



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**FARKLI ÇAPRAZ BAĞLAYICI AJANLARLA YAPILAN KANAL
İRRİGASYONUNUN KÖK KIRILMA DİRENCİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Betül Banu GÖZÜBÜYÜK

UZMANLIK TEZİ

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Uğur AYDIN

GAZİANTEP

2025



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**FARKLI ÇAPRAZ BAĞLAYICI AJANLARLA YAPILAN KANAL
İRRİGASYONUNUN KÖK KIRILMA DİRENCİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Betül Banu GÖZÜBÜYÜK

UZMANLIK TEZİ

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Uğur AYDIN

GAZİANTEP

2025

BEYAN

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

Betül Banu GÖZÜBÜYÜK

22.10.2025

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca mesleki tecrübelerini ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Uğur AYDIN'a

Eğitimim boyunca mesleki birikimlerinden yararlandığım Dr. Öğr. Üyesi Fatma TUNÇ ve Dr. Öğr. Üyesi Emre ÇULHA'ya

Solüsyonları hazırlama sürecinde yardımlarını esirgemeyen Mühendislik fakültesinden Doç. Dr. Abdulaziz KAYA ve Gıda Mühendisi Nazan ÇAĞLAR'a

Beni bugünlere getiren, maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim aileme

Uzmanlık eğitimim sürecini sevgisi ve desteğiyle kolaylaştıran sevgili eşim Ahmet GÖZÜBÜYÜK ve canım kızım Dilruba'ya

Asistanlık eğitimim boyunca beraber çalışma şansı bulduğum tüm asistan arkadaşlarıma ve bölüm personellerimize,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından DHF.UT.24.07 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

KISALTMA VE SİMGELER	v
RESİMLER LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ	ix
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1.GİRİŞ VE AMAÇ	3
2.GENEL BİLGİLER	5
2.1. Endodontik Tedavide İrrigasyon	6
2.2. Endodontide Kullanılan İrrigasyon Solüsyonları	7
2.2.1. Sodyum Hipoklorit (NaOCl)	7
2.2.2. Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA)	8
2.2.3. Sitrik Asit (CA)	9
2.2.4. Etidronik Asit (HEBP)	9
2.2.5. Klorheksidin (CHX)	10
2.3. İrrigasyon Solüsyonunun aktivasyonu	10
2.3.1. Manuel irrigasyon aktivasyon yöntemleri	11
2.3.1.1. Geleneksel şırınga irrigasyonu	11
2.3.1.2. Fırça ile irrigasyon	12
2.3.1.3. Manuel dinamik aktivasyon	12
2.3.2. Cihaz aracılı irrigasyon aktivasyon yöntemleri	12
2.3.2.1. Döner fırça ile irrigasyon	12
2.3.2.2. Apikal negatif basınç ile irrigasyon	13
2.3.2.3. Sonik aktivasyon	14
2.3.2.4. Ultrasonik aktivasyon	15
2.3.2.5. Lazer ile aktivasyon	15
2.3.2.6. Multisonik aktivasyon	16
2.3.2.7. Egeleme ile Birlikte Yapılan İrrigasyon Aktivasyon Yöntemleri	16
2.4. İrrigasyon Solüsyonlarının Kök Dentin Kırılma Dayanımı Üzerindeki Etkileri	17
2.5. Nanopartiküller	18
2.5.1. Metal İçerikli Nanopartiküller	19

2.5.2. Bioaktif Cam Nanopartikülleri	19
2.5.3. Karbon bazlı nanopartiküller,	19
2.5.4. Kitosan	20
2.6. Çapraz Bağlayıcı Ajanlar	21
2.6.1. Gluteraldehit	21
2.6.2. Genipin	22
2.7. Fotodinamik çapraz bağlama	23
2.8. Işık kaynakları	25
2.9. Dişlerin kırılma dayanımının ölçülmesi	25
3.GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Örneklerin Hazırlanması	27
3.2. Kitosan Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu	28
3.3. Kitosan Nanopartikül Solüsyonunun Hazırlanması	30
3.4. Mastesizer ile Yapılan Ölçüm Sonucu	31
3.5. Rose Bengalle İşlevselleştirilmiş Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması	32
3.6. Rose Bengalle İşlevselleştirilmiş Kitosan Nanopartikül Solüsyonunun Hazırlanması	33
3.7. Karboksimetil Kitosan Solüsyonunun Hazırlanması	34
3.8. Genipin Solüsyonunun Hazırlanması	34
3.9. Solüsyonların FTIR analizleri	35
3.10. Final İrrigasyon Protokolü	37
3.11 Kırma Deneyi	38
3.12. İstatistiksel Yöntem	40
4.BULGULAR	41
5.TARTIŞMA	42
6.SONUÇ	49
7.KAYNAKLAR	50

KISALTMALAR ve SİMGELER

ACP	: Amorf kalsiyum fosfat
Ag	: Gümüş
Au	: Altın
CA	: Sitrik asit
CHX	: Klorheksidin
CMCS	: Karboksimetil kitosan
CSnps	: Kitosan nanopartikül
CSRBnps	: Rose Bengal ile konjuge edilmiş kitosan
EDC	: 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
Er:YAG	: Erbium yttrium- aluminum-garnet
GO	: Grafen oksit
HEBP	: Etidronik Asit
ISO	: Uluslararası Standartlar Komitesi
LED	: Light emmiting diod
MDA	: Manuel dinamik irrigasyon
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
NaOH	: Sodyum hidroksit
Nd:YAG	: Neodymium-yttrium-aluminum-garnet
NHS	: N hidrosüksinimid
-OH	: Hidroksil iyonu
PDA	: Fotodinamik aktivasyon
PDI	: Polidispersite indeksi
PIPS	: Foton indüklü fotoakustik dalgalanma
RB	: Rose bengal
SAF	: Self adjusting file
SWEEPS	: Şok dalgası ile geliştirilmiş emisyon fotoakustik dalgalanma
TiO₂	: Titanyum dioksit
TPP	: Tripolifosfat

UTM : Evrensel test cihazları
VRF : Dikey kök kırığı
ZnO : Çinko oksit



RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. Endobrush

Resim 2.3. Endovac

Resim 2.2. Canalbrush

Resim 2.4. Rinsendo

Resim 2.5. EndoActivator

Resim 2.6. Self Adjusting File

Resim 3.1 Örneklerin hazırlanması

Resim 3.2. A) Sodyum Hidroksit B) Asetik asit

Resim 3.3. Sodyum Tripolifosfat ve Chitosan

Resim 3.4. Kitosanın hassas terazide tartılması ve PH'ının ölçümü

Resim 3.5. Santrifüj cihazı

Resim 3.6. Manyetik karıştırıcı

Resim 3.7. Freeze Dryer

Resim 3.8. A)Santrifüj sonrası elde edilen kitosan nanopartikül B)Freeze dryer sonrası elde edilen kitosan nanopartikül

Resim 3.9. Mastersizer 3000

Resim 3.10. A)Rose bengal B)EDC C)NHS

Resim 3.11 A)Rose bengalin manyetik karıştırıcı altında eklenmesi B)Diyaliz membranına konulan solüsyon

Resim 3.12. Rose bengalin diyot lazer ile aktive edilmesi

Resim 3.13. Hassas terazide CMCS miktarının ölçümü

Resim 3.14. Genipin

Resim 3.15. Manyetik karıştırıcı yardımıyla solüsyonların hazırlanması

Resim 3.16. Ölçü maddesine ve akriliğe gömülmüş diş

Resim 3.17. Kırma Cihazı

Resim 3.18. 4 mm çapındaki kırma ucu

Resim 3.19. Dişin kırılmadan sonraki görüntüsü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 Kloraminasyon reaksiyonu

Şekil 2.2. NaOCl'nin sudaki dinamik dengesi.

Şekil 2.3. Klorheksidinin moleküler yapısı

Şekil 2.4 Yandan perfore irrigasyon iğnesi

Şekil 2.5. Kitosanın moleküler yapısı

Şekil 2.6. Genipinin moleküler yapısı

Şekil 2.7. Rose bengalin moleküler yapısı

Şekil 3.1. Kitosan nanopartikülün zeta sizer ölçüm analizi

Şekil 3.2. Kitosanın FTIR grafiği

Şekil 3.3. Rose bengalin FTIR grafiği

Şekil 3.4. Rose bengalle bağlanmış kitosan nanopartikülün FTIR grafiği

Şekil 3.5. Kitosan nanopartikülün FTIR analizi

Şekil 4.1 İstatistiksel analiz grafiği

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.1. İstatistiksel analiz



ÖZET

FARKLI ÇAPRAZ BAĞLAYICI AJANLARLA YAPILAN KANAL İRRİGASYONUNUN KÖK KIRILMA DİRENCİ ÜZERİNE ETKİSİ

Betül Banu GÖZÜBÜYÜK

Uzmanlık Tezi Endodonti Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Uğur AYDIN

Ekim 2025, 70 sayfa

Bu çalışmanın amacı; kitosan nanopartikül, karboksimetil kitosan, rose bengal ile işlevselleştirilmiş kitosan nanopartikül ve genipin içerikli solüsyonlar ile yapılan kanal irrigasyonunun kök kırılma direncine etkisini araştırmaktır. Kitosan, nanopartikül kitosanın tripolifosfat anyonları ile iyonik jelleşmesi ile üretildi. Zeta potansiyeli ölçülerek partikül boyutu değerlendirildi. Kitosan nanopartiküller Rose bengal ile konjuge edilerek işlevselleştirilmiş kitosan nanopartikül çözeltisi hazırlandı. 60 adet tek kanallı ve tek köklü alt premolar dişin kronları köklerinden ayrıldı. Kanal preparasyonu tamamlandığında NaOCl ve EDTA ile irrigasyon yapıldı ve dişler randomize olarak 5 gruba ayrıldı. Grup 1'e ek olarak herhangi bir irrigasyon uygulanmadı. Grup 2; 1 ml kitosan nanopartikül solüsyonu ile, Grup 3; 1 ml karboksimetil kitosan solüsyonu ile, Grup 4; 1 ml rose bengal ile işlevselleştirilmiş kitosan nanopartikül solüsyonu ile ve Grup 5 ise genipin solüsyonu irriye edildi. Genipin solüsyonu 30 dk kanal içinde bekletilirken diğer solüsyonlar 1 dk uygulandı. Rose bengal 940 nm dalga boyunda diyet lazer ile aktive edildi. Her bir örnek son olarak distile su ile irriye edildikten sonra kanal dolumu yapıldı ve polivinil siloksan ölçü maddesi ile kaplandıktan sonra 2 mm'lik kısmı açıkta kalacak şekilde akrilik rezine gömüldü. Kırma cihazı ile 1mm/dk sabit artan hızda kırma testi sonucunda gruplar arasında kırılma direnci açısından istatistiksel anlamlı bir sonuç bulunamadı.

Anahtar sözcükler: Kırılma direnci, genipin, kitosan, nanopartiküller, fotodinamik çapraz bağ

ABSTRACT

EFFECT OF CANAL IRRIGATION WITH DIFFERENT CROSS-LINKING AGENTS ON ROOT FRACTURE RESISTANCE

Betül Banu GÖZÜBÜYÜK

Specialty Thesis in Dentistry, Department of Endodontic

Supervisor: Prof. Dr. Uğur AYDIN

October 2025, 70 pages

The aim of this study was to investigate the effect of root canal irrigation with solutions containing chitosan nanoparticles, carboxymethyl chitosan, chitosan nanoparticles functionalized with rose bengal, and genipin on root fracture resistance. Chitosan nanoparticles were produced by ionic gelation of chitosan with tripolyphosphate (TPP) anions. Particle size was evaluated by measuring zeta potential. Chitosan nanoparticles were conjugated with rose bengal to prepare a chitosan nanoparticle solution. The crowns of 60 single-canal and single-rooted mandibular premolar teeth were separated from their roots. When the root canal preparation was completed, irrigation was performed with NaOCl and EDTA, and the teeth were randomly divided into 5 groups. No additional application was made to Group 1. Chitosan nanoparticle solution was applied to Group 2. Carboxymethyl chitosan was applied to Group 3. Rose Bengal functionalized chitosan nanoparticles were applied to Group 4. Genipin solution was applied to Group 5. Genipin solution was kept in the canal for 30 minutes while other solutions were applied for 1 minute. Rose Bengal was activated with a diode laser at a wavelength of 940 nm. Each sample was finally irrigated with distilled water, then the canal was filled and covered with polyvinyl siloxane impression material, and then embedded in acrylic resin, leaving 2 mm of the sample exposed. As a result of the breaking test with a breaking device at a constant increasing speed of 1 mm/min, no statistically significant result was found between the groups in terms of fracture resistance.

Key words: Fatigue resistance, genipin, chitosan, nanoparticles, photodynamic cross-link

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Endodontik tedavinin amacı kök kanallarını bakteri, bakteri ürünleri ve nekrotik doku artıklarından tamamen arındırmak, anatomisine uygun olarak şekillendirmek ve hermetik şekilde doldurularak apikal periodontitisi tedavi etmekle beraber tekrarlanmasını önlemektir (1). Kök kanal sisteminden apikale yayılan mikrobiyal enfeksiyon apikal periodontitisin oluşumunda rol alabilir (2). Travma, çürük, diş yüzeyi ile uyumu bozulan ve sızıntıya sebep olan restorasyonlar, kalıtsal ve edinsel defektler ve başarısız kanal tedavisi sonrası kanallara yerleşmiş mikroorganizmalar bu enfeksiyonlara neden olabilir. Kök kanal sisteminde bulunan bakteriler çevresel koşullara daha dirençli halde bulundukları bir biyofilm tabakası ile çevrelenmişlerdir (3). Biyofilm tabakasının etkin şekilde ortadan kaldırılabilmesi için, mekanik olarak kanalların genişletilip şekillendirilmesine ilaveten irrigasyona da ihtiyaç duyulmaktadır (4).

İrrigasyon, bakterileri içeren biyofilm tabakasının yanında kanal preparasyonu sırasında ortaya çıkan, organik ve inorganik atıklar ihtiva eden smear tabakasının uzaklaştırılmasına da katkı sağlar (5). Endodontide uzun yıllardır yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonu sodyum hipoklorit (NaOCl)'tir. Ucuz olması, kolay ulaşılabilmesi, doku çözücü ve antibakteriyel özellikleri sebebiyle yaygın olarak kullanılmaktadır (6). Etilendiamintetraasetik asit (EDTA), NaOCl ile beraber en sık kullanılan şelasyon ajanıdır (5). Yapılan bir çalışmada, EDTA'nın, NaOCl ile beraber veya yalnız kullanımıyla dişin kırılma direncinin azaldığı ve ilerleyen zamanlarda çatlak ve kırık riskinin arttığı bildirilmiştir (7).

Son yıllarda nanoteknoloji alanındaki gelişmelerle endodonti alanında uygulamalar artmış, dentin kollajeninin çapraz bağlantılarla dentinin yapısının güçlendirilmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine nanomalzemelerin kullanımın ile ilgili çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (8).

Kitosan, yengeç ve karides gibi kabuklu deniz canlılarının dış iskeletinin ve mantarların hücre duvarlarının yapısal elemanı olan kitinden ticari olarak üretilir. Kitosan elde etmenin en yaygın yolu, reaktif olarak fazla miktarda sodyum hidroksit ve çözücü olarak su kullanılarak kitinin deasetilasyonudur (9). Kitosanın fosfat gruplarının, dentindeki kalsiyum iyonlarıyla şelasyon yapması ile dentin yüzeyinde kalsiyum fosfat tabakası oluşturduğu gösterilmiştir (10). Dentinin kitosan uygulamasından sonra kolajenazın yıkıcı etkilerine daha dirençli olduğu gözlemlenmiştir (11).

Kitosanın bir türevi olan karboksimetil kitosan (CMCS), diğer reaktif moleküllerle çapraz bağ oluşturabilen çok sayıda serbest hidroksil, amino ve karboksil grubuna sahiptir (12). Bir fotosensitizer olan Rose Bengal(RB)'in kitosan ile konjuge edilmesi ile oluşan Rose bengalle işlevselleştirilmiş kitosan nanopartikül (CSRBnps) hem fotodinamik hem de polimerik avantajları birleştirir. Kanala uygulanmış CSRBnps uygun dalga boyunda aktive edildiğinde hem antimikrobiyal özellik sergileyip kök kanalındaki bakteri-biyofilmlerini ortadan kaldırır, hem de kollajende çapraz bağlar oluşturarak dentini güçlendirir (13).

Genipin, *Gardenia jasminoides* ve *genipa americana* meyvesinden elde edilen doğal bir çapraz bağlayıcı reaktiftir. Bir başka çapraz bağlayıcı olan gluteraldehite göre daha az sitotoksikite gösterir. Genipin, amino grubuyla reaksiyona girebilen hidroksil grubu, karbon-karbon çift bağı ve ester grubu gibi işlevsel gruplar içerir (14).

Çalışmamızın amacı kitosan nanopartikül (CSnps), CMCS, CSRBnps ve genipinin kanal tedavili dişler üzerinde irrigasyon solüsyonu olarak kullanıldığında kök kırılma direnci üzerine etkilerini araştırmaktır. Çalışmamızın başlangıç hipotezi test edilen solüsyonlar arasında kök kırılma direnci açısından bir fark oluşmayacağıdır. Bu dört solüsyon bildiğimiz kadarıyla kırılma direnci açısından beraber bir başka çalışmada kullanılmamıştır. Bu yönüyle çalışmamız özgündür.

2.GENEL BİLGİLER

Kök kanal tedavisinde amaç, kanal sistemindeki organik ve inorganik artıkların ortadan kaldırılması ve sistemin üç boyutlu olarak hermetik bir şekilde tıkanmasıdır(15). Kök kanal anatomisi, kökün apikal kısmından başlayıp dişin kron kısmında pulpa odasına kadar devam eden, pulpa boynuzları, apikal foramen, lateral kanallar ve furkasyon kanallarını içeren, karmaşık yapıya sahip bir sistemdir. Bu yapının bütün bölgelerine ulaşabilmek sadece mekanik yöntemlerle mümkün değildir. Bu yüzden etkin bir temizlik için irrigasyon solüsyonlarının kimyasal etkilerine de ihtiyaç duyulmaktadır (1).

Dentin, pulpa dokusunun etrafında onu çepeçevre saran, dişin en fazla hacim kaplayan kısmıdır. Etrafı kronda mine, kökte sement ile çevrilidir. Dentin dokusu %70 inorganik, %20 organik yapıdan ve %10 sudan oluşur (16). İnorganik yapının büyük kısmı hidroksiapatit kristallerinden meydana gelirken organik yapı ise protein ve proteoglikanlardan oluşur. Tip 1 kollajen dentinin organik yapısının %91' ini meydana getirir (17). Dentin yapısında milimetrekarede 50.000 ile 60.000 arasında değişen sayıda, dentin tübülü bulunmaktadır (18). Sayıları pulpaya yakın kısımdan mineye doğru azalmaktadır. Aynı zamanda mineye komşu bölgeye doğru tübül çapları azalmaktadır. Pulpaya komşu kısımda tübül çapı yaklaşık 3 µm iken mineye komşu kısımda çapları 1 µm'ye kadar düşer (17). İki yüzey arasındaki bu sayısal fark pulpa hastalıklarının patogenezinde rol oynar.

Kök kanal enstrümantasyonu sırasında oluşan, organik ve inorganik bileşenlerden meydana gelen yapıya smear tabakası denir (19). Dentin tübüllerinde yaklaşık 5-65 µm derine uzanabilmektedir (20,21). Geçmişte smear tabakasının uzaklaştırılması ile ilgili endodontide fikir ayrılıkları mevcut olsa da günümüzde smear tabakasının nekrotik pulpa, mikroorganizma ve artıkları ihtiva etmesi sebebiyle kaldırılması gerektiği düşüncesi yaygındır (22). Bunun yanında smear tabakasının kaldırılması, kanala uygulanan ajanların ve kanal dolgu patlarının dentin tübüllerine penetrasyonunu artırması nedeniyle de desteklenmektedir (22–24).

2.1. Endodontik Tedavide İrrigasyon

Tek başına mekanik preparasyon kök kanal anatomisinin kompleks yapısı nedeniyle, doku artıklarını ve mikroorganizmaları kök kanal sisteminden tamamen uzaklaştırmak için yeterli olmayabilir. Bu nedenle endodontide çeşitli irrigasyon solüsyonları kullanılmaktadır (25).

Kanal irrigasyonunun amaçları şunlardır (26):

1. Kök kanal sistemindeki enfekte olmuş yumuşak ve sert doku artıklarını fiziksel ve kimyasal şekilde uzaklaştırmak
2. Kanal içindeki mikroorganizmaları elimine etmek veya beslenmelerini engellemek
3. Smear tabakasını ortadan kaldırmak
4. Kompleks anatomiye sahip kök kanal sisteminin her alanına ulaşabilmek
5. Kök kanalında lubrikasyon sağlayarak kanal aletleri ile çalışmayı kolaylaştırmak

Bu görevleri yerine getirebilen bir irrigasyon solüsyonunun sahip olması gereken özellikler ise şu şekildedir;

1. Bakterisit veya bakteriyostatik etkili olmalıdır.
2. Çevre dokular için toksik olmamalıdır.
3. Organik ve inorganik doku çözücü olmalıdır.
4. Yüzey gerilimi düşük olmalı ve dentin yüzeyine kolaylıkla yayılabilmelidir.
5. Diğer dental materyallerle negatif etkileşim göstermemelidir.
6. Kullanımından sonra uzun süreli antibakteriyel etkisi olmalıdır.
7. Diş dokularında renklenmeye sebep olmamalıdır.
8. Ucuz olmalıdır.
9. Uygun saklama koşulları kolay sağlanabilmelidir.
10. Raf ömrü uzun olmalıdır.
11. Kolay uygulanabilir olmalıdır (27).

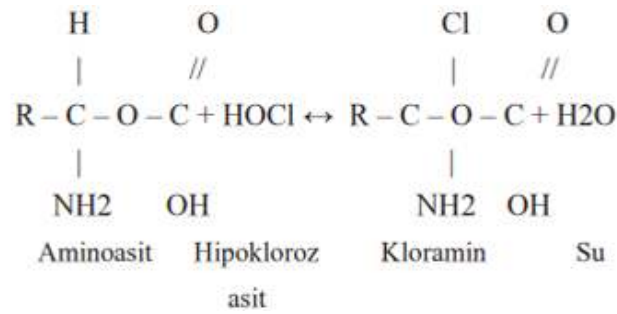
Bu özelliklerin hepsine sahip bir irrigasyon ajanı henüz bulunmamaktadır. Bu nedenle ajanların kombine kullanımı tavsiye edilmektedir.

2.2. Endodontide Kullanılan İrrigasyon Solüsyonları

2.2.1. Sodyum Hipoklorit (NaOCl)

NaOCl, endodontide uzun yıllardır yaygın bir kullanıma sahiptir (28) Organik dokuları çözebilme yeteneği ve antibakteriyel özelliğiyle irrigasyonda vazgeçilmez bir solüsyon olma özelliğini korumaktadır (29) NaOCl, aminoasitleri su ve tuza nötralize eder. Aynı zamanda yapısındaki hidroksil (OH-) iyonları sayesinde ortamın pH değerini yükseltmektedir. Yüksek pH hücre zarı bütünlüğünü bozarak hücre lizisine sebep olmaktadır (30)

Klor, suda çözünür ve organik madde ile temas içinde olduğunda hipoklorik asit oluşturur. Kimyasal formülü HClO olan bu zayıf asit bir yükseltgendir. Asit çözündüğünde protein amino grubu ile klorin birleşerek hücre metabolizmasını bozan kloraminleri (Kloraminasyon reaksiyonu) oluşturur. Hipokloröz asit (HOCl-) ve hipoklorit (OCl-) iyonları aminoasit degradasyonuna ve hidrolizine sebep olur (30).



Şekil 2.1 Kloraminasyon reaksiyonu



Şekil 2.2. NaOCl'nin sudaki dinamik dengesi.

NaOCl nekrotik dokular için oldukça etkili bir çözücüdür. Nekrotik pulpa dokusunun çözülmesinde sülfirik asit, hidroklorik asit gibi asitlerin dahi %5'lik NaOCl kadar tesirli olmadığı belirtilmiştir. Şelasyon maddeleri, serum fizyolojik, distile su gibi diğer irrigasyon solüsyonları ve %1'lik veya daha düşük konsantrasyonda NaOCl ise nekrotik dokuların çözülmesinde yetersiz bulunmuştur (31).

NaOCl'nin konsantrasyonu, uygulanma süresi, miktarı ve sıcaklığına göre antimikrobiyal etkinliği değişmektedir. Kök kanal tedavisinde NaOCl genellikle %0.5 ile %5 arasında konsantrasyonlarda kullanılmaktadır (32). NaOCl' in konsantrasyonunun artmasıyla çözücü etkisinin arttığı bilinmektedir (33). Bununla beraber düşük konsantrasyonlarda yüksek hacimlerde uygulandığı takdirde aynı etkiyi sağlayabildiği çalışmalarda gösterilmiştir (34,35). Yüksek konsantrasyonlarda dokulara karşı toksik etkisinin artmasından dolayı NaOCl solüsyonunun etkili olabileceği en düşük konsantrasyonda bol miktarda kullanılması önerilmektedir (36).

NaOCl üstün doku çözücü ve antibakteriyel özelliklerine rağmen uygun olmayan konsantrasyonda uygulandığında dentinin organik yapısında oluşturduğu değişiklikler dişin mekanik özelliklerini etkileyebilir (37). Dentinin fiziksel yapısında yaptığı olumsuz değişimler ile ilgili yapılan bir çalışma mevcuttur. Bu çalışmaya göre %5 ve %9 hipoklorit elastik modülü ve eğilme dayanımı değerlerini yarı yarıya azaltmıştır. Numunelerin hem karbon hem de nitrojen içeriği %5 ve %9 NaOCl ile önemli ölçüde azalmıştır (38).

2.2.2. Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA)

EDTA şelasyon ajanları arasında en sık kullanılan solüsyondur (39). Dentin yapısındaki ve smear tabakasındaki kalsiyum iyonları ile şelatları oluşturur ve kök kanalında bulunan inorganik dokunun uzaklaştırılması görevini görür (40) Uygun olan bütün iyonlar bağ yaptıktan sonra, denge kurulduğu için daha fazla çözünme gerçekleşmez (41). Bu durum EDTA'nın kendini sınırlayıcı etkisi olarak da bilinir ve dentin demineralizasyonu sırasında ortamın asidite değerindeki değişimden kaynaklandığı düşünülmektedir (42).

NaOCI ve EDTA etkileşimin incelendiği bir çalışmada beraber kullanıldıklarında EDTA'nın kalsiyum kompleksi oluşturma yeteneğinde bir değişim gözlenmezken NaOCI'in doku çözücü özelliğinin azaldığı gözlenmiştir. Bu sebeple ayrı kullanılmaları tavsiye edilmektedir(43).

EDTAC, antimikrobiyal kapasitesini artırmak amacıyla EDTA'ya kuaterner amonyum bileşikleri ilave edilerek üretilen kombine solüsyondur (44). Bir in vitro çalışmada, 17% EDTAC çözeltisinin 1 dakikalık uygulamasının smear tabakasını etkili bir şekilde uzaklaştırdığı, ancak 10 dakikalık uygulamanın peritübüler ve intertübüler dentinde aşırı erozyona yol açtığı bildirilmiştir. Bu nedenle, EDTAC uygulamasının 1 dakikayı aşmaması önerilmektedir (45).

EDTA endodontik irrigasyon solüsyonu olarak genellikle %15-17'lik konsantrasyonlarında kullanılmaktadır. Bir çalışmada irrigasyon solüsyonu olarak %17'lik EDTA solüsyonu, %1'lik NaOCl ile beraber veya tek başına uygulandığında dentin kırılma dayanımında azalmaya neden olduğu görülmüştür (46). Dentin kırılma dayanımının veya mikrosertliğinin azalması klinikte çatlak ve kırık oluşumunu artıracığından farklı şelasyon ajanları arayışı devam etmektedir.

2.2.3. Sitrik Asit (CA)

Bir şelatör olan sitrik asit metallerle reaksiyona girerek iyonik olmayan çözünür bir şelat oluşturur. Sitrik asit (CA) %1 ile %50 arasında farklı konsantrasyonlarda çalışmalarda kullanılmıştır. Bir çalışmada EDTA ve CA, smear tabakasının kaldırılmasında eşit etki gösterse de %10'luk CA'in %17'lik EDTA'ya göre dokular üzerinde daha biyoyumlu olduğu görülmüştür (47). Bununla ilgili başka bir çalışmada CA'ın kısa sürelerde (30 saniye) dentine uygulanmasının aynı sürede EDTA'dan daha etkili olabileceği gösterilmiştir (48). CA'in dentinin mekanik yapısına etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada yapılan irrigasyon sonrası kök dentininin zayıflamadığı sonucuna ulaşılmıştır (49).

MTAD (Dentsply Sirona, New York, ABD) sitrik asit içeren bunun yanında bir antibiyotik ve deterjandan oluşan solüsyondur. MTAD 'ın smear tabakasını çözme gücünde EDTA'ya göre istatistiksel anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir (50).

2.2.4. Etidronik Asit (HEBP)

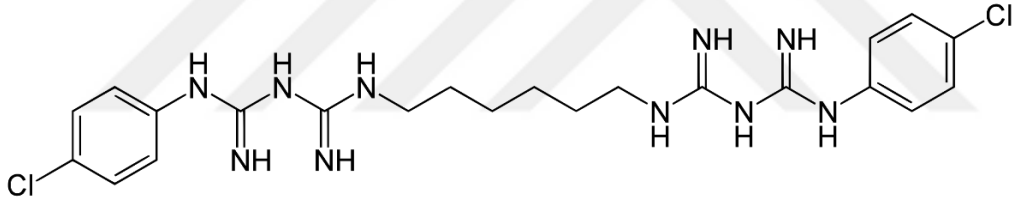
Etidronik asit (HEDP) dentini agresif olmayan şekilde dekalsifiye eden biyoyumlu bir ajandır. HEDP su ve atık su arıtımında, deterjanlarda ve temizlik maddelerinde, kozmetik ürünlerde, ilaç olarak ve korozyonu ve kireçlenmeyi engellemede kullanılır (51). EDTA ve CA gibi HEDP de bir şelatör olmasına rağmen kalsiyumla diğer şelatörlere göre daha

zayıf kompleksler oluşturur (51). NaOCl ile kombine kullanımda reaksiyon oluşturmaması sebebiyle EDTA veya CA'in yerine kullanımı düşünülmektedir (52).

NaOCl ile kombine kullanımı HEBP'nin etkisini artırır (44) Ayrıca bir çalışmada bu kombinasyonun NaOCl'nin antimikrobiyal etkinliğinde önemli derecede artışa sebep olduğu görülmüştür (53). Bu irrigasyon solüsyonu %18 HEDP 'nin %5 NaOCl ile 1:1 oranında karıştırılmasıyla hazırlanabilir (54).

2.2.5. Klorheksidin (CHX)

Klorheksidin (CHX) geniş antimikrobiyal etkinliğe sahip olması nedeniyle kök kanal tedavisinde irrigasyon solüsyonu ve kanal içi medikament olarak kullanılmaktadır. Sert dokuya bağlanıp antibakteriyel etkisini devam ettirmesi onu son yıkama solüsyonu olarak tercih sebebi yapmıştır. Endodontide genellikle %2 lik konsantrasyonda kullanılır. Yüksek konsantrasyonda bakterisidal etkili olurken düşük konsantrasyonda bakteriostatik özellik gösterir (55) Fakat, doku çözücü özelliğinin bulunmaması nedeniyle NaOCl'nin yerine kullanımı önerilmemektedir (56)



Şekil 2.3. Klorheksidin molekül yapısı

Qmix (Dentsply Sirona, York, ABD) CHX analogu, triklosan ve EDTA'dan oluşur. Antimikrobiyal ajan olarak kullanımının yanında smear tabakasını kaldırma işlevi de görmektedir. Son yıkamada solüsyonu olarak kullanımı önerilmektedir (57). Yapılan bir çalışmada CHX ile karşılaştırıldığında *E. Faecalis* 'e karşı daha başarılı bulunmuş, smear tabakasını kaldırmada ise EDTA ile anlamlı bir fark görülmemiştir (57).

2.3. İrrigasyon solüsyonunun aktivasyonu

Kök kanal sisteminde daha etkin bir temizlik sağlamak amacıyla manuel ve rotasyonel olmak üzere iki tür irrigasyon aktivasyon yöntemi mevcuttur. Enjektör, fırça veya güta-perkalarla manuel dinamik olarak yapılan manuel yöntemlerin yanında döner aletle kullanılan fırçalar, enstrümantasyon esnasında devamlı irrigasyon, sonik ve ultrasonik titreşimler ve negatif basınç uygulaması gibi rotasyonel yöntemler de vardır (58).

2.3.1. Manuel irrigasyon aktivasyon yöntemleri

2.3.1.1. Geleneksel şırınga irrigasyonu

Ulaşılması en kolay ve dolayısıyla en sık kullanılan yöntemdir. Bu teknikte, enjektör kanal içinde pasiftir veya ileri geri hareketlerle kanal içinde yer değiştirirken solüsyon kanal içine verilir. Bu yöntem ile irrigasyonun etkili olabilmesi için kanalın apikal çapının yeterli miktarda genişletilmiş olması gerekmektedir (59). Çapı büyük iğnelerden çapı küçük iğneler apikale ulaşmada dolayısıyla temizlemede daha başarılıdır. 25 gauge (G) bir iğnenin etkin şekilde temizlik yapabilmesi için apikalin ISO #45'e kadar genişletilmesi gerekmektedir (60).

Önceden kanal irrigasyonu için 25 G iğnelerin kullanımı yaygınken, günümüzde rutin kullanımda daha dar iğnelerin kullanımı yaygındır. Güncel kullanımda 27-30-31G iğneler yer almaktadır (61). Uluslararası Standartlar Komitesi'ne göre 25G 0.50 mm, 27G 0.40 mm, 30G 0.30 mm ve 31G 0.25 mm'lik çaplara sahip uçları vardır (27). Tekniğinin zorluğu, iğnenin kanala penetrasyon miktarının kanalın morfolojisine ve boyutuna bağlı olmasıdır (62). İrrigasyon solüsyonlarının çalışma boyuna ulaşılmasında genelde başarısız olunmaktadır (63). Yeterli basınç uygulanmazsa, solüsyonlar çalışma boyuna ulaşamaz ancak basıncın fazla uygulanması durumunda ise solüsyonun apikalden taşmasıyla beraber bazı komplikasyonlar ortaya çıkarabilir (64).

Oluşabilecek komplikasyonların önlenmesi adına yandan delikli iğnelerin kullanımı önerilmiş olsa da günümüzde hangi iğnenin kullanılması gerektiği ile ilgili bir fikir birliği yoktur. Ancak birlikte en çok tercih edilen iğne tipi ve boyutunun, 30 G kapalı uçlu yandan delikli iğne olduğu görülmüştür(61).



Şekil 2.4 Yandan delikli irrigasyon iğnesi

Bir çalışmada, bu teknik kullanıldığında, solüsyonunun iğnenin ucundan sadece 1 mm kadar ileri gidebildiği gözlenmiştir (65). Özellikle dar ve eğri kanallarda bu durum solüsyonun etkisini sınırlandırmaktadır (66).

2.3.1.2. Fırça ile irrigasyon

İrrigasyon fırçaları manuel olarak solüsyonun aktivasyonunu sağlarken dentin duvarındaki debrisin mekanik temizlenmesine de yardımcı olmasından dolayı tercih edilebilen bir yöntemdir (67). Endobrush (C&S Microinstruments Ltd., Markham, Ontario, Kanada), endodontik uygulamalar için uygun olacak şekilde, belirli bir çapa sahip spiral yapıda ve üzerine naylon kıllar yerleştirilmiş bükülmüş telden oluşan bir fırçadır (68).



Resim 2.1. Endobrush

Manuel fırçanın irrigasyon aktivasyonundaki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada kanal hazırlığı sonrasında 1 dk süresince çalışma boyunca manuel fırça kullanımının kök kanalı debritlemanında önemli ölçüde etkili olduğunu gösterilmiştir (69).

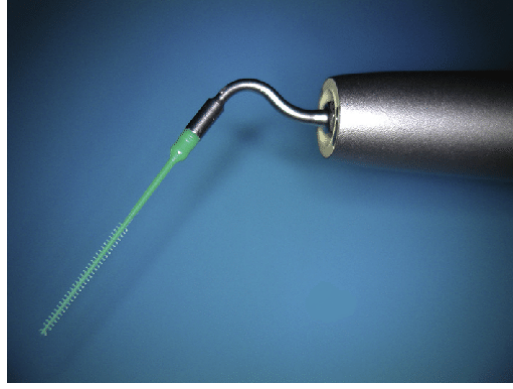
2.3.1.3. Manuel dinamik aktivasyon

Bu yöntem, kanala iyi uyum sağlayan bir ana kon ile kanal içerisinde ileri geri hareketler yapılarak uygulanmaktadır (5). Literatürde, yeterli miktarda genişletilmiş kanallarda kullanımının, irrigasyon etkinliğini artırdığını ve eğimli molar kanallarında bile organik ve inorganik atıkların iyi seviyede temizlendiği gösterilmiştir (68).

2.3.2. Cihaz aracılı irrigasyon aktivasyon yöntemleri

2.3.2.1. Döner fırça ile irrigasyon

Endodontik amaçla döner başlıklarla kullanılabilen mikrofırçalar geliştirilmiştir (70). Bu yöntem için geliştirilen bir cihaz olan Canalbrush (Coltene Whaledent, Langenau, Germany) manuel olarak döner hareketle kullanılabilirken 600 rpm’de daha etkili olduğu bildirilmektedir (71).



Resim 2.2. Canalbrush

Canalbrush kullanımının kanal temizliğine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada irrigasyon solüsyonu ile birlikte kullanılmasının kanal sistemindeki düzensizliklerin temizliğinde etkili olduğu gösterilmiştir (72).

2.3.2.2. Apikal negatif basınç ile irrigasyon

Kanal içerisindeki basınçta değişiklik meydana getirerek irrigasyon solüsyonlarının apikal ekstrüzyonunun önüne geçmek için çeşitli sistemler geliştirilmiştir(36). Bu sistemlerde solüsyon kanala verilirken aynı anda emici bir uçla apikalden vakumlanarak aspire edilir. Rinsendo (Dürr Dental GmbH & Co., Bietigheim-Bissingen, Germany) ve Endovac (Discus Dental, Culver City, CA) bu sistemlere örnektir (59).

Literatürde, EndoVac sistemi ile apikal kısma ulaştırılan irrigasyon solüsyonu hacminin, aynı sürede geleneksel şırınga irrigasyonu tekniği ile ulaştırılan hacimden daha yüksek olduğunu ve geleneksel şırınga irrigasyonuna göre apikal bölgede daha fazla debris uzaklaştırıldığı gösterilmiştir (73).

İrrigasyon aktivasyonunda kullanılan farklı cihazların güvenliğinin karşılaştırıldığı bir in vitro çalışmada apikal ekstrüzyon ihtimalinin en fazla olacağı koşullar bir araya getirilmiş ve açık apeksli bir diş üzerinde nötr atmosfer basıncı altında deney yapılmıştır. EndoVac sisteminin çalışma uzunluğuna kadar ilerletilmesi durumunda dahi solüsyon ekstrüzyonuna neden olmadığı görülmüştür (74). EndoActivator (Dentsply Sirona, York, ABD), Max-I-Probe (Dentsply Sirona, York, ABD) iğnesi ile yapılan manuel irrigasyon, ultrasonik iğne irrigasyonu ve RinsEndo (Dürr Dental, Bietigheim, Almanya) ile yapılan aktivasyonlarda ekstrüzyon gözlenmiştir (74).



Resim 2.3. Endovac

RinsEndo üreticisi, kanülün kanalın koronal üçte birlik kısmına yerleştirilmesinin sıvı titreşimleri ile apikal bölüme kadar etkili olacağını bildirmiştir. Cihazın solüsyon penetrasyonu üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada penetrasyonun geleneksel şırınga irrigasyonundan daha üstün olduğu gösterilmiştir; bunun yanında solüsyon apikalden taşma riskinin daha fazla olduğu da belirtilmiştir (75).



Resim 2.4. RinsEndo

2.3.2.3. Sonik aktivasyon

Sonik aktivasyon için preparasyonu tamamlanmış kanal, irrigasyon solüsyonu ile doldurulur ve solüsyon sonik cihaza takılan uçların 1500-6000 Hz titreşimi aktive edilir (5). Sonik aktivasyonun 30 saniye boyunca uygulanmasının mikrobiyal yükü önemli derecede azalttığı görülmüştür (76). Kök kanalında plastik uçların salınımı ile irrigasyon solüsyonu aktive olur. Bu aktivasyon, irrigasyon solüsyonlarının lateral kanallara nüfuzunu artırır (77). EDDY (VDW GbmH, Münih, Almanya) ve EndoActivator ((Dentsply,Tulsa, ABD) bu prensiple çalışır. Sonik cihazların aktivasyon açısından etkinliğinin ultrasonik cihazlara göre daha düşük olduğu düşünülmektedir(78). Bunun yanında sonik aktivasyonun süresinin arttırılarak benzer sonuçlar elde edilebileceği bildirilmiştir (79).



Resim 2.5. EndoActivator

2.3.2.4. Ultrasonik aktivasyon

Özel uçlar ultrasonik sisteme takılarak 25.000-30.000 Hz titreşim yayar(80).Ultrasonik ucun tipine göre kanal duvarında değişikliğe neden olanlar aktif; değişikliğe neden olmayanlar pasif ultrasonik sistem olarak adlandırılır (81).

Ultrasonik aletten sürekli bir solüsyon akışıyla veya aralıklı olarak irrigasyon iğnesiyle solüsyonun verilip sonrasında ultrasonik aktivasyonun yapılması şeklinde iki yöntem mevcuttur. Üçer dakika yapılan her iki yöntemle eşit derecede başarılı elde edilmiştir (82). Bir çalışma enstrümantasyondan sonra yapılan pasif ultrasonik aktivasyonun iğne ile irrigasyona göre bakteri sayısını önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (79).

2.3.2.5. Lazer ile aktivasyon

Etki mekanizması solüsyonda mikro kavitasyon oluşumunun ardından lazer enerjisinin hızlı emilimiyle kabarcıkların patlaması şeklindedir (83). Diod, erbium, Nd:YAG (Neodymium-yttrium-aluminum-garnet) ve CO2 lazer irrigasyon solüsyonlarının aktivasyonunda sık kullanılan lazerlerdir.

Er:YAG (Erbium yttrium- aluminum-garnet) lazer 2940 nm dalga boyuna sahip suda yüksek absorpsiyona sahip bir lazerdir. Hidroksiapatite yüksek afinite göstermesi nedeniyle endodontide tercih edilmektedir. Kanal içinden organik ve inorganik artıkları uzaklaştırmada etkili bir yöntemdir (84).

Nd:YAG lazer antibakteriyel etkisini dentinde 1 mm derinliğe kadar gösterebilirken biyofilmlere etki göstermesi direkt maruziyette bile zordur (85).

PIPS (Foton indüklü fotoakustik dalgalanma) günümüzde günümüzde kullanımı yaygınlaşmış lazer irrigasyon aktivasyon yöntemidir. Bu uygulamada bir uç pulpa

odasındaki irrigasyon solüsyonuna daldırılarak düşük enerjili yayan kısa darbeler oluşturur (83). Aktivasyon yöntemlerinin biyofilm kaldırmadaki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada PIPS yönteminin ultrasonik tekniklere göre daha etkili olduğu görülmüştür (86). Lazer ile irrigasyon aktivasyonu alanında son gelişme SWEEPS (Şok dalgası ile geliştirilmiş emisyon fotoakustik dalgalanma)'tir. Bu cihazda Er:YAG lazer ve pulpa odasının içine yerleştirilmiş bir fiber uç kullanılır. Son derece kısa lazer atımları ile fotoakustik akım üretilir (87). Lazer ile aktivasyonun en büyük dezavantajı apikalden solüsyon taşıma riskidir. (88).

2.3.2.6. Multisonik aktivasyon

Kimyasal debritlemada kullanılan yeni tekniklerden biri de multisonik aktivasyondur. Farklı frekanslardaki ses dalgalarıyla baloncuklar oluşur ve patlar. Bu sayede kanaldaki solüsyonunun hareketi artırılır. GentleWave (Sonendo, CA, ABD) bu prensip ile çalışan bir cihazdır. Bir çalışmada multisonik aktivasyon uygulamasının ultrasonik aktivasyona göre bakteri sayısında daha fazla azalmaya sebep olduğu gözlenmiştir (89). Dokuları çözme yeteneği de ultrasonik aktivasyona göre daha başarılı bulunmuştur (90).

2.3.2.7. Eğeleme ile Birlikte Yapılan İrrigasyon Aktivasyon Yöntemleri

Quantec E irrigasyon sistemi (SybronEndo, Orange, CA, ABD) preparasyon sırasında devamlı irrigasyonu sağlayan bir sistem şeklindedir (91). Sistemin aktif preparasyon sırasında solüsyonun sürekli aktivasyonunu sağlaması ile irrigasyon hacmini artırması ve bu sayede temas süresi ve penetrasyonu artırması beklenmektedir (91). Ancak standart iğne irrigasyonuna göre, koronal üçte birlik kısımda etkili debris ve smear temizliğine rağmen bu etki orta ve apikal üçte ikide görülmemiştir (92). Başka bir çalışmanın sonuçlarına göre ise iki sistem arasında bir fark yoktur (91).

Self adjusting file (SAF) (ReDent-Nova Ltd., Ra'anana, İsrail), tüm kanal boyunca fazla miktarda dentin kaldırarak sağlıklı doku miktarını azaltan döner eğelerin aksine kanalın her bölgesinden eşit şekilde dentin kaldırırken eş zamanlı olarak yaptığı irrigasyonla hem zamandan tasarruf hem de minimal invaziv bir tedavi imkânı sunar (93).

SAF sistemi, içi boş şekillendirici bir kısımdan ve boşluktan devamlı irrigasyon akışı sağlayan bir pompadan oluşur (94). Kök kanalı boyunca enine kesit de dahil olmak üzere tüm yüzeye uyum sağlayan silindirik nikel-titanyumdan oluşan içi boş kafes şeklinde tasarlanmıştır (95). Gagalama hareketleri ile beraber titreşimler solüsyonun taze solüsyon

ile yer değiştirmesini sağlar (93). Kök kanal duvarını fırçalama etkisi ile kanal sökümünün son aşamasında ve oval kanalların temizliğinde kullanışlı olurken basınçsız irrigasyon özelliği ile kök ucu açık dişlerin tedavisinde kullanımı avantajlı olacaktır (93). Hem boyuna hem de enine kesitte kök kanalının orijinal şeklinin korunmasına yardımcı olmaktadır. Bu sayede eğimli kanalların düzleşme riski azalacak strip perforasyonlardan kaçınılacaktır (96). Bir alışma, SAF sisteminin pulpa artıklarını uzaklaştırmada döner eğeler ve standart iğne irrigasyonundan daha etkili olduğunu göstermiştir (97). Kök kanal dolgu materyalinin kanal duvarların adaptasyonunun incelendiği bir çalışmada oval kanallarda standart iğne irrigasyonu ve döner eğelerle yapılan preparasyon sonrası kanal duvarlarının büyük bir kısmına ulaşılamadığı grlmştir. Bunun sonucu olarak kanal dolgusunun adaptasyonunun sınırlı olduğu gözlenmiştir. Buna karşılık SAF sistemi kullanılarak yapılan kanal duvarlarının büyük bir kısmının preparasyona dahil edildiği grlmştir (98)



Resim 2.6. Self Adjusting File

2.4. İrrigasyon Solüsyonlarının Kök Dentin Kırılma Dayanımı zerindeki Etkileri

Kök kanal tedavisinin vazgeçilmezleri olan irrigasyon solüsyonları dentinde mekanik ve kimyasal değişimler meydana getirebilmektedir (99). Dentin karmaşık organik ve inorganik bir yapıdan oluşur. Organik matrisinin ana bileşeni, dokuların sertliğinden sorumlu olan ve apatit kristalleri tarafından korunan tip I kolajendir (100).

İrrigasyon ajanlarından etkilenen dentinin değişen mekanik özellikleri arasında mikro sertlik, kırılma dayanımı, elastisite modülü, geçirgenlik ve çözünürlük bulunur (101). Bu değerlerde azalma meydana geldiğinde, kök kanallarının fonksiyonel yüklere karşı direnci azalabilir ve kökler kırılmaya daha duyarlı hale gelebilir (102).

NaOCl, endodontik uygulamada en çok kullanılan irrigasyon maddesidir ve dokular üzerinde proteolitik bir etki ile karakterizedir; bu etki, dentini olumsuz etkiler ve organik

bileşenlerin azalmasına neden olurken kanal tedavisi yapılmış bir dişin kırılma dayanıklılığına atfedilen birincil neden olan dentin nemini azaltır (103). NaOCl' nin dentinin elastik modülünde, kırılma dayanıklılığında ve mikro sertliğinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (104–107). NaOCl konsantrasyonundaki artışın bu etkileri artırdığı gösterilmiştir (108). Başka bir çalışmada NaOCl'nin ısıtılmasının dentin dayanımı üzerine etkisi araştırılmış ısı artışının anlamlı bir farka neden olmadığı görülmüştür. Bu nedenle ısıtılarak kullanılan düşük konsantrasyonda NaOCl'nin hem etkinliğinin yüksek hem de dentine verdiği zararın az olması sebebiyle tercih edilebileceği vurgulanmıştır (109).

EDTA, peritübüler ve intertübüler dentinin aşınmasından kaynaklanan inorganik bileşenlerin çözünmesi için kullanılan bir şelat oluşturu maddedir. NaOCl ile birleştirildiğinde EDTA, dentinin ana inorganik bileşiği olan hidroksiapatitte bulunan kalsiyum iyonlarının şelatlanması yoluyla dentinin inorganik bileşenlerini demineralize ederek smear tabakasının çıkarılmasının etkinliğini artırır. Ayrıca, EDTA'nın tek başına veya NaOCl ile birlikte kullanılmasının dentin mikro sertliğini ve kırılma dayanımını azalttığı bulunmuştur (99,110).

Kök dentininin yumuşamasının, kanal dolum patlarının adezyonunu ve sızdırmazlığını olumsuz etkileyebileceği belirtilmiştir (111). Kök kırığı, etkilenen dişin kötü prognozu ile ilişkili olması ve kök kanal tedavisinden sonra diş kaybının ana nedeni olarak kabul edilmesi nedeniyle endodonti için klinik öneme sahip bir sorundur (112). Bu nedenle, dentinin mekanik ve kimyasal özelliklerini iyileştirmek için kök kanal irrigasyon protokolüne dahil edilecek alternatif veya ek ajanların araştırılması devam etmektedir.

2.5. Nanopartiküller

Nanobilim, nanometre ölçeğinde (milimetrenin milyonda biri) madde, parçacık ve yapıların incelenmesi ve işlenmesi anlamına gelir. **Nanoteknoloji ise** nanoboyutlu bileşenlerin birçok alanda uygulamasıdır. Bir materyalin nanomateryal olarak kabul edilebilmesi için, içindeki doğal veya üretilmiş partiküllerin en az %50 sinin 1-100 nm arası boyutlarda olması gerektiğini Avrupa Komisyonu tarafından bildirmiştir (113). Nanopartiküller düşük sitotoksikite ve antimikrobiyal özellik gösterirler. Nanopartiküllerin boyutlarının küçüklüğü kök kanallarının kompleks anatomisinde ve dentin tübüllerinde etkisini gösterebilmesini sağlayabilir (114). Bu özellikleri diş hekimliğinde kullanımını kolaylaştırmaktadır (115). Endodontide nanopartiküller üzerine

çalışmalar; dentinin mekanik özelliklerini iyileştirme ve antimikrobiyal etki gibi amaçlarla yapılmaktadır (116–118). Bu sebeple, son zamanlarda diş hekimliğinde nanopartiküllerin kanal içi medikamentlere ve irrigasyon solüsyonlarına dahil edilmesi yaygın hale gelmiştir (8). Nanopartiküllerin kök kanalında enfeksiyona neden olan mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (8). Bununla beraber, irrigasyon solüsyonu olarak nanopartikül içeren bir ajan kullanımının dentinin fiziksel özelliklerini geliştirilebileceği çalışmalarda gösterilmiştir (119–121).

2.5.1. Metal İçerikli Nanopartiküller

Metal içerikli nanopartiküller, özellikle gümüş (Ag), altın (Au), çinko oksit (ZnO) ve titanyum dioksit (TiO₂) gibi metaller kullanılarak geliştirilen, tıbbi uygulamalarda yaygın biçimde yer alan nanomateryallerdir (122). Bu nanopartiküller antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve antioksidan özellikleri sayesinde diş hekimliği, yara tedavisi ve ilaç taşıma sistemleri gibi alanlarda kullanılmaktadır (122). Özellikle gümüş nanopartiküller, geniş spektrumlu antimikrobiyal etkileri nedeniyle endodontik irrigasyon solüsyonu olarak kullanımı araştırılmaktadır (123). Ancak bu nanopartiküllerin sitotoksikite potansiyeli nedeniyle dikkatli kullanılması gerekmektedir (123).

2.5.2. Bioaktif Cam Nanopartikülleri

Bioaktif cam nanopartikülleri, vücut sıvılarıyla temas ettiğinde yüzeylerinde hidroksiapatit benzeri bir tabaka oluşturarak kemik ve diş dokuları ile güçlü bir bağ kurabilen ileri düzey biyomalzemelerdir. Nano boyutta sentezlenmeleri, yüzey/hacim oranını artırarak hücre etkileşimini ve biyolojik yanıtı iyileştirir (124).

Osteojenik etkilerinin yanı sıra, antibakteriyel özellik kazandırmak amacıyla gümüş, bakır veya çinko gibi iyonlarla da depo edilebilmektedir. Bu nanopartiküller, kemik defektlerinin onarımı, kök ucu dolgu maddeleri ve kemik greft materyalleri gibi pek çok dental uygulamada umut vaat etmektedir (125).

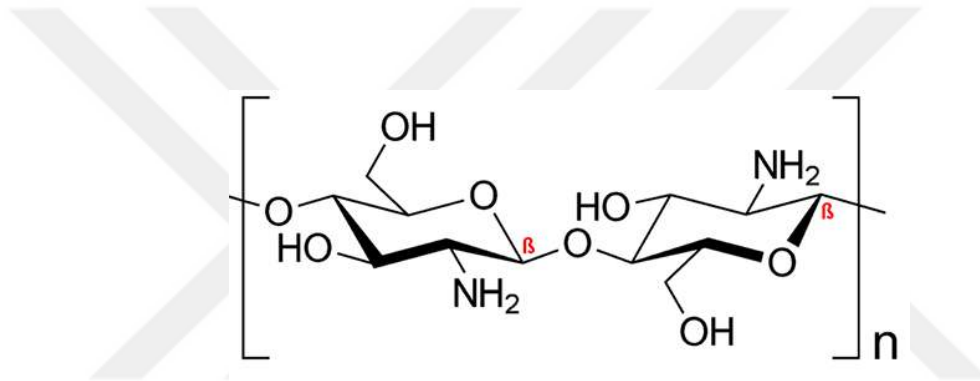
2.5.3. Karbon bazlı nanopartiküller,

Özellikle grafen oksit (GO), karbon nanotüpler (CNT) ve karbon kuantum noktaları gibi karbon allotroplarına dayalı nanoyapılar olarak tanımlanır. Bu yapılar üstün mekanik dayanım, yüksek yüzey alanı, elektriksel iletkenlik ve biyouyumluluk gibi özellikleri sayesinde biyomedikal alanda dikkat çekmektedir. Özellikle ilaç taşıma sistemleri, doku mühendisliği iskeleleri ve antimikrobiyal kaplamalar için kullanımları giderek

artmaktadır. GO hem hidrofilik özellikleri hem de çeşitli yüzey fonksiyonel grupları ile ilaç moleküllerine yüksek bağlanma gösterir. CNT 'ler ise sinir doku rejenerasyonundan gen taşıyıcılara kadar farklı alanlarda araştırılmaktadır (126).

2.5.4. Kitosan

Kitosan, yengeç ve karides kabuklarında bulunan kitinin alkali hidrolizi ile elde edilen doğal bir polisakkarittir. Rastgele dağılmış β -(1, 4)-bağlı d-glukozamin (deasetillenmiş) ve N-asetil-d-glukozamin (asetillenmiş) ünitelerinden oluşan, toksik olmayan, biyouyumlu bir polimerdir (127). Kitosan çapraz bağ oluşumu için çapraz bağlayıcı ajanlarla reaksiyona girmek üzere kullanılabilen bol miktarda hidroksil ($-OH$) ve amin ($-NH_2$) içeren fonksiyonel gruba sahiptir (127). Pozitif yüklü ve hidrofilik özelliktedir.



Şekil 2.5. Kitosanın moleküler yapısı

Kitosan antibakteriyel, antiviral ve antifungal özelliklere sahiptir (128).

Hemostatik özelliği ile hücre proliferasyonunu ve yapısal doku organizasyonunu indükleyici etki gösterir. Yara iyileşmesine katkısı bilinmektedir (129). Kitosan partiküllerinin pozitif yük yapısı negatif yüke sahip bakteri yüzeyi ile kolayca etkileşime girmektedir. Bu şekilde bakteri zarı yüzey permeabilitesini artırarak hücre içi bileşenlerin dış ortama sızmasını sağlar ve hücre ölümünü gerçekleştirir (130). Kitosanın antibakteriyel özelliğinin incelendiği bir çalışmada 10 ve 20 mg/mL konsantrasyondaki kitosan nanopartiküllerinin enfekte kök kanal sisteminde bulunan dirençli bir bakteri olan *E. faecalis*'e karşı etkili olduğu gösterilmiştir (131).

Kitosan nanopartiküllerinin kolajendeki kolajenaz bağlanma bölgelerini bloke ettiğini ve/veya kolajenazın enzimatik aktivitesini doğrudan inhibe ettiğini ve böylece tip I kolajenin bozunmaya karşı direncini artırdığı bildirilmiştir (132). Kitosanın bir türevi

olan karboksimetil kitosan (CMCS), diğer reaktif moleküllerle çapraz bağ oluşturabilen çok sayıda serbest hidroksil, amino ve karboksil grubuna sahiptir (133).

Kitosanın 6-hidroksil veya amino grubu üzerinde karboksimetilasyon yoluyla, CMCS sentezlenir. Karboksil gruplarının bağlanmasıyla, CMCS sulu çözeltide gelişmiş çözünürlük ve kalsiyum iyonlarına karşı kompleks oluşturma kapasitesi sergiler ve poli-amfoterik elektrolit özellikleri glikoz aminoglikanlara daha çok benzerdir (134,135). Bir çalışmada, CMC'nin amorf kalsiyum fosfat (ACP) nanopartiküllerinin stabilizasyonunu kolaylaştırabileceği ve yüksek karboksil grupları bolluğuna dayanarak bunların agregasyonunu engelleyebileceği sonucuna varılmıştır (136). Birkaç çalışmada, ACP'yi stabilize etmek için CMC'yi kollajen olmayan proteinlerin (NCPs) analogu olarak kullanılmış ve in vitro kollajenin intrafibriler mineralizasyonunu sağlamıştır (137–139).

Başka bir çalışmada kök kanal preparasyonu ve %2,5 NaOCl ile %17 EDTA uygulaması sonrasında, kök dentini suda çözünen karboksimetil kitosan solüsyonu (CMCS) içindeki kitosan nanopartikülleri ve 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid (EDC)/ N hidrosüksinimid (NHS) ile 8 saat süresince çapraz bağlanmıştır. Çapraz bağlı kitosan uygulamasının, kök dentinindeki gerilme dağılımını iyileştirdiği gözlemlenmiştir (119).

2.6. Çapraz Bağlayıcı Ajanlar

Kollajen hücre dışı matriksin önemli bir bileşenidir (140) Tip I kollajen fibriller dentin organik matriksinin %90'ını oluşturmaktadır. Kollajenin zayıf mekanik dayanıklılığı, yetersiz termal stabilitesi ve enzimlere karşı düşük direnci gibi özelliklerini iyileştirmek amacıyla yapılan çalışmaları artırmıştır (141).

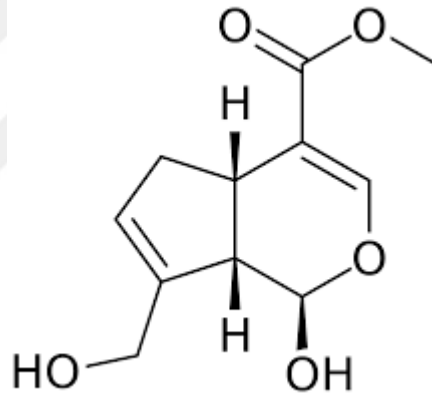
2.6.1. Gluteraldehit

Kısa sürede çapraz bağlar oluşturması nedeniyle bir dönem gluteraldehit en sık kullanılan çapraz bağlayıcı ajan olmuştur. Fakat, çapraz bağlama sonrası gösterdiği sitotoksitite nedeniyle farklı ajan arayışları vardır (142). Gluteraldehite alternatif olarak EDC kullanılabilir. NHS ise çapraz bağlantı verimliliğini artırmak için stabilizatör olarak kullanılabilir. Fakat, bu kimyasal ajanların uygulanması için uzun sürelere ihtiyaç vardır ve belirli konsantrasyonların üzerinde sitotoksik olabilirler (143).

2.6.2. Genipin

Düşük sitotoksisiteye sahip, stabil ve biyoyumlu çapraz bağlı ürünler oluşturabilen bir çapraz bağlayıcı ajan olan genipin, *Gardenia jasminoides Ellis*'in meyvelerinden izole edilebilen ana bileşiği geniposidden elde edilebilir (144,145).

Genipin, antioksidan ve anti-inflamatuar etkiler de dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik aktivite sergiler(146). Genipin serbest amino gruplarının lizin, hidroksillizin ve arginin ile çapraz bağlantısını teşvik eder (146). Kollajen dokusunda genipinin çapraz bağlantı reaksiyonları siklik gruplarca sağlanır. Diğer doğal biyoyumlu çapraz bağlantı ajanlarının yanında genipin uygulaması da artiküler kıkırdak doku mühendisliği, kitosan kombinasyonları ile birlikte oftalmik implantlar, sinir rejenerasyonu uygulamaları gibi biyomedikal uygulamalar arasında yerini almıştır ve diğer çapraz bağlantı ajanlarına göre avantaj sağladığı gösterilmiştir (147).



Şekil 2.6. Genipinin moleküler yapısı

Genipinin dentin kollajeninin çekme mukavemetini artırabildiği ve enzimatik bozunmaya karşı kollajen stabilizasyonuna katkıda bulunabildiği gösterilmiştir (16,147).

Genipinin glutaraldehit ile karşılaştırıldığı bir çalışmada elde edilen sonuçlar, genipinin yaklaşık 10.000 kat daha az sitotoksik olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak koloni oluşturma deneyi ile, genipine maruz kaldıktan sonra hücrelerin çoğalma kapasitesinin glutaraldehite maruz kaldıktan sonra olduğundan yaklaşık 5000 kat daha fazla bulunmuştur (148).

Demineralize ve demineralize olmayan dentin kesitlerinin kullanıldığı bir çalışmada, %0,6 konsantrasyonlu genipin solüsyonunun dentinin kırılma direncini kontrol grubuna ve gluteraldehite kıyasla anlamlı derecede artırdığı gözlenmiştir (16).

Son yıllarda çürük oluşum mekanizmasında bakteri ürünlerinin diş dokusu ile temasının yanında kollajenazların da etkili olduğu bilinmektedir (149). Kollajenaz aktivitesini engellemek böylece köklerde meydana gelebilecek kırık ve çatlakların önüne geçebilmek önemli bir konudur (149).

2.7. Fotodinamik çapraz bağlama

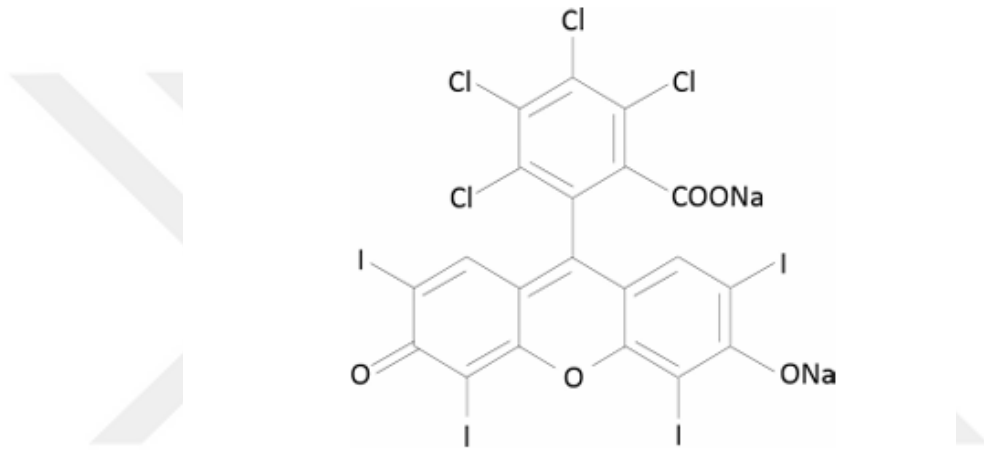
Fotodinamik çapraz bağlama, uygun dalga boyundaki bir ışık altında bir fotosensitizör kullanılarak çapraz bağlanmanın gerçekleştirilmesidir. Geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivitesi ve proteinler ile kolajenin çapraz bağlanmasını sağlama yeteneği nedeniyle biyomedikal alanda kullanılmaktadır (150–152). Üretilen singlet oksijen, rose bengal (RB) gibi uygun fotosensitizörlerin varlığında kolajen moleküllerinde ve diğer mevcut proteinli aktif bölgelerde moleküller arası ve molekül içi kovalent çapraz bağların oluşumunu kolaylaştırır (150). Elastin ve kitosan gibi biyopolimerlerin kolajen ile çapraz bağlanmasının kolajen yapılarını güçlendirdiği bildirilmiştir (153,154).

Dokuların fotokimyasal çapraz bağlanmasının farklı kullanım alanları olmuştur. Bunlar dört kategoriye ayrılır, ancak bazı uygulamalar kategorilerin bir kombinasyonu olarak düşünülebilir.

- 1) Yara iyileştirme: Fotodinamik çapraz bağlama, iki doku yüzeyi arasında meydana gelir ve yara kapanması ile sonuçlanır. Tıpta sinir ve tendon onarımlarında kullanılır (155).
- 2) Biyomekanik güçlendirme: Fotodinamik çapraz bağlama, bir doku içinde meydana gelir ve dokunun mekanik özelliklerinde iyileştirir. Genellikle artan mekanik mukavemet sağlar. Diş hekimliğinde dentin direncinin artırılması örnek olarak verilebilir (155).
- 3) Fotokimyasal doku pasivasyonu (PTP): Fotodinamik çapraz bağlama, bir doku içinde meydana gelir ve dokunun biyolojik tepkisinde bir değişikliğe yol açar. Çeşitli duyarlı dokularda skarlaşmayı azaltarak sonrasında oluşan skar kontraktürünü azaltmada umut vadettiği gösterilmiştir (155).
- 4) Doku mühendisliği: Fotodinamik çapraz bağlama, bir jel matrisini veya biyomalzemeyi hücreler için daha uygun hale getirmek ve yenilenmiş bir doku sağlamak üzere modifiye etmek için uygulanır (155).

Fotodinamik çapraz bağlama ile ilgili yapılan bir çalışmada RB gibi fotoduyarlaştırıcıları uygun bir ışık dalga boyuna (540 nm) maruz bırakılmasının kollajenin hızlı ve kararlı kovalent çapraz bağlanmasını indüklediği bildirilmiştir (152) .

RB, tüm fotosensitizörlerin içinde fotosensitivite ve sono-sensitivite özellikleri ile çok yönlü olanlarından biridir. Bu özelliklerinin yanında düşük fiyatı, kolay bulunabilirliği, bir araya geldiğinde, RB biyomedikal araştırmalarda kullanım için iyi bir aday haline gelmiştir. RB (4,5,6,7-tetrakloro-20,40,50,70-tetraiyodofluorescein disodyum) üç doğrusal olarak düzenlenmiş aromatik halkadan ve merkezde bir oksijen atomundan oluşur (156).



Şekil 2.7. Rose bengalin moleküler yapısı

Kimyasal ve fotodinamik çapraz bağlamanın ve suda çözünür karboksimetil kitosan (CMCS)'ın eş zamanlı olarak kullanılmasının dentin kollajeninin mekanik özellikleri üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada elde edilen bulgular, kimyasal ve fotodinamik çapraz bağlamanın dentin kollajeninin enzimatik bozunmasını geciktirdiğini ve aynı zamanda dayanıklılığı artırdığını yönünde oldu (11).

CSRBnp kullanıldığı bir çalışmada, fotoaktifleştirilmiş CSRBnp, *Enterococcus faecalis* biyofilmlerinin canlılığının azalmasına ve biyofilm yapısının bozulmasına neden olmuştur. Ayrıca dentin kollajeninin bozunmaya karşı direncini ve mekanik mukavemetini önemli ölçüde iyileştirmiştir ($p<0,05$) (13).

Kimyasal olarak çapraz bağlanmış kolajen, fotodinamik olarak çapraz bağlanmış kolajene benzer fiziksel ve mekanik etkiler gösterse de kimyasal yöntemlerle kararlı çapraz bağlar oluşturmak için gereken işlem süresi çok daha uzundur (157).

2.8. Işıık kaynakları

Fotodinamik apraz bağlama için önceleri koherent olmayan ve polikromatik beyaz ışıık kaynağı kullanılmaktaydı. Fotodinamik apraz bağlama için 3 çeşit ışıık kaynağı kullanılmıştır. Bunlar; lazerler, LED (light-emitting diode) ‘ler ve halojen lambalardır. Bu grupların içinde lazerler diğer kaynaklardan daha başarılı bulunmuştur ancak fiyatları oldukça yüksektir. Aralarında diyot lazerler kolay kullanılabilir, taşınabilir ve ucuz olmaları sebebiyle en çok tercih edilen ışıık kaynağı olmuştur (158).

Fotodinamik etkileşimler, uygun fotosensitizere özgü dalga boyundaki ışıık tarafından fotosensitizrn aktive edilmesiyle başlar. Fotosensitizrn absorpsiyon dalga boyu, ışıık kaynağının dalga boyuyla eşleşmelidir. En yaygın kullanılan fotosensitizrlerin birden fazla emilim tepe noktası vardır (kırmızıda birkaç Q bandı (600-700 nm) ve mavide Soret bandı (~400 nm)); ancak, ışığın dokuya daha derin nüfuz etmesi nedeniyle daha uzun dalga boylu bir ışıık kaynağı tercih edilir ve bu da daha büyük bir hedef dokuya uygulanmasına olanak tanır (159).

2.9. Dişlerin kırılma dayanımının llmesi

Kırılma direnci testi, özellikle kanal tedavisi görmüş veya restoratif işlem uygulanmış dişlerin, çiğneme gibi fonksiyonel kuvvetlere karşı ne ölçüde dayanıklı olduğunu belirlemek için kullanılan önemli bir mekanik testtir (160). Bu test genellikle evrensel test cihazları (Universal Testing Machine, UTM) ile gerçekleştirilir. Testte önce diş veya diş grubu özel olarak hazırlanmış bir aparatla sabitlenir. Ardından, çiğneme kuvvetini simüle etmek amacıyla dikey veya açılı yönde kontrollü bir hızla (genellikle 0.5–1 mm/dk) yk uygulanır (161). Dişin kırıldığı anda uygulanan maksimum kuvvet (Newton veya kilogram cinsinden) cihaz tarafından ölçülür. Bu kuvvet, dişin veya restorasyonun kırılma direnci olarak kabul edilir.

Testin başarısı için bazı standart hazırlık adımları gereklidir. Öncelikle dişler, klinik ortamı taklit edecek şekilde akrilik rezin ve silikon bazlı materyallerle vrelenerek alveolar kemik ortamı simüle edilir. Daha sonra dişin kök kısmı belirli bir derinliğe kadar bu simülasyona gömülür. Böylece, yalnızca ta kısmı ve kökün alveolar kemik dışında kalan kısmı yüklemeye maruz kalır ve gerçekçi sonuçlar elde edilir (160).

Çalışmamızın amacı kitosan nanopartikül, karboksimetil kitosan, rose bengalle işlevselleştirilmiş kitosan nanopartikül ve genipinin kanal tedavili dişler üzerinde

irrigasyon solüsyonu olarak kullanıldığında kök kırılma direnci üzerine etkilerini araştırmaktır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu laboratuvar çalışması 2020/373 numaralı, 30.06.2021 tarihli Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından uygun bulunmuş (Ek-1) ve Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından DHF.UT.24.07 numaralı proje ile desteklenmiştir. Çalışmamızın deney ve analizleri Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, Gaziantep Üniversitesi Mühendislik fakültesi Metalurji ve Malzeme bölümü, Gıda mühendisliği bölümü Ar-Ge Laboratuvarları, Gaziantep Üniversitesi Uluğ Bey Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (ULUTEM)’nde gerçekleştirilmiştir.

3.1. Örneklerin Hazırlanması

Kökünde kurvatür olmayan tek köklü ve tek kanallı 60 küçük azı dişi seçilmiştir. Çürük veya kök çatlakları bulunan, daha önceden endodontik tedavi görmüş, post veya kron uygulanmış, rezorbsiyonu olan ve lateral kanallara sahip olan dişler çalışmaya dahil edilmedi. Dişlerin kanal sayısı alınan periapikal filmle belirlendi. Diş boyutlarını standardize etmek için birbirine yakın boyutlardaki dişler seçildi. Dişlerin kronları köklerinden separe yardımı ile ayrıldı. Kanal boyları ölçülerek apikalden 0.5 mm kısa olacak şekilde en son 40.04 döner sistem eğesi (Endoart, İstanbul, Türkiye) ile şekillendirildi. Her eğeleme sonrasında, kanallar %5 konsantrasyonlu NaOCl (Werax, Türkiye) ile irrigate edildi. Şekillendirme sonunda tüm örneklerin kanallarına 1 dakika boyunca toplam 10 ml %5 konsantrasyonda NaOCl ile irrigasyon yapıldıktan sonra kanallar serum fizyolojikle yıkandı daha sonra 1 dakika boyunca 5 ml %17’lik EDTA (Rehber Kimya San. Ve Tic., İstanbul, Türkiye) ile irrigasyon yapıldı. Dişler bu aşamadan sonra randomize olarak 5 gruba ayrıldı.



Resim 3.1 Örneklerin hazırlanması

- 1) Kontrol grubu: Ek irrigasyon yapılmadı
- 2) Kitosan nanopartikül grubu: 1 ml %0,5 CSnps ile 1 dakika irrigasyon yapıldı.
- 3) Karboksimetil kitosan grubu: 1 ml %5 CMCS ile 1 dakika irrigasyon yapıldı
- 4) RB ile işlevselleştirilmiş kitosan nanopartikül grubu: 1 ml %0,03 CSRBnps ile 1 dakika irrigasyon yapıldı. Her kanala bir dakika boyunca 940 nm dalga boyunda 1,5 W gücünde diyet lazer uygulandı. Her 20 saniyede bir 20 saniye ara verildi.
- 5) Genipin grubu: 1 ml %0,5 genipin ile 30 dk irrigasyon yapıldı.

3.2. Kitosan Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Kitosan nanopartikülleri (Csnps), daha önce bildirilen yöntemle dayalı olarak kitosan'ın tripolifosfat (TPP) anyonları ile iyonik jelleşmesi ile üretilmiştir(162). %0.5 lik kitosan çözeltisi oluşturmak için düşük molekül ağırlıklı 1,25 mg kitosan (Bio Basic, Shanghai, Çin) %1 asetik asit (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) çözeltisinde çözündürüldü ve pH'ı, 10 M NaOH (DASLAB, İstanbul, Türkiye) çözeltisi ile 5'e kadar yükseltildi. KN'ler 1000 rpm hızında karıştırma altında 3 birim kitosan çözeltisine su içinde 1 birim %0.25 TPP (ZAG Kimya, İstanbul, Türkiye) eklenerek oluşturuldu. Nanoparçacıklar, 30 dakika boyunca 6000 rpm'de santrifüj cihazı (Eppendorf, Hamburg, Almanya) ile ayrıldı. Süpernatant atıldı. KN'ler, NaOH'yi uzaklaştırmak için deiyonize suyla yıkandı ve daha sonra tekrar kullanılmadan önce freeze dryer (Christ, Osterode Am Harz, Almanya) ile dondurularak kurutuldu. Nanopartiküllerin boyutu Mastersizer 3000 (Malvern Panalytical, Malvern, Birleşik Krallık) cihazı ile ölçüldü.



Resim 3.2. A) Sodyum Hidroksit B) Asetik asit



Resim 3.3. Sodyum Tripolifosfat ve Chitosan



Resim 3.4. Kitosanin hassas terazide tartılması ve pH'ının ölçümü



Resim 3.5. Santrifüj cihazı

3.3. Kitosan Nanopartikül Solüsyonunun Hazırlanması

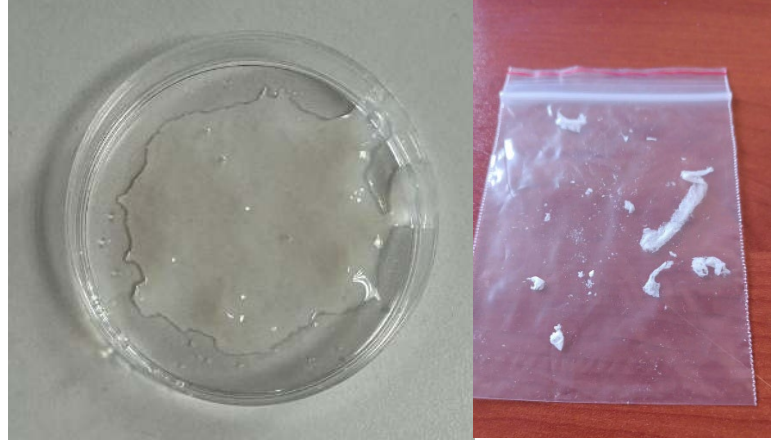
%0.5 (m/v)'lik solüsyon hazırlamak için 0.1 g kitosan nanopartikül tozu 20 ml distile su ile manyetik karıştırıcı (IKA C-MAG HS 7, Staufen, Almanya) yardımı ile karıştırıldı.



Resim 3.6. Manyetik karıştırıcı



Resim 3.7. Freeze Dryer

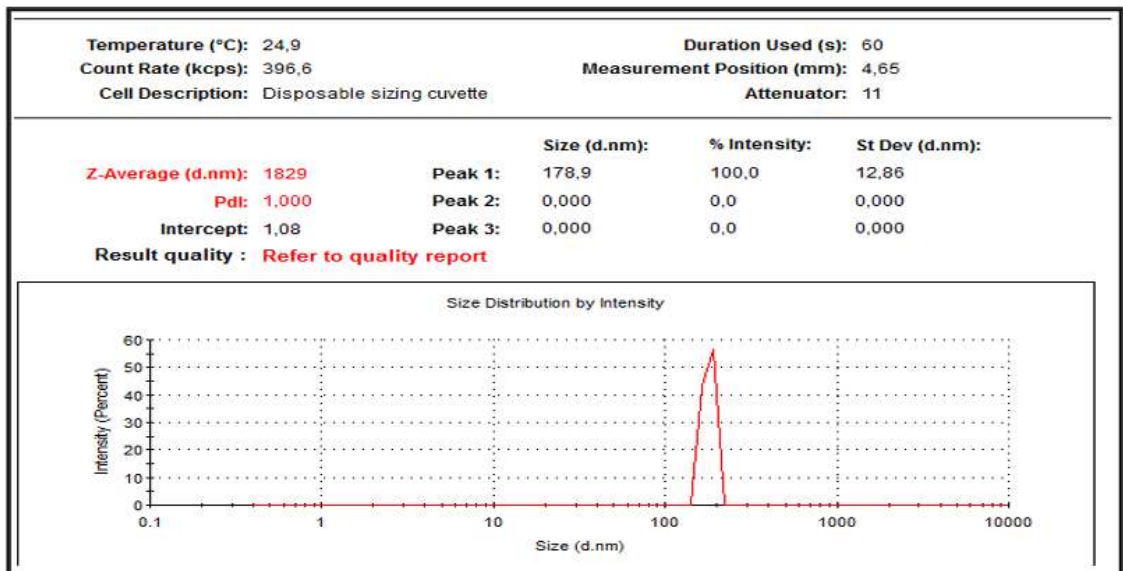


Resim 3.8. A)Santrifüj sonrası elde edilen kitosan nanopartikül B)Freeze dryer sonrası elde edilen kitosan nanopartikül



Resim3.9. Mastersizer 3000

3.4. Mastesizer ile Yapılan Ölçüm Sonucu



Şekil 3.1. Kitosan nanopartikülün zeta sizer ölçüm analizi

Literatüre göre, kitosan nanopartikül boyutunun 10-1000 nm değerleri arasında yer alması beklenmektedir (163). Endodonti alanında yapılan çalışmalarda, çoğunlukla 70-200 nm boyutları arasında nanopartiküller elde edilmiştir (164–170). Çalışmamızda literatüre uygun şekilde 178 nm boyutunda nanopartikül elde edildi.

3.5. Rose Bengalle İşlevselleştirilmiş Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması

RB ile işlevselleştirilmiş kitosan nanoparçacıkları (RBKN), CSnps'nin (RB) ile konjuge edilmesiyle daha önceki bir çalışmada bildirilen yöntemle göre sentezlenmiştir(171).Yukarıda bahsedilen yöntemle 1.5 gr kitosan tozu (Bio Basic, Shanghai, Çin) 300 ml %1 lik asetik asit (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) çözeltisinde çözdürüldü. Daha sonra Ph'sı 10 mM NaOH (DASLAB, İstanbul, Türkiye) çözeltisi ile 4.73'e getirildi. Daha sonra manyetik karıştırıcı altında (Topo, Shenzhen, Çin) 100 ml %0,25'lik TPP (ZAG Kimya, İstanbul, Türkiye) solüsyonu eklendi.5 ML 5 mM EDC (AmBeed, Arlington Heights, IL, ABD) çözeltisi ve 5 ml 5 mM NSH (AmBeed, Arlington Heights, IL, ABD) çözeltisi eklendi. Son olarak 1 mM 0,15 gr RB (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) eklenerek karanlıkta manyetik karıştırıcı ile 10 dakika karıştırıldı. Çözelti 20 dk 6000 rpm de santrifüj (Eppendorf, Hamburg, Almanya) edildi. Çökelti 0.45 µm porlara sahip 47 mm çapında diyaliz membranına (Isolab, Wertheim, Almanya) konularak 5 gün boyunca suyu değiştirildi. Tekrar santrifüj edilerek freeze dryerda (Christ, Osterode Am Harz, Almanya) dondurularak kurutuldu.



Resim 3.10. A) Rose bengal B) EDC C) NHS



Resim 3.11 A) Rose bengalin manyetik karıştırıcı altında eklenmesi B) Diyaliz membranına konulan solüsyon

3.6. Rose Bengalle İşlevselleştirilmiş Kitosan Nanopartikül Solüsyonunun Hazırlanması

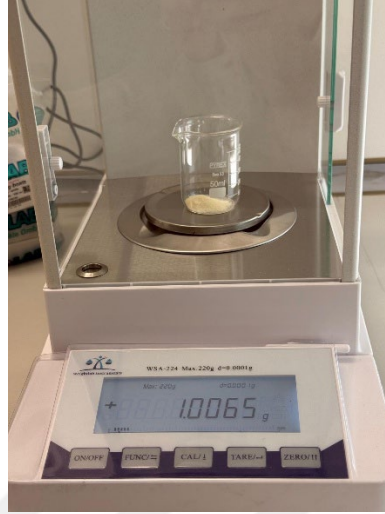
%0.03(w/v) solüsyon hazırlamak için 6 mg toz CSRBnp 20 ml distile su ile manyetik karıştırıcı yardımı ile karıştırıldı. Işık ile teması engellemek için cam beher alüminyum folyo ile kaplandı. Amber cam şişede ışık geçirmeyecek şekilde saklandı.



Resim 3.12. Rose bengalin diyot lazer ile aktifleştirilmesi

3.7. Karboksimetil Kitosan Solüsyonunun Hazırlanması

%5'lik karboksimetil kitosan hazırlamak için 1 g CMCS tozu (Santa Cruz Biotechnology Inc., ABD) 20 ml distile su içinde manyetik karıştırıcı yardımı ile çözündürüldü.



Resim 3.13. Hassas terazide CMCS miktarının ölçümü

3.8. Genipin Solüsyonunun Hazırlanması

%0,5 konsantrasyonlu genipin elde etmek için, toz halindeki 0.1 genipin (Ambeed Inc., Illinois, ABD) 20 mL dimetil sülfoksitte (BioShop Canada Inc., Ontario, Kanada) çözündürüldü.

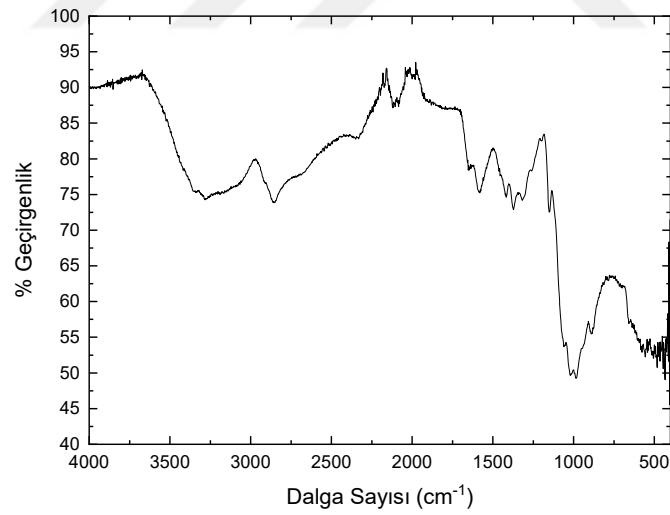


Resim 3.14. Genipin



Resim 3.15. Manyetik karıştırıcı yardımıyla solüsyonların hazırlanması

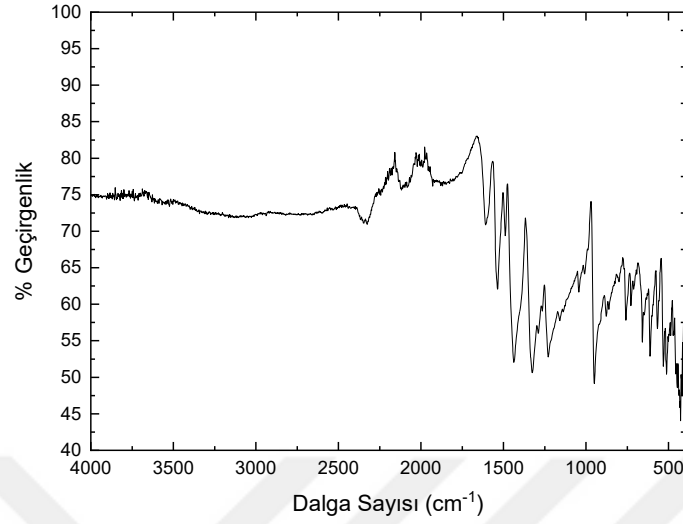
3.9. Solüsyonların FTIR analizleri



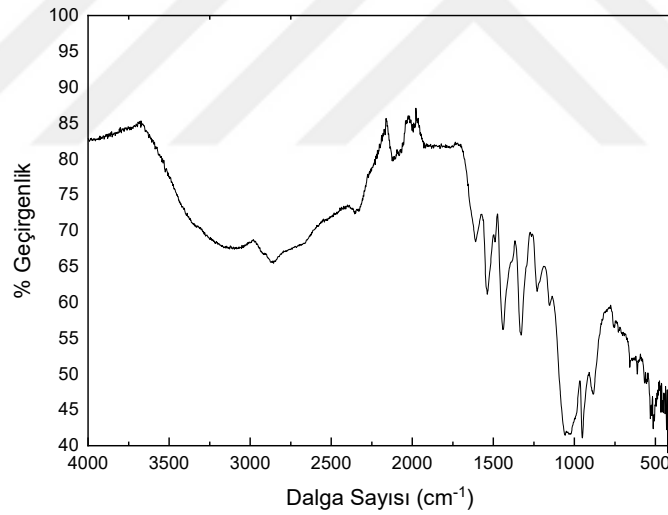
Şekil 3.2. Kitosanın FTIR grafiği

Kitosanın FTIR grafiğinin incelendiği bir çalışma 3400 cm^{-1} 'de bir tepe noktası gösteren spektrumların, OH ve aminlerin simetrik gerilme titreşimini, 2923,88 cm^{-1} 'deki emilim tepe noktasının, CH gerilmesinin varlığını, 1650,95'teki emilim bandının ise C=O gerilmesinden (amid I) kaynaklandığı belirtti. C-O gerilmesi için 1095,49 ve 1033,77 tepe noktaları tespit edildi. 894,91'deki tepe noktası, β -1-4 glikozidik bağı için ise

karakteristik bir bağı geren bir halka olduğu bildirildi (172). İzlenen bu tepe noktası değerleri bizim çalışmamızdaki sonuçlarla benzerdi.



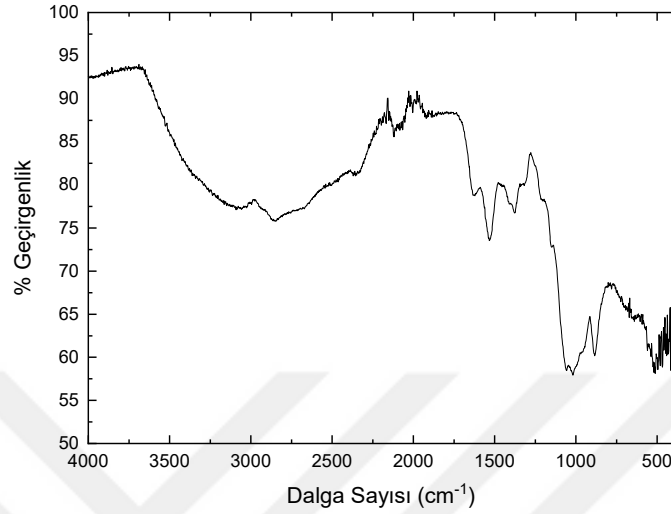
Şekil 3.3. Rose bengalin FTIR grafiği



Şekil 3.4. Rose bengalle bağlanmış kitosan nanopartikülün FTIR grafiği

Bu grafikte hem RB' e hem de kitosana özgü piklerin izlenmesi rose bengal ve kitosanın birbirine bağlandığının göstergesi olabilir. Kitosan ve CSRB spektrumlarında 1.651 cm⁻¹'de (amid I, karbonil gerilme titreşimi) ve 1.558 cm⁻¹'de (NH₂ bükülmesi) iki karakteristik pik belirgindi (26). Bununla birlikte, 1.558 ve 1.652 cm⁻¹'deki yoğunluk oranları CSRB'de kitosandan daha yüksekti ve bu da kitosanın serbest amin gruplarının RB'nin karboksil grubuyla bağ oluşturmak için kullanılması nedeniyle amid I bağlarının

azaldığını düşündürmektedir. Kitosanın sakkarit grubuna karşılık gelen pik (900 ila 1.100 cm^{-1}) de CSRB'de belirgindi. Kitosanın glukozamin birimlerinin karakteristik özelliği olan 1.388 cm^{-1} pik (-CH₂ bükülmesi) CSRB'de azalmıştı (173).



Şekil 3.5. Kitosan nanopartikülün FTIR analizi

CS spektrumunda FTIR analizinin sonuçlarına göre, OH grubunun tepe noktası 3424–3269 cm^{-1} 'de görüldü, yani 3424–3069 cm^{-1} belirtildiğinde H bağı güçlendi. Saf CS'de sırasıyla 1651 cm^{-1} (amid grubunda C=O gerilmesi, amid I titreşimi) ve 1592 cm^{-1} (amid grubunda N-H bükülmesi, amid II titreşimi) bantları, nanopartiküllerdeki TPP'nin fosforik grupları ile CS'nin amino grupları arasındaki etkileşim nedeniyle CSNP için 1628 cm^{-1} ve 1526 cm^{-1} 'e kayar. (NH₂) bükülme titreşiminin 1592 cm^{-1} piki, kitosanın yüksek derecede deasetilasyonunu gösteren 1651 cm^{-1} 'deki pikten daha keskindir. TPP'nin PO₄⁻² grubunun 1138–888 cm^{-1} 'deki piki de kitosan nanopartiküllerinde görüldü (174). Bu nedenle, sodyum polifosfatın polifosforik gruplarının kitosanın amonyum gruplarıyla etkileşime girdiği ve bunun kitosan nanopartiküllerinde hem moleküller arası hem de molekül içi etkileşimi artırdığı varsayılmaktadır (175).

3.10. Final İrrigasyon Protokolü

Solüsyonlar üretildikten sonra, final irrigasyon prosedürleri yukarıda hazırlanan konsantrasyonlarda dişlere uygulandı. Final irrigasyon solüsyonları, 1 mL olacak şekilde 1 dakika süre boyunca irrigasyon yapılarak uygulandı. Her bir solüsyon ile muamele sonrasında, kanallar distile su ile yıkandı. Genipin grubunda, genipin solüsyonu kanalda

30 dakika bekletildi ve sürenin sonunda genipinin etkinliğinin sonlandırılması amacıyla kanallar distile su ile yıkandı ve paper point (Ocean Pearl Dent Co., Ho Chi Minh City, Vietnam) ile kurutuldu. Gutta perka (Ocean Pearl Dent Co., Ho Chi Minh City, Vietnam) ve kanal patı (AH 26; Dentsply Detrey, Konstanz, Almanya) ile lateral kondensasyon tekniği ile dolduruldu. Örneklerin kural kısımları akışkan kompozit ile kapatıldı. Kırma testi için akrilik rezine gömölme aşamasına kadar nemli gazlı bez ile kaplı olarak bekletildi.

Dişlerin akrilik rezine gömölmesinden önce diş çevresi dokuların taklit edilmesi amacıyla köklerin koronal 2mm'lik kısımları hariç kalan kısımlar erimiş mum içine batırıldı. Böylece yaklaşık 0,2-0,3 mm'lik periodontal ligament boşluğu elde edilmiş oldu. Daha sonra diş kökleri 2 mm'lik kısımları dışarıda kalacak şekilde 20 mm çapında ve 20 mm yüksekliğinde hazırlanmış plastik silindir kalıplarda akrilik rezin içine (IMICRYL, Konya, Türkiye) gömüldü. Polimerizasyon başladığında örnekler çıkarılıp yüzeydeki mumlar küret yardımıyla temizlendi. Bu yüzeylere ince bir tabaka enjeksiyon tipi polivinil siloksan ölçü maddesi uygulandı ve tekrar akrilik rezin içine gömüldü ve polimerizasyon için bekletildi.

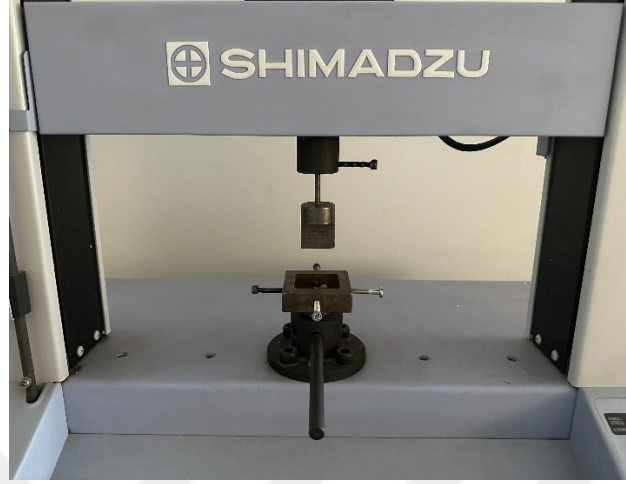


Resim 3.16. Ölçü maddesine ve akriliğe gömülmüş diş

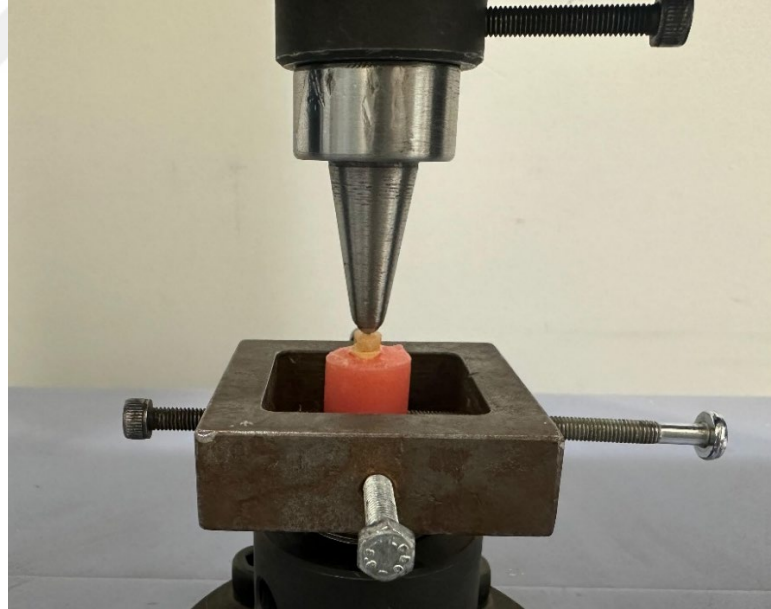
3.11 Kırma Deneyi

Kırılma dayanımı testi, 1 mm/dakika sabit hızda 4 mm çapında çelik bir küresel uç kullanılarak evrensel bir test makinesi (AGS-X; Shimadzu Corporation, Tokyo; Japonya) ile ve dişin uzun eksenine dik kuvvet uygulayacak şekilde gerçekleştirildi. Küresel uç her

numunenin kanalını dolduran guta perkanın ortasına hizalanmıştır. Kırılma anındaki kuvvet Newton (N) cinsinden kaydedildi.



Resim 3.17. Kırma Cihazı



Resim 3.18. 4 mm çapındaki kırma ucu



Resim 3.19. Dişin kırılmadan sonraki görüntüsü

3.12. İstatistiksel Yöntem

Çalışmadan elde edilen verilerin analizinde Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Analizler SPSS 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) programı yardımıyla gerçekleştirildi. $p < 0.05$ anlamlılık seviyesi seçildi.

4.BULGULAR

	N	Ort±SS	Medyan (Q1-Q3)	p
CMCS	12	1124.52±407	1164.5 (784.4-1395.1)	0.349
CSRBnps	12	1105.6±388.04	1090.8 (832.7-1301.2)	
CSnps	12	1226.22±436.86	1153 (857-1612)	
genipin	12	1260.12±523.67	1316.3 (836.7-1718.1)	
kontrol	12	929.63±279.02	855.3 (662.4-1215.6)	

Tablo 4.1. İstatistiksel analiz

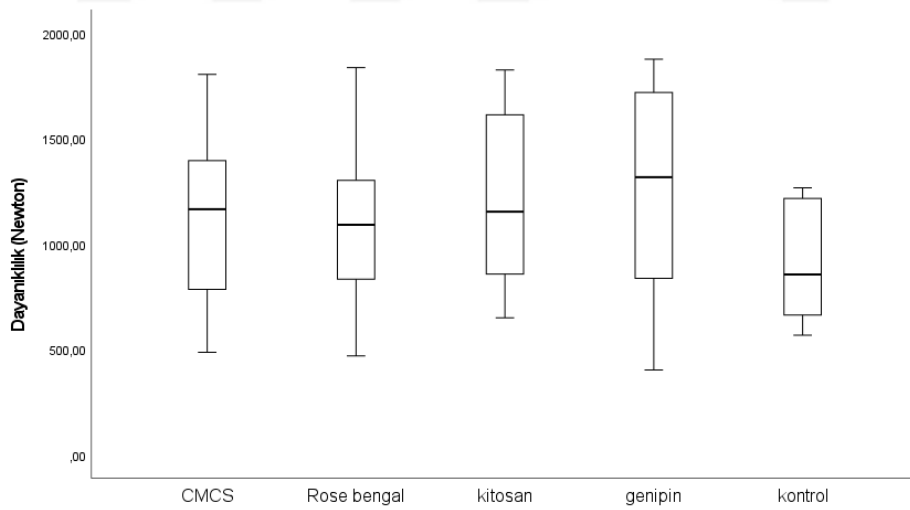
Elde edilen dayanıklılık değerleri çalışma gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ($p>0,05$).

N: Örneklem büyüklüğü (çalışmaya dahil edilen birey/ölçüm sayısı).

SS (ya da SD): Standart sapma

Q1 – Q3: Birinci çeyrek (25. persentil) ve üçüncü çeyrek (75. persentil). Yani verilerin ortadaki %50’lik dağılımını gösterir.

P değeri: İstatistiksel testin anlamlılığını gösterir; genelde <0.05 ise anlamlı kabul edilir.



Şekil 4.1 İstatistiksel analiz grafiği

5.TARTIŞMA

Dikey kök kırığı (VRF), endodontik başarısızlık nedeniyle yapılan diş çekimlerinin %6-13.4'lük oranla üçüncü nedenidir (176). Restore edilmiş kanal tedavisi görmüş dişlerin mekanik bütünlüğünün bozulmasına birçok fizyolojik, patolojik ve iatrojenik faktör atfedilmiştir (177). Endodontik olarak tedavi edilen dişlerde diş yapısının artan kaybı, radiküler stres dağılımını değiştirir ve bunun sonucunda apikal bölgede, özellikle kökün bukkal-lingual düzlemi boyunca daha yüksek stres dağılımı meydana gelir. Bu değişen biyomekanik yanıt, canlı olmayan dişlerde VRF'nin oluşmasına sebep olabilir (178). Bugüne kadar, endodontik olarak tedavi edilen dişlerin kök dentin yapısındaki hastalık/tedavi kaynaklı değişikliklerin olumsuz etkilerini ortadan kaldıracabilecek mevcut bir tedavi yöntemi yoktur (119).

Klinikte en sık kullanılan irrigasyon solüsyonları NaOCl ve EDTA'dır (72). Bu nedenle çalışmamızda bu solüsyonlar seçilmiştir. Önceki araştırmalar, bu solüsyonların dentinin fiziksel ve mekanik özelliklerini etkilediğini bildirmektedir. Bu solüsyonların dentinin moleküler yapısında ve kırılma dayanımında olumsuz etkileri olduğu bildirilmiştir (7,179).

Bu çalışmanın amacı, kök kanal tedavisinde kullanılan final irrigasyon prosedürüne ek olarak uygulanan CSnps, CSRBnps, CMCS ve genipinin kök dentinine mekanik etkilerini incelemektir. Çalışmanın sonucunda, rutinde kullanılan NaOCl ve EDTA'nın ardından uygulanan bu dört solüsyonun son yıkama protokolünde kullanımı sonucunda gruplar arasında kök kırılımına direnç konusunda anlamlı bir fark bulunmadığı gözlenmiştir. Bu nedenle başlangıç hipotezimiz onaylanmıştır.

Mikrodoku mühendisliği, doku fonksiyonunu, hücre davranışını ve konak entegrasyonunu desteklemek için geliştirilmiş biyolojik ve mekanik özelliklere sahip dokular tasarlamayı amaçlar (180). Mikro ölçekte, mikrodoku mühendisliğiyle üretilen dentin matriksi, geliştirilmiş mekanik özelliklere, biyoaktiviteye ve konak/bakteri aracılı enzimatik bozunmaya karşı dirence sahip stabilize edilmiş bir dentin yüzey yapısı sunacaktır (181).

Kimyasal çapraz bağlama, kolajen bazlı materyalleri stabilize etmek için yaygın olarak kullanılır. Ancak, uzun tedavi süresi, sitotoksikite ve olası pigmentasyon gibi bazı dezavantajlar göz önünde bulundurulmalıdır (182). Kimyasal çapraz bağlamaya bir alternatif olarak, fotodinamik aktive edilmiş (PDA) çapraz bağlamanın kolajenin hızlı ve

kararlı kovalent çapraz bağlanmasını sağladığı bildirilmiştir. Kimyasal çapraz bağlama, fotodinamik işleme kıyasla kararlı kolajen çapraz bağları oluşturmak için daha uzun işlem süresi gerektirir. Bu, özellikle daha kısa işlem süresinin oldukça arzu edildiği klinik uygulamalar için büyük bir sınırlamadır (183,184). Foto-oksidasyona uğramış amino asitler, başka bir protein molekülündeki normal veya fotodinamik olarak değiştirilmiş moleküllerle reaksiyona girerek çapraz bağ oluşturur (185). Bu, bir fotosensitizörü uygun bir ışık dalga boyuna maruz bırakarak elde edilir (186). CSnps'ler ile beraber bir fotosensitizör (rose bengal) içeren CSRBnps'lerin, PDA ile çapraz bağ oluşturması daha hızlı ve kontrollüdür. Oluşan dokunun daha güçlü olması açısından avantajlara sahiptir (187).

Kitosan, düşük pH'ta çözünür. Bu sebeple, çalışmamızda kitosanı çözmek için asetik asit çözeltisi kullanıldı (188). Çalışmamızda, kitosan nanopartikül solüsyonu, TPP ile çapraz bağlanarak iyonik jelasyon yöntemiyle elde edildi (188).

Polidispersite indeksi (PDI) bir numunenin boyuta dayalı heterojenliğinin bir ölçüsüdür. Bu indeksin küçük olması nanopartikül boyutlarının arzu edilen şekilde birbirine yakın ve dar bir aralıkta olması anlamına gelmektedir (188). Masarudin ve ark. yaptığı bir çalışmada, düşük PDI değeri için kitosan: TPP oranının 3:1 olması gerektiği belirtilmiştir (188). Bu sebeple, çalışmamızda bu oranı 3:1 de tutarak solüsyonumuz hazırlandı.

Jonassen ve ark. yaptığı başka bir çalışmaya göre farklı PH değerine sahip kitosan çözeltileri kıyaslandığında PH değeri 5 olan çözeltilerin daha düşük PH'a sahip olanlara göre yapısında daha fazla hidrojen bağı etkileşimi görüldü. Böylece daha küçük boyutlu nanopartikül elde edildi (189). Bu nedenle çalışmamızda kullandığımız solüsyonumuz PH'ı 5 olacak şekilde hazırlandı.

Uygun konsantrasyonu belirlemek için 0.5 mg/mL, 0.25 mg/mL ve 0.2 mg/mL konsantrasyonda solüsyonların test edildiği bir çalışma referans alındı (188). Çalışmamızda 0.5 mg/mL kitosan solüsyonunun kullanımının daha uygun olacağına karar verildi.

%5.25 NaOCl ve %0.2 lik kitosan'ın dişlerin mikrosertlik değerinde yaptığı değişimlerin incelendiği bir çalışmada, bütün numunelere NaOCl ile irrigasyon yapıldı ve sonrasında bir gruba kitosan uygulandı. İki grup arasında anlamlı bir fark görülmedi (190). Benzer şekilde, Ratih ve ark., 1 dakika ve 3 dakika boyunca uygulanan %0.5 kitosan nanopartiküllerinin mikrosertlikte anlamlı bir fark göstermediğini buldu (191).

Dentin tedavisinde kullanılan kitosan nanopartiküllerinin konsantrasyonu ve mikrosertlik üzerindeki etkisine ilişkin sonuçlar tartışmalıdır (188,190). Çapraz bağlayıcı ajanlar, kolajenin mekanik özelliklerini iyileştirmek ve kolajenaza karşı direnci artırmak için kullanılabilir (11). Formaldehit ve glutaraldehit de dahil olmak üzere çeşitli sentetik çapraz bağlama maddeleri doku fiksasyonu için kullanılmıştır (192). Ancak, bu maddeler yüksek sitotoksisiteye sahiptir (192). Genipin, bir kolajen çapraz bağlama maddesi olarak etkilidir (192). Genipin, glutaraldehitten önemli ölçüde daha düşük sitotoksisite ve genotoksisiteye sahiptir (193) ve ayrıca anti-inflamatuar etkiler gösterir (194). Genipinin dentin kollajeninin çekme mukavemetini artırabileceği (195) ve enzimatik bozunmaya karşı kollajen stabilizasyonuna katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (147).

Çapraz bağlayıcıların uygulama süresi ve konsantrasyonları genellikle kollajen üzerindeki etki ile doğru orantılıdır. Genipinin süre ve konsantrasyona bağlı olarak dentin kolajeninde meydana getirdiği etkilerin incelendiği bir çalışmada %0.01, %0.1 ve %0.5'lik konsantrasyonlarda genipin solüsyonları 30 dakika, 1, 5, 8, 12 ve 24 saatlik sürelerde dentin üzerine uygulandı (147). Çalışmada, %0.5 konsantrasyondaki genipinin ile 30 dakika muamele edilen dentin yüzeyinin kontrol grubu da dahil diğer konsantrasyonlarla muamele edilenlere göre anlamlı olarak kollajenaza direncinin daha fazla arttığı gözlemlendi (147). Genipinin etkinliğinin, uygulama süresi ile doğru orantılı olmasına rağmen (147), 30 dakikalık süre klinik olarak daha uygulanabilir olduğundan çalışmamızda genipin uygulaması için bu süreyi ve bu konsantrasyon tercih edildi.

Genipinin kolajen membranın mekanik dayanımına, çapraz bağlantı miktarına ve degradasyon hızına olan etkisinin incelendiği bir başka çalışmada %2'lik tip 2 kolajen içeren solüsyon ile kitosan solüsyonu 1:3 oranında karıştırıldı. -20°C 'de dondurulduktan sonra 12 saat boyunca liyofilize edildi. Elde edilen membranlar eşit boyutlara getirildikten sonra 0.1%, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%'lik genipin solüsyonlarında sırasıyla 6 saat, 12 saat, 18 saat, 24 saat boyunca 4°C, 20°C ve 37°C'de bekletildi. Her özelliğin ayrı ayrı incelenebilmesi için iki özellik sabit tutularak diğer özellikler değiştirildi. Mekanik basma gerilimi testi sonucunda, mekanik dayanımının en yüksek seviyede olduğu deney genipin konsantrasyonu %1.0, solüsyonlarda bekletme süresi 24 saat ve bekletme sıcaklığı 20 °C'de olduğu tespit edildi. Bununla beraber genipin konsantrasyonu %1.0'dan %2. 0'ye çıkarıldığında hazırlanan örnek basma testinde daha düşük dayanım gösterdi. Genipin konsantrasyonu arttıkça çapraz bağlantı miktarının arttığı, ancak %1,0 ile %1.5 ve %2.0 konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark

bulunmadığı izlendi. 37°C’de en yüksek çapraz bağlantı oluşumu izlendi (196). Bi ve ark. çalışmasında izlenen en yüksek basma dayanımı bizim çalışmamıza göre daha yüksek konsantrasyonda (%1) genipin ve daha uzun uygulama süresine (24 saat) sahip örneklerde görüldü (196).

Kwon ve ark. bir çalışmasında, çapraz bağlayıcı olarak genipin kullanıldığında kolajenin yüzey sertliğinin ve dayanımının arttığını gösterdi (197). Walter ve ark. yaptığı başka bir çalışmada, genipin uygulanmış dentin yüzeylerinde kontrol grubuna kıyasla, kolajenaz etkisinin azaldığı görüldü (198).

Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre genipin uygulanan dişler ve kontrol grubu dişleri arasında kırılma dayanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmadı. Bunun sebebi genipin konsantrasyonunun düşük ve uygulama süresinin görece kısa olması olabilir.

CMCS, kitosana karboksil gruplarının eklenmesiyle elde edilen bir biyopolimerdir (199). Huang ve ark. CMC’nin çürük dentin üzerindeki etkisini değerlendirdikleri çalışmada kollajen fibrillerin arasında tipik iğne benzeri hidroksiapatit kristallerinin biriktiğini, CMC uygulanan dentin yüzey sertliğinin belirgin oranda arttığını gösterdi (200).

Elien ve ark. yapay çürük oluşturdıkları 24 adet süt dişinde %2.5 ve %5 konsantrasyonlarında CMCS/ACP jelinin mine yüzey sertliğine olan etkisini 7 gün sonunda CPP-ACP ile kıyasladı. Mine yüzey sertliğindeki değişim en fazla %5 CMCS, sonra %2.5 CMCS ve en son ise CPP-ACP’de olduğunu CMCS konsantrasyonu arttıkça CMCS etkinliğinin de arttığı sonucuna vardılar (201). Biz de çalışmamızda benzer biçimde CMCS solüsyonunu %5’lik olarak hazırladık.

CMCS konsantrasyonunun kollajen fibril mineralizasyonunun üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada artan CMCS konsantrasyonunun, kollajen yapısında artan bir kararlılık sağladığı görülmüştür. Bu çalışmada alınan sonuçlar, daha yüksek CMCS konsantrasyonlarının (%1–%5) remineralizasyon kapasitesini anlamlı şekilde artırdığını ortaya koydu. %2.5 ve %5 CMCS kullanılarak yüzey sertliğinde artış sağlandığı gözlemlendi (202) Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre CMCS ve kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı bir fark çıkmamıştır. Bunun sebebi CMCS’nin dişe 1 dakikalık uygulama süresinin yetersizliği olabilir.

PDT, geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivitesi (203) ve proteinler ile kolajen arasında çapraz bağ oluşturma yeteneği (204) nedeniyle biyomedikal alanda uygulanmaktadır.

Üretilen singlet oksijen, RB gibi uygun fotosensitizörlerin varlığında kolajen moleküllerinde ve diğer mevcut proteinli aktif bölgelerde moleküller arası ve molekül içi kovalent çapraz bağların oluşumunu kolaylaştırır (205). Shrestha ve ark. çalışmasında CMCS-RB kontrol grupları ile karşılaştırıldığında PDT uygulamasının dayanıklılığın önemli derecede arttığı gözlemlendi (206).

Shrestha ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada 0.3 mg/ml CSRBnp uygulanan dişlerin dayanıklılığında kontrol grubuna göre önemli artış izlendi (13). Yine aynı çalışmada çapraz bağlanmış kolajenin yüzeyinde, kolajen ağının içine dahil edilmiş kolajen fibrilleri ve CSRBnp tabakası izlendi (13). CSRBnp ile çapraz bağlanmış dentin-kolajenin enzimatik bozunmaya karşı direnci arttırdı (13). Shrestha ve ark. tarafından yapılan üçüncü bir çalışmada, 0.3 mg/mL konsantrasyonundaki CSRBnp çözeltisinin dentin üzerinde etkili çapraz bağlama oluşturduğu ve antibiyofilm etkisi gösterdiği rapor edildi (207). İlave olarak, 0.3 mg/mL konsantrasyonunun optimal olduğu belirlendi. Bu konsantrasyon, monomer-dimer dengesi, çözünürlük ve fotodinamik etkinlik açısından en uygun değer olarak rapor edildi (207). Daha yüksek konsantrasyonlarda (örneğin, >0.5 mg/mL) CSRB kullanımı, çözeltide agregasyon ve dimerizasyon eğilimini artırmakta, bu da fotodinamik etkinliği azaltabilmektedir. Ayrıca, bu tür agregasyonlar, singlet oksijen üretiminde azalmaya ve çözünürlükte sorunlara yol açabilir (208). Biz de çalışmamızda CSRBnps solüsyonunu 0.3 mg/mL olarak hazırladık.

CSRBnps aktivasyonunda farklı dalga boylarında ışık kaynakları kullanılmaktadır. Literatürde 532 nm (yeşil lazer), 660 nm (kırmızı LED) ve 470 nm (mavi LED) gibi ışık kaynakları yaygın olarak tercih edilmektedir (209,210). Bununla birlikte Disodia ve ark. yaptığı bir çalışmada RB'in aktivasyonu için 940 nm dalga boyuna sahip diyot lazer her bir örneğe 1 dakika boyunca uygulandı (211). Bu çalışmanın sonuçlarına göre, bu lazer tipi, yüksek doku penetrasyonu sayesinde fotodinamik aktivasyon süreçlerinde etkili bir seçenek olarak değerlendirilmektedir. CSRBnps grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel fark bulunamamasının sebebi irrigasyon solüsyonunu aktive etmek için kullanılan diyot lazerin dalga boyu (940 nm) ile ilgili olabilir.

Li ve ark. kırılma dayanımı ölçtükleri bir çalışmada PDA ile aktive edilmiş kitosan nanopartikülün aktivasyon olmadan uygulanan kitosana göre dentin örneklerinde kırılma direncini daha fazla artırdığı görüldü (119). EDC/NHS, CMCS-EDC/NHS, RB ve CMCS-RB gibi grupların bulunduğu Shrestha ve ark. tarafından yapılan başka bir

çalışmada bu grupların dayanıklılıklarının kontrollerle karşılaştırılması sonucu kırılma direncinde önemli artışlar gösterdiği görüldü ($p < 0.05$) (11).

Travma veya güçlü okluzal kuvvetler özellikle kök kanal tedavisi yapılmış dişlerde kron veya kök kırıklarına sebep olabilir. Bu durumun en sık karşılaşılan nedenleri endodontik işlemlerin dişte madde kaybına sebep olması ve endodontik tedaviden sonra dentinde meydana gelen dehidratasyondur (212,213). Endodontik tedavili dişlerin yapısının güçlendirilmesi üzerine çeşitli çalışmalar yapılmış ve hiçbir metodun kırıkları önlemede yeterli olmadığı görülmüştür. Kırık oluşmuş dişlerin prognozu çoğu zaman kötüdür (214,215).

Endodontik tedavi görmüş dişlerin kırılma direncinde diş tipinin öneminin yanı sıra test cihazının uç kısmının dişe geliş açısı ve hızının etkisi önceki çalışmalarda gösterilmiştir (216,217). Farklı endodontik ve restoratif materyallerin dişlerin kırılma direncine etkisini ölçmek amacıyla kırma cihazı kullanılmaktadır (218,219). Örnekler test cihazına yerleştirilmeden önce benzer boyutta bir materyale gömülür. Bunlardan bazıları, otopolimerizan akrilik epoksi rezin ve polimetil metakrilattır (220). Naumann ve ark. yaptığı bir çalışma in vitro çalışmalarda daha çok otopolimerizan akrilik kullanıldığını belirtmiştir (220). Sirimai ve ark. yaptığı bir çalışmada dişleri, dişin doğal alveolar kemik ve periodontal yapısına benzer bir ortam oluşturmak amacıyla önce ince bir tabaka polivinilsiloksan ölçü maddesi ile kapladıktan sonra akrilik rezin bloklara gömmüşlerdir (221). Biz de çalışmamızda otopolimerizan akriliği tercih ederek diş çevresinde periodontal ligament boşluğu oluşturmak amacıyla polivinil siloksan ölçü maddesi ile kökün 2 mm koronal kısmı dışındaki apikal bölgesini kapladık.

Kırma cihazının çelik ucunun büyüklüğü ile ilgili yapılan bir çalışmada 3.9-5 mm çapındaki kürelerin uygun olduğu bildirilmiştir (222). Biz de çalışmamızda bu değerler içinde kalarak 4 mm çapında çelik küre kullandık. Uçun uygulama hızının da önemli olduğu ve 1 mm/dakikalık bir hızın uygun olduğu aynı çalışmada belirtilmiştir (222). Biz de çalışmamızda cihazın hızını 1mm/dakika olarak ayarladık.

Örneklerin kalıp dışında kalan miktarları da önemlidir. Ahmed Saba ve ark. yaptığı bir çalışmada alveolar kemik desteğini taklit etmek amacıyla dişlerin 2 mm'lik kısımları açıkta bırakılarak akrilik rezine gömülmüştür (223). Biz de çalışmada köklerin koronal 2 mm'lik kısmı açıkta kalacak şekilde akrile gömdük.

Johnson ve ark. yaptığı bir çalışmada 00 açıyla kırma kuvveti uygulamışlardır. Çalışmada dişin uzun aksına paralel verilen kuvvetlerin gerçek dışı yıkıcı kuvvetlerden uzak ve doğal alveol desteğinin sağlandığı duruma uygun olduğunu belirtmişlerdir (224). Biz de çalışmamızda benzer uzunluktaki kökleri akrilik rezine 2 mm'lik kısmı açıkta kalacak şekilde yerleştirdik ve 00 derece açıyla kuvvet uyguladık.

Dişlerin irrigasyonunda kullanılan dört solüsyon bildiğimiz kadarıyla kırılma direnci açısından bir başka çalışmada beraber kullanılmamıştır. Bu yönüyle çalışmamız özgündür. Dört farklı solüsyonun aynı çalışmada kullanılması farklı yöntemlerin karşılaştırılması açısından önemlidir.

Çalışmamızın limitasyonları arasında çekilmiş dişlerin benzer uzunlukta seçilmesine karşın işlem öncesi mekanik dayanımlarının saptanamaması, RB'in optimum etkinlik gösterdiği dalga boyuna sahip lazerin kullanılmaması sayılabilir. Ayrıca, CMCS'nin dişe uygulanma süresi ve genipinin konsantrasyonu ile ilgili tam bir fikir birliğinin olmaması çalışmaların sonuçlarını etkilemiş olabilir. Ayrıca kitosanın farklı molekül ağırlığına sahip türlerinin olması da bir limitasyondur. Muhtemelen farklı bir tür seçimi farklı sonuçlar doğurabilirdi.

6.SONUÇ

Yaptığımız in vitro çalışmada kırma deneyi sonucunda gruplar arasında bazı farklar izlense de bu farklar istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır.

Grupların dayanıklılık değerleri karşılaştırıldığında, genipin grubunun hem ortalama (1260,12 N) hem de medyan (1316,3 N) değerinin en yüksek olduğu görüldü. Bu sonuç, genipinin kırılma dayanımını artırma potansiyeline işaret etmekle birlikte, standart sapma değerinin yüksek olması gruptaki örnekler arasında belirgin farklılıklar bulunduğunu göstermektedir.

CSnps grubu (ortalama 1226,22 N; medyan 1153 N) genipin grubuna oldukça yakın değerler göstermiş, dayanıklılık açısından benzer bir eğilim sergilemiştir.

CMCS grubu (ortalama 1124,52 N; medyan 1164,5 N) ise ortalama değer bakımından genipin ve CSnps'den daha düşük olmakla birlikte, medyan değeri CSnps'ye oldukça yakın bulunmuştur. Bu durum grupta birkaç örneğin ortalamayı düşürdüğünü göstermektedir.

CSRBnps grubu (ortalama 1105,6 N; medyan 1090,8 N), CMCS'ye benzer şekilde orta düzeyde kalmış, genipin ve CSnps gruplarından daha düşük, kontrol grubundan ise yüksek değerler sergilemiştir.

Kontrol grubu (ortalama 929.63 N; medyan 855.3 N) hem ortalama hem de medyan açısından en düşük dayanıklılık değerlerine sahip olmuştur.

Genel sıralama sayısal olarak; genipin> CSnps> CMCS $\approx$ CSRBnps> kontrol şeklinde olsa da yapılan istatistiksel analiz sonucunda gruplar arasında elde edilen farklılıklar anlamlı bulunmamıştır ($p=0.349$; $p>0.05$).

İleriki çalışmalarda solüsyonların farklı konsantrasyonlarda ve farklı sürelerde kullanımı araştırılabilir. Bunun yanında farklı uygulama protokollerinin kök kırılma dayanımına etkisi incelenebilir. Nanoteknolojideki ilerlemelere bağlı olarak yeni çapraz bağlayıcı ajanlar test edilebilir.

7.KAYNAKLAR

1. Schilder, H. (1967). Filling root canals in three dimensions. *Dental Clinics of North America*, 11(3), 723–744.
2. Segura-Egea, J. J., Martín-González, J., & Castellanos-Cosano, L. (2015). Endodontic medicine: Connections between apical periodontitis and systemic diseases. *International Endodontic Journal*, 48(10), 933–951.
3. Marsh, P. D. (2005). Dental plaque: Biological significance of a biofilm and community lifestyle. *Journal of Clinical Periodontology*, 32(Suppl. 6), 7–15.
4. Swimberghe, R. C. D., Coenye, T., De Moor, R. J. G., & Meire, M. A. (2018). Biofilm model systems for root canal disinfection: A literature review. *International Endodontic Journal*, 52(5), 604–628.
5. Darcey, J., Jawad, S., Taylor, C., Roudsari, R. V., & Hunter, M. (2017). Modern endodontic principles. Part 4: Irrigation. *British Dental Journal*, 223(5), 333–341.
6. Rutala, W. A., & Weber, D. J. (1997). Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4), 597–610.
7. Uzunoğlu, E., Aktemur, S., & Uyanık, M. (2012). Effect of ethylenediaminetetraacetic acid on root fracture with respect to concentration at different time exposures. *Journal of Endodontics*, 38(9), 1235–1239.
8. Shrestha, A. K. J., & Kishen, A. (2016). Antibacterial nanoparticles in endodontics: A review. *Elsevier Journal of Endodontics*, 42(9), 1417–1426.
12. Mourya, V., Inamdar, N., & Tiwari, A. (2010). Carboxymethyl chitosan and its applications. *Reactive and Functional Polymers*, 70(10), 1021–1031.
13. Shrestha, A., Hamblin, M. R., & Kishen, A. (2014). Photoactivated rose bengal functionalized chitosan nanoparticles produce antibacterial/biofilm activity and stabilize dentin–collagen. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 10(3), 491–501.
14. Sung, H. W., Huang, R. N., Huang, L. L. H., Tsai, C. C., & Chiu, C. T. (1998). Feasibility study of a natural crosslinking reagent for biological tissue fixation. *Journal of Biomedical Materials Research*, 42(4), 560–567.
15. Gluskin, A. H. (2007). Anatomy of an overfill: A reflection on the process. *Endodontic Topics*, 16(1), 64–81.
16. Karina A, Bedran-Russo B, Pereira PNR, Duarte WR, Drummond JL, Yamauchi M. Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2007• 80(1):268–72.

17. Pashley, D.H, Liewehr, F.R. (2010). Structure and... - [cited 2024 Dec 24].
18. Garberoglio R, biology MBA of oral, 1976 undefined. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules.
19. Violich D, journal NCI endodontic, 2010 undefined. The smear layer in endodontics—a review. Wiley Online LibraryDR Violich, NP ChandlerInternational endodontic journal, 2010• 2010 Jan [cited 2024 Dec 24];43(1):2–15.
20. journal JBB dental, 1974 undefined. The production of inlay cavity bevels. europepmc.org [Internet]. [cited 2024 Dec 24];
21. ŞEN BH, WESSELINK PR, TÜRKÜN M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J.* 1995;28(3):141–8.
22. McComb D, endodontics DSJ of, 1975 undefined. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *Journal of endodontics*, 1975 [cited 2024 Dec 24];
23. Lester K, journal ABB dental, 1977 undefined. Scanning electron microscopy of instrumented, irrigated and filled root canals. [cited 2024 Dec 24];
24. Akpata ES, Blechman H. Bacterial Invasion of Pulpal Dentin Wall in vitro. *J Dent Res.* 1982;61(2):435–8.
25. Association LGTJ of the AD, 1972 undefined. Sterilization of infected root canals [cited 2025 Jun 17];
26. Alaçam, T. (2000). Pulpa ve Periapikal Dokuların... - Google Akademik [Internet]. [cited 2025 Jun 17].
27. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Clinics YGD, 2010 undefined. Irrigation in endodontics. [cited 2025 May 15];
28. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: An update review. *Int Dent J.* 2008;58(6):329–41.
29. Stojicic S, Zivkovic S, Qian W, Zhang H, Haapasalo M. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. ElsevierS Stojicic, S Zivkovic, W Qian, H Zhang, M HaapasaloJournal of endodontics, 2010• 2010 [cited 2024 Dec 25];
30. Estrela C, Estrela CRA, Luis Barbin E, César J, Spanó E, Marchesan MA, et al. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *dental journal*, 2002• 2002 [cited 2024 Dec 25];13(2):113–7.
31. Goldsmith M, Gulabivala K, Endodontics JKJ of, 2002 The effect of sodium hypochlorite irrigant concentration on tooth surface strain. *Journal of Endodontics*, 2002•. [cited 2024 Dec 25];
32. Rosenfeld E, James G, endodontics BBJ of, 1978 Vital pulp tissue response to sodium hypochlorite.journal of endodontics. [cited 2024 Dec 25];

33. Cvek M, Nord C, revy LHO, 1976 undefined. Antimicrobial effect of root canal débridement in teeth with immature root. A clinical and microbiologic study. [cited 2024 Dec 25];
34. Moorer WR and PRW. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int Endod J.* 1982;15(4): p(187-96.).
35. Jr JS, Rôças I, Favieri A, endodontics KLJ of, 2000. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *Journal of endodontics*, [cited 2024 Dec 25];26(6).
36. Hülsmann M, journal WHI endodontic, 2000. Complications during root canal irrigation—literature review and case reports. *International endodontic journal*, [cited 2024 Dec 25];33:186–93
37. Oyarzún A, Cordero A, Endodontics MWJ of, 2002. Immunohistochemical evaluation of the effects of sodium hypochlorite on dentin collagen and glycosaminoglycans. *M WhittleJournal of Endodontics*, 2002[cited 2024 Dec 25];
38. Marending M, Luder HU, Brunner TJ, Knecht S, Stark WJ, Zehnder M. Effect of sodium hypochlorite on human root dentine - Mechanical, chemical and structural evaluation. *Int Endod J.* 2007 Oct;40(10):786–93.
39. Surgery ZRO, Medicine O, Pathology O, 1980 undefined. Chelation in root canal therapy. cited 2024 Dec 25
40. Hülsmann M, ... MHI endodontic, 2003 undefined. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. A LennonInternational endodontic journal, [cited 2024 Dec 25];36(12):810–30.
41. Seidberg B, Surgery HSO, Medicine O, Pathology O, 1974. An evaluation of EDTA in endodontics. [cited 2024 Dec 25];
42. Calvo Pérez V. The possible role of pH changes during EDTA demineralization of teeth. . *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1989;68(2)(220-2.).
43. Gutie J, Jofre A, surgery FVO, medicine oral, pathology oral, 1990 Scanning electron microscope study on the action of endodontic irrigants on bacteria invading the dentinal tubules. [cited 2024 Dec 25];
44. Basrani B, Haapasalo M. Update on endodontic irrigating solutions. *Endod Topics.* 2012 Sep;27(1):74–102.
45. Darda S, Madria K, Jamenis R, ... AH... of international oral, 2014 undefined. An in-vitro evaluation of effect of EDTAC on root dentin with respect to time. *Journal of international oral health: JIOH*, 2014•. [cited 2025 Apr 29]
46. Zaparolli D, Saquy P, journal ACFB dental, 2012 Effect of sodium hypochlorite and EDTA irrigation, individually and in alternation, on dentin microhardness at the furcation area of mandibular molars. *Brazilian dental journal*, 2012. [cited 2024 Dec 25];

47. Ali A, Bhosale A, Pawar S, Kakti A, Cureus AB, 2022. Current trends in root canal irrigation. [cited 2024 Dec 26];
48. Prado M, Gusman H, Gomes BPFA, Simão RA. Scanning electron microscopic investigation of the effectiveness of phosphoric acid in smear layer removal when compared with EDTA and citric acid. *J Endod*. 2011 Feb;37(2):255–8.
49. Arslan H, Barutçigil C, Karatas E, Topcuoglu HS, Yeter KY, Ersoy I, et al. Effect of citric acid irrigation on the fracture resistance of endodontically treated roots. *European journal of dentistry*, 2014 Jan [cited 2025 Jun 19];8(1):74–8.
50. Torabinejad M, Khademi A, Babagoli 2003 A new solution for the removal of the smear layer. *Journal of endodontics*, 2003• [cited 2024 Dec 31];
51. Zahnmed MZQ, 2019 Etidronate (Dual Rinse HEDP) for root canal irrigation in clinical use [cited 2025 Jun 19];
52. De-Deus G;, Zehnder M;, Reis C;, Fidel S;, Fidel Longitudinal co-site optical microscopy study on the chelating ability of etidronate and EDTA using a comparative single-tooth model [cited 2024 Dec 31];
53. Campello A, Rodrigues R, ... FAJ of, 2022 undefined. Enhancing the intracanal antibacterial effects of sodium hypochlorite with etidronic acid or citric acid. *Journal of endodontics*, • [cited 2024 Dec 31];
54. Zollinger A, Mohn D, Zeltner M, Zehnder M. Short-term storage stability of NaOCl solutions when combined with Dual Rinse HEDP. *Int Endod J*. 2018 Jun 1;51(6):691–6.
55. Basrani B, Lemonie C. Chlorhexidine gluconate. *Australian Endodontic Journal*. 2005 Aug;31(2):48–52.
56. Mohammadi Z, journal PAI endodontic, 2009 undefined. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *International endodontic journal*, Apr [cited 2024 Dec 31];42(4):288–302.
57. Chia M, Parolia A, ... BLR, 2020 undefined. Effect of QMix irrigant in removal of smear layer in root canal system: a systematic review of in vitro studies. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 2020• [cited 2025 Apr 29];
58. Ali A, Bhosale A, Pawar S, Kakti A, Cureus AB, 2022 undefined. Current trends in root canal irrigation. [cited 2025 Jan 15];
59. today GSD, 2007 undefined. The EndoVac method of endodontic irrigation: safety first. [cited 2025 Jan 15];
60. endodontics TCJ of, 1983. Mechanical effectiveness of root canal irrigation. *Journal of endodontics*[cited 2025 Apr 29];
61. Boutsoukis C, ... L van der S: chemical disinfection of the root canal, 2015. Syringe irrigation: blending endodontics and fluid dynamics. 2015 Jan 1 [cited 2025 May 15];45–64.

62. Mitchell R, Yang S, endodontics JBJ of, 2010 Comparison of apical extrusion of NaOCl using the EndoVac or needle irrigation of root canals. *Journal of endodontics*, 2010• 2010 [cited 2025 May 15];
63. endodontics TCJ of, 1983 Mechanical effectiveness of root canal irrigation. *Jendodon*. [cited 2025 May 15];
64. Kleier D, Averbach R, endodontics OMJ of, 2008 The sodium hypochlorite accident: experience of diplomates of the American Board of Endodontics. *Journal of endodontics*, 2008•Elsevier [Internet]. 2008 [cited 2025 May 15];34(11).:
65. Nima G, Soto-Montero J, Alves L, Materials RMGD, 2021 Photodynamic inactivation of *Streptococcus mutans* by curcumin in combination with EDTA. [cited 2025 Apr 29];
66. Cheung G, *Journal CSIE*, 1993 In vitro cleaning ability of root canal irrigants with and without endosonics. *International Endodontic Journal*, 1993•Wiley Online Library [Internet]. 1993 [cited 2025 May 15];26(6):334–43.
67. Al-Hadlaq S, Al-Turaiki S, endodontics UASJ of, 2006 Efficacy of a new brush-covered irrigation needle in removing root canal debris: a scanning electron microscopic study. *Journal of endodontics*, [cited 2025 Jan 15];
68. Caron G, Nham K, Bronnec F, endodontics PMJ of, 2010 undefined. Effectiveness of different final irrigant activation protocols on smear layer removal in curved canals. *Journal of endodontics*, [cited 2025 Jun 26];
69. Weller R, Brady J, endodontics WBJ of, 1980 undefined. Efficacy of ultrasonic cleaning. ElsevierRN Weller, JM Brady, WE Bernier*Journal of endodontics*, [cited 2025 Aug 28];
70. CJ Ruddle - US Patent 6 179,617, 2001 Microbrush for endodontic use. [cited 2025 Jan 18];
71. Gu LS, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley DH, Tay FR. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. *Journal of endodontics*, 2009 [cited 2025 Jan 18];
72. Weise M, Roggendorf M, Ebert J, ... APIE, 2007. Four methods for cleaning simulated lateral extensions of curved root canals-a SEM evaluation: *International Endodontic Journal*, [cited 2025 Aug 28]
73. Nielsen B, endodontics JBJ of, 2007 Comparison of the EndoVac system to needle irrigation of root canals. [cited 2025 May 15];
74. Desai P, endodontics VHJ of, 2009 undefined. Comparative safety of various intracanal irrigation systems. *Journal of endodontics*, [cited 2025 May 20]
75. Hauser V, Braun A, Frentzen M. Penetration depth of a dye marker into dentine using a novel hydrodynamic system (RinsEndo®). *International endodontic journal*, 2007 Aug [cited 2025 May 20];40(8):644–52.

76. Eggmann F, Vokac Y, Eick S, Neuhaus KW. Sonic irrigant activation for root canal disinfection: power modes matter! 2020 Apr 10 [cited 2025 Sep 18];20(1).
77. Paixão S, Rodrigues C, Grenho L, Fernandes MH. Efficacy of sonic and ultrasonic activation during endodontic treatment: a Meta-analysis of in vitro studies. *Acta Odontol Scand*. 2022;80(8):588–95.
78. Paixão S, Rodrigues C, ... LGAO, 2022 undefined. Efficacy of sonic and ultrasonic activation during endodontic treatment: a Meta-analysis of in vitro studies. [cited 2025 Jan 19];
79. Mozo S, Llena C, oral LF, bucal patologia oral y cirugia, 2011 undefined. Review of ultrasonic irrigation in endodontics: increasing action of irrigating solutions. *FornerMedicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, [cited 2025 Apr 29];
80. Ahmad M, Ford T, endodontics LCJ of, 1987 Ultrasonic debridement of root canals: acoustic streaming and its possible role. *Journal of endodontics*, [cited 2025 Jan 19]
81. Van Der Sluis LWM, Wu MK, Wesselink PR. A comparison between a smooth wire and a K-file in removing artificially placed dentine debris from root canals in resin blocks during ultrasonic irrigation. *Int Endod J*. 2005 Sep;38(9):593–6.
82. Desai P, Himel V. Comparative Safety of Various Intracanal Irrigation Systems. *J Endod* 2009 Apr 1 [cited 2025 Apr 29];35(4):545–9
83. DiVito E, Peters OA, Olivi G. Effectiveness of the erbium: YAG laser and new design radial and stripped tips in removing the smear layer after root canal instrumentation. 2012 Mar [cited 2025 Apr 29];27(2):273–80.
84. Ekim Ş, Fakültesi AEAÜDH, 2015 undefined. ENDODONTİDE İRRİGASYON AKTİVASYON YÖNTEMLERİ. *dergipark.org.trŞA Ekim, A ErdemirAtatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2015• 2015 May 21 [cited 2025 Apr 29];10(10).
85. Bergmans L, Moisiadis P, Teughels W, Van Meerbeek B, Quirynen M, Lambrechts P. Bactericidal effect of Nd:YAG laser irradiation on some endodontic pathogens ex vivo. *International Endodontic Journal* 2006 Jul [cited 2025 Apr 29];39(7):547–57.
86. Peters O, Bardsley S, Fong J, endodontics GPJ of, 2011 Disinfection of root canals with photon-initiated photoacoustic streaming. *Journal of endodontics*, 2011• [cited 2025 Apr 29];
87. Galler KM, Grubmüller V, Schlichting R, Widbiller M, Eidt A, Schuller C, et al. Penetration depth of irrigants into root dentine after sonic, ultrasonic and photoacoustic activation. 2019 Aug 1 [cited 2025 Apr 29];52(8):1210–7.
88. Arslan D, journal AKI endodontic, 2018 undefined. Efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming on apically extruded debris with different preparation systems in curved canals. *International endodontic journal*, 2018•Wiley Online Library 2018 Jan 1 [cited 2025 Apr 29];51:e65–72.

89. Zhang D, Shen Y, de la Fuente-Núñez C, Haapasalo M. In vitro evaluation by quantitative real-time PCR and culturing of the effectiveness of disinfection of multispecies biofilms in root canals by two irrigation systems. *Clinic Oral Investigation* 2019 Feb 8;23(2):913–20.
90. Haapasalo M, Wang Z, Shen Y, Curtis A, ... PPJ of, 2014 undefined. Tissue dissolution by a novel multisonic ultracleaning system and sodium hypochlorite. *Journal of endodontics*, 2014• [cited 2025 Apr 29];
91. Walters M, Baumgartner J, Endodontics JMJ of, 2002 undefined. Efficacy of irrigation with rotary instrumentation. *Journal of Endodontics*, [cited 2025 May 20];
92. Setlock J, Fayad M, BeGole E, Surgery MBO, Medicine O, 2003 Evaluation of canal cleanliness and smear layer removal after the use of the Quantec-E irrigation system and syringe: a comparative scanning electron. [cited 2025 May 20];
93. Metzger Z, root AKEIC disinfection of the, 2015 undefined. Continuous instrumentation and irrigation: the self-adjusting file (SAF) system. SpringerZ Metzger, A KfirEndodontic Irrigation: Chemical disinfection of the root canal system, 2015 Jan 1 [cited 2025 May 22];199–220.
94. Hof R, Perevalov V, Eltanani M, Zary R, endodontics ZMJ of, 2010 undefined. The self-adjusting file (SAF). Part 2: mechanical analysis. ElsevierR Hof, V Perevalov, M Eltanani, R Zary, Z MetzgerJournal of endodontics, [cited 2025 May 22];
95. Metzger Z, Teperovich E, Cohen R, Zary R, Paqué F, Hülsmann M. The self-adjusting file (SAF). Part 3: removal of debris and smear layer—a scanning electron microscope study. *Journal of endodontics*, 2010 [cited 2025 May 22];36:697–702.
96. De-Deus G, Barino B, Marins J, ... KMJ of, 2012 undefined. Self-adjusting file cleaning-shaping-irrigation system optimizes the filling of oval-shaped canals with thermoplasticized gutta-percha. *Journal of Endodontics*, 2012 [cited 2025 May 22];
97. De-Deus G, Souza EM, Barino B, Maia J, Zamolyi RQ, Reis C, et al. The self-adjusting file optimizes debridement quality in oval-shaped root canals. *Journal of endodontics*, 2011 [cited 2025 May 22];37:701–5
98. Metzger Z, Zary R, Cohen R, Endodontics ETJ of, 2010 undefined. The quality of root canal preparation and root canal obturation in canals treated with rotary versus self-adjusting files: a three-dimensional micro-computed. *Journal of Endodontics*, 2010 [cited 2025 May 22];36:1569–73
99. Baldasso F, Roletto L, ... VSB oral, 2017 undefined. Effect of final irrigation protocols on microhardness reduction and erosion of root canal dentin. *KopperBrazilian oral research*, [cited 2025 Feb 13];

100. Butler WT, Brunn JC, Qin C. Dentin extracellular matrix (ECM) proteins: comparison to bone ECM and contribution to dynamics of dentinogenesis. Taylor & Francis WT Butler, JC Brunn, C Qin Connective tissue research, 2003 [cited 2025 Sep 18];44(SUPPL. 1):171–8.
101. Uzunoglu E, Aktemur S, Uyanik M, ... VDJ of, 2012 undefined. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid on root fracture with respect to concentration at different time exposures. Journal of endodontics, [cited 2025 Sep 18];
102. Dibaji F, Afkhami F, ... BBI endodontic, 2017 undefined. Fracture resistance of roots after application of different sealers Iranian endodontic journal, [cited 2025 Sep 18]; /
103. BARBOSA S V., SAFAVI KE, SPÅNGBERG LSW. Influence of sodium hypochlorite on the permeability and structure of cervical human dentine. International Endodontic Journal, 1994• [cited 2025 Sep 18];27(6):309–12.
104. Ari H, Erdemir A, endodontics SBJ of, 2004 Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. Journal of endodontics, [cited 2025 Feb 13];
105. Xu H, Ye Z, Zhang A, Lin F, Fu J, Fok ASL, et al. Effects of concentration of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant on the mechanical and structural properties of root dentine: A laboratory study. International endodontic journal, 2022• 2022 Oct 1 [cited 2025 Feb 13];55(10):1091–102.
106. Li A, Markvart M, Endodontics PAJ of, 2022 undefined. Effect of different concentrations of Sodium Hypochlorite on the compressive strength of endodontically treated roots. Journal of Endodontics, [cited 2025 Feb 13];
107. Grigoratos D, Knowles J, Ng YL, Gulabivala K. Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. Int Endod J. 2001 Mar;34(2):113–9.
108. Dotto L, Onofre R, Bacchi A, endodontics GPJ of, 2020 undefined. Effect of root canal irrigants on the mechanical properties of endodontically treated teeth: a scoping review. Journal of endodontics, 2020•Elsevier [Internet]. [cited 2025 Feb 13];
109. Shruthi ST, Kalaiselvam R, Balaji L. Effect of Heated Sodium Hypochlorite Irrigant on Structural Changes and Microhardness of Radicular Dentine: An In Vitro Study. Journal of Contemporary Dental Practice. 2023;24(3):176–80.
110. Uzunoglu E, Aktemur S, Uyanik M, ... VDJ of, 2012 undefined. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid on root fracture with respect to concentration at different time exposures. [cited 2025 Feb 13]
111. Neelakantan P, Subbarao C, Subbarao C V., De-Deus G, Zehnder M. The impact of root dentine conditioning on sealing ability and push-out bond strength of an epoxy resin root canal sealer. Int Endod J. 2011 Jun;44(6):491–8.

112. Arx T von, SSO DBSDJ, 2017 undefined. Vertical root fractures of endodontically treated posterior teeth: A histologic analysis with clinical and radiographic correlates. D BosshardtSWISS DENTAL JOURNAL 20172017 [cited 2025 Sep 18];127:14–23.
113. Rauscher H, Sokull-Klüttgen B, Stamm H. The European Commission's recommendation on the definition of nanomaterial makes an impact. *Nanotoxicology*. 2013 Nov;7(7):1195–7.
114. Zakrzewski W, Dobrzyński M, Materials AZK, 2021 undefined. Nanomaterials application in endodontics. [cited 2025 Jan 13];
115. Bapat R, Joshi C, Bapat P, today TCD discovery, 2019 undefined. The use of nanoparticles as biomaterials in dentistry. [cited 2025 Jan 13];
116. Chieruzzi M, Pagano S, Moretti S, Pinna R, Milia E, Torre L, et al. Nanomaterials for tissue engineering in dentistry. [cited 2025 Jan 13]; 2079-4991/6/7/134
117. Chibuzor Onwubu S, Mdluli S, Singh S, Chibuzor OS. The Effectiveness of Nanomaterials in the Management of Dentine Hypersensitivity-A. *Journal of Clinical Review & Case Reports*, 2018• 2018 [cited 2025 Jan 13];
118. Ferreira I, Vidal C, Botelho A, ... PFTJ of P, 2020 undefined. Effect of nanomaterial incorporation on the mechanical and microbiological properties of dental porcelain. *Journal of Prosthetic Dentistry*, [cited 2025 Jan 13];
119. Li FC, Kishen A. Microtissue engineering root canal dentine with crosslinked biopolymeric nanoparticles for mechanical stabilization. *Int Endod J*. 2018 Oct 1;51(10):1171–80.
120. Kishen A, Shrestha S, Shrestha A, Cheng C, 2016 Characterizing the collagen stabilizing effect of crosslinked chitosan nanoparticles against collagenase degradation. *C GohDental Materials*, 2016 [cited 2025 Jan 13];
121. Jowkar Z, Hamidi S, Clinical FS, and cosmetic, 2020 undefined. The effect of silver, zinc oxide, and titanium dioxide nanoparticles used as final irrigation solutions on the fracture resistance of root-filled teeth. *cosmetic and investigational dentistry*, 2020 [cited 2025 Jan 13];12:141–8. 10.2147/CCIDE.S253251
122. Franci G, Falanga A, Galdiero S, Palomba L, Rai M, Morelli G, et al. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. 2015 [cited 2025 May 13];20:8856–74. 1420-3049/20/5/8856
123. Rai M, Yadav A, advances AGB, 2009 undefined. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *ElsevierM Rai, A Yadav, A GadeBiotechnology advances*, [cited 2025 May 13];
124. biomaterialia JJA, 2013 undefined. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *JonesActa biomaterialia*, [cited 2025 May 13];

125. Wu C, Chang J. Mesoporous bioactive glasses: Structure characteristics, drug/growth factor delivery and bone regeneration application. 2012 [cited 2025 May 13];2(3):292–306. 10.1098/rsfs.2011.0121
126. Zhang L, Xia J, Zhao Q, Liu L, Zhang Z. Functional graphene oxide as a nanocarrier for controlled loading and targeted delivery of mixed anticancer drugs. Wiley Online Library L Zhang, J Xia, Q Zhao, L Liu, Z Zhangsmall, 2010• 2010 Feb 22 [cited 2025 May 13];6(4):537–44. 10.1002/sml.200901680
127. Rizeq BR, Younes NN, Rasool K, Nasrallah GK. Synthesis, Bioapplications, and Toxicity Evaluation of Chitosan-Based Nanoparticles. *Int J Mol Sci* 2019 Nov 2 [cited 2025 Jan 14];20(22). 31744157/
128. Rabea EI, Badawy MET, Stevens C V., Smagghe G, Steurbaut W. Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Biomacromolecules*. 2003 Nov;4(6):1457–65.
129. Ong TH, Chitra E, Ramamurthy S, Paruvathanahalli R, 2nd S, Yuen KH, et al. Chitosan-propolis nanoparticle formulation demonstrates anti-bacterial activity against *Enterococcus faecalis* biofilms. 2017 Mar 1 [cited 2025 Jan 14];12(3).
130. polymers MKR and functional, 2000 A review of chitin and chitosan applications. [cited 2025 Jan 14];
131. Upadya M, Shrestha A, endodontics AKJ of, 2011 undefined. Role of efflux pump inhibitors on the antibiofilm efficacy of calcium hydroxide, chitosan nanoparticles, and light-activated disinfection. 2011•Elsevier [Internet]. [cited 2025 Jan 14];
132. Kishen A, Shrestha S, Shrestha A, Cheng C, Materials CGD, 2016 undefined. Characterizing the collagen stabilizing effect of crosslinked chitosan nanoparticles against collagenase degradation. *GohDental Materials*, 2016• [cited 2025 Jan 14];
133. Jing X, Xie B, Li X, Dai Y, Nie L, Materials CLD, Peptide decorated demineralized dentin matrix with enhanced bioactivity, osteogenic differentiation via carboxymethyl chitosan. *LiDental Materials*, 2021• [cited 2025 Feb 14];
134. Kalaithong W, Molloy R, Nalampang K, Somsunan R. Design and optimization of polymerization parameters of carboxymethyl chitosan and sodium 2-acrylamido-2-methylpropane sulfonate hydrogels as wound dressing materials. *Eur Polym J*. 2021 Jan 15;143.
135. Wang Z, Su J, Ali A, Yang W, Zhang R, Chitosan and carboxymethyl chitosan mimic biomineralization and promote microbially induced calcium precipitation. *J LiCarbohydrate Polymers*, 2022•[cited 2025 Feb 14];
136. Song J, Wang H, Yang Y, Xiao Z, Lin H, Jin L, et al. Nanogels of carboxymethyl chitosan and lysozyme encapsulated amorphous calcium phosphate to occlude dentinal tubules. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2018• 2018 Jun 1 [cited 2025 Feb 14];29(6):84.

137. Huang Z, Qi Y, Zhang K, Gu L, Guo J, ... RWJ of the M, et al. Use of experimental-resin-based materials doped with carboxymethyl chitosan and calcium phosphate microfillers to induce biomimetic remineralization of. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2019• [cited 2025 Feb 14];
138. Liu H, Lin M, Liu X, Zhang Y, Luo Y, Pang Y, et al. Doping bioactive elements into a collagen scaffold based on synchronous self-assembly/mineralization for bone tissue engineering. *Bioactive materials*, 2020• [cited 2025 Feb 14];
139. Lin M, Liu H, Deng J, An R, Shen M, ... YLJ of M, et al. Carboxymethyl chitosan as a polyampholyte mediating intrafibrillar mineralization of collagen via collagen/ACP self-assembly. 2019• [cited 2025 Feb 14];
140. Holmes D, Lu Y, Starborg T, developmental KKC topics in, 2018 undefined. Collagen fibril assembly and function. [cited 2025 Jan 14];
141. Gu L, Shan T, Ma Y, Tay F, biotechnology LNT in, 2019 undefined. Novel biomedical applications of crosslinked collagen. *cell.com* L Gu, T Shan, Y Ma, FR Tay, L NiuTrends in biotechnology, 2019• [cited 2025 Jan 14]
142. Huang-Lee LLH, Cheung DT, Nimni ME. Biochemical changes and cytotoxicity associated with the degradation of polymeric glutaraldehyde derived crosslinks. *J Biomed Mater Res*. 1990;24(9):1185–201.
143. Nishi C, Nakajima N, Ikada Y. In vitro evaluation of cytotoxicity of diepoxy compounds used for biomaterial modification. *J Biomed Mater Res*. 1995;29(7):829–34.
144. Tsai TH, Chen CF, Westly J, Lee TF. Identification and determination of geniposide, genipin, gardenoside, and geniposidic acid from herbs by hplc/photodiode-array detection. *J Liq Chromatogr*. 1994 Jun 1;17(10):2199–205.
145. Fujikawa S, Yokota T, Koga K, Kumada J ichi. The continuous hydrolysis of geniposide to genipin using immobilized β -glucosidase on calcium alginate gel. *Biotechnol Lett*. 1987 Oct;9(10):697–702.
146. Shanmugam MK, Shen H, Tang FR, Arfuso F, Rajesh M, Wang L, et al. Potential role of genipin in cancer therapy. *Pharmacol Res*. 2018 Jul 1;133:195–200.
147. Nagaoka H, Nagaoka H, Walter R, Boushell LW, Miguez PA, Burton A, et al. Characterization of Genipin-Modified Dentin Collagen. *BioMed Research International*, 2014• [cited 2025 Feb 14];2014.
148. Sung H, Chang Y, ... CCJ of biomedical, 1999 undefined. Crosslinking characteristics and mechanical properties of a bovine pericardium fixed with a naturally occurring crosslinking agent. *Wiley Online Library [Internet]*. [cited 2025 Jan 14];
149. Mazzoni A, Tjäderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, et al. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *J Dent Res*. 2015 Feb 22;94(2):241–51.

150. Chan B, Chan O, biomaterialia KSA, 2008 undefined. Effects of photochemical crosslinking on the microstructure of collagen and a feasibility study on controlled protein release. SoActa biomaterialia. [cited 2025 Feb 14];
151. Hamblin M, Sciences THP& P, 2004. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? Photochemical & Photobiological Sciences, [cited 2025 Feb 14];
152. Spikes JD, Shen HR, Kopečková P, Kopeček J. Photodynamic crosslinking of proteins. III. Kinetics of the FMN- and rose bengal-sensitized photooxidation and intermolecular crosslinking of model tyrosine-containing N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymers. Photochem Photobiol. 1999;70(2):130–7.
153. Madhavan K, Belchenko D, Motta A, biomaterialia WTA, 2010 Evaluation of composition and crosslinking effects on collagen-based composite constructs. biomaterialia, 2010• [cited 2025 Feb 14]
154. Everaerts F, Gillissen M, Torrianni M, ... PZJ of heart valve, 2006 . Reduction of calcification of carbodiimide-processed heart valve tissue by prior blocking of amine groups with monoaldehydes. Journal of heart valve disease, [cited 2025 Feb 14];
155. Redmond R, photobiology IKP and, 2019 Medical applications of Rose Bengal- and riboflavin-photosensitized protein crosslinking. 2019 Sep 1 [cited 2025 Apr 24];95(5):1097–115.
156. Vanerio N, Stijnen M, De Mol BAJM, Kock LM. Biomedical Applications of Photo- and Sono-Activated Rose Bengal: A Review. Photobiomodul Photomed Laser Surg. 2019 Jul 1;37(7):383–94.
157. Everaerts F, Torrianni M, Luyn M van, Biomaterials P van W, 2004 undefined. Reduced calcification of bioprostheses, cross-linked via an improved carbodiimide based method. 2004 [cited 2025 Feb 14]
158. Plotino G, Grande NM, Mercade M. Photodynamic therapy in endodontics. International endodontic journal, 2019 Jun 1 [cited 2025 May 6];52(6):760–74. 10.1111/iej.13057
159. Ash C, Dubec M, Donne K, Bashford T. Effect of wavelength and beam width on penetration in light-tissue interaction using computational methods. medical science, 2017 Nov 1 [cited 2025 May 6];32(8):1909–18.
160. Ricardo Pereira J, José Antunes Martins R, Villaça ZOGHEIB L, Ricardo PEREIRA J, Lins do VALLE A, Alves de OLIVEIRA J, et al. Fracture resistance of weakened roots restored with composite resin and glass fiber post. SciELO BrasilLV Zogheib Dental Journal, 2008 [cited 2025 May 6];19(4):329–33.
161. Fokkinga WA, Le Bell AM, Kreulen CM, Lassila LVJ, Vallittu PK, Creugers NHJ. Ex vivo fracture resistance of direct resin composite complete crowns with and without posts on maxillary premolars. NHJ CreugersInternational endodontic journal, 2005 Apr [cited 2025 May 6];38(4):230–7.

162. Shi Z, Neoh K, Kang E, Biomaterials WW, 2006 undefined. Antibacterial and mechanical properties of bone cement impregnated with chitosan nanoparticles. 2006 [cited 2025 Feb 18];
163. reviews JKA drug delivery, 2001 Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. J Kreuter Advanced drug delivery reviews, 2001• [cited 2025 Feb 18];
164. Shoueir K, El-Desouky N, ... MRI journal of, 2021 undefined. Chitosan based-nanoparticles and nanocapsules: Overview, physicochemical features, applications of a nanofibrous scaffold, and bioprinting. International journal of biological macromolecules, 2021 [cited 2025 Feb 18];
165. Zhong Y, Zhuang C, Gu W, polymers YZC, 2019 undefined. Effect of molecular weight on the properties of chitosan films prepared using electrostatic spraying technique. [cited 2025 Feb 18];
166. Sugiyanti D, Darmadji P, Anggrahini S, Anwar C, Santoso... [cited 2025 Feb 18].
167. Ahsan S, Thomas M, ... KRI journal of, 2018 undefined. Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering. journal of biological macromolecules, 2018 [cited 2025 Feb 18];
168. Agnihotri S, ... NMJ of controlled, 2004 undefined. Recent advances on chitosan-based micro-and nanoparticles in drug delivery. Journal of controlled release, 2004• [cited 2025 Feb 18];:
169. Francisco Espinosa-Cristóbal L, Alejandro Martínez-Castañón G, Pablo Loyola-Rodríguez J, Niño-Martínez N, Ruiz F, Verónica Zavala-Alonso N, et al. Bovine serum albumin and chitosan coated silver nanoparticles and its antimicrobial activity against oral and nonoral bacteria. Journal of Nanomaterials, 2015 [cited 2025 Feb 18];2015. 10.1155/2015/420853
170. ... A del CPR, 2015 Chelating and antibacterial properties of chitosan nanoparticles on dentin. Restorative dentistry & endodontics, 2015 [cited 2025 Feb 18]; 1090120
171. Ghaffari M, Kishen A, and ASJ of P, 2023 Endocytic internalization mechanism of bioactive antibacterial nanoparticles by fibroblasts. Journal of Photochemistry and Photobiology, 2023 [cited 2025 Feb 25];
172. Wanule D, Balkhande J, Ratnakar P, Extraction AK, 2014 undefined. Extraction and FTIR analysis of chitosan from American cockroach, *Periplaneta americana*. [cited 2025 Aug 7];
173. Shrestha A, Hamblin MR, Kishen A. Characterization of a conjugate between Rose Bengal and chitosan for targeted antibiofilm and tissue stabilization effects as a potential treatment of infected dentin. 2012 Sep [cited 2025 Aug 7];56(9):4876–84. 10.1128/aac.00810-12
174. Agarwal M, Agarwal K, Shrivastav N, Pandey S, Das R, Gaur P. Preparation of Chitosan Nanoparticles and their In-vitro Characterization. 2018 [cited 2025 Aug 7];

175. Socrates G. Infrared Characteristic Frequencies,... - [cited 2025 Aug 7].
176. Touré B, Faye B, Kane AW, Lo CM, Niang B, Boucher Y. Analysis of Reasons for Extraction of Endodontically Treated Teeth: A Prospective Study. *J Endod*. 2011 Nov 1;37(11):1512–5.
177. KISHEN A. Mechanisms and risk factors for fracture predilection in endodontically treated teeth. *Endod Topics* [Internet]. 2006 Mar 1 [cited 2025 Mar 18];13(1):57–83. 10.1111/j.1601-1546.2006.00201
178. Kishen A. Biomechanics of fractures in endodontically treated teeth. *Endod Topics* [Internet]. 2015 Nov 1 [cited 2025 Mar 18];33(1):3–13. 10.1111/etp.12089
179. Slutzky-Goldberg I, Maree M, Liberman R, endodontics IHJ of, 2004 undefined. Effect of sodium hypochlorite on dentin microhardness. *Journal of endodontics*, [cited 2025 Mar 18];
180. Rashidi H, Yang J, Shakesheff KM. Surface engineering of synthetic polymer materials for tissue engineering and regenerative medicine applications. *Biomater Sci*. 2014 Oct 1;2(10):1318–31.
181. Kishen A, Shrestha S, Shrestha A, Cheng C, Goh C. Characterizing the collagen stabilizing effect of crosslinked chitosan nanoparticles against collagenase degradation. *Dental Materials*. 2016 Aug 1;32(8):968–77.
182. Oryan A, Kamali A, Moshiri A, Baharvand H, Daemi H. Chemical crosslinking of biopolymeric scaffolds: Current knowledge and future directions of crosslinked engineered bone scaffolds. *Int J Biol Macromol*. 2018 Feb 1;107(PartA):678–88.
183. Everaerts F, Gillissen M, Torrianni M, ... PZJ of heart valve, 2006 undefined. Reduction of calcification of carbodiimide-processed heart valve tissue by prior blocking of amine groups with monoaldehydes. *Journal of heart valve disease*, [cited 2025 Aug 21];
184. Rafat M, Li F, Fagerholm P, Lagali N, Biomaterials MW, 2008 undefined. PEG-stabilized carbodiimide crosslinked collagen–chitosan hydrogels for corneal tissue engineering. M Rafat, F Li, P Fagerholm, NS Lagali, MA Watsky, R Munger, T Matsuura, M Griffith *Biomaterials*, 2008•Elsevier [Internet]. [cited 2025 Aug 21]
185. Verweij H, ... TDB et B, 1981 undefined. Photodynamic protein cross-linking. ElsevierH Verweij, TMAR Dubbelman, J Van Steveninck *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1981• [cited 2025 Aug 21];
186. Chan BP, Hui TY, Chan OCM, So KF, Lu W, Cheung KMC, et al. Photochemical cross-linking for collagen-based scaffolds: A study on optical properties, mechanical properties, stability, and hemocompatibility. *Tissue Eng*. 2007 Jan 1;13(1):73–85.

187. Shrestha A, Hamblin MR, Kishen A. Photoactivated rose bengal functionalized chitosan nanoparticles produce antibacterial/biofilm activity and stabilize dentin-collagen. *Nanomedicine*. 2014 Apr 1;10(3):491–501.
188. Masarudin MJ, Cutts SM, Evison BJ, Phillips DR, Pigram PJ. Factors determining the stability, size distribution, and cellular accumulation of small, monodisperse chitosan nanoparticles as candidate vectors for anticancer drug. Taylor & FrancisMJ Masarudin, SM Cutts, BJ Evison, DR Phillips, PJ PigramNanotechnology, science and applications, 2015•Taylor & Francis 2015 Dec 11 [cited 2025 Mar 18];8:67–80
189. Jonassen H, Kjørnsen AL, Hiorth M. Stability of chitosan nanoparticles cross-linked with tripolyphosphate. *Biomacromolecules*. 2012 Nov 13;13(11):3747–56.
190. Evaluation of mechanical properties and bond strength... - Google Akademik [Internet]. [cited 2025 Aug 7].
191. Ratih DN, Sari NI, Santosa P, Kaswati NMN. Time-dependent effect of chitosan nanoparticles as final irrigation on the apical sealing ability and push-out bond strength of root canal obturation. *International Journal of Dentistry*, 2020 [cited 2025 Aug 7];2020.
192. Zhang X, Chen X, Yang T, Zhang N, Dong L, Ma S, et al. The effects of different cross-linking conditions of genipin on type I collagen scaffolds: an in vitro evaluation. *Cell Tissue Bank*. 2014 Nov 6;15(4):531–41.
193. Sung HW, Huang RN, Huang LH, Tsai CC. In vitro evaluation of cytotoxicity of a naturally occurring cross-linking reagent for biological tissue fixation. *J Biomater Sci Polym Ed*. 1999 Jan 1;10(1):63–78.
194. Koo H, Song Y, Kim H, Lee Y, ... SHE journal of, 2004 undefined. Antiinflammatory effects of genipin, an active principle of gardenia. *European journal of pharmacology*, [cited 2025 Mar 27];
195. Karina A, Bedran-Russo B, Pereira PNR, Duarte WR, Drummond JL, Yamauchi M. Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied*, 2007 2006 Jan [cited 2025 Mar 27];80(1):268–72.
196. Bi L, Cao Z, Hu Y, Song Y, Yu L, Yang B, et al. Effects of different cross-linking conditions on the properties of genipin-cross-linked chitosan/collagen scaffolds for cartilage tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2011 Jan [cited 2025 May 6];22(1):51–62.
197. Kwon Y, Lim E, Kim H, Hwang Y, ... KLJ of, 2015 undefined. Genipin, a cross-linking agent, promotes odontogenic differentiation of human dental pulp cells. [cited 2025 Mar 27];
198. Walter R, Miguez PA, Arnold RR, Pereira PNR, Duarte WR, Yamauchi M. Effects of natural cross-linkers on the stability of dentin collagen and the inhibition of root caries in vitroCaries Research, 2008•karger.com [Internet]. 2008 [cited 2025 Mar 27];42:263–8.

199. Li Z, Zeng Y, Ren Q, Ding L, Han S, Hu D, et al. Mineralization promotion and protection effect of carboxymethyl chitosan biomodification in biomimetic mineralization. *Journal of Biological Macromolecules*, 2023• [cited 2025 Feb 14];
200. Huang Z, Qi Y, Zhang K, Gu L, Guo J, Wang R, et al. Use of experimental-resin-based materials doped with carboxymethyl chitosan and calcium phosphate microfillers to induce biomimetic remineralization of caries-affected dentin. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2019 Jan 1;89:81–8.
201. Elien T, Sutadi H, Science MSJ of O, 2023 undefined. Concentration-dependent effect of carboxymethyl chitosan amorphous calcium phosphate on the surface hardness of primary tooth enamel. *Journal of Oral Science*, 2023 Jul 1 [cited 2025 Mar 27];65(3):168–70.
202. Wang R, Guo J, Lin X, Chen S Influence of molecular weight and concentration of carboxymethyl chitosan on biomimetic mineralization of collagen. 2020 [cited 2025 Mar 27];
203. Hamblin M, Sciences THP& P, 2004 Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2004• 2004 [cited 2025 Apr 8];
204. Spikes JD, Shen HR, Kopečková P, Kopeček J. Photodynamic crosslinking of proteins. III. Kinetics of the FMN- and rose bengal-sensitized photooxidation and intermolecular crosslinking of model tyrosine-containing N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymers. *Photochem Photobiol*. 1999;70(2):130–7.
205. Chan B, Chan O, biomaterialia KSA, 2008 Effects of photochemical crosslinking on the microstructure of collagen and a feasibility study on controlled protein release. [cited 2025 Apr 8]
206. Shrestha A, Friedman S, Kishen A. Photodynamically crosslinked and chitosan-incorporated dentin collagen. *J Dent Res*. 2011 Nov;90(11):1346–51.
207. Shrestha A, Hamblin M, and AKA agents, 2012 undefined. Characterization of a conjugate between Rose Bengal and chitosan for targeted antibiofilm and tissue stabilization effects as a potential treatment of infected dentin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2012 Sep [cited 2025 Apr 17];56(9):4876–84.
208. Multi-functional micro and nanoparticles for use in root canal therapies. 2018 Feb 16;
209. Chen W, Adams R, Carubelli R, letters RNC, 1997 undefined. Laser-photosensitizer assisted immunotherapy: a novel modality for cancer treatment. 1997 [cited 2025 May 13];115:25–30.
210. Huang L, Dai T, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic inactivation and photodynamic therapy for infections. SpringerL Huang, T Dai, MR Hamblin *Photodynamic Therapy: Methods and Protocols*, 2010• [cited 2025 May 13];635:155–73.

211. Disodia N, Dhanak N, ... APJ of, 2025. Evaluating the effectiveness of various disinfectants in deep carious lesions: An in vivo study. *Journal of Conservative Dentistry and Endodontics* [cited 2025 May 13];
212. Helfer A, Melnick S, Surgery HSO, Medicine O, Oral 1972 Determination of the moisture content of vital and pulpless teeth. [cited 2025 May 8];
213. Teixeira F, Teixeira E, ... JTTJ of the, 2004 Fracture resistance of roots endodontically treated with a new resin filling material. [cited 2025 May 8];
214. Trope M, endodontics ERJ of, 1992 undefined. Multidisciplinary approach to the repair of vertically fractured teeth. *Journal of endodontics*, 1992• 1992 [cited 2025 May 13];18(9).
215. Journal GSIE, 1990 undefined. Clinical application of glass ionomer cements in endodontics. *International Endodontic Journal*, 1990 [cited 2025 May 13];23(3):172–8.
216. Loney R, Moulding M, of RRIJ, 1995 The effect of load angulation on fracture resistance of teeth restored with cast post and cores and crowns. *Journal of Prosthodontics*, [cited 2025 May 13];
217. Stokes A, rehabilitation JHJ of oral, 1993. Impact fracture characteristics of intact and crowned human central incisors. *Journal of oral rehabilitation*, 1993 [cited 2025 May 13];20(1):89–95.
218. Al-Omiri M, journal AAI endodontic, 2006. An ex vivo study of the effects of retained coronal dentine on the strength of teeth restored with composite core and different post and core systems. *International endodontic journal*, 2006 Nov [cited 2025 May 13];39(11):890–9.
219. Teixeira F, Teixeira E, ... JTTJ of the, 2004 Fracture resistance of roots endodontically treated with a new resin filling material. [cited 2025 May 13];
220. Naumann M, Metzdorf G, Fokkinga W, Watzke R, Sterzenbach G, Bayne S, et al. Influence of test parameters on in vitro fracture resistance of post-endodontic restorations: a structured review. *Journal of oral rehabilitation*, 2009•Wiley 2009 Apr [cited 2025 May 13];36(4):299–312.
221. Sirimai S, Riis D, dentistry SMTJ of prosthetic, 1999 undefined. An in vitro study of the fracture resistance and the incidence of vertical root fracture of pulpless teeth restored with six post-and-core systems *Journal of prosthetic dentistry*, [cited 2025 May 13];
222. Stampalia L, Nicholls J, JBTJ of prosthetic, 1986 Fracture resistance of teeth with. resin-bonded restorations. ElsevierLL Stampalia, JI Nicholls, JS Brudvik, *Journal of prosthetic dentistry* [cited 2025 May 13];
223. Ahmed Saba A, Ahmed ElAsfour H, Ahmed ElAsfour EDJ Vol H. Fracture resistance of endodontically treated teeth obturated with different root canal sealers (in vitro study). *Egyptian Dental Journal*, 20192016 [cited 2025 May 13];

224. Johnson M, Stewart G, Surgery CNO, Oral 2000. Evaluation of root reinforcement of endodontically treated teeth. [cited 2025 Jun 10];

