilebileceği düşüncesine varılmıştır. Çalışmamızda kullanılan preparatların içeriğindeki maddelerin tam formülasyonları, kullanım oranları bilinmemektedir. Bu nedenle çalışmamızda preparatlar değerlendirilirken, firmaların verdiği içerik listesi üzerinden hareket edilmiştir. İlerleyen dönemlerde yapılacak çalışmalarda preparatların içeriğindeki maddelerin oranı, kimyasal formülasyonları öğrenilerek bu maddeler izole şekilde incelenebilir. Çalışmamızda kullanılan çay ağacı yağı seçilirken ise, Uluslararası Standardizasyon rgt'nün şartlarını sağlayacak şekilde seçilmesine dikkat edilmiştir. Fakat bitkisel ekstraktların içerikleri oldukça değişkendir ve sabit bileşimli bir ürün elde etmek son derece zordur. Bu durum çay ağacı yağı ile ilgili bulguların güvenilirliğini etkileyebilmektedir. Bu nedenle bitkisel içerikli ürünlerin test edileceği çalışmalarda ürünler görünüşte özdeş olsa bile, biyoaktif içeriklerinin birbirinden farklı olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda kullanılan preparatların LD50 değerleri arasında farklılık olduğu bulunmuş ve kullanılan preparatlar arasında LD50 değerleri arasında fark oluşmayacağını öngören birinci başlangıç hipotezimiz reddedilmiştir. Çalışmamıza dahil edilen preparatlar içerisinde HGF-1 hücreleri üzerinde en fazla sitotoksik etki yaratan preparat, çay ağacı yağı olarak bulunmuştur.

2. Çalışmamıza dahil edilen diş jelleri arasında ise, HGF-1 hücreleri üzerinde en fazla sitotoksik etki yaratan diş jeli Calgel® diş jeli, en az sitotoksik etki gösteren diş jeli Jack N' Jill® diş jeli olarak bulunmuştur.

3. Çalışmamızda kullanılan preparatların 24. saat sonunda yara iyileşme yüzdeleri kontrol grubu ile kıyaslandığında, kullanılan preparatlar ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık bulunmazken, 48. saat sonuçlarında ise Calgel® diş jeli ve Dencol® jel spreyin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az yara iyileşmesine sebep olduğu bulunmuştur. Dolayısıyla, ikinci başlangıç hipotezimiz 24. saat sonundaki sonuçlar için kabul edilmiş, 48. saat sonundaki sonuçlar için ise reddedilmiştir.

4. Preparatlar kendi arasında karşılaştırıldığında ise, yapılan *in vitro* yara modeli testinin 24. saat sonuçlarında sayısal olarak en fazla yara iyileşme yüzdesi gösteren preparat çay ağacı yağı, sayısal olarak en az yara iyileşme yüzdesi gösteren preparat ise Calgel® diş jeli olarak bulunmuştur.

5. *In vitro* yara iyileşme testinin 48. saat sonuçları incelendiğinde ise sayısal olarak en fazla yara iyileşme yüzdesi gösteren preparat Aftadur® diş jeliyken, sayısal olarak en düşük yara iyileşme yüzdesi gösteren preparat ise 24. saat bulgularına benzer olarak Calgel® diş jeli olarak bulunmuştur.

6. Çalışmamızda kullanılan ürünlerin tam kimyasal formülasyonlarının ve kullanım dozlarının bilinmemesi, tek bir hücre üzerinde ve sağlıklı hücrelerde çalışılması bu nedenle kullanılan preparatların ağız ortamındaki çeşitli hücreler üzerindeki etkilerin incelenememesi ve doku cevabının gözlemlenememesi, kullanılan preparatların ağızda

kalma süresinin net olarak bilinmemesi gibi çalışmamızın bazı limitasyonları bulunmaktadır. Çalışmamızın limitasyonlarına rağmen, literatürdeki çalışma sayısı sınırlı olan bu konu hakkında ilerideki yapılacak çalışmalar için bir basamak oluşturacağını ve bu ürünlerin bilinçsiz kullanımı nedeniyle oluşabilecek olası sitotoksik etkileri hakkında fikir oluşturacağını düşünmekteyiz.

7. Diş sürme döneminde kullanılan preparatların kullanım şekli, kullanım dozu, içerikleri ve kullanımı sonucunda oluşabilecek yan etkiler konusunda sağlık çalışanlarının bilinçlenmesi ve ebeveynlere bu konuda yol göstermesi, reçetesiz ulaşılabilen bu ürünlerin bilinçsiz kullanımının önüne geçilmesi açısından oldukça önemlidir. Dişlenme sürecinin fizyolojik bir süreç olduğu göz önüne alınarak, bu sürecin farmakolojik olarak çeşitli ürünlerle tedavisinden önce, daha konservatif olan soğuk uygulanması veya sarılma terapisi gibi non-farmakolojik yöntemler ile yönetilmesi tavsiye edilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Marks S, Schroeder H. Tooth eruption: Theories and facts. *Anat Rec* 1996; 245(2): 374–93.
2. Wake M, Hesketh K, Allen MA. Parent beliefs about infant teething: A survey of Australian parents. *J Paediatr Child Health* 1999; 35(5): 446–9.
3. Calcagno E, Barattini R. A therapeutic approach to paediatric oral disorders. *Minerva Pediatr* 2018;70(2):175-181.
4. Alcântara C, Castro M, Noronha M, Martins-Junior P, Mendes R, Caliarì M, et al. Hyaluronic acid accelerates bone repair in human dental sockets: a randomized triple-blind clinical trial. *Braz Oral Res* 2018; 32:1–10.
5. Ni J, Shu R, Li C. Efficacy evaluation of hyaluronic acid gel for the restoration of gingival interdental papilla defects. *J Oral Maxillofac Surg* 2019; 77(12): 2467–74.
6. Wilson C. The trouble with teething misdiagnosis and misuse of topical medicament. *J Paediatr Dent* 2002; 12: 215–8.
7. Monaghan N. Teething products may be harmful to health. *Br Dent J* 2019; 227(6): 485–7.
8. Rosu S, Montanaro F, Rosu A, Oancea R. Multicentre Study on the Efficacy and Tolerability of a Non-Medicated Patented Gel for the Relief of Teething Symptoms in Infants. *Ital J Dent Med* 2017; (10): 45–54.
9. Tsang A. Teething, teething pain and teething remedies. *Int Dent SA* 2010; 12(5): 48–61.
10. Sood S, Sood M. Teething : Myths and Facts. *J Clin Pediatr Dent* 2010; 35(1): 9–14.
11. Barnes D. A reference manual of growth and development. *Arch Dis Childh* 1980; 55(5): 416.
12. Gökcek M, Bodrumlu E. Diş sürmesi. *7tepe Klin.* 2016; 12(3): 35–44.
13. Kettunen P, Spencer B, Furmanek T, Kvinnsland I, Dickson C, Thesslef I, et al. Fgfr2b mediated epithelial mesenchymal interactions coordinate tooth morphogenesis and dental trigeminal axon patterning. *Mech Dev* 2007; 124(11–12): 868–83.
14. Wang P. Tooth eruption without roots. *J Dent Res* 2013; 92(3): 212–4.
15. Kumar G. Orban's Oral Histology and Embryology (13th ed) Elsevier Press, St. Louis; 1944.
16. Carlson H. Studies of the human jaws and teeth during the first year of life. *Z Anat Entwicklungs* 1944; 42(1): 78–91.
17. Toto P. Eruption of teeth through the oral mucosa. *Periodontics* 1966; 4: 29–32.
18. Katona T. Mechanism of noncontinuous supraosseous tooth eruption. *Ant J Orthod Dentofacial Orthop* 2011; 3(120): 263–71.

19. Kalk W, Batenburg RH. Dentin dysplasia type I: five cases within one family. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; (86): 175–8.
20. Nirmala SV, Sivakumar N. Dentin dysplasia type I with pyogenic granuloma in a 12-year-old girl. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2009; (27): 131–4.
21. Brin I, Zilberman Y, Galili FA. Eruption of rootless teeth in congenital renal disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985; (60): 61–4.
22. Carl W. Effects of radiation on the developing dentition and supporting bone. *J Am Dent Assoc* 1980; (101): 646–8.
23. Cahill D. Tooth eruption: evidence for the central role of the dental follicle. *J Oral Pathol* 1980; (9): 189–200.
24. Cahill D. Eruption pathway formation in the presence of experimental tooth impaction in puppies. *Anat Rec* 1969; 164(1): 67–77.
25. Berkovitz B. Unimpeded eruption in the root-resected lower incisor of the rat with a preliminary note on root transection. *Arch Oral Biol* 1969; 14: 771–80.
26. Moxham BJ. The effects of root transection on the unimpeded eruption rate of the rabbit mandibular incisor. *Arch Oral Biol* 1974; 19: 903–9.
27. Wise GE, King GJ. Mechanisms of tooth eruption and orthodontic tooth movement. *J Dent Res* 2008; 87(5): 414–34.
28. Cahill D. Chronology and histology of exfoliation and eruption of mandibular premolars in dogs. *J Morphol* 1982; 171: 213–8.
29. Arthur K. An Inquiry Into The Nature of The Skeletal Changes In Acromegaly. *Lancet* 1911; 17: 993–1002.
30. Wise GE, Frazier Bowers S. Cellular, Molecular, and Genetic Determinants Of Tooth Eruption. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(4): 323–34.
31. Marks SC. Experimental study in the dog of the nonactive role of the tooth in the eruptive process. *Arch Oral Bio* 1984; 29: 311–22.
32. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the newborn animal. *J Biol Chem* 1962; 237: 1555–62.
33. Tam J. Physiological effects of transforming growth factor in the newborn mouse. *Science* 1985; 229: 673–5.
34. Mann GB, Fowler KJ, Gabriel A, Nice EC, Williams RL DA. Mice with a null mutation of the TGF α gene have abnormal skin architecture, wavy hair, and curly whiskers and often develop corneal inflammation. *Cell* 1993; 73: 249–61.
35. Cielinski MJ, Jolie M, Wise G, Ando D MS. Colony-stimulating factor-1 (CSF-1) is a potent stimulator of tooth eruption in the rat. *EBSCO* 1994; 84(9): 429–36.
36. Wise GE. Regional differences of expression of bone morphogenetic protein-2 and RANKL in the rat dental follicle. *Eur J Oral Sci* 2006; 114: 512–4.
37. Liu D, Yao WG. Regulation of SFRP-1 expression in the rat dental follicle. *Connect*

Tissue Res 2012; 53: 366–72.

38. Hoath SB. Treatment of the neonatal rat with epidermal growth factor: differences in time and organ response. *Pediatr Res* 1986; 20: 468–72.
39. Lin F, Wise G. Effect of epidermal growth factor on expression of transforming growth factor-B1 mRNA in stellate reticulum cells of rat mandibular molars. *Dev Dyn* 1993; 198(1): 22–7.
40. Tam JP. Physiological effects of transforming growth factor in the newborn mouse. *Science* 1985; 229: 673–5.
41. Todaro GJ, Fryling C. Transforming growth factor produced by certain human tumor cells: polypeptides that interact with epidermal growth factor receptors. *Proc Natl Acad Sci* 1980; 77: 5258–62.
42. Brachmann R, Lindquist PB, Nagashima M, Kohr W, Lipari T, Napier M, et al. Transmembrane TGF α precursors activate EGF/TGF α receptors. *Cell* 1989; 56: 691–700.
43. Wong ST, Winchell LF, McCune BK, Earp HS, Teixidó J, Massagué J, et al. The TGF- α precursor expressed on the cell surface binds to the EGF receptor on adjacent cells leading to signal transduction. *Cell* 1989; 56: 495–506.
44. Felix R, Cecchini MG. Macrophage colony stimulating factor restores in vivo bone resorption in the osteopetrotic mouse. *Endocrinology* 1990; 127: 2592–4.
45. Wiktor W, Bartocci A, Ferrante A, Ahmed-Ansari A, Sell KW, Pollard JW, et al. Total absence of colony stimulating factor 1 in the macrophage-deficient osteopetrotic mouse. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 4828–38.
46. Yoshida H, Hayashi S, Kunisada T, Ogawa M, Nishikawa S, Okumura H, et al. The murine mutation osteopetrosis is in the coding region of the macrophage colony stimulating factor gene. *Nature* 1990; 345: 442–3.
47. Dobbins DE, Sood R, Hashiramoto A, Hansen CT, Wilder RL. Mutation of macrophage colony stimulating factor (Csf1) causes osteopetrosis in the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 294: 1114–20.
48. Van Wesenbeeck L, Odgren PR, MacKay CA, D'Angelo M, Safadi PS. The osteopetrotic mutation toothless is a loss-of-function frameshift mutation in the rat Csf1 gene: evidence of a crucial role for CSF-1 in osteoclastogenesis and endochondral ossification. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99: 14303–8.
49. Ikeda T, Kasai M, Utsuyama M HK. Determination of three isoforms of the receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and their differential expression in bone and thymus. *Endocrinology* 2001; 142: 1419–26.
50. Que BG. Colony-stimulating factor-1 and monocyte chemotactic protein-1 chemotaxis for monocytes in the rat dental follicle. *Arch Oral Biol* 1997; 42: 855–60.
51. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph node organogenesis. *Nature* 1999; 397: 315–23.

52. Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997; 89: 747–54.
53. Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, et al. Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* 1997; 89: 755–64.
54. Souza RN, Aberg T, Gaikwad J, Cavender A, Owen M, Karsenty G, et al. *Cbfa1* is required for epithelial mesenchymal interactions regulating tooth development in mice. *Development* 1999; 126: 2911–20.
55. Bronckers AL, Engelse MA, Cavender A, Gaikwad J. Cell-specific patterns of *Cbfa1* mRNA and protein expression in postnatal murine dental tissues. *Mech Dev* 2001; 101: 255–8.
56. Kjær I, Kocsis G, Nodal M. Aetiological aspects of mandibular tooth agenesis-focusing on the role of nerve, oral mucosa, and supporting tissues. *Eur J Orthod* 1994; 16: 371–5.
57. Kjær I. The human periodontal membrane focusing on the spatial interrelation between the epithelial layer of Malassez fibers and innervation. *Acta Odontol Scand* 2009; 67: 134–8.
58. Wise GE, Grier RL, Lumpkin SJ. Effects of dexamethasone on tooth eruption in rats: differences in incisor and molar eruption. *Clin Anat* 2001; 14: 204–9.
59. Cahill D. Histological changes in the bony crypt and gubernacular canal of erupting permanent premolars during deciduous premolar exfoliation in beagles. *J Dent Res* 1974; 53: 786–91.
60. Marks SC. Pathogenesis of osteopetrosis in the rat: Reduced bone resorption due to reduced osteoclast function. *Am J Anat* 1973; 138: 165–89.
61. Marks SC. Tooth eruption and bone resorption: experimental investigation of the rat (osteopetrotic) rat as a model for studying their relationships. *J Oral Pathol* 1976; 5: 149–63.
62. Wise GE, Yao S. Bone formation as a potential motive force of tooth eruption in the rat molar. *Clin Anat* 2007; 20: 632–9.
63. Marks SC. Regional control by the dental follicle of alterations in alveolar bone metabolism during tooth eruption. *J Oral Pathol* 1987; 16: 164–9.
64. Yao S, Pan F, Wise GE. Chronological gene expression of parathyroid hormone related protein (PTHrP) in the stellate reticulum of the rat: implications for tooth eruption. *Arch Oral Biol* 2007; 52(3): 228–32.
65. Pinkham JR, Casamassimo PS. Hamileliğin Başından 3 Yaşa Kadar. Çocuk Diş Hekimliği Bebeklikten Ergenliğe. (4nd ed), Atlas kitapçılık, 2009: 193.
66. Parner E, Heidmann JM, Kjær I, Væth M. Biological interpretation of the correlation of emergence times of permanent teeth. *J Dent Res* 2002; 81(7): 451–454.
67. Haavikko K. The formation and the alveolar and clinical eruption of the permanent

- teeth. *Suom Hammaslak Toim* 1970; 66(3): 103–70.
68. Björk A, Skieller V. Normal and abnormal growth of the mandible. A synthesis of longitudinal cephalometric implant studies over a period of 25 years. *Eur J Orthod* 1983; 5(1): 1–46.
 69. Helmand BS. Timing of permanent to other emergence in Danish children. *Community Dent Oral Epidemiol* 1974; 2(3): 122–9.
 70. Svanholt IK. Developmental stages of permanent canines, premolars and 2nd molars in 244 Danish children. *Acta Odontol Scand* 2008; 66(6): 342–50.
 71. Bill Bynum. Discarded diagnoses: the teeth. *Lancet* 2000; 356(10): 1280.
 72. Ashley MP. It's only teething. A report of the myths and modern approaches to teething. *Br Dent J* 2001; 191: 4–8.
 73. Registrar G. Deaths from teething, 74th annual report. HM Stationery Office, 1911; 39.
 74. Tasanen A. General and local effects of the eruption of deciduous teeth. *Ann Paediatr Fenn* 1968; 14(29): 1–40.
 75. Illingworth RS. *The Normal Child* (6nd ed), Elsevier, Scotland; 1975: 17.
 76. Elbur AI, Yousif MA, Albarraq AA, Abdallah MA. Parental knowledge and practices on infant teething Taif, Saudi Arabia. *BMC Res Notes* 2015; 8(1): 4–9.
 77. Kakatkar G, Nagarajappa R, Bhat N, Prasad V, Sharda A, Asawa K. Parental beliefs about children's teething in Udaipur, India: A preliminary study. *Braz Oral Res* 2012; 26(2): 151–7.
 78. Baykan Z, Sahin F, Beyazova U, Özçakar B, Baykan A. Experience of Turkish parents about their infants' teething. *Child Care Health Dev* 2004; 30(4): 331–6.
 79. Kumar S, Tadakamadla J, Idris A, Busaily I, Allbrahim A. Knowledge of teething and prevalence of teething myths in mothers of Saudi Arabia. *J Clin Pediatr Dent* 2016; 40(1): 44–8.
 80. Owais AI, Zawaideh F, Bataineh O. Challenging parents' myths regarding their children's teething. *Int J Dent Hyg* 2010; 8(1): 28–34.
 81. King DL, Steinhauer W, García-Godoy F. Herpetic gingivostomatitis and teething difficulty in infants. *Pediatr Dent* 1992; 14(2): 82–5.
 82. Arend, W, Leung DY. IgG induction of IL-1 receptor antagonist production by human monocytes. *Immunol Rev* 1994; 139: 71–8.
 83. Shapira J, Berenstein-Ajzman G, Engelhard D, Cahan S, Kalickman I. Cytokine levels in gingival crevicular fluid of erupting primary teeth correlated with systemic disturbances accompanying teething. *Pediatr Dent* 2003; 25(5): 441–8.
 84. Memarpour M, Soltanimehr E, Eskandarian T. Signs and symptoms associated with primary tooth eruption: a clinical trial of nonpharmacological remedies. *BMC Oral Health* 2015; 15(1): 1–8.
 85. Karjiker I. Teething symptoms and management during infancy-A narrative

- review. *S Afr Dent J* 2020; 75: 87–93.
86. Macknin ML, Piedmonte M, Jacobs J, Skibinski C. Symptoms associated with infant teething: A prospective study. *Pediatrics* 2000; 105(4 I): 747–52.
 87. Wake M, Hesketh K, Lucas J. Teething and tooth eruption in infants: A cohort study. *Pediatrics* 2000; 106(6): 1374–9.
 88. Olczak-Kowalczyk D, Turska-Szybka A, Gozdowski D, Boguszezewska H, Krasuska-Sławińska E, Sobiech P, et al Longitudinal study of symptoms associated with teething: Prevalence and mothers' practices. *Pediatr Pol* 2016; 91(6): 533–40.
 89. Jaber L, Cohen IJ. Fever associated with teething. *Arch Dis Child* 1992; 67: 223–34.
 90. Feldens A, Faraco M, Ottoni B, Feldens G. Teething symptoms in the first year of life and associated factors: a cohort study. *J Clin Pediatr Dent* 2010; 34: 201–6.
 91. Seward MH. The effectiveness of a teething solution in infants: a clinical study. *Br Dent J* 1969; 127: 457–61.
 92. Aliyu İ, Adewale A. Teething myths among nursing mothers in North-Western Nigeria. *Med J DY Patil* 2015; 8: 144–8.
 93. Zakirulla M, Allahbaksh M. Teething trouble and its management in children. *Int J Dent Clin* 2011; 3(2): 75–7.
 94. McIntyre G. Teething troubles? *Br Dent J* 2002; 192(5): 251–5.
 95. Plutzer K, Spencer A. How first-time mothers perceive and deal with teething symptoms: a randomized controlled trial. *Child Care Heal Dev* 2012; 38(2): 292–9.
 96. Ramos J, Pordeus IA, Paiva SM. Prospective longitudinal study of signs and symptoms associated with primary tooth eruption. *Pediatrics* 2011; 128(3): 471–6.
 97. Theobald J. The young wife's guide in the management of her children. *Med Sci Technol* 1972; 50: 298.
 98. Kahya E. İbn-i Sina'da Çocuk Psikiyatrisine Bir Bakış. *Türk Tıp Etiği ve Tıp Hukuku Araştırmaları Yıllığı*. 2013; 135–41.
 99. Sigerist H. Ambroise Paré. In: *Great Doctors*. (1 rd ed), Allen & Unwin, London, 1933. 130–137 p.
 100. Hurlock J. *Practical treatise upon dentition; or the breeding of teething children*. (1 rd ed), Rivington & Austen, London, 1742.
 101. Sandy JR. Tooth eruption and orthodontic movement. *Br Dent J* 1992; 172(2): 141.
 102. American Academy of Pediatric Dentistry Clinical Affairs Committee. "Guideline on Infant Oral Health Care", AAPD, 1986, U.S.A, 2009: 2.
 103. Markman L. Teething: facts and fiction. *Pediatr Rev* 2009; 30(8): 59–64.
 104. Ekins-Daukes S, Helms PJ, Taylor MW, Simpson CR. Paediatric homoeopathy in general practice: where, when and why? *Br J Clin Pharmacol* 2005; 59(6): 743–9.

105. Vural H. Ağız ve diş sağlığında kullanılan bitkiler üzerinde farmakognozik çalışmalar, Bitirme tezi, Erciyes üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 2014: 33.
106. Pawar VC. In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. *Mycoses* 2006; 49: 316–23.
107. Prashar A, Locke IC. Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. *Cell Prolif* 2006; 39: 241–8.
108. Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar T, Kahla-Nakbi AB, Rouabhia M, Mahdouani K, et al. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytother Res* 2007; 21: 501–6.
109. Friedman M, Henika PR. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *J Food Prot* 2002; 65: 1545–1560.
110. Chami F, Chami N, Bennis S, Bouchikhi T. Oregano and clove essential oils induce surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytother Res* 2005; 19: 405– 408.
111. Cai L. Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *J Nat Prod* 1996; 59: 987–990.
112. Prashar A, Locke I, Evans S. Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. *Cell Proliferation* 2006; 39(4): 241-248.
113. Nejad S, Özgüneş H, Başaran N. Pharmacological and toxicological properties of eugenol. *Turkish J Pharm Sci* 2017; 14(2): 201.
114. Çakır N, Kaleağası S. Tea Tree Oil: As A Promising Antimicrobial Agent. *J Fac Pharm Ankara Univ* 2005; 34(4): 315–27.
115. Hacıoğlu Ş, Başkan E, Tunalı Ş, Sarıcaoğlu H. Kozmetiklere bağlı kontakt dermatit şüpheli olgularda standart ve kozmetik seri yama testi sonuçları. *Türkderm* 2009; 44: 193–9.
116. Sailer R, Berger T, Reichling J. Pharmaceutical and medicinal aspects of Australian tea tree oil. *Phytomedicine* 1998; 5(6): 489–95.
117. Çalık A. Sağlık Bağlamında Edebiyat Sanat ve Tarih (1 rd ed), Rating Academy Yayınları, Türkiye, 2020: 75.
118. Bogdasarov MA. Mineralogy of fossil resins in northern Eurasia. *Geol Ore Depos* 2007; 47: 630–7.
119. Tonidandel L, Ragazzi E. Mass spectrometry in the characterization of ambers. II. Free succinic acid in fossil resins of different origin. *Rapid Commun* 2009; 23: 403–8.
120. Güçyetmez Topal B, Falay B. Hekimler diş sürme dönemi semptomları için kehribar takı kullanımını tavsiye ediyor mu? *Güncel Pediatr* 2020; 18(1): 63–73.
121. Cox C, Petrie N. Infant strangulation from an amber teething necklace. *CJEM* 2017; 19: 400–3.

122. Machet P, Lanotte P, Giraudeau B, Leperlier M, Tavernier E. Amber necklaces: reasons for use and awareness of risk associated with bacterial colonisation. *Eur J Dermatol* 2016; 26: 580–5.
123. Soudek L. Fad over fatality? The hazards of amber teething necklaces. *J Paediatr Child* 2018; 23: 106–10.
124. Honig PJ. Are today's pediatricians using yesterday's notions? *J Pediatr* 1975; 87(3): 415–7.
125. Wake M. Teething symptoms: cross sectional survey of five groups of child health professionals. *BMJ* 2002; 325(7368): 814.
126. Arana A, Morton N. Treatment with paracetamol in infants. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001; 45(1): 20–9.
127. McQuay H. Wall and Melzack's textbook of pain (5rd ed), Elsevier, London, 2006: 471–80.
128. Cranswick N. Paracetamol efficacy and safety in children: the first 40 years. *Am J Ther* 2000; 7: 135–41.
129. Hamalainen ML, Hoppu K, Valkeila E. Ibuprofen or acetaminophen for the acute treatment of migraine in children: a double-blind, randomized, placebo-controlled, crossover study. *Neurology* 1997; 48(1): 103–7.
130. Tripathi KD. Non steroidal anti inflammatory drugs and anti pyretic analgesics. In: *Essentials of medical pharmacology*. Natural Science 2003; 6(2): 176.
131. Maunuksela E. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in pediatric pain management (2 rd ed), Williams and Wilkins, Philadelphia, 2003: 171–80.
132. Wahbi AA, Hassan E, Hamdy D, Khamis E. Spectrophotometric methods for the determination of Ibuprofen in tablets. *Pak J Pharm Sci* 2005; 18(4): 1–6.
133. Titchen T, Cranswick N. Adverse drug reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs, COX-2 inhibitors, and paracetamol in a paediatric hospital. *Br J Clin Pharmacol* 2005; 59: 718–23.
134. Tsokos M, Schmoldt A. Contribution of non steroidal anti inflammatory drugs to death associated with peptic ulcer disease:a prospective toxicological analysis of autopsy blood samples. *Arch Pathol Med* 2001; 125(12): 1572–4.
135. Wagner W, Khanna P. Basic and Clinical Pharmacology (9 rd ed), Lange, London, 2004: 585.
136. Lloyd S. Teething in babies: separating fact from fiction. *Prof Care Mother Child* 1996; 6(6): 155–6.
137. Mason L, Moore RA, Edwards JE, McQuay HJ, Derry S WP. Systematic review of efficacy of topical rubefacients containing salicylates for the treatment of acute and chronic pain. *BMJ* 2004; 328(7446): 995–1000.
138. Schechter NL. Pain in Infants, Children and Adolescents (2 rd ed), Williams and Wilkins, Philadelphia, 2003: 693–706.

139. Bölükbaş N, Erbil N, Altunbaş N. Traditional practices about child care of the mothers who owner 0-12 month baby. *J Hum Sci* 2009;6(1): 164-176.
140. Uğurlu E, Kalkim A, Sağkal T. 0-1 Yaş Arası Bebeklerde Sık Karşılaşılan Ağrı Durumları ve Ailelerin Yaklaşımları. *Fırat Tıp Derg* 2014; 19(1): 25–30.
141. El-Gilany AH, Abusaad F. Mothers' teething beliefs and treatment practices in Mansoura, Egypt. *Saudi Dent J* 2017; 29(4): 144–8.
142. Almaz M. Annelerin Süt Dişlenme ile İlgili Bilgi Deneyimlerinin Değerlendirilmesi. *Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg* 2018; 20(3): 306–12.
143. Adimorah GN, Ubesie AC, Chinawa JM. Mothers' beliefs about infant teething in Enugu, South-east Nigeria: A cross sectional study. *BMC Res Notes* 2011; 4(2): 0–4.
144. De Castro AM, De Oliveira FS, De Melo Abrão L, De Paiva Novaes MS, Prado T. Perception of parents of children with and without disabilities about teething disturbances and practices adopted. *Brazilian J Oral Sci* 2013; 12(2): 76–9.
145. Alshukairi H, Otaibi F, Garni R, Rushidan K, Ameri N, Arajah M, Alkhalid R. Knowledge of the teething process and assessment of the relieving practices amongst mothers in Riyadh, Saudi Arabia. *J Adv Med Dent Sci Res* 2020; 8(6): 62–65.
146. Yousif MK. Mothers' false beliefs and myths associated with Teething. *Qatar Med J* 2020; 2020(2): 1–6.
147. Ahmed M, Hassan I. Misconceptions and traditional practices toward infant teething symptoms among mothers in eastern Sudan: a cross-sectional study. *Brazilian J Oral Sci* 2021; 20: 1–9.
148. Erkut Z, Köse S. 4-36 ay arası bebeklerin diş çıkarma sürecinde yaşadıkları sorunlar ve annelerin yaptıkları uygulamalar. *DEUHEFED* 2021; 14(3): 232–9.
149. Casale M, Moffa A, Vella P, Sabatino L, Capuano F, Salvinelli B, et al. Hyaluronic acid: Perspectives in dentistry. A systematic review. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2016; 29(4): 572–82.
150. Balicer RD, Kitai E. Methemoglobinemia caused by topical teething preparation: a case report. *ScientificWorld Journal* 2004; 4(6): 517–20.
151. Teoh L, Moses GM. Are teething gels safe or even necessary for our children? A review of the safety, efficacy and use of topical lidocaine teething gels. *J Paediatr Child Health* 2020; 56(4): 502–5.
152. Balit CR, Lynch AM, Gilmore SP, Murray L, Isbister GK. Lidocaine and chlorhexidine toxicity in children resulting from mouth paint ingestion: A bottling problem. *J Paediatr Child Health* 2006; 42(6): 350–3.
153. Sakai R. Lidocaine ingestion. *J Dis Child Am J* 1980; 134(3): 323.
154. Garrettson L. Rapid onset of seizures following aspiration of viscous lidocaine. *J Toxicol Clin Toxicol* 1992; 30: 413–22.
155. Hess G. Seizures secondary to oral viscous lidocaine. *Ann Emerg Med* 1988; 17(7):

725–7.

156. Amitai Y, Whitesell L. Death following accidental lidocaine overdose in a child. *N Engl J Med* 1986; 314: 182–3.
157. Smith M, Wolfram W. Toxicity Seizures in an infant caused by oral viscous lidocaine use. *J Emerg Med* 1992; 10: 587–90.
158. Mofenson HC, Caraccio TR, Miller H. Lidocaine toxicity from topical mucosal application. With a review of the clinical pharmacology of lidocaine. *Clin Pediatr* 1983; 22: 190–2.
159. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-takes-action-against-use-otc-benzocaine-teething-products-due-serious-safety-risk-lack-benefit>. Erişim Tarihi: 10.2.22
160. Williams GD, Kirk EP, Wilson CJ, Meadows CA, Chan BS. Salicylate intoxication from teething gel in infancy. *Med J Aust* 2011; 194(3): 146–8.
161. Wataha JC. Biocompatibility of dental materials. *Sci Dent Mater* 1996; 2(2): 171–202.
162. Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Investig* 1997; 1(4): 154–62.
163. Polyzois GL. In vitro evaluation of dental materials. *Clin Mater* 1994; 16(1): 21–60.
164. Tuncer S. Dental Materyallerde Biyouyumluluk Değerlendirmeleri. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg* 2011; 21(2): 141–9.
165. Geurtsen W. Biocompatibility of root canal filling materials. *Aust Endod J* 2001; 27(1): 12–21.
166. Murray PE, García C. How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated. *Med Oral Patol* 2007; 12(3): 258–66.
167. Murray PE, Lumley PJ, Ross HF SA. Tooth slice organ culture for cytotoxicity assesment of dental materials. *Biomaterials* 2000; 21(16): 1711–21.
168. Sakaguchi RL. *Craig's Restorative Dental Materials* (13 rd ed), Elsevier, Portland, 2012.
169. International Organization for Standardization of Dentistry Biological evaluation of medical devices. "Tests for in vitro cytotoxicity", Germany, ISO 10993-5" 2009.
170. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials advantages and limitations. *J Dent* 1994; 22(2): 6–11.
171. Dahl JE. Toxicity of endodontic filling materials. *Endod Top* 2005; 12(1): 39–45.
172. Keleş A, Köseoğlu M, Çolak Topçu K. Farklı içerikli kök kanal patlarının sitotoksitelerinin in vitro olarak incelenmesi. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg* 2009; 19(2) :90–7.
173. Brackett MG, Marshall A, Lockwood PE, Lewis JB, Messer RLW, Bouillaguet S WJ. Cytotoxicity of endodontic materials over 6-weeks ex vivo. *Int Endod J* 2008;

- 41(12): 1072–8.
174. Schmalz G. Biocompatibility of Dental Materials (1 rd ed), Springer, Germany, 2009.
 175. Freshney RI. Culture of Animal Cells: a Manual Basic Technique (3 rd ed), Wiley-Liss, New York, 1994: 279-282.
 176. Pizzoferrato A, Ciapetti G, Stea S, Cenni E, Arciola CR. Cell Culture Methods for Testing Biocompatibility. Clin Mater 1994; 15(3): 173–90.
 177. International Organization for Standardization of Dentistry Biological evaluation of medical devices. "Tests for in vitro cytotoxicity", Germany, ISO 7405." 1996.
 178. International Standards Organization for Standardization of Dentistry Biological evaluation of medical devices. Biological evaluation of dental devices. ISO 10993-10. 1992.
 179. Yıldırım Z, Bakır E, Bakır Ş, Aydın M. Diş hekimliğinde biyouyumluluk ve değerlendirme yöntemleri. Sencuk Dent J 2017; 5(4): 162–9.
 180. Melo D, Maximiano W, Antunes W, Beloti A, Rosa L. Cytotoxicity testing of methyl and ethyl 2-cyanoacrylate using direct contact assay on osteoblast cell cultures. J Oral Maxillofac Surg 2013; 71(1): 35–41.
 181. Tang AT, Li J, Ekstrand Y. Cytotoxicity tests of in situ polymerized resins: methodological comparisons and introduction of a tissue culture insert as a testing device. J Biomed Mater Res 1999; 45(3): 214–22.
 182. Stanford JW. Recommended standard practices for cytotoxicity testing. FDI World Dental Federation in conjunction with International Standards Organization. Dent J 1980; 30:141-73.
 183. Schmalz G. The agar overlay method. Endod J 1988;21(2): 59–66.
 184. Goldberg M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. Clin Oral Invest 2008; 12(1): 1–8.
 185. Outhwaite WC, Mckenzie D. A versatile split-chamber device for studying dentin permeability. J Dent Res 1974; 53(6): 1503–4.
 186. Pashley DH. Consideration of dentine permeability in cytotoxicity testing. Endod J 1988; 21(2): 143-54.
 187. Schmalz G, Schuster U, Thonemann B, Barth M. Dentin barrier test with transfected bovine pulp-derived cells. J Endod 2001; 27(2): 96–102.
 188. Dufrane D, Cornu O, Verraes T. In vitro evaluation of acute cytotoxicity of human chemically treated allografts. Eur Cells Mater 2001; 1(1): 52-8.
 189. Ratanasathien S, Wataha JC, Hanks C. Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. J Dent Res 1995; 74(9): 1602-6.
 190. Ciapetti G, Grachi D, Verri E. A staining method for evaluating the cytotoxicity of medical implants. Biomater 1996; 17(13): 1259-64.
 191. Mohammadi Z. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics

- and dental traumatology. *Endod J* 2011; 44(8): 697-730.
192. Moharamzadeh K, Brook I. Biocompatibility of Resin-based Dental Materials. *Materials*. 2009; 2(2): 514-48.
 193. Ulreich JB. A quantitative microassay for in vitro toxicity testing of biomaterials. *J Biomat Res* 1981; 15(6): 912-22.
 194. Bouillaguet S, Degrange M, Cattani M, Godin C. Bonding to dentin achieved by general practitioners. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2002; 112(10): 1006-11.
 195. Koruyucu M, Birant S, Topçuoğlu N, Kulekci G. Investigation of the clinical and microbiological effects of different toothpastes: In-vivo study. *Cumhuriyet Dent J* 2020; 23(1): 22-31.
 196. Karagözoğlu Ş. Yara bakım ve uygulamaları, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul; 2010: 806-49.
 197. Ågren MS, Gottrup F. Models for use in wound healing research: A survey focusing on in vitro and in vivo adult soft tissue. *Wound Rep Reg* 2000; 8(2): 83-96.
 198. Dorset W. Rat models of skin wound skin healing: A review. *Wound Rep Reg* 2004; 12(6): 591-9.
 199. Şendir M, Büyükyılmaz F. Hemşirelik esasları: Hemşirelik bilimi ve sanatı, Akademi basın ve yayıncılık, İstanbul, 2012: 488-528.
 200. Trexler A. Assessment of surgical wounds in the home health patient. *Home Healthc Nurse* 2011; 29(9): 551-9.
 201. Parsak C, Sakman G. Yara İyileşmesi, Yara Bakımı ve Komplikasyonları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2007; 16(2): 145.
 202. Cahen IK, Diegelmann RF. Wound care and wound healing: Principles of Surgery (7rd ed), Schwartz, Australia, 1999: 263-95.
 203. Kelleher C, Ariyan S, Enriquez R, Krizek T. Wound Healing: Wound Contraction And Fibrocontractive Disorders. *Plast Reconstr Surg* 1979; 64(2): 285.
 204. Hardwicke J, Schmaljohann D, Boyce D. Epidermal Growth Factor Therapy and Wound Healing- Past, Present and Future Perspectives. *Surgeon* 2008; 6(3): 172-177.
 205. Yalçın H. Vücut hijyeninin önemi ve yara bakımında yeni gelişmeler, 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 20-24 Nisan 2005, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 287-308.
 206. Vuolo JC. Assessment and management of surgical wounds in clinical practice. *Nurs Stand* 2006; 20(52): 46-56.
 207. Doğan Ö, Aktaş Ş, Soley S, Aydın S, Olgaç V. Hiperbarik Oksijenin Çekim Yarası İyileşmesi Üzerine Etkisinin Deneysel Araştırılması. *JlUFD* 2013; 27(3): 187-191.
 208. Monaca JL, Lawrance W. Acute wound healing an overview. *Surgery* 2003; 30(1): 1-12.
 209. Rızalar S. Hemşirelerin Yara Bakım Uygulamaları. *DEUHFED* 2019; 12(3): 163-

169.

210. Broughton G, Janis J. The basic science of wound healing. *Plast Recons Surg* 2006; 117(7): 12–34.
211. Singh S, Young A. The physiology of wound healing. *Surgery* 2017; 35(9): 473-477.
212. Kutluay H, Köklü U, Çankal D. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler içerisinde beslenmenin yeri. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg* 2013; 7:135-141.
213. Rodríguez E. Surgical wound healing in bleeding disorders. *Haemophilia* 2012; 18(4): 1–4.
214. Minimas D. Ageing and its influence on wound healing. *Wounds* 2007; 3(1): 42–50.
215. Kean J. The effects of smoking on the wound healing process. *J Wound Care* 2010; 19(1): 5–8.
216. Pinto BI, Cruz ND, Lujan OR, Proper CR, Kellar RS. In Vitro Scratch Assay to Demonstrate Effects of Arsenic on Skin Cell Migration. *J Vis Exp* 2019; 144(2): 1–11.
217. Aliyu I, Peter I, Abubakar S, Asani M, Michael G, Ahmed A, et al. Teething myths among health workers in a tertiary health facility. *Med J Dr* 2018; 11(4): 291–5.
218. Banerjee S, Bagchi B, Pal K, Bhandary S, Kool A, Hoque N, et al. Essential oil impregnated luminescent hydroxyapatite: Antibacterial and cytotoxicity studies. *Mater Sci Eng* 2020;116(6): 1-10.
219. Halcón KM. Staphylococcus aureus and wounds: a review of tea tree oil as a promising antimicrobial. *J Infect Control* 2004; 32(7): 402-408.
220. Koh K, Pearce G, Marshman J. Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *Br J Dermatol* 2002; 147(6): 1212-1217.
221. Patel B, Chi J, Shah-Manek B, Lau B. What are pharmacists recommending for infant teething treatment?. *J Am Pharm Assoc* 2018; 58(1): 79-83.
222. Hanks C, Wataha Z. In vitro models of biocompatibility: a review. *Dent Mater* 1996; 12(3): 186-193.
223. Browne RM. The in vitro assessment of cytotoxicity of dental materials-does it have role? *Int Dent J* 1988; 21(2): 50-58.
224. Azar NG, Heidari M, Bahrami Z. In vitro cytotoxicity of a new epoxy resin root canal sealer. *J Endod* 2000; 26(8): 462-465.
225. Chang Y. Cytotoxicity of fluoride on human pulp cell cultures in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91(2): 230-4.
226. Cohen B, Pognillo M, Musikant B. An in vitro study of the cytotoxicity of two root canal sealers. *J Endod* 2000; 26(4): 228-229.
227. Eldeniz A, Mustafa K, Orstavik D. Cytotoxicity of new resin, calcium hydroxide and silicone based root canal sealers on fibroblasts derived from human gingiva

- and L929 cell lines. *Int Endod J* 2007; 40(5): 329-337.
228. Souza N, Justo G, Oliveira C, Haun M. Cytotoxicity of materials used in perforation repair tested using the V79 fibroblast cell line and the granulocyte macrophage progenitor cells. *Int Endod J* 2006; 39(1): 40–7.
 229. Miletic I, Jukic S, Anic I, Zeljezi D, Vrhovac V. Examination of cytotoxicity and mutagenity of AH26 and AH Plus sealers. *Int Endod J* 2003; 36(5): 330-335.
 230. Erkekoğlu P, Baytar T. Güncel İn Vitro Sitotoksiste Testleri. *Hacettepe Univ J Fac Pharm* 2021; 41(1): 45–63.
 231. Schweikl H, Schmalz G. Toxicity parameters for cytotoxicity testing of dental materials in two different mammalian cell lines. *Eur J Oral Sci* 1996; 104(3): 292–9.
 232. Issa Y, Watts D, Brunton P, Waters C. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dent Mater* 2004; 20(1): 12-20.
 233. Trevan JW. The error of determination of toxicity. *Proc R Soc B* 1927; 101(712): 483-514.
 234. Sanathanan L, Gade E, Shipkowitz N. Trimmed Logit Method for Estimating the ED50 in Quantal Bioassay. *Biometrics* 1987; 43: 835–832.
 235. Özdamar K. Biyolojik denemelerin değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 2014: 3-5.
 236. Carson C, Hammer K. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19(1): 50-62.
 237. Evren M. Uçucu yağların antimikrobiyel özellikleri. *Elektron Mikrobiyoloji Derg* 2011; 9(3): 28-40.
 238. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D. Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(2): 446-475.
 239. Ramage G, Milligan S, Lappin DF, Sherry L, Sweeney P, Williams C, et al. Antifungal, cytotoxic, and immunomodulatory properties of tea tree oil and its derivative components: potential role in management of oral candidosis in cancer patients. *Front Microbiol* 2012; 18(3): 220.
 240. Scientific Committee on Consumer Products, Opinion on Tea Tree Oil, SCCP, (2008); 1155: 08.
 241. Hart H, Brand C, Carson C, Riley V, Prager H. Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflamm Res* 2000; 49: 619-626.
 242. Xia L, Yuangang Z, Yujie F, Liping Y, Chengbo G, Wei W. Antimicrobial activity and cytotoxicity towards cancer cells of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Eur*

- Food Res Technol 2009; 229: 247-253.
243. Bhalla K, Gupta V. Anticancer activity of essential oils: a review. *J Sci Food Agric* 2013; 93(15): 3643–53.
 244. Söderberg TA, Johansson A, Gref R. Toxic effects of some conifer resin acids and tea tree oil on human epithelial and fibroblast cells. *Toxicology* 1996; 107(2): 99–109.
 245. Breu A, Eckl S, Zink W. Cytotoxicity of local anesthetics on human mesenchymal stem cells in vitro. *Arthroscopy* 2013; 29(10): 1676-84.
 246. Keck M, Zeyda M, Gollinger K, Burjak S, Kamolz P, Frey M, et al. Local anesthetics have a major impact on viability of preadipocytes and their differentiation into adipocytes. *Plast Reconstr Surg* 2010; 126(5):1500.
 247. Wu T, Shi Z, Song H, Li Y, Li JH. Cytotoxicity of local anesthetics on rabbit adipose-derived mesenchymal stem cells during early chondrogenic differentiation. *Exp Ther Med* 2018; 16(4): 2843–50.
 248. Rahnama R, Wang M, Dang AC, Kim H, Kuo A . Cytotoxicity of local anesthetics on human mesenchymal stem cells. *J Bone Jt Surg Am* 2013; 95(2): 132-7.
 249. Lucchinetti E, Awad AE, Rahman M. Antiproliferative effects of local anesthetics on mesenchymal stem cells: potential implications for tumor spreading and wound healing. *Anesthesiology* 2012; 116(4): 841-56.
 250. Aghazadeh Z, Falsafi P, Ghanizadeh M, Mardani Z, SarvCharandabi M, Aghazadeh M. Comparison of cytotoxicity of cetylpyridinium chloride with sodium hypochlorite, chlorhexidine and halita as an endodontic irrigant using MTT assay. *Avicenna J Dent Res* 2018; 10(4): 126–32.
 251. Fromm-Dornieden C, Rembe D, Schäfer N, Böhm J, Stuermer EK. Cetylpyridinium chloride and miramistin as antiseptic substances in chronic wound management—Prospects and limitations. *J Med Microbiol* 2015; 64(4): 407-414.
 252. Müller H, Eick S, Moritz A, Lussi A, Gruber R. Cytotoxicity and antimicrobial activity of oral rinses in vitro. *Biomed Res Int* 2017; 2017: 1-9.
 253. Larsen S, Verder G. Airway effects of inhaled quaternary ammonium compounds in mice. *Clin Pharmacol Toxicol* 2012; 110(6): 537–43.
 254. Calderon M, Jimenez J, Guillen E, Burgos E, Lopez M. A 30-s exposure to ethanol 20% is cytotoxic to human keratinocytes: possible mechanistic link between alcohol-containing mouthwashes and oral cancer. *Clinical Oral Investigations* 2018; 22(8): 2943-2946.
 255. Müller H, Eick S, Moritz A, Lussi A, Gruber R. Cytotoxicity and Antimicrobial Activity of Oral Rinses In Vitro. *Biomed Res Int* 2017; 2017(3): 1-7.
 256. Ülker M, Çelik T, Yavuz E, Kahvecioğlu F. Real-Time Analysis of Antiproliferative Effects of Mouthwashes Containing Alcohol, Sodium Fluoride, Cetylpyridinium Chloride, and Chlorhexidine In Vitro. *Biomed Res Int* 2021; 12(10): 1-8.

257. Whittaker P, Vanderveen JE, Dinovi MJ, Kuznesof V. Toxicological profile, current use, and regulatory issues on EDTA compounds for assessing use of sodium iron EDTA for food fortification. *Regul Toxicol Pharmacol* 1993; 18(3): 419-427.
258. Marins J, Sassone L, Fidel S, Ribeiro DA. In vitro genotoxicity and cytotoxicity in murine fibroblasts exposed to EDTA, NaOCl, MTAD and citric acid. *Braz Dent J* 2012; 23(5): 527–33.
259. Torneck C. Reaction of hamster tissue to drugs used in sterilization of the root canal. *Oral Surg Med Pathol* 1961; 14(6): 730-47.
260. Green S, Mazur A. Mechanism of the catalytic oxidation of adrenaline by ferritin. *J Biol Chem* 1956; 220(1): 237-255.
261. Sakabe I, Paul S, Dansithong W. Induction of apoptosis in Neuro-2A cells by Zn²⁺ chelating. *Cell Struct Funct* 1998; 23(2): 95-99.
262. Ivermark B. Renal damage in rats from the lead salt of EDTA and from umbradil. *Acta Radiol* 1957; 48(5): 366-375.
263. Cranton EM. Kidney effects of ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA): A literature review. *J Adv Med* 1989; 2: 227-233.
264. De Sousa SMG, Bramante CM, Taga EM. Biocompatibility of EDTA, EGTA and citric acid. *Braz Dent J* 2005; 16(1): 3–8.
265. Ogundele MO. Cytotoxicity of EDTA used in biological samples: Effect on some human breast-milk studies. *J Appl Toxicol* 1999; 19(6): 395–400.
266. Şentürk T. Non-Steroid Anti-İnflamatuvar İlaçlar (NSAİİ). *İç Hast Derg* 2014; 2: 490-5.
267. Wroblewska K, Kucinska M, Murias M, Lulek J. Characterization of new eye drops with choline salicylate and assessment of their irritancy by in vitro short time exposure tests. *Saudi Pharm J* 2015; 23(4): 407–12.
268. Wróblewska KB, Milanowski B, Kucińska M, Plewa S, Długaszewska J, Muszalska-Kolos I. Novel formulation of eye drops containing choline salicylate and hyaluronic acid: Stability, permeability, and cytotoxicity studies using alternative ex vivo and in vitro models. *Pharmaceuticals* 2021; 14(9): 849.
269. Trajanovska M, Manias E, Cranswick N, Johnston L. Use of over-the-counter medicines for young children in Australia. *J Paediatr Child Health* 2010; 46(1): 5–9.
270. Lim YC, Laxaman H, Mead R, Cameron EAB. Oral gel choline salicylate induced refractory gastric ulceration. *JRSM* 2014; 5(5): 1–3.
271. Salamon I. Chamomile, a medicinal plant. *Herb Spice Med Plant Dig* 1992; 10: 1-4.
272. Toloue M, Alinezhad S, Saberi R, Eslamifar A, Zad S, Jaiamand K, et al. Effect of *Matricaria chamomilla* L. flower essential oil on the growth and ultrastructure of *Aspergillus niger* van Tieghem. *Int J Food Microbiol* 2010; 139(3): 127-133.
273. Jarahi M. An experimental study of the effects of *Matricaria chamomilla* extract on

- cutaneous burn wound healing in albino rats. *Nad Prod Res* 2008; 22(5): 422-427.
274. Catani MV, Rinaldi F, Tullio V, Gasperi V, Savini I. Comparative analysis of phenolic composition of six commercially available chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) extracts: Potential biological implications. *Int J Mol Sci* 2021; 22(19): 2-18.
 275. Matic Z, Juranic Z, Savikin K, Zdunic G, Nadvinski N, Goddevac D. Chamomile and marigold tea: Chemical characterization and evaluation of anticancer activity. *Phyther Res* 2013; 27(6): 852-8.
 276. Loescher M, Morton W, Razic S, Agatonovic-Kustrin S. High performance thin layer chromatography (HPTLC) and high performance liquid chromatography (HPLC) for the qualitative and quantitative analysis of *Calendula officinalis* Advantages and limitations. *J Pharm Biomed Anal* 2014; 98(7): 52-59.
 277. Agatonovic S. Qualitative and quantitative high performance thin layer chromatography analysis of *calendula officinalis* using high resolution plate imaging and artificial neural network data modelling. *Anal Chim Acta* 2013; 798: 103-108.
 278. Kapan M. Yara iyileşmesinde lokal fenitoin (%1) ve üre (%10) uygulamasının etkilerinin karşılaştırılması. *Ankara Eğt Arş Hast Derg* 2006; 54(2): 341-351.
 279. Özer E. Hiperbarik Oksijen Tedavisi Uygulanan Diyabetik Ayak Yaralarında İyileşme ve Amputasyon Sonuçlarını Etkileyen Faktörler. *Muğla Sıtkı Kocaman Üniversitesi Tıp Dergisi* 2021; 8(1): 23-28.
 280. Keleş M. Düşük enerji seviyeli lazerin ratlarda yara iyileşmesi üzerine etkisinin histolojik ve deneysel incelenmesi, Doktora Tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Ankara, 2006.
 281. Wataha JC. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J Prosthet Dent* 2001; 86(2): 203-9.
 282. Edmondson M, Newall N, Carville K, Smith J, Riley T. Uncontrolled, open-label, pilot study of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil solution in the decolonisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* positive wounds and its influence on wound healing. *Int Wound J* 2011; 8(4): 375-384.
 283. Chin K. The effect of tea tree oil (*melaleuca alternifolia*) on wound healing using a dressing model. *J Altern Complement Med* 2013; 19: 942-945.
 284. Cooney D. Gas gangrene and osteomyelitis of the foot in a diabetic patient treated with tea tree oil. *Int J Emerg Med* 2011; 4(1): 1-4.
 285. Flores F, De Lima J, Silva C, Benvegnú D, Ferreira J. Hydrogels containing nanocapsules and nanoemulsions of tea tree oil provide antiedematogenic effect and improved skin wound healing. *J Nanosci Nanotechnol* 2015; 15(1): 800-809.
 286. Sürme Y. Diyabetik ratlarda çay ağacı yağının yara iyileşmesine etkisi, 3. Uluslararası Türk Cerrahi ve Ameliyathane Hemşireliği Kongresi, 3-6 Ekim 2019, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
 287. Pearce A, Finlay J. Reduction of nickel-induced contact hypersensitivity reactions

- by topical tea tree oil in humans. *Inflamm Res* 2005; 55(1): 22-30.
288. Baytop T. Therapy with medicinal plants in Turkey (past and present). Istanbul University Press 1984; 3(2): 348.
 289. Mazokopakis E, Vrentzos E, Papadakis J, Babalis D. Wild chamomile (*Matricaria recutita* L.) mouthwashes in methotrexate-induced oral mucositis. *Phytomedicine* 2005; 12(1): 25-7.
 290. Avallone R, Zanolli P, Puia G, Kleinschnitz M, Schreier P. Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolated from *Matricaria chamomilla*. *Biochem Pharmacol* 2000; 59(11): 1387-1394.
 291. Fidler P, Loprinzi CL, O'Fallon JR, Leitch JM, Lee JK, Hayes DL, Novotny P, Clemens-Schutjer D, Bartel J. Prospective evaluation of a chamomile mouthwash for prevention of 5-FU-induced oral mucositis. *Cancer* 1996; 77(3): 522-525.
 292. Mulinacci N, Romani A, Pinelli P, Vincieri F. Characterization of *Chamomilla recutita* flower extracts by HPLC-DAD analysis. *Chromatographia* 2000; 51(5): 301-307.
 293. Fronza M, Heinzmann B, Hamburger M, Laufer S, Merfort I. Determination of the wound healing effect of *Calendula* extracts using the scratch assay with 3T3 fibroblasts. *J Ethnopharmacol* 2009; 126(3): 463-7.
 294. Fonseca Y, Catini C, Vicentini F, Nomizo A, Gerlach R. Protective effect of *Calendula officinalis* extract against UVB-induced oxidative stress in skin: evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion. *J Ethnopharmacol* 2010; 127(3): 596-601.
 295. Chandran P. Effect of *Calendula officinalis* flower extract on acute phase proteins, antioxidant defense mechanism and granuloma formation during thermal burns. *J Clin Biochem Nutr* 2008; 43(2): 58-64.
 296. Buzzi M. Therapeutic effectiveness of a *Calendula officinalis* extract in venous leg ulcer healing. *J Wound Care* 2016; 25(12): 732-739.
 297. Pommier P, Gomez F, Sunyach MP, D'Hombres A, Carrie C. Phase III randomized trial of *Calendula officinalis* compared with trolamine for the prevention of acute dermatitis during irradiation for breast cancer. *J Clin Oncol* 2004; 4(15): 2.
 298. Sharp L, Finnilla K, Johansson H, Abrahamsson M, Hatschek T. No differences between *Calendula* cream and aqueous cream in the prevention of acute radiation skin reactions--results from a randomised blinded trial. *European journal of oncology nursing*. *J Eur Oncol Nurs Soc* 2013; 17(4): 429-435.
 299. Lievre M, Marichy J, Baux S, Foyatier JL, Perrot J. Controlled study of three ointments for the local management of 2nd and 3rd degree burns. *Clin Trials Meta-Analysis* 1992; 28(1): 9-12.
 300. Carvalho A, Feitosa M, Coelho N. Low-level laser therapy and *Calendula officinalis* in repairing diabetic foot ulcers. *Rev da Esc Enferm da USP* 2016; 50(4): 628-634.
 301. Aslan M, Simsek G. The effect of hyaluronic acid- supplemented bone graft in bone

- healing: experimental study in rabbits. *J Biomater Appl* 2006; 20(3): 209-220.
302. Stern M, Schmidt B, Dodson T, Stern R. Fetal cleft lip repair in rabbits: histology and role of hyaluronic acid. *J Oral Maxillofac Surg* 1992; 50(3): 263-8.
 303. Oryan A, Moshiri A, Meimandi Parizi A. Repeated administration of exogenous Sodium-hyaluronate improved tendon healing in an in vivo transection model. *J Tissue Viability* 2012; 21(3): 88-102.
 304. Tuncay I, Erkocak F, Acar M. The effect of hyaluronan combined with microfracture on the treatment of chondral defects: an experimental study in a rabbit model. *Eur J Orthop Surg Traumatol* 2013; 23(7): 753-758.
 305. Ho WT, Chiang TH, Chang SW, Chen YH, Hu F. Enhanced corneal wound healing with hyaluronic acid and high-potassium artificial tears. *Clin Exp Optom* 2013; 96(6): 536-541.
 306. Sabadotto M, Theunis J, Black D, Mengeaud V. In vivo assessment of the effect of a cream containing Avena Rhealba extract and hyaluronic acid on the restoration of the skin barrier in de-epidermised skin produced with an erbium-YAG laser. *Eur J Dermatol* 2014; 24(5): 583-8.
 307. Humbert P, Mikosinski J, Benchikhi H. Efficacy and safety of a gauze pad containing hyaluronic acid in treatment of leg ulcers of venous or mixed origin: a double-blind, randomised, controlled trial. *Int Wound J* 2013; 10(2): 159-166.
 308. Eick S, Renatus A, Heinicke M, Pfister W, Stratul S. Hyaluronic Acid as an adjunct after scaling and root planing: a prospective randomized clinical trial. *J Periodontol* 2013; 84(7): 941-949.
 309. Ateş A, Kinikli G, Turgay G. The efficacy of viscosupplementation therapy with sodium hyaluronate in patients with knee osteoarthritis. *Turk J Geriatr* 2004; 7(1): 21-24.
 310. Nyman E, Huss F, Nyman T, Junker J, Kratz G. Hyaluronic acid, an important factor in the wound healing properties of amniotic fluid: In vitro studies of re-epithelialisation in human skin wounds. *J Plast Surg Hand Surg* 2013; 47(2): 89-92.
 311. Law C, Li J, Chou H, Chen Y, Chan H. Hyaluronic acid-dependent protection in H9C2 cardiomyocytes: a cell model of heart ischemia-reperfusion injury and treatment. *Toxicology* 2013; 303(1): 54-71.
 312. Chen M, Li L, Wang Z, Li P, Feng F, Zheng X. High molecular weight hyaluronic acid regulates P. gingivalis-induced inflammation and migration in human gingival fibroblasts via MAPK and NF- κ B signaling pathway. *Arch Oral Biol* 2019; 98(2): 75-80.
 313. Emir F. Yara iyileşmesi ve Diyabetik Yara Tedavisinde Kullanılan Tıbbi Bitkiler. *J Heal Sci* 2015; 90(3): 185-192.
 314. Kumar A, Singh P, Prakash P. Efficacy of some indigenous drugs in tissue repairs in buffaloes. *Indian Vet J* 1993; 70: 42-44.
 315. Jia Y, Zhao G J. Preliminary evaluation: The effects of Aloe ferox Miller and Aloe

- arborescens Miller on wound healing. *J Ethnopharmacol* 2008; 120(2): 181-189.
316. Viswanathan V, Kesavan R. A pilot study on the effects of a polyherbal formulation cream on diabetic foot ulcers. *Indian J Med Res* 2011; 134(2): 168-173.
 317. Takzare N, Hosseini M, Hasanzadeh G, Mortazavi H, Takzare A. Influence of Aloe Vera gel on dermal wound healing process in rat. *Toxicol Mech Methods* 2009; 19(1): 73-7.
 318. Mendonça F, Passarini Junior J, Esquisatto A, Mendonça J, Franchini C. Effects of the application of Aloe vera and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. *Acta Cir Bras* 2009; 24(2): 150-5.
 319. Silvi D, Susanto C. Effect of Aloe vera Hydrogel Application on Increasing the Number of Fibroblasts in Socket Wounds Post-Tooth Extraction: An In Vivo Study. *Biosci Med J Biomed Transl Res* 2021; 6(2): 1347–52.
 320. Najafian Y, Khorasani Z, Najafi N, Hamed S, Mahjour M. Efficacy of Aloe vera/Plantago major gel in diabetic foot ulcer: A randomized double-blind clinical trial. *Curr Drug Discov Technol* 2019; 16(2): 223-231.
 321. Avijgan M, Alinaghian M. Aloe vera gel as a traditional and complementary method for chronic skin burn: A case report. *Adv Infect Dis* 2017; 7(1): 19-25.
 322. Avijgan M, Kamran A, Abedini A. Effectiveness of Aloe vera Gel in Chronic Ulcers in Comparison with Conventional Treatments. *Iran J Med Sci* 2016; 41(3): 30.
 323. Panahi Y. Comparative trial of Aloe vera/olive oil combination cream versus phenytoin cream in the treatment of chronic wounds. *J Wound Care* 2015; 24(10): 62-65.
 324. Molazem Z, Mohseni F, Younesi M. Aloe vera gel and cesarean wound healing: A randomized controlled clinical trial. *Glob J Health Sci* 2014; 7(1): 203-209.
 325. Sukmana M. Application of Herbal Ingredients Aloe Vera Gel Against Burns Healing Process, literature review. *JIWOCNA* 2022; 1(1): 42–52.
 326. Jettanacheawchankit S, Sasithanasate S, Sangvanich P, Banlunara T. Acemannan stimulates gingival fibroblast proliferation; expressions of keratinocyte growth factor-1, vascular endothelial growth factor, and type I collagen; and wound healing. *J Pharmacol Sci* 2009; 109(4): 525-31.
 327. Hanci V, Hakimoğlu S, Özçmak H, Bektaş S, Özdamar Ş. Comparison of the effects of bupivacaine, lidocaine, and tramadol infiltration on wound healing in rats. *Rev Bras Anesthesiol* 2012; 62(6): 799–810.
 328. Morris T, Tracey J. Lignocaine: Its effects on wound healing. *Br J Surg* 1977; 64(12): 902–3.
 329. Vasseur P, Paul H, Dybdal N. Effects of local anesthetics on healing of abdominal wounds in rabbits. *Am J Vet Res* 1984; 45(11): 2385-2388.
 330. Waite A, Gilliver S, Masterson G, Hardman M. Clinically relevant doses of lidocaine and bupivacaine do not impair cutaneous wound healing in mice. *Br J*

Anaesth 2010; 104(6): 768-773.

331. Luz J, Griggio M, Plapler H, Bancher M, Carvalho V. Effects of ethanol on energy balance of rats and the inappropriateness of intraperitoneal injection. *Alcohol* 1996; 13(6): 575-580.
332. Heinrich A, Messingham A, Gregory S, Colantoni A, Ferreira M, Dipietro A, Kovacs J. Elevated monocyte chemoattractant protein-1 levels following thermal injury precede monocyte recruitment to the wound site and are controlled, in part, by tumor necrosis factor- α . *Wound Repair and Regen* 2003; 11(2): 110-119.
333. Burns A, Wilson J. Angiogenesis mediated by metabolites is dependent on vascular endothelial growth factor (VEGF). *Angiogenesis* 2003; 6(1): 73-77.
334. Food and Drug Administration (FDA), FDA Recommends Not Using to Treat Pain and Requires New Boxed Warning, FDA, U.S.A., 2014.

EKLER

EK-1 ETİK KURUL ONAYI



T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Birimi : Tıbbi Etik Kurul Başkanlığı
Kodu : 2011-KAEN-2
Sayı : 2020/471
Konu : Tıbbi Etik Kurul Kararı

06.11.2020

Sayın; Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Dış Fakültesi
AFYONKARAHİSAR

İlgi: Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 06.11.2020 tarih ve 2020/473 sayılı kararı.

Sorumluluğunuzda yürütülecek olan "Diş Sürme Döneminde Kullanılan Farklı Diş Jellerinin ve Bitkisel Yağların İnsan Gingival Fibroblastları Üzerinde Sitotoksisitelerinin ve Yara İyileşmesine Etkilerinin Değerlendirilmesi" başlıklı çalışmanıza ilişkin alınan ilgi sayılı Etik Kurul Kararı ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Dağıstan Tolga ARIÖZ
Etik Kurul Başkanı

EK:
1-İlgi sayılı karar (1 sayfa)

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Tarihi	06.11.2020	Toplantı Numarası	2020/13	Toplantı Saati	09:00	Etik Kurul Kodu	2011-KAEK-2
473- Dr. Öğr. Üyesi Burcu GÜÇYETMEZ TOPAL' ın sorumluluğunda yürütülecek olan "Diş Sürme Döneminde Kullanılan Farklı Diş Jellerinin ve Bitkisel Yağların İnsan Gingival Fibroblastları Üzerinde Sitotoksitelerinin ve Yara İyileşmesine Etkilerinin Değerlendirilmesi" konulu <u>Girişimsel Olmayan</u> Klinik Araştırmalar için başvuru dosyası incelendi. Araştırma protokolüne uyularak, Sağlık Bakanlığı'nın 13.04.2013 tarih 28617 sayılı Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmeliği ve yayımlanan kılavuzlarında belirtilen hususlar dikkate alınarak, sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere araştırmanın yapılmasında etik sakınca olmadığına toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verildi.							

EK-3 İNTİHAL RAPORU

DİŞ SÜRME DÖNEMİNDE KULLANILAN FARKLI DİŞ
JELLERİNİN VE BİTKİSEL YAĞLARIN İNSAN GİNGİVAL
FİBROBLASTLARI ÜZERİNDE SİTOTOKSİSİTELERİNİN VE YARA
İYİLEŞMESİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORIGINALITY REPORT

3%

SIMILARITY INDEX

*(i)THENTICATE PROGRAM, WORD COUNT:15793, TIME SUBMITTED: 14-MAR-
2022 02:26PM, PAPER ID: 83622232)