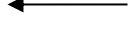


SABİHA CEREN İLİSULU



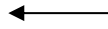
Adınızı soyadınızı giriniz

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.



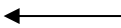
Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .

DOKTORA TEZİ



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

İSTANBUL- 2020



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(DOKTORA TEZİ)

**PEDODONTİDE KULLANILAN GÜNCEL RESTORATİF
MATERYALLERİN İNSAN DENTAL PULPA KÖK
HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İN VİTRO
OLARAK İNCELENMESİ**

SABİHA CEREN İLİSULU

**DANIŞMAN
PROF.DR. FİGEN SEYMEN**

**PEDODONTİ ANABİLİM DALI
PEDODONTİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

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



BEYAN

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

Dt. Sabiha Ceren İlisulu



İTHAF

Desteklerini her zaman yanımda hissettiğim; *canım annem Necla İlisulu'ya, canım babam Ali İlisulu'ya ve biricik abim İlsuhan İlisulu'ya* ithaf ediyorum



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca, sonsuz bilgi ve tecrübelerini her daim içtenlikle aktaran, beni her zaman destekleyen, iyi niyetini ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen, doktora tez çalışmamın her kademesinde anlayışlı ve özverili tavrıyla bana yol gösteren, akademik hayattaki tavrını her daim örnek aldığım ve kendimi öğrencisi olmaktan dolayı şanslı hissettiğim çok değerli danışman hocam **Sayın Prof. Dr. Figen Seymen'e**;

Doktora tezimin oluşumunda ve planlanmasına emeği geçen, tez çalışmamın Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'nda yapılmasına imkan veren, bu süreçte bilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli hocam **Sayın Prof. Dr. Tunç Akkoç'a**, deneysel çalışmalarım esnasında sabır ve fedakarlıkla bana yardımcı olan sevgili **Nur Ecem Öztop'a**;

Doktora eğitimim süresince her zaman bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım İstanbul Üniversitesi Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarım **Prof. Dr. Gamze Aren, Prof. Dr. Oya Aktören, Prof. Dr. Koray Gençay, Prof. Dr. Elif Bahar Tuna İnce, Prof. Dr. Arzu Pınar Erdem ve Doç. Dr. Yeliz Güven'e**, öğretim görevlisi **Dr. Yelda Kasımoğlu'na**;

Bu uzun yolculukta her konuda bana destek olan, her soruma sabırla cevap veren, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam **Doç. Dr. Mine Koruyucu'ya**;

Her daim yanımda hissettiğim, birlikte çok şey paylaştığımız, her zaman yanımda olmasını dilediğim, tez sürecimin her aşamasında emeği olan canım **Dr. Sinem Birant'a**;

Berber yola çıktığımız günden beri birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, varlıklarıyla zorlu ve sıkıntılı geçen günlerde yüzümü güldüren, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, birlikte güzel anılar biriktirdiğimiz, her zaman yanımda olmalarını dilediğim canım arkadaşlarım **Dilara Dinç, Gülsevim Usta, Merve Esen, Cansu Akay Tekin'a** ve beraber çalıştığım İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki **sevgili asistan arkadaşlarıma**;

Her çalışmamda bana her türlü desteklerini veren İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nın hemşireleri **Necla Keskin, Yeliz Karataş zer'e;**

Hayatım boyunca sevgi, anlayış ve desteklerini her daim yanımda hissettiğim canım ailem **Necla, Ali ve İlsuhan İlisulu'ya;**

sonsuz teşekkür ederim.

SABİHA CEREN İLİSULU

İSTANBUL, 2020

Bu alışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 33272

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	iii
BEYAN.....	iv
İTHAF.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xvii
ÖZET	xx
ABSTRACT.....	xxi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pedodontide kullanılan restoratif materyaller	3
2.1.1. Amalgam.....	3
2.1.2. Cam İyonomer Simanlar	5
2.1.2.1. Geleneksel Cam iyonomer Simanlar (GCİS).....	6
2.1.2.2. Hibrit Cam iyonomer Simanlar	12
2.1.2.3. Yüksek Vizkoziteli Cam İyonomer Simanlar (YVCİS).....	14
2.1.2.4. Giomer.....	15
2.1.2.5. Nano-iyonomer	15
2.1.2.6. Cam Karbomer	16
2.1.3. Kompozit.....	17
2.1.4. Paslanmaz Çelik Kron.....	18
2.2. Pulpa	18
2.2.1. Pulpanın Tabakaları	19
2.2.2. Pulpanın Hücreleri	19
2.2.2.1. Odontoblastlar	19
2.2.2.2. Fibroblastlar	20
2.2.2.3. Farklılaşmamış Mezenkimal Hücreler	20
2.2.2.4. Savunma Hücreleri.....	20
2.2.3. Hücreler Arası Esas Madde.....	21

2.2.4. Bağ Dokusu Lifleri.....	21
2.2.5. Pulpanın Damarsal Yapısı.....	21
2.2.6. Pulpanın Lenf Damarları.....	22
2.2.7. Pulpanın Sinirsel Uyarımı	22
2.2.8. Pulpanın Görevleri	23
2.2.8.1. Dentin Formasyonu	23
2.2.8.2. Besleyici Görevi.....	23
2.2.8.3. Savunma Görevi.....	24
2.2.8.4. Sinirsel Görevi	24
2.3. Kök Hücre	24
2.3.1. Kök Hücrelerin Özellikleri.....	24
2.3.2. Farklılaşma Kapasitelerine Göre Kök Hücreler.....	25
2.3.2.1. Totipotent Kök Hücreler	25
2.3.2.2. Pluripotent Kök Hücreler	26
2.3.2.3. Multipotent Kök Hücreler	26
2.3.2.4. Oligopotent Kök Hücreler.....	26
2.3.2.5. Unipotent Kök Hücreler	26
2.3.3. Kaynaklarına Göre Kök Hücreler	26
2.3.3.1. Embriyonik Kök Hücreler.....	26
2.3.3.2. Yetişkin Kök Hücreler	27
2.3.3.3. Hematopoetik Kök Hücreler	27
2.3.3.4. Mezenkimal Kök Hücreler (MKH).....	27
2.3.4. Dental Dokulardan Elde Edilen Mezenkimal Kök Hücreler	28
2.3.4.1. Dental Pulpa Kök Hücreleri	29
2.3.4.2. Eksfoliye Süt Dişlerindeki Kök Hücreler	30
2.3.4.3. Periodontal Ligament Kök Hücreleri	30
2.3.4.4. Dental Folikül Kök Hücreleri.....	30
2.3.4.5. Dental Apikal Papilla Kökenli Kök Hücreler	30
2.4. Biyouyumluluk ve Sitotoksosite	31
2.4.1. Sitotoksosite Değerlendirme Yöntemleri.....	31
2.4.1.1. Canlılık Değerlendirme Testleri.....	32
2.4.1.2. Yaşam Değerlendirme Testleri	33
2.4.1.3. Metabolizma Değerlendirme Testleri	33

2.4.1.4. Hücre Proliferasyonu Değerlendirme Testleri	33
2.4.2. Apoptozun Saptanmasında Kullanılan Yöntemler.....	34
2.4.3. Akım Sitometri.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1. Gereçler.....	39
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Materyaller	39
3.1.2. Hücre Kültür Çalışmasında Kullanılan Kimyasal, Dental, Sarf Malzemeler ve Cihazlar	41
3.1.2.1. Kimyasal Malzemeler	41
3.1.2.2. Restoratif Malzemeler	42
3.1.2.3. Sarf Malzemeler	42
3.1.2.4. Kullanılan Cihazlar	42
3.2. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi	43
3.3. Yöntem.....	44
3.3.1. Hücre Kültürü, Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin İzolasyonu ve Karakterizasyonu	44
3.3.1.1. Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücre İzolasyonu ve Ekimi	44
3.3.1.2. İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Pasajlanması.....	48
3.3.1.3. İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Sayımı	49
3.3.1.4. İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Karakterizasyonu	51
3.3.1.5. İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Dondurularak Saklanması	53
3.3.2. Materyallerin hazırlanması	54
3.3.3. Materyallerin Salınım Sıvılarının Elde Edilmesi	57
3.3.4. Dental Pulpa Kök Hücrelerin 48 Kuyucuklu Plaklara Ekilmesi.....	58
3.3.5. Dental Pulpa Kök Hücrelerin Elde Edilen Salınım Sıvılarına Maruz Bırakılması	58
3.3.6. Akım Sitometri Cihazı İle Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi	59
3.4. İstatistiksel Analiz.....	60
4. BULGULAR.....	61
4.1. BİRİNCİ AŞAMA: Gömük Yirmi Yaş Dışından Elde Edilen Dokulardan Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin İzolasyonu ve Pasajlanması	61
4.1.1. İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerinin Pasajlanması	61

4.2. İKİNCİ AŞAMA: İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Osteojenik, Adipojenik ve Kondrojenik Farklılaşma Kapasitelerinin ve Hücre Marker Ekspresyonlarının Belirlenmesi	65
4.2.1. Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Osteojenik Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi	65
4.2.2. Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Adipojenik Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi	66
4.2.3. Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Kondrojenik Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi	66
4.2.4. Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Marker Ekspresyonlarının Belirlenmesi	67
4.3. ÜÇÜNCÜ AŞAMA: Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Restoratif Materyallerden Elde Edilen Salınım Sıvılarına Maruz Bırakılması	69
4.4. DÖRDÜNCÜ AŞAMA: Restoratif Materyallerin Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Canlılığı Üzerine Etkilerinin 1. 3. ve 7. Gün Sonunda Değerlendirilmesi .74	
4.4.1. Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Akım Sitometri ile Analizine ait Bulgular.....	74
4.4.1.1. Akım Sitometri Analizinde Canlı Hücre Bulgularının Değerlendirilmesi...79	
4.4.1.2. Akım Sitometri Analizinde Erken Apoptotik Hücre Bulgularının Değerlendirilmesi	84
4.4.1.3. Akım Sitometri Analizinde Geç Apoptotik Hücre Bulgularının Değerlendirilmesi	89
4.4.1.4. Akım Sitometri Analizinde Nekrotik Hücre Bulgularının Değerlendirilmesi	94
4.4.1.5. Akım Sitometri Analizinde Ölü Hücre Bulgularının Değerlendirilmesi ...100	
5. TARTIŞMA	105
6. SONUÇLAR	125
KAYNAKLAR	126
HAM VERİLER	147
FORMLAR	150
ETİK KURUL KARARI	154
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	155
ÖZGEÇMİŞ	156

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Pedodontide kullanılan restoratif materyaller	3
Tablo 2-2: Cam iyonomer simanların doldurucu içeriği	8
Tablo 2-3: Cam iyonomer simanların likit içeriği	8
Tablo 2-4: Cam iyonomer simanın ISO standart değerleri	10
Tablo 2-5: Geleneksel cam iyonomer simanların avantaj ve dezavantajları	12
Tablo 2-6: Nekroz ve apoptoz arasındaki farklar	35
Tablo 3-1: Çalışma planı.....	38
Tablo 3-2: Çalışmada kullanılan materyaller, içerikleri ve üretici firma bilgileri.....	40
Tablo 3-3: Çalışma grupları.....	43
Tablo 3-4: Materyallerin uygulama prosedürleri.....	54
Tablo 4-1: Zaman ve gruplara göre canlı hücre değerlerinin karşılaştırılması.....	79
Tablo 4-2: Zaman ve gruplara göre canlı hücre değerlerinin karşılaştırılması.....	79
Tablo 4-3: Zaman ve gruplara göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	84
Tablo 4-4: Zaman ve gruplara göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması.....	84
Tablo 4-5: Zaman ve gruplara göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması	89
Tablo 4-6: Zaman ve gruplara göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması	89
Tablo 4-7: Zaman ve gruplara göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması.....	94
Tablo 4-8: Zaman ve gruplara göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması.....	94
Tablo 4-9: Zaman ve gruplara göre ölü hücre değerlerinin karşılaştırılması	100
Tablo 4-10: Zaman ve gruplara göre ölü hücre değerlerinin karşılaştırılması	100

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1: Çalışmada kullanılan materyaller.....	39
Şekil 3-2: Yirmi yaş diş çekimi ve elde edilen dişlerin steril falkon tüpü içindeki görüntüsü	44
Şekil 3-3: Laminar akım hücre kültür kabini	45
Şekil 3-4: Gömük yirmi yaş diş yüzeyindeki doku artıklarının temizlenmesi ve pulpa dokusunun elde edilmesi.....	46
Şekil 3-5: Pulpa dokusunun mikromekanik olarak parçalanması.....	46
Şekil 3-6: Dokuların kollajenaz ile enzimatik parçalanma işlemi	46
Şekil 3-7: İnkübatör	47
Şekil 3-8: Santrifüj cihazı	47
Şekil 3-9: Santrifüj işlemi sonrası hücrelerin DMEM ile yıkanması ve ekimi.....	48
Şekil 3-10: İnvert mikroskop	48
Şekil 3-11: Hücrelerin pasajlanma işlemi	49
Şekil 3-12: Hücre sayımına hazırlık aşaması.....	50
Şekil 3-13: Hücrelerin sayım işlemi	50
Şekil 3-14: Hemositometrede canlı hücre sayımı	50
Şekil 3-15: İzolasyonu sağlanan dental pulpa kök hücrelerin dondurulma işlemi	53
Şekil 3-16: Steril teflon kalıp.....	54
Şekil 3-17: APA Cam Karbomer materyali	55
Şekil 3-18: APA Esthetic Fill materyali	55
Şekil 3-19: GC EQUIA Forte materyali	56
Şekil 3-20: GC Fuji IX GP materyali	56
Şekil 3-21: Örneklerin UV altında 1 saat süreyle bekletilmesi ve 72 saat süreyle inkübe edilmesi.....	57
Şekil 3-22: Örneklerin 72 saat sonraki hali ve sıvıların 0,22 µm'lik filtreden geçirilmesi	57
Şekil 3-23: Dental pulpa kök hücrelerinin 48 kuyucuklu plaklara ekilmesi.....	58
Şekil 3-24: Dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin salınım sıvılarına maruz bırakılması	58
Şekil 3-25: Akım sitometri cihazı	59

Şekil 4-1: P0 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X.....	61
Şekil 4-2: P0 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (LEICA, DMi 1), 10X.....	61
Şekil 4-3: P1 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X.....	62
Şekil 4-4: P1 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (LEICA, DMi 1), 10X.....	62
Şekil 4-5: P2 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X.....	63
Şekil 4-6: P2 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (LEICA, DMi 1), 10X.....	63
Şekil 4-7: P3 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X.....	64
Şekil 4-8: P3 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (LEICA, DMi 1), 10X.....	64
Şekil 4-9: Dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin osteojenik farklılaşma potansiyelinin ALR boyama ile saptanması, 10X	65
Şekil 4-10: Dental pulpa kök hücrelerin adipojenik farklılaşma potansiyelinin Oil Red O boyama ile saptanması, 10X	66
Şekil 4-11: Dental pulpa kök hücrelerin kondrojenik farklılaşma potansiyelinin Alcain Blue boyama ile saptanması, 10X.....	67
Şekil 4-12: Dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin akım sitometri analizi ile mezenkimal kök hücre markerlarının belirlenmesi	68
Şekil 4-13: Dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin akım sitometri analizi ile hematopoetik kök hücre markerlarının belirlenmesi	68
Şekil 4-14: 1. gün sonunda restoratif materyallerin hücreler üzerine olan etkisi (EVOS XL Core), 10X	69
Şekil 4-15: 3. gün sonunda restoratif materyallerin hücreler üzerine olan etkisi (EVOS XL Core), 10X	71
Şekil 4-16: 7. gün sonunda restoratif materyallerin hücreler üzerine olan etkisi (EVOS XL Core), 10X	73

Şekil 4-17: Hücre kontrol grubu ve restoratif materyallerin 1. güne ait akım sitometri örneği	75
Şekil 4-18: Hücre kontrol grubu ve restoratif materyallerin 3. güne ait akım sitometri örneği	77
Şekil 4-19: Hücre kontrol grubu ve restoratif materyallerin 7. güne ait akım sitometri örneği	78
Şekil 4-20: Zaman ve gruplara göre canlı hücre değerlerinin karşılaştırılması	82
Şekil 4-21: 1. gün için gruplar arasında canlı hücre değerlerinin karşılaştırılması	82
Şekil 4-22: 3. gün için gruplar arasında canlı hücre değerlerinin karşılaştırılması	83
Şekil 4-23: 7. gün için gruplar arasında canlı hücre değerlerinin karşılaştırılması	83
Şekil 4-24: Zaman ve gruplara göre erken apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması	86
Şekil 4-25: 1. gün için gruplar arasında erken apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması.....	87
Şekil 4-26: 3. gün için gruplar arasında erken apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması.....	87
Şekil 4-27: 7. gün için gruplar arasında erken apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması.....	88
Şekil 4-28: Zaman ve gruplara göre geç apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması	92
Şekil 4-29: 1. gün için gruplar arasında geç apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması	92
Şekil 4-30: 3. gün için gruplar arasında geç apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması	93
Şekil 4-31: 7. gün için gruplar arasında geç apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması	93
Şekil 4-32: Zaman ve gruplara göre nekrotik hücre değerlerinin karşılaştırılması	97
Şekil 4-33: 1. gün için gruplar arasında nekrotik hücre değerlerinin karşılaştırılması...	98
Şekil 4-34: 3. gün için gruplar arasında nekrotik hücre değerlerinin karşılaştırılması...	98
Şekil 4-35: 7. gün için gruplar arasında nekrotik hücre değerlerinin karşılaştırılması...	99
Şekil 4-36: Zaman ve gruplara göre ölü hücre (erken apoptoz+geç apoptoz+nekroz) değerlerinin karşılaştırılması.....	103
Şekil 4-37: 1. gün için gruplar arasında ölü hücre değerlerinin karşılaştırılması	103
Şekil 4-38: 3. gün için gruplar arasında ölü hücre değerlerinin karşılaştırılması	104

Şekil 4-39: 7. gün için gruplar arasında ölü hücre değerlerinin karşılaştırılması 104



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

FDA: Food and Drug Administration, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

FDI: World Dental Federation, Dünya Dişhekimleri Federasyonu

ADA: American Dental Association, Amerikan Dişhekimliği Derneği

ART: Atravmatik Restoratif Tedavi

ASPA: Alüminosilikat Poliakrilik

CIS: Cam İyonomer Siman

GCİS: Geleneksel Cam İyonomer Siman

°C: Celcius, Derece

dk: Dakika

ISO: International Organization for Standardization, Uluslararası Standardizasyon

Birliği

MPa: Megapaskal

min: Minimum

max: Maksimum

mm: Milimetre

As: Arsenik

Pb: Kurşun

mg: Miligram

kg: Kilogram

NVC: N-vinylcaprolactam

sn: Saniye

RMCIS: Rezin Modifiye Cam İyonomer Siman

HEMA: Hidroksietil Metakrilat

YVCIS: Yüksek Vizkoziteli Cam İyonomer Siman

PRG: Aktif Cam İyonomer Partikülleri

Bis GMA: Bisfenolglisidil Metakrilat

TEGDMA: Trietilen Glikol Dimetakrilat

PEGDMA: Polietilen Glikol Dimetakrilat

AAPD: American Associaton of Pediatric Dentistry, Amerikan Pediatrik

Dişhekimliği Derneği

RNA: Ribo Nükleik Asit

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

ISCT: Uluslararası Hücresel Tedavi Derneği

MKH: Mezenkimal Kök Hücre

TGF β 3: Dönüştürücü Büyüme Faktörü

DPSC: Dental Pulpa Kök Hücre

SHED: Eksfoliye Süt Dişlerindeki Kök Hücre

PDLSC: Periodontal Ligament Kök Hücre

DFSC: Dental Folikül Kök Hücre

SCAP: Dental Apikal Papilla Kökenli Kök Hücre

MTT: Metilmazol Difenil Tetrazolyum Testi

FBS: Fötal Sığır Serum

CDMEM: Complete DMEM

PBS: Phosphate Buffered Saline, Fosfat Tampon Solüsyonu

DPBS: Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline

DMEM: Dulbecco'nun Modifiye Eagle Medyumu

EDTA: Etilendiamintetraasetik asit

mm³: Milimetreküp

ml: Mililitre

rpm: Revolution per minute, Dakikadaki Devir Sayısı

cm²: Santimetrekaare

µl: Mikrolitre

Hs: Mikroskop Altında Sayılan Hücre Sayısı

Do: Seyreltme Oranı

Ss: Standart Sonuç Elde Etmek İçin Kullanılan Sabit Sayı

ALR: Alizarin Red

FITC: Fluoresan İzotiyosiyonat

PE: Fikoeritrin

APC: Allophycocyanin

DMSO: Dimetil Sülfoksit

µm: Mikrometre

7-AAD: 7-Amino-Actinomycin

p: Anlamlılık değeri

sd: Serbestlik Derecesi

Ort: Ortalama

SS: Standart Sapma

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

SEM: Scanning Electron Microscope, Taramalı Elektron Mikroskobu

Nano-HA-Silika: Nano- Hidroksiapatit-silika

ÖZET

İlisulu, S.C. (2020). Pedodontide Kullanılan Güncel Restoratif Materyallerin İnsan Dental Pulpa Kök Hücreleri Üzerine Etkilerinin İn Vitro Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pedodonti ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu çalışmada çocuk diş hekimliğinde güncel olarak kullanılan restoratif materyallerin insan dental pulpa kök hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada kullanılan insan dental pulpa kök hücreleri 19-25 yaş aralığında bulunan bireylerin çekim endikasyonu konulmuş gömük üçüncü büyük azı dişlerinden elde edilmiştir. Hücreler izole edilip konfluent hale geldikten sonra pasajlama işlemine geçilmiş ve hücrelerin en iyi sitogenetik özelliklerini yansıtan 3. pasajdaki hücreler çalışmada kullanılmıştır. Meydana getirilen dental pulpa mezenkimal kök hücrelerine GC Fuji IX GP, GC Equia Forte, APA Cam Karbomer ve APA Esthetic Fill materyallerine ait salınım sıvıları maruz bırakılmıştır. 1. 3. ve 7. gün sonunda Anneksin V ve 7-Aminoactinomycin D (7-AAD) ile hücreler boyanarak canlı hücre, nekrotik hücre, erken ve geç apoptoza uğramış hücreler akım sitometri ile analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular IBM SPSS V23 ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Veriler değerlendirildiğinde canlı hücre bulguları açısından APA Cam Karbomer materyali en yüksek canlı hücre değerine sahip olan materyal olup ile diğer restoratif materyallerle arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,001$). Erken apoptoz bulguları açısından ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). Geç apoptoz bulguları açısından restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemekle ($p>0,05$) beraber GC EQUIA Forte materyali için 3. ve 7. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p<0,001$). Nekrotik hücre bulguları açısından ise APA Cam Karbomer materyali en düşük nekrotik hücre değerine sahip olan materyal olup diğer restoratif materyal grupları ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). Çalışmadan elde edilen bulgular sonucunda APA Cam Karbomer materyali diğer restoratif materyal gruplarına göre 1. 3. ve 7. gün sonunda daha biyoyoumlu bir materyal olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: kök hücre, dental pulpa, hücresel canlılık, Anneksin V, dental materyal

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 33272

ABSTRACT

Ilisulu, S.C. (2020). In Vitro Investigation of the Effects of Current Paediatric Restorative Materials on Human Dental Pulp Stem Cells. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Pedodontics. Doctorate Thesis. İstanbul.

This study aimed to evaluate the cytotoxic effects of the restorative materials currently used in pediatric dentistry on human dental pulp stem cells. The human dental pulp stem cells used in the study were obtained from embedded third molars, which were surgically extracted from individuals between the ages of 19-25. After the cells were isolated and confluent, passaging was started and the cells in the third passage reflecting the best cytogenetic properties of the cells were used in the study. The release liquid of GC Fuji IX GP, GC EQUIA Forte, APA Glass Carbomer and APA Esthetic Fill were exposed to the dental pulp stem cells. At the end of the 1st, 3rd and 7th days, cells were stained with Annexin V and 7-Aminoactinomycin D (7-AAD), and live cells, necrotic cells, early and late apoptosis cells were analyzed by flow cytometry. Data were statistically evaluated with IBM SPSS V23. When the data were evaluated, APA Glass Carbomer is the material with the highest live cell value in terms of cell viability and a statistically significant difference was found between other restorative materials ($p<0.001$). In terms of early apoptosis findings, there was no significant difference between the groups ($p<0.05$). Although there was no statistically significant difference between the restorative material groups in terms of late apoptosis findings ($p<0.05$), there was a statistically significant difference between the 3rd and 7th days for the GC EQUIA Forte material ($p<0.001$). In terms of necrotic cell findings, APA Glass Carbomer material has the lowest necrotic cell value and there is a statistically significant difference between other restorative material groups ($p<0.001$). As a result of the findings obtained from the study, APA Glass Carbomer material was determined to be a more biocompatible material at the end of the 1st, 3rd and 7th days compared to other restorative material groups.

Key words: stem cell, dental pulp, cell viability, Annexin V, dental material

This present work was supported by the Istanbul University Department of Scientific Research Projects. Project No: 33272

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çürük; etyolojisinde mikrobiyolojik değişimler, diyet alışkanlıkları, konak, zaman gibi pek çok faktörün rol oynadığı kronik, önlenabilir, enfeksiyöz bir hastalıktır (Kidd ve Fejerskov 2003; Roberson ve ark. 2006). Diş sert dokularının lokalize yıkımı ile karakterize olan bu durum genel sağlığın ve yaşam kalitesinin devamlılığı bakımından büyük önem arz etmektedir (Selwitz ve ark. 2007; Koçanalı ve ark. 2014). Bu nedenle enfekte çürük tabakası uzaklaştırıldıktan sonra, kaybedilmiş olan diş dokusunun yerine ideal bir restoratif materyal ile dişin doğal yapısına uygun şekilde restorasyon yapılmalıdır. Çocuklara uygulanan restoratif tedaviler; estetik, konuşma, beslenme fonksiyonları ve ark boyutunun korunarak yeni sürececek sürekli dişlere rehber olması bakımından önemlidir (Dhar ve ark. 2015). Bu açıdan çocuk diş hekimliğinde tedavilerde kullanılmak üzere pek çok restoratif materyal bulunmaktadır. Bu materyaller arasından flor salınım özellikleri, mine ve dentine kimyasal olarak bağlanabilmeleri, antikaryojenik özellikleri ve dişe uygun ısısal genleşme katsayısı gibi avantajları nedeniyle cam iyonomer simanlar çocuk diş hekimliğinde sıklıkla tercih edilen materyallerdendir. (Çapan ve Akyüz 2016).

Geleneksel cam iyonomer simanlar, floroalüminasilikat cam tozu ile poliakrilik asit likidinin birleşimiyle meydana gelen yüksek düzeyde flor salınımı yapan ve reşarj özelliği olan, yüksek çürük riski olan bireylerde özellikle tercih edilen materyallerdendir. Ancak aşınma ve kırılma dirençlerinin düşük olması ve erken dönemde neme hassasiyet göstermeleri en önemli dezavantajları arasında bulunmaktadır. Bu dezavantajların önüne geçebilmek amacıyla içeriklerinde çeşitli değişiklikler yapılarak yüksek vizkoziteli cam iyonomer simanlar piyasaya sürülmüştür. Bu simanlar geleneksel cam iyonomer simanların toz-likit oranlarının artırılması, partikül boyut ve dizilimlerinin değiştirilmesi ile elde edilmişlerdir. Yüksek vizkoziteli cam iyonomer simanların sertleşme mekanizmaları geleneksel cam iyonomer simanlar ile benzer özellikte olmakla beraber, aşınma direçleri, yüzey sertlikleri, basınç dayanımlarının daha iyi, biyouyumluluklarının ise benzer özellikte olduğu belirtilmektedir (Çapan ve Akyüz 2016; Kanık ve Türkün 2016; Mutluay 2016). GC Equia Forte, yüksek vizkoziteli cam iyonomer simanlardan olup 2015 yılında cam hibrit teknolojisine dayanan yeni bir malzeme olarak piyasaya sürülmüştür. Toz olarak yüksek derecede reaktif küçük parçacıklar ve %5 poliakrilik asit dahil olmak üzere %95 stronsiyum floroalüminasilikat camdan ve likit olarak %40 sulu

poliakrilik asitten oluşur. Yapılan çalışmalar bu materyalin mekanik özelliklerinin geleneksel cam iyonomer simanlara göre daha iyi olduğunu göstermiştir (Brzović Rajić ve ark. 2018; Moshaverinia ve ark. 2019). APA Cam Karbomer ise, karbomize nano partiküller ile floroapatit içeren cam iyonomer yapısındaki restoratif materyallerdir. Yapısındaki nanopartiküller ve floroapatit fiziksel özelliklerin geliştirilmesine ve mine benzeri bir yapı oluşumuna yardımcı olur. Özellikle yüksek enerji lambaları ile polimerize edilmesi materyalin mekanik özelliklerinin gelişmesine katkı sağlamaktadır. İçerik olarak metal, rezin, solvent gibi serbest monomer içermemesi en önemli özelliklerindendir (Çehreli ve ark. 2013; Dülgergil ve Ertürk 2016). APA Esthetic Fill ise aynı firma tarafından 2018 yılında piyasaya sürülmüş olan cam karbomer ile benzer özelliklere sahip olan ancak içeriğindeki fosfat oranı cam karbomere göre daha fazla olduğu için fosfokarbomer olarak da isimlendirilmiş olan yeni bir restoratif materyaldir. Üretici firma, fiziksel özelliklerinin cam karbomere göre daha iyi olduğunu ve farklı renk skalasına sahip olması ile geliştirilmiş olan mekanik özellikleri yönünden kompozitlere yakınlık gösteren bir restoratif materyal olduğunu belirtmektedir. Kompozit ve cam iyonomer simanlara alternatif bir materyal olarak geliştirilmiştir (APA Esthetic Fill, <http://dualdental.com.tr/dental/apa-esthetic-fill/>).

Restorasyonlar için uygun materyali seçerken fiziksel, mekanik ve estetik özelliklerinin yanında biyolojik özellikleri de göz önünde bulundurulmalıdır. Restoratif bir materyal diş dokusuna uygulandığı zaman toksik etki göstermemeli ve dokularla biyouyumlu olmalıdır (Şener ve ark. 2011; Erdem ve Gençay 2013; Dhar ve ark. 2015). İdeal bir dental materyal oral kavite içerisine uygulandığında oral dokular üzerinde toksik, alerjik, mutajenik ve karsinojenik etkiler göstermemelidir (Zorba ve Yıldız 2007). Bu çalışmanın amacı ise güncel olarak çocuk diş hekimliğinde kullanılan restoratif materyallerin insan dental pulpa kök hücreleri üzerindeki hücresel canlılıklarını değerlendirebilmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pedodontide kullanılan restoratif materyaller

Çocuk diş hekimliğinde restoratif tedavilerde kullanılmak üzere üretilmiş pek çok materyal bulunmaktadır (Tablo 2-1).

Tablo 2-1: Pedodontide kullanılan restoratif materyaller

PEDODONTİDE KULLANILAN RESTORATİF MATERYALLER
AMALGAM
CAM İYONOMER
CAM KARBOMER
KOMPOZİT
PASLANMAZ ÇELİK KRON

2.1.1. Amalgam

Diş hekimliğinde 150 yıldan uzun süredir restoratif bir materyal olarak kullanılmakta olan dental amalgam, gümüş partiküllerinin cıva ile reaksiyonu sonucu meydana gelmektedir (Bayırlı ve Şirin 1982). İçerik olarak geleneksel dental amalgamlar en az %65 oranında gümüş, en çok %29 oranında kalay, en çok %6 oranında bakır, en çok %2 oranında çinko ve %3 oranında cıva bulundurmaktadır (Forrester ve ark. 1981). Dental amalgamlar; jenerasyonlarına göre, alaşım içindeki metallerin sayısına göre, alaşıma katılan soy metallerine göre, alaşıma katılan partiküllerin şekillerine göre, alaşıma katılan partiküllerin çapına göre, alaşım tozunun karıştırılmış ve tek bileşen olmasına göre, alaşıma katılan bakır miktarına göre sınıflandırılabilirler (Özdabak 2006). Amalgam restorasyonlarda, reaksiyona katılmayan gümüş-kalay alaşım partiküllerine “gama fazı” denir. Bu partiküllerden gümüş, cıva ile birleşerek gama 1 fazını (Ag_2Hg_3), kalay, cıva ile birleşerek gama 2 fazını (Sn_7Hg) meydana getirir. Gama 2 fazı, erken dönem kırık oluşumundan ve amalgam restorasyonların başarısızlıklarından sorumludur. Bu sebepten istenmeyen gama 2 fazının oluşumunu önlemek için amalgamın yapısına bakır ilave edilmiştir (Marshall ve ark. 2006). Amalgam restorasyonlar; süt ve sürekli dişlerin class 1 kavitetlerinde, süt azıların çok geniş olmayan ara yüz kavitetlerinde, sürekli azı ve küçük azı dişlerinin class 2 kavitetlerinde, süt ve sürekli posterior dişlerin class 5 kavitetlerinde

uygulanmaktadır (Fuks 2015). Amalgam materyalinin; okluzal basınçlara karşı dayanıklı olması, ağız sıvılarında erimemesi, neme karşı toleransının yüksek olması, kavite duvarlarına adaptasyonunun iyi olması, uygulamasının kolay olması, adeziv sistemlere ihtiyaç duyulmaması gibi olumlu özellikleri dental amalgamı uzun yıllar boyunca tercih edilen restoratif bir materyal haline getirmiştir. Ancak tüm bu olumlu özelliklerinin yanında; estetik olmaması, ısı ve elektrik akımını iletmesi, ağız içerisinde galvanik akım oluşturması, dental dokularda renkleşmeye neden olması, retansiyon sağlayabilmek için fazla miktarda doku kaybı oluşturması gibi olumsuz özellikleri klinisyenleri alternatif bir restoratif materyal arayışına yöneltmiştir (Bayırlı ve Şirin 1982; Büyükgökçe 2002).

Günümüzde amalgam, içeriğindeki cıvanın genel sağlık ve çevresel endişeler üzerine oluşturduğu tartışmalar ve daha estetik materyal alternatiflerinin ortaya çıkması sebebiyle son yıllarda daha az tercih edilen bir restoratif materyal olmuştur (American Academy on Pediatric Dentistry Council on Clinical Affairs 2014). 2010 yılında FDA (Gıda ve İlaç Kurumu) dental amalgamı sınıf II (bazı riskler taşıyan) bir materyal olarak tanımlayarak içeriğinde; cıva buharının olası zararları, cıva içeriğinin açığa çıkması, cıva duyarlılığı olan kişiler için kontraendikasyonlar gibi başlıklardan oluşan çeşitli kuralları yayınlamıştır. Bu kuralları içerisinde hamile kadınlarda, gelişimini devam ettiren fetüslerde ve altı yaş altındaki çocuklarda dental amalgam kullanımının, uzun dönemli genel sağlık sonuçlarıyla ilgili olarak yeterli derecede kanıt olmadığını bildirmiştir (Food and Drug Administration 2010). 2013 yılında 93 ülke, Minamata Sözleşmesine imza atarak cıva emisyonunun azaltılmasına yönelik girişimlerde bulunmuştur. Bu sözleşmenin en önemli maddelerinden birisi cıva içeren bazı ürünlerin (piller, floresan lambalar) 2020'den itibaren ithalat ve ihracatının küresel olarak yasaklanmasıdır. Dental amalgamlar bu yasaktan muaf tutularak onun yerine dental amalgam kullanımı ile ilgili diş hekimlerine çeşitli uyarılarda bulunulmuştur (United Nations Environment Programme 2013; Kocaaydın ve ark. 2019). FDI (World Dental Federation) amalgamın güvenilir ve uzun dönem içerisinde etkili bir restoratif materyal olduğunu ancak kullanımının zaman içerisinde azaltılabileceğini dile getirmektedir (China 2013). ADA'da bu konuda FDI'nı görüşünü desteklemektedir (American Dental Association 2009).

Moraschini ve ark. yaptıkları sistematik derleme sonucunda posterior restorasyonlarda amalgam materyalinin kompozit materyale kıyasla daha uzun ömürlü

olduğu ve daha az sekonder çürük oluşumuna neden olduğunu bildirmişlerdir (Moraschini ve ark. 2015). Kohli ve ark. yaptıkları çalışmada süt dişlerinde class 1 ve class 2 kavitelere uygulanan amalgam ve kompozit restorasyonların 12 aylık period sonucunda başarılarını değerlendirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda her iki restoratif materyalin de süt dişlerine uygulanan tedavilerde eşit derecede etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Kohli ve ark. 2019). Cevallos ve ark. yaptıkları çalışmada süt dişlerine uygulanan ART restorasyonlarda yüksek vizkoziteli cam iyonomer siman ile amalgam materyalini mikrosızıntı açısından değerlendirmişler ve her iki restoratif materyal arasında marjinal mikrosızıntı oluşumu açısından farklılık görülmediğini bildirilmişlerdir (Mijan ve ark. 2018). Yapılan başka bir çalışma da ise dişleri amalgam ve cam iyonomer siman ile restore edilen kişilerin dental plağında bulunan streptococcus mutans sayısını değerlendirmişler ve cam iyonomer siman ile restore edilen kişilerin dental plağında bulunan streptococcus mutans sayısının daha düşük olduğu sonucuna varmışlardır (Ertuğrul ve ark. 2003).

2.1.2. Cam İyonomer Simanlar

Cam iyonomer simanlar ilk olarak Wilson ve Kent tarafından 1972 yılında Avrupa’da tanıtılmış, 1977 yılında içeriğindeki alüminosilikat poliakrilik asitin baş harflerini alarak ASPA adıyla Amerika’da piyasaya sürülmüştür (Nicholson 1998; Frencken ve ark. 1996). Wilson ve Kent, toz olarak yüksek florür ve kalsiyum içeren ‘G200’ olarak adlandırılan bazik floroalüminosilikat taneciklerini aköz poliakrilik asit likidiyle birleştirerek Alüminosilikat poliakrilat’ı (ASPA) meydana getirmiştir. ASPA 1 olarak adlandırılan bu ilk siman klinik uygulama zorluğu, renk konusundaki başarısızlığı ve uzun sertleşme süresi nedeniyle klinik kullanıma uygun bulunmamıştır (Wilson 1996). Bu olumsuzlukları giderebilmek amacıyla yapısına tartarik asit ilave edilerek ilk kez klinikte kullanılabilen cam iyonomer siman ASPA 2 piyasaya sürülmüştür. Ancak ASPA 2’nin mekanik ve estetik dezavantajları nedeniyle yapısına metil alkol ilave edilerek, ASPA 3 geliştirilmiştir. Daha sonra yapılan araştırmalar sonucunda ASPA 3’ün ağız içinde renklenmeye uğradığı bildirilerek, bunu engellemek adına akrilik ve itakonik asit ilave edilmiş ve ASPA 4 geliştirilmiştir (Wilson 1974; Crisp ve ark. 1980). Bu süreçte cam iyonomer simanların içeriğine çeşitli oranlarda toz ve likit ilavesi yapılarak olumsuz özellikleri ortadan kaldırılmış ve çeşitli türevleri meydana getirilmiştir (Roberson ve ark. 2006).

Günümüzde kullanılan cam iyonomer simanlar (CİS), flor iyonu salabilme ve mekanik direnç gösterebilme gibi özelliklere sahip silikat simanların, dental dokularda kimyasal adezyon ve biyolojik uyum özellikleri gösteren poliakrilik asit ile birleştirilmesi sonucu meydana gelmiştir (Brito ve ark. 2010). Cam iyonomer simanların diş hekimliğinde birçok kullanım alanı bulunmaktadır. Süt dişlenme döneminde restoratif materyal olarak, kaide materyali olarak, fissür örtücü olarak ve ortodontik braket yapıştırılmasında kullanılmaktadır (Mickenhautsch ve ark. 2011).

Cam iyonomer simanlar kullanım şekillerine göre dört ayrı sınıfta gruplandırılabilirler (Al-Badry ve Kamel 1994).

Tip I: Kırın, köprü ve braketlerin simantasyonunda

Tip II: Restoratif materyal olarak

Tip III: Kaide materyali ve pit ve fissür örtücü olarak

Tip IV: Kanal dolgu patı olarak kullanılan simanlardır.

Cam iyonomer simanlar içeriklerine göre altı farklı sınıfta gruplandırılabilirler (Mount 2002).

- I. Geleneksel cam iyonomer simanlar
- II. Hibrit cam iyonomer simanlar
 - a. Rezin modifiye cam iyonomer simanlar
 - b. Poliasit modifiye kompozit rezinler
- III. Yüksek vizkoziteli cam iyonomer simanlar
- IV. Giomerler
- V. Nano-iyonomerler
- VI. Cam Karbomer

2.1.2.1. Geleneksel Cam iyonomer Simanlar (GCİS)

Geleneksel cam iyonomer simanların flor salınım mekanizmaları, biyouyumlu bir materyal olmaları, doğal diş benzer termal genleşme katsayısı, mikrosızıntının az

olması, polimerizasyon büzülmesinin düşük olması gibi özellikleri nedeniyle  ocuk di  hekimliğinde sıklıkla kullanılan materyallerdir ( apan ve Akyüz 2016).

- **Geleneksel Cam İyonomer Simanların İçeriği**

Cam iyonomer simanlar esas olarak üç bileşenden meydana gelmektedir. Bunlar bazik cam partikülleri, polimerik asit ve sudur (McLean 1994). İçeriğinde bulunan su, polimerik asit için çözücü etki göstermektedir ve proton salınımı yaparak polimerin asit olarak davranmasını sağlamaktadır. Ayrıca sertleşme reaksiyonunun gerçekleşebilmesi için gerekli olan ortamı oluşturur. Yeni uygulanmış cam iyonomer siman yüzeyinden ba lanmamı  su molekülleri kaybolabilir. Bu durum yüzeyin tebe irimsi bir görüntü almasına ve çatlak oluşumuna neden olur. Bunu engelleyebilmek için cam iyonomer siman uygulandıktan sonra uygun cila patı veya vazelin uygulanması önerilmektedir (Nicholson 1998). Cam iyonomer simanların doldurucu içeriğinde bulunan cam partiküllerin ise bazik yapıda olması ve asitle kolaylıkla reaksiyona girerek tuz formunu oluşturması önemlidir (Hill ve Wilson 1988). Cam partiküllerin Tablo 2-2’de gösterildiği gibi silisyum, alüminyum ve kalsiyumdan oluşan üç temel bileşeni bulunmaktadır. Cam tozu, camın iskeletini oluşturan alümina (Al_2O_3) ve silikanın (SiO_2) $1100^{\circ}C - 1500^{\circ}C$ sıcaklıkta eriyip metal oksit, metal fosfat, metal florür bileşiminden meydana gelmektedir (Crisp ve ark. 1980). Yapıya eklenen fosfat (P^{-3}) ve florid (F^{-}) iyonları erime sıcaklığını arttırmada, Ca^{+2} ve Na^{+1} iyonları ise sertleşme reaksiyonu için önemlidir (Mount 1994; Smith 1998). Cam iyonomer simanların flor salınımı yaptıktan sonra fiziksel özelliklerinin de i medi i bildirilmektedir. CaF_2 , yapı içerisinde rezervuar görevi görmektedir. Bu sebepten cam iyonomer simanların uzun dönem F^{-} iyonu salabilme kapasitesi mevcuttur (Williams ve ark. 1998; Vermeersch ve ark. 2001).

Tablo 2-2: Cam iyonomer simanların doldurucu içeriği (Hill ve Wilson 1988)

İçerik	Kütle olarak
Silika (SiO ₂)	% 29
Kalsiyum Florid (CaF ₂)	% 34
Alüminyum Triflorid (AlF ₃)	% 5
Alümina (Al ₂ O ₃)	% 17
AlüminyumFosfat (AlPO ₄)	% 10

Cam iyonomer simanların likit içeriğinde ise Tablo 2-3' de gösterildiği gibi esas olarak poliakrilik asit bulunmaktadır. Poliakrilik asitin düşük toksik etki göstermesi, kimyasal yapısının basit olması ve Ca⁺²'ye bağlanabilmesi önemli olumlu özelliklerindendir (Mount 1994; Nicholson 1998). Bunun yanında son dönemde simanın kolay karıştırılabilmesi ve sertleşme süresini arttırabilmek için yapısına tartarik asit eklenmiştir (Garg ve Garg 2010).

Tablo 2-3: Cam iyonomer simanların likit içeriği (Garg ve Garg 2010)

İçerik	%
Poliakrilik asit (İtakonik asit, Maleik asit)	% 40-55
Tartarik asit	% 6-15
Su	% 30

- Geleneksel Cam İyonomer Simanların Sertleşme Mekanizması**

Cam iyonomer simanların sertleşme mekanizması, toz ve likit karıştırıldıktan sonraki 2-3 dk içerisinde gerçekleşen asit baz reaksiyonu şeklindedir (Crisp ve ark. 1980). Cam toz partikülleri ile poliakrilik asidin karıştırılmasıyla sertleşme reaksiyonu başlar ve üç aşamada gerçekleşir. Birinci faz 'iyon salınım fazı' olarak adlandırılır. Bu fazda, poliakrilik asitten gelen H⁺¹ iyonları alümina silikat cam partiküllerini çözer ve Al⁺³, Ca⁺², Na⁺¹ ve F⁻ iyonlarının salınımını sağlar. Metal iyonlarının serbestleşmesiyle birlikte alümina silikanın reaksiyona girmeyen yüzünde silika jel tabakası meydana gelmeye başlar. Bu tabaka, reaksiyona girmemiş cam partiküllerini çevreler (Burgess ve ark 1994;

Nicholson 1998). İkinci faz ‘hidrojel faz’ olarak adlandırılır ve karıştırıldıktan kısa bir süre sonra meydana gelir. Bu fazda poliakrilik asitten gelen karboksil grupları serbestleşen metal iyonları ile reaksiyona girip çapraz bağlar yaparak iyonik köprüler oluşturur. Bu faz cam iyonomer simanın nem kontaminasyonuna karşı hassas olduğu, oldukça yavaş ilerleyen ve uzun süren bir evredir. Kalsiyum poliakrilat oluşumu, alüminyum poliakrilat oluşumundan daha hızlı gerçekleşir. Bu sebepten kalsiyum poliakrilat, cam iyonomer simanın erken dönem sertleşmesinden, alüminyum poliakrilat ise geç dönem sertleşmesinden sorumludur (Burgess ve ark. 1994; Nicholson 1998; Kleverlaan ve ark. 2004). Üçüncü faz ise ‘polikarboksilat jel fazı’ olarak adlandırılır. Bu evrede Al^{+3} iyonları yavaş salınım göstererek yaklaşık 24 - 48 saat içerisinde kalsiyum iyonları ile yer değiştirir ve güçlü çapraz bağlar oluşturarak, cam iyonomer simanın daha dayanıklı bir yapı kazanmasını sağlar (Lin ve ark.1992; McLean 1992). Cam iyonomer simanın sertleşme reaksiyonu 24 saat sonunda tamamlanır. Bu reaksiyon tamamlanmadan siman su ile temas ederse, yüzeydeki kalsiyum ve alüminyum ortamdan uzaklaşarak simanın sertleşmesini ve translüsent özellik kazanmasını engellemektedir (Kleverlaan ve ark. 2004).

- **Geleneksel Cam İyonomer Simanların Özellikleri**

Çocuk diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan bir materyal olan geleneksel cam iyonomer simanların en önemli özellikleri arasında; diş dokularına olan adezyonu, biyouyumlu bir materyal olması, antikaryojenik özelliği ve radyoopasitesi gelmektedir (Cattani-Lorente ve ark. 1994).

- ***Geleneksel Cam İyonomer Simanların Fiziksel ve Mekanik Özellikleri***

Cam iyonomer simanların fiziksel özellikleri; karıştırılan toz sıvı oranına, cam tozun partikül büyüklüğüne, içeriğindeki poliasit konsantrasyonuna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Matsunaga ve ark. 2010). ISO standartları, cam iyonomer simanların fiziksel özelliklerinin minimum değerlerini vermektedir. Bu değerlere sahip olan bir cam iyonomer siman klinik olarak uygulanabilir bir materyal olarak tanımlanmaktadır (ISO 9917-1 2003). Bu değerler Tablo 2-4’te gösterilmiştir.

Tablo 2-4: Cam iyonomer simanın ISO standart değerleri (ISO 9917-1 2003)

Özellik	Yapıştırıcı Siman	Restoratif Siman
Sertleşme süresi / min-max	2.5 - 8	2-6
Baskı Direnci / MPa	70 (min)	100 (min)
Asit Erozyonu / mm	- (max)	0.05 (max)
Opaklık / C_{0.70}	-	0.35 - 0.90
Asit Çözünürlüğü Pb / mg kg⁻¹	100	100
Asit Çözünürlüğü As / mg kg⁻¹	2 (max)	2 (max)

Cam iyonomer simanların fiziksel ve mekanik özelliklerini arttırabilmek için pek çok çalışma yapılmıştır. Baloch ve ark. ultrasonik enerjinin cam partiküller ile asit arasında daha fazla temas alanı oluşturduğunu bu sebepten ultrasonik enerji uygulanan cam iyonomer simanların geleneksel cam iyonomer simanlara göre daha yüksek mikrosertlik değerlerine sahip olduklarını bildirmişlerdir (Baloch ve ark. 2010). Moshaverinia ve ark. yaptıkları çalışmada ise terpolimer içeren N-vinylcaprolactam (NVC) içerikli cam iyonomer simanların geleneksel cam iyonomer simanlara göre daha başarılı yüzey özelliklerine sahip olduklarını bildirmişlerdir (Moshaverinia ve ark. 2011). Lohbauer ve ark. %20 kısa cam fiber eklenen geleneksel cam iyonomer simanların bükülme ve baskı dayanımlarının daha yüksek olduklarını bildirmişlerdir (Lohbauer ve ark. 2004).

- *Geleneksel Cam İyonomer Simanların Florid Salınım Özellikleri*

Günümüzde geliştirilen materyallerin aranılan en önemli özellikleri arasında florid salınım özelliği gelmektedir. Cam iyonomer simanlar flor, sodyum, fosfat ve silikat gibi iyonların aktif olarak salınımlarını yapabildikleri için biyolojik ürün olarak kabul edilirler (Palmer ve ark. 1999). Florid salınım özelliği cam iyonomer simanların en önemli avantajlarından birisidir (Mount 2002). ‘Early burst’ olarak adlandırılan erken patlama etkisiyle cam iyonomer simanların flor salınım özellikleri ilk 24 saatte oldukça hızlı bir şekilde başlar ve daha sonra azalarak devam eder (Forsten 1991). Erken patlama denilen bu etki cam partiküllerin polialkenoik asit ile reaksiyonu sonucu meydana gelir (Wiegand ve ark. 2007). Asidik koşullarda flor salınımı daha fazla gerçekleşmektedir (Nicholson ve ark. 1999). Cao ve ark. 13 farklı materyal arasında yaptıkları çalışmada geleneksel cam

iyonomer simanların en fazla flor salınımına sahip olduklarını ve başlangıçtaki salınım düzeylerinin giderek azalarak düşük düzeyde salınım gösterdiklerini bildirmişlerdir (Cao 1994). Yapılan çalışmalarda düşük düzeydede olsa devam eden flor salınımının diş sert dokularına olumlu etkileri olduğu bildirilmektedir (Featherstone 1999). Cam iyonomer simanlardan flor salınımının aynı zamanda hassasiyet azaltıcı etkisi de rapor edilmektedir. Ancak şimdiye kadar yapılan çalışmalarda su veya yapay tükürük kullanıldığı için uzun dönemde ağız içinde tükürükte salınım miktarı ve etkisi kanıtlanamamaktadır (El Mallak ve Sarkar 1990; Hsu ve ark. 2004)

- ***Geleneksel Cam İyonomer Simanların Mine ve Dentine Adezyonu***

Cam iyonomer simanların mine ve dentine kimyasal olarak bağlanması klinik olarak önemli bir avantajdır. Mine üzerindeki bağlanma dayanımı 2.6 ile 9.6 MPa arasında değişirken dentin üzerindeki bağlanma dayanımı 1.1 ile 4.1 MPa arasında değişkenlik göstermektedir (Pereira ve ark. 2002). Cam iyonomer simanların diş dokularına olan adezyonu, poliakrilik asit içeriğindeki iyonlar ile hidroksiapatit kristallerinin yapısında bulunan kalsiyum ve fosfor iyonlarının değişimine dayanır. Bu etkileşim sonucunda iyondan zengin tabaka veya hibrit benzeri tabaka adı verilen Asit Baz Rezistans tabakası meydana gelerek adezyon sağlanmış olur. Cam iyonomer simanların dentine olan adezyonu dentinin inorganik içeriğinin az olması ve daha homojen bir yapıya sahip olması nedeniyle daha azdır (Mathis ve Ferracane 1989; Mount 1994). Bu nedenle dentin yüzeyi adezyon için %37'lik poliakrilik asit ile 10-20 sn asitlenerek hazır hale getirilir. Bu şekilde smear tabakası kaldırılarak, dentin tübülleri açılır ve mikromekanik bağlanma gerçekleşmiş olur (Powis ve ark. 1982).

- ***Geleneksel Cam iyonomer Simanların Endikasyon ve Kontraendikasyonları***

Geleneksel cam iyonomer simanların; düşük stres alanlarında, geçici restorasyonlarda, kaide materyali olarak, kök yüzey çürüklerinde, sabit yer tutucu simantasyonunda, pit ve fissür örtücü olarak, ortodontik bant ve braket yapıştırılmasında, sürekli dişlerdeki class III ve V restorasyonlarda ve süt dişlerindeki class I ve küçük class II restorasyonlarda kullanımı endikedir. Yüksek stres alanlarında, tüberkül tepelerinde, daimi dişlerdeki class IV ve II restorasyonlarda kullanımı ise kontraendikedir (Marvah 2018).

- ***Geleneksel Cam İyonomer Simanların Avantaj ve Dezavantajları***

Geleneksel cam iyonomer simana ait avantaj ve dezavantajlar Tablo 2-5’de yer verilmiştir (Mathis ve Ferracane 1989; Mount 1994; Mc Donald ve Avery 2004).

Tablo 2-5: Geleneksel cam iyonomer simanların avantaj ve dezavantajları

AVANTAJ	DEZAVANTAJ
Biyouyumlu materyal olması	Estetik özellikleri zayıf
Dişe benzer ekspansiyon katsayısı nedeniyle mine ve dentine termal uyumluluk	Okluzal stres alanlarında gerilme, kopma, aşınma, çekme dirençlerinin düşük olması
Mine ve dentine adezyon özelliği	Sertleşme reaksiyonunun uzun sürmesi
Ağız ortamında uzun süre çalışma olanağı	İlk 24 saat içinde dehidratasyon ve hidrasyona oldukça hassas olması
Antibakteriyel etkisi	Ağız sıvılarında çözünürlük
Mikrosızıntı sınırlı olması	
Flor salınımı ve flor rezervuarı görevi	

2.1.2.2. Hibrit Cam iyonomer Simanlar

• **Rezin Modifiye Cam İyonomer Simanlar (RMCIS)**

1980’li yılların sonlarına doğru piyasaya sürülen rezin modifiye cam iyonomer simanlar (RMCIS) %80 cam iyonomer siman ve %20 rezin karışımından meydana gelen hibrit esaslı cam iyonomer simanlardır (Onal ve Pamir 2005). Yapısına ilave edilen rezin, geleneksel cam iyonomer simanların zayıf fiziksel özelliklerini arttırmak amacıyla eklenmiştir. Fiziksel ve mekanik özellikleri açısından geleneksel cam iyonomer siman ile kompozit materyali arasında yer almaktadır (Cattani-Lorente ve ark. 1999). RMCIS’lar geleneksel cam iyonomer simanlardan farklı olarak çalışma süresi artmış, aşınma ve fraktür direnci, neme karşı hassasiyet gibi fiziksel ve mekanik özelliklerinde iyileşmeler sağlanmış, hem fiziksel hem kimyasal adezyon özelliğine sahip materyallerdir (Sidhu ve Watson 1995; Mickenautsch ve ark. 2010). RMCIS’ların içeriğinde toz olarak

floroaluminosilikat cam tozları, likit olarak ise HEMA, metakrilat grupları, poliakrilik asit ve %8 oranında su bulunmaktadır (Welbury ve ark. 1997; Torabzadeh ve ark. 2016). RMCIS'lar, hem asit baz reaksiyonu hem fotokimyasal reaksiyonu içeren dual sertleşme mekanizmasına sahiptirler. Yapısına eklenen HEMA ve metakrilat grupları ışıkla polimerizasyon reaksiyonunu gerçekleştirmektedir (Hes ve ark. 1999). İçeriğinde bulunan hidrofilik yapıdaki HEMA nedeni ile ideal polimerizasyon sağlanmazsa artık monomer salınımı olabilir ve bu durum pulpada enflamatuvar reaksiyonlar oluşturabilir. Bu nedenle geleneksel cam iyonomer simanlar, rezin modifiye cam iyonomer simanlara göre daha biyouyumlu materyallerdir (Nicholson ve Czarnecka 2008). RMCIS'ların diş dokularına adezyonlarının zayıf olduğu, geleneksel cam iyonomer simanlara göre daha az flor salınımı yaptıkları ve sertleşme sırasında polimerizasyon büzülmesi gibi dezavantajları bildirilmektedirler (Croll ve Nicholson 2002).

RMCIS'lar; süt dişlerinde class I, II, III, V kavitelerde restoratif materyal olarak, kaide materyali olarak, geçici restorasyonlarda, pit ve fissür örtücü olarak ve yapıştırıcı siman olarak kullanılabilir (Kanık ve Türkün 2016). Süt dişlerinde alternatif materyal olarak amalgam ve kompozit restorasyonlar yerine kullanılabileceği bildirilmiştir (Croll ve ark. 2001). RMCIS'lar geleneksel cam iyonomer siman ile flor salınımı, reşarj özelliği ve kimyasal adezyon gibi benzer özellikler barındırmaktadır (Welbury ve ark. 1997; Torabzadeh ve ark. 2016).

- **Poliasit Modifiye Cam İyonomer Simanlar (Kompomerler)**

Kompomerler, ilk kez 1994 yılında geliştirilmiş olup içeriğinde %30 cam iyonomer siman ve %70 kompozit rezinden meydana gelen, çocuk diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan restoratif materyallerdir. Yapısında iki karboksil gruplu dimetakrilat monomerler, flor salınımını sağlayan cam benzeri doldurucular, reaksiyon başlatıcılar, stabilizörler ve pigmentler içermektedir (Bala 1998). Kompomerler, florür salınımı yapabilen, reşarj olabilen, fiziksel ve mekanik özellikleri geleneksel cam iyonomer simanlardan daha yüksek olan hibrit materyallerdir. Flor salınım özellikleri geleneksel cam iyonomer siman ve rezin modifiye cam iyonomer simandan daha düşüktür (Mutluay 2016). Fiziksel, mekanik ve estetik özellikleri kompozitlere daha yakın olmakla birlikte sertleşme mekanizmaları ışıkla polimerizasyon şeklindedir (Çapan ve Akyüz 2016).

Klinik olarak class II ve class V kavitelerde, ortodontik bant yapıştırılmasında, fissür örtücü olarak kullanımı endikedir (Mutluay 2016).

2.1.2.3. Yüksek Vizkoziteli Cam İyonomer Simanlar (YVCIS)

Kondanse edilebilir cam iyonomer simanlar olarak da adlandırılan yüksek vizkoziteli cam iyonomer simanlar, geleneksel cam iyonomer simanların neme karşı hassasiyetlerini azaltmak, okluzal kuvvetlere karşı aşınma direncini arttırmak ve sınırlı olan endikasyon aralığını genişletmek amacıyla geliştirilmiş materyallerdir (Kanık ve Türkün 2016). Bu materyaller 1990'lı yılların başında atravmatik restoratif tedavide kullanılmak üzere piyasaya sürülmüştür (Frankenberger ve ark. 1999). Yüksek vizkoziteli cam iyonomer simanların içeriğinde, mekanik ve aşınma dirençlerini arttırabilmek için, geleneksel cam iyonomer simanların yapısındaki cam partiküllerin yüzeyindeki fazla kalsiyum iyonları uzaklaştırılarak toz likit oranları, partikül boyutları ve dizilimleri değiştirilmiştir. Geleneksel cam iyonomer simanlardaki toz-likit oranı 3:1 veya 4:1 arasında değişirken, yüksek vizkoziteli cam iyonomer simanlardaki toz-likit oranı 6:1 veya 7:1 şeklindedir (Basting ve ark. 2002).

Sertleşme mekanizmaları geleneksel cam iyonomer simanlar ile benzer olan yüksek vizkoziteli cam iyonomer simanlar aynı oranda flor salınımı yapıp, benzer biyouyumluluk özellikleri gösterirler. Bu simanların aşınma dirençleri, basma ve eğme dayanımları, yüzey sertlikleri geleneksel cam iyonomer simanlara göre daha yüksektir (Dowling ve Fleming 2009). Yapılan araştırmalar neticesinde bu simanların erken dönem neme maruz kaldıklarında olumsuz yönde etkilenmemelerinin sebebi olarak sertleşme mekanizmalarının geleneksel cam iyonomer simanlara göre daha hızlı olması, ağız sıvılarındaki çözünürlüğünün oldukça düşük olması şeklinde belirtilmiştir (Nagaraja ve Kishore 2005).

Üretici firmalar zaman içinde yüksek vizkoziteli cam iyonomer simanları daha homojen ve daha dayanıklı hale getirerek kapsül şeklinde modifiye etmişlerdir. Geleneksel cam iyonomer simanın oldukça viskoz bir hibrid türevi olan GC EQUIA Forte daha küçük ve daha reaktif silikat parçacıkları içeren daha yüksek moleküler ağırlıklı akrilik asit moleküllerine sahip kapsül formunda restoratif bir dolgu maddesidir (Hirani ve ark. 2018). Kapsül form klinisyenlere kullanım kolaylığı, doğru toz-likit oranı ve ideal kıvamın oluşmasını sağlamaktadır (Guggenberg ve ark. 1998). Kapsül formdaki yüksek

vizkoziteli cam iyonomer simanlar; daimi dişlerin okluzal stresin olmadığı class I ve class II kavitelerde, kök yüzey restorasyonlarda, süt dişlerinin class I ve class II restorasyonlarında kullanılmaktadırlar. (Hirani ve ark. 2018; GC EQUIA Forte, <https://europe.gc.dental/tr-TR/products/equiaforte>). Kapsül formdaki bu simanların özellikle amalgam ve kompozit materyaline alternatif olabileceği, pediatrik ve geriatrik hastalarda, yüksek çürük risk grubuna sahip bireylerde kullanılabileceği tavsiye edilmektedir (Ganfoldi ve ark. 2006).

2.1.2.4. Giomer

Giomerler, kompozit rezinler ile cam iyonomer simanın özelliklerini birleştiren yeni hibrit restoratif materyallerdir. Cam iyonomer simanın sahip olduğu flor salınımı ve reşarj özelliği ile kompozit rezinlerin biyouyumluluk, estetik ve cilalanabilme özelliklerinin birleşimidir. Giomer kelimesi isim olarak Glass iyonomer ve polimer kelimelerinden üretilmiştir. Giomerleri diğer flor salınımı yapan materyallerden ayıran en önemli özellik aktif cam iyonomer partikülleri (PRG) içermesidir. İçeriğindeki aktif cam iyonomer partikülleri, flor salınımı ve reşarj özelliğinden sorumludur (Kanık ve Türkün 2016). Bu yapı iyon değişimi ile hidrojel matriks içinde hızlı flor salınımını gerçekleştirmektedir. Hidrojel yapının flor salınımı ve alımında önemli rol oynadığı bu nedenle giomer materyalinin diğer materyallere göre bu kapasitesinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Okuyama ve ark. 2006). Giomerlerde öncelikli olarak, cam iyonomer matriksi meydana getirebilmek için fluoroalumina silikat cam ile poliasit reaksiyona girerek asit baz reaksiyonu gerçekleşir daha sonra rezin yapıya katılmaktadır (Ikemura ve ark. 2008).

Giomerler, kompomerlerde olduğu gibi ışıkla polimerize olurlar ve diş dokusuna bağlanmaları için adeziv sistemlere ihtiyaç duyarlar. Bu materyal class I, II, III, IV ve V kavitelerde, kök çürüğü restorasyonlarında, servikal lezyonlarda ve süt dişi restorasyonlarında endikedir (Çapan ve Akyüz 2016).

2.1.2.5. Nano-iyonomer

Nano-iyonomerler, rezin modifiye cam iyonomer siman içerisine nanopartikül ilave edilmesi ile geliştirilen ve son yıllarda sıklıkla kullanılan materyallerdir. Yapı olarak cam iyonomer simanlara benzeyen nano-iyonomerlerin en önemli farkı %69 oranında

nano doldurucu içermesidir. Aynı zamanda BisGMA, TEGDMA, PEGDMA ve HEMA gibi rezin monomerleri de yapısında barındırmaktadır. Nanoteknoloji ile geliştirilen bu materyallerin estetik özelliklerinin, abrazyon dirençlerinin, flor salınım ve polisajlanma özelliklerinin geliştirildiği bildirilmiştir. Günümüzde 3M ESPE firması tarafından Ketac N100 (3M-ESPE; Seefeld, Germany) nano-iyonomer olarak piyasaya sürülmüştür (Çapan ve Akyüz 2016; Kanık ve Türkün 2016). Konde ve ark. yaptıkları klinik çalışmada yüksek vizkoziteli cam iyonomer simanlar ile nano-iyonomerleri ART tedavisinde kullanmış ve 12 ay sonucunda nano-iyonomerlerin daha başarılı olduklarını, alternatif bir materyal olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Konde ve ark. 2012).

2.1.2.6. Cam Karbomer

İlk kez GCP Dental (Ridderkerk, Netherlands) firması tarafından geliştirilen cam karbomerler, nano boyutta cam toz partiküllerinin fluoroapatit ile birleşmesi sonucu meydana gelmiştir. Literatürde cam karbomer adıyla bilinen bu yeni restoratif materyal aslında cam iyonomer simandır, cam karbomer ismi markanın kendi belirlediği bir isimdir (Çapan ve Akyüz 2016; Pameijer 2012). Materyal içerik olarak cam iyonomer simandan farklı yapıya sahiptir. Yapısında;

- Güçlü bir asit ile yıkanarak yüzeyindeki kalsiyum içeriğini uzaklaştıran cam tozu
- Diğer bileşenlerle hidrojen bağları kurmasını sağlayan silikon yağı
- Sekonder doldurucu özelliği gösteren biyoaktif komponent bulunmaktadır (Zainuddin ve ark. 2012).

İçeriğinde bulunan cam tozları; stronsiyum, silikon ve kalsiyumdur. Silikon oranı geleneksel cam iyonomer simanlara göre çok daha fazladır. Cam karbomer içeriğinde bulunan yüksek toz likit oranı, cam tozlarının güçlü bir asit ile yıkanması ve silikon sayesinde kolaylıkla karıştırılabilir (Çehreli ve ark. 2013). Geleneksel cam iyonomer simanlara göre daha fazla cam ve hidroksiapatit içermesi materyali kırılgan hale getirecektir ancak yapısındaki silikon sayesinde hidrojen bağları kurulur ve daha dayanıklı hale gelir (Subramaniam ve ark. 2015). Cam karbomerlerin sertleşme reaksiyonları geleneksel cam iyonomer siman ile benzerlik gösterir. Cam karbomerler kapsül formunda olup, yüksek frekanslı karıştırıcı aracılığıyla aktive olurlar. Uygulama öncesinde mine veya dentine asit uygulamasına gerek yoktur. Bu materyalin

polimerizasyonu yüksek enerji lambaları ile gerçekleşir. Burada açığa çıkan ısı sertleşme reaksiyonunu hızlandırarak materyalin mekanik özelliklerini geliştirmektedir (Dülgergil ve Ertürk 2016). Yapısına eklenen floroapatit/hidroksiapatit nanopartiküller ve yüksek ısı ile polimerizasyon materyalin basınç dayanımını ve aşınma direncini artırır, çalışma süresini uzatır ve materyal daha hızlı sertleşir. Cam karbomerler serbest monomer, rezin, Bisfenol A, metal içermezler. Üretici firma cam karbomer uygulandıktan sonra materyali tükürükten izole edebilmek adına APA gloss adını verdikleri cilayı önermektedir (Menne-Happ ve Ilie 2014; Dülgergil ve Ertürk 2016; Çapan ve Akyüz 2016).

Hatton ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada ketac molar, cam karbomer, equia, equia+glaze, ketac molar+glaze, vitremer+gloss grupları arasındaki biyouyumlulukları karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda ketac molar ve cam karbomer materyalleri en iyi hücresel aktivite göstermiştir (Dülgergil ve Ertürk 2016). Michel ve ark. yaptıkları çalışmada dört farklı kalsiyum silikat materyali, bir rezin modifiye cam iyonomer siman ve cam karbomer simanın insan dişeti fibroblast, alveolar osteoblast hücreleri üzerindeki etkilerini karşılaştırmışlar ve cam karbomerlerin hücresel canlılık, adhezyon ve proliferasyonu azalttığı sonucunu bulmuşlardır (Michel ve ark. 2017).

Cam karbomerler, süt ve daimi dişlerin class I ve class II restorasyonlarında, fissür örtücü olarak endikedir (Dülgergil ve Ertürk 2016).

2.1.3. Kompozit

İlk kez 1962 yılında Rafeel Bowen tarafından amalgama alternatif olarak geliştirilen kompozit rezinler; organik matriks, inorganik doldurucular ve matriksin dolduruculara bağlanabilmesini sağlayarak mekanik özellikleri arttıran bağlayıcı kısımdan oluşan restoratif materyallerdir (Jackson ve Morgan 2000; Altun 2005). Kompozit kelimesi terminolojik olarak birbirinden farklı materyallerin karışımı anlamına gelmektedir (Altun 2005).

Kompozit rezinlerin estetik özelliklerinin yüksek olması, diş dokularına adezyon ile bağlanmaları, ısı iletkenliklerinin düşük olması, aşınmaya karşı dirençli olmaları gibi olumlu özellikleri bulunmaktadır. Ancak hala kenar renklenmeleri, mikrosızıntı, polimerizasyon büzülmesi, postoperatif hassasiyet gibi dezavantajlarını elimine etmek için gelişmeler devam etmektedir (Altun 2005; Giachetti ve ark. 2006).

Kompozit rezinler, doldurucu partikül büyüklüğüne göre; megafil, makrofil, midifil, minifil, mikrofil, hibrit, nanofil olarak, polimerizasyon yöntemlerine göre; kimyasal olarak, ışık ile, hem kimyasal hem ışık ile, vizkozitelerine göre; kondanse edilebilir, akışkan olarak sınıflandırılabilir (Altun 2005; Dayangaç 2011).

2.1.4. Paslanmaz Çelik Kron

Paslanmaz çelik kronlar, doğal diş anatomisine uygun olarak prefabrike olarak üretilen süt ve genç daimi dişlerde kullanılan materyallerdir. Özellikle aşırı madde kaybı olan restore edilmesi oldukça zor, gelişimsel olarak defektli süt ve daimi dişlerin restorasyonunda oldukça etkili bir yöntemdir. AAPD'nin verilerine göre paslanmaz çelik kronlar yüksek çürük riskli çocuklarda, çocuklara uygulanan kanal tedavilerini takiben, sedasyon veya genel anestezi altında uygulanabilecek materyallerdir (American Academy of Pediatric Dentistry 2013; Mutluay 2016). Bu materyaller, nikel alerjisi olan ve köklerinin yarısından fazlası rezorbe olmuş ve düşme zamanı yaklaşmış süt molarlarda kontraendikedir (Kindelan ve ark. 2008).

Yapılan çalışmalar paslanmaz çelik kronların amalgam restorasyonlara göre daha uzun ömürlü olduğunu ve yeniden tedavi gereksinimini azalttığını bildirmişlerdir (Randall ve ark. 2000). Robert ve ark. yaptıkları bir çalışmada kanal tedavisi uygulanmış süt dişlerinin restorasyonunda rezin modifiye cam iyonomer simanların paslanmaz çelik kronlara göre daha az başarılı olduğunu bildirmişlerdir (Robert ve ark. 2005). Yapılan bir başka prospektif çalışmada süt dişlerine uygulanan pulpotomi sonrasında restorasyon olarak paslanmaz çelik kron ve amalgam uygulanmış ve paslanmaz çelik kron ile %79.7 başarı sağlanırken, amalgam ile %60 oranında başarı sağlanmıştır (Sonmez ve Duruturk 2010).

2.2. Pulpa

Diş pulpası mezenşimal kökenli, dentin dokusu ile çevrelenmiş pulpa boşluğunu dolduran gevşek, homojen bir bağ dokusudur. Apikal foramen aracılığıyla periapikal dokularla ilişkide olan pulpa dokusu hücreler, hücreler arası esas madde, lifler, kan damarları ve sinirlerden meydana gelmektedir (Bayırlı 1999).

2.2.1. Pulpanın Tabakaları

Diş pulpası ışık mikroskopu altında histolojik olarak incelendiğinde dıştan içe doğru; odontoblast tabaka, hücreden fakir tabaka, hücreden zengin tabaka ve santral tabaka olmak üzere 4 tabakadan meydana gelmektedir (Trowbridge ve ark. 2002).

Odontoblast tabaka: Pulpa dokusunun dentin ile bağlantısını sağlayan tek sıra halinde predentinin hemen altında bulunan odontoblast hücreleri tarafından oluşturulmuş bir tabakadır. Bu tabakada odontoblast hücreleri, myelinsiz sinir lifleri ve kapiller bulunur. Hücreler arasında hücreden hücreye sıvı, plazma proteinleri, kapiller ve sinirlerin geçişlerine izin verecek özel bağlantılar vardır (Trowbridge ve ark. 2002).

Hücreden fakir tabaka (Weil tabakası): Odontoblastik tabakanın altında subodontoblastik tabaka olarak da adlandırılan bu tabakada myelinsiz sinir lifleri, fibroblastların sitoplazmik uzantıları ve kapiller mevcuttur. Bu tabaka kuronal kısımdan koleye doğru giderek daralır (Trowbridge ve ark. 2002).

Hücreden zengin tabaka: Santral tabakaya göre çok daha fazla hücre ihtiva eden bu tabakada fibroblastlar, makrofajlar, lenfositler ve plazma hücreleri bulunmaktadır. Bu tabaka kuronal pulpada daha belirgindir. Odontoblastların ölümü ile bu tabakada mitotik aktivite artar ve bu tabakadan odontoblast tabakasına hücre göçü meydana gelir (Fitzgerald ve ark. 1990).

Santral tabaka: Pulpanın en iç kısmında bulunan bu tabakada büyük kan damarları, sinir lifleri bulunmaktadır (Trowbridge ve ark. 2002).

2.2.2. Pulpanın Hücreleri

2.2.2.1. Odontoblastlar

Odontoblastlar, hem diş gelişimi esnasında primer dentin yapımında hem de olgunlaşmış diş dokusunda sekonder ve tersiyer dentin yapımında görevli olan pulpa dentin kompleksinin en karakteristik hücreleridir (Mjör ve ark. 2002). Pulpanın en dış yüzünde predentin tabakasının hemen altında bulunan odontoblastlar, çevresel uyaranlardan ilk olarak etkilenirler. Bu hücreler histolojik olarak hücre gövdesi ve odontoblast uzantısı (Tomes lifleri) olmak üzere iki kısımdan oluşurlar. Odontoblastlar dentinogenezis esnasında dentin tübüllerini oluşturmak için bu hücre uzantılarını hücre içerisinde bırakırlar. Temel görevleri dentin organik matriksini meydana getiren

proteinleri sentezlemek ve mineralizasyonla ilgili olarak alkalın fosfataz üretmektir (Bayırlı 1999; Torabinejad ve Walton 2011).

Odontoblastlar hücrel olarak büyük çekirdekli, sitoplazmalarında gelişmiş endoplazmik retikulum, golgi cisimciği, ribozom ve mitokondriye sahiptirler. Bu hücreler RNA'dan zengin olup birden fazla çekirdekçik bulundurlar (Pashley ve Liewehr 2006). Aktif odontoblast hücreleri organelden zengindir ancak inaktif hale geldiklerinde organel sayısı azalmakta ve boyları kısalmaktadır. Morfolojik olarak odontoblastlar pulpa boşluğunun koronal kısmında çok sayıda, büyük ve sütun şeklindedirler. Servikal kısımda ve kökün orta bölümünde daha az sayıda ve daha düz şekillidirler (Mjör ve ark. 2002).

Odontoblast hücreleri arasında metabolitlerin aktif ve pasif yönde geçişini sağlayan çeşitli bağlantı sistemleri vardır. Bunlar; tight junction, desmosom ve gap junction'lardır. Tight junctionlar hücreleri fiziksel etkenlere karşı koruyarak sıkı bir bariyer meydana getirirler. Desmosom ve gap junctionlar ise sıvı alışverişi ve kimyasal haberleşmeden sorumludurlar (Bishop ve Yoshida 1992; Torabinejad ve Walton 2011).

2.2.2.2. Fibroblastlar

Fibroblastlar, kollajen yapım ve yıkımında görevli özellikle pulpada çok sayıda hücreden zengin tabakada bulunan esas hücrelerdir. Bu hücrelerin temel görevleri tip 1, tip 3 kollajeni ve glikoproteinleri (en çok fibronektin) sentezlemektir. Odontoblastlara göre daha az farklılaşmış olan bu hücrelerin sayısı ve fonksiyonu pulpanın yaşını ve canlılığını belirler. Fibroblastlar olgunlaştıkça organeller daha belirgin hale gelir ve karakteristik görünüm kazanırlar (Özçobanoğlu ve Durutürk 2013).

2.2.2.3. Farklılaşmamış Mezenkimal Hücreler

Hücreden zengin tabakada ve santral pulpa tabakada bulunan farklılaşmamış mezenkimal hücreler farklılaşabilme yeteneğine sahip olup gerekli olduğu durumlarda fibroblastlara, odontoblastlara değişim göstererek savunma görevi yaptıkları gibi iltihabi durumlarda makrofajlara dönüşebilirler (Avery ve Chiego 2006; Okiji 2012).

2.2.2.4. Savunma Hücreleri

Normal pulpa dokusunda immünolojik olaylarda görevli lenfositler, plazma hücreleri, makrofajlar bulunmaktadır (Mjör ve ark. 2002).

2.2.3. Hücreler Arası Esas Madde

Pulpanın esas maddesi, moleküler yapısı mukopolisakkaritlerden ve sudan oluşan amorf jel kıvamında bir yapıya sahiptir. Pulpadaki mukopolisakkaritler, glikoprotein ve glikozaminoglikan yapısındadır. Glikozaminoglikanlar, protein ve polisakkarozlara bağlanarak proteoglikanları meydana getirir. Pulpada bulunan başlıca proteoglikanlar; kondrotin sülfat, heparan sülfat, dermatan sülfat ve hyaluronik asittir. Kondrotin sülfat, dentinogenezis sürecinde en önemli proteoglikandır. Dişin erüpsiyonu süresince hyaluronik asit ve dermatan sülfat miktarında artış gözlenirken kondrotin sülfatta azalma görülür. Ana maddenin temel görevi süzgeç görevi görmektir. Hücre metabolitleri, besinler ve atılacak maddeler ana maddeden geçerek iletilirler. İltihabı durumlarda, lizozomal enzimler pulpa ana maddesinin değişmesine neden olur. (Bayırlı 1999; Cohen ve Burns 2002; Pashley ve Liewehr 2006; Alaçam 2012).

2.2.4. Bağ Dokusu Lifleri

Pulpa dokusunu destekleyen iki tip lif bulunmaktadır.

Kollajen lifler: Tropokollajen adı verilen tek bir kollajen molekülü üç peptit zincirinden oluşur. Bu lifler genç pulpada prokollajen olarak küçük ve düzensiz şekillerde bulunurlar. Yaşlı pulpada ise demetler halinde ve daha kalındır. Pulpada bulunan kollajen lifler odontoblast ve fibroblastlar tarafından meydana getirilmiş tip I ve tip III formundadır (Bayırlı 1999; Okiji 2012).

Retiküler lifler: Argirofil, *Von Korff lifleri* olarak da adlandırılan bu lifler odontoblast tabakasında ve arteriöl duvarlarında yer alırlar. Dentine yakın yerlerde bulunan bu lifler dentin yapımında görev alırlar (Kitasako ve ark. 2002).

2.2.5. Pulpanın Damarsal Yapısı

Pulpanın damarsal yapısı, gerçek arter ve ven bulundurmadığı için arteriyollerden ve venüllerden meydana gelmektedir. Pulpaya apikal foramenden anterior olarak giren kan damarları; alt alveolar, üst alveolar ve infraorbital arterin dallarından olan arteriollerdir. Bu kan damarları yan dallar vererek dişlerin okluzal yönüne doğru ilerlerler (Bayırlı 1999; Pashley ve Liewehr 2006; Özçobanoğlu ve Durutürk 2013). Kronal pulpaya ulaşan kan damarları, daralıp yelpaze şeklini alarak terminal arteriyoller ve prekapilleri oluşturur. Bu yapılarda, subodontoblastik tabakada odontoblastlar için zengin

bir metabolit kaynağı olan kapiller ağı meydana getirir. Pulpanın kuronal kısmında kapiller pleksus kök kısmına göre çok daha fazladır (Rapp 1992).

Pulpadaki venüller ince duvarlı, arteriollerden çok az daha geniş çaplı, pulpadaki kan akımının çıkış yolunu oluştururlar. Pulpadaki venüllerin ince duvarlı olması sıvıların damar içine transportunu kolaylaştırır. Kapiller ağdan gelen kan, önce postkapiller venüllere, sonra daha büyük venüllere geçer (Trowbridge 1981; Pashley ve Liewehr 2006). Arteriyoller ve venüller arasında bağlantıyı sağlayan arteriyovenöz anastomozlar vardır. Kan bu anastomozlar aracılığıyla arteriyollerden venüllere geçiş yapar. Pulpal dolaşımın düzenlenmesi anastomozlar aracılığıyla olmaktadır (Takahashi ve ark. 1982).

2.2.6. Pulpanın Lenf Damarları

Pulpanın lenfatik sistemini, ince duvarlı ve duvarlarında kesintiler içeren lenfatik kapiller oluşturur. Bu kesintili yapı; hücrelerin, plazma proteinlerinin, hücresel artıkların ve plazma proteinlerinin lenfatik sisteme transportunu sağlar. Apikal foramenden çıkan lenf damarları lenf sıvısını lenf düğümlerine direne ederler (Torneck ve Torabinejad 2002).

2.2.7. Pulpanın Sinirsel Uyarımı

Pulpa dokusunun sinirsel uyarımını, afferent (duyu) ve efferent (motor) sinirler meydana getirmektedir. Duyu sinirleri, 5. kranial sinir olan trigeminal sinirin dallarından ayrılan mandibular ve maksiller kollardan gelip apikal foramen ve foraminalardan dişe girerler ve pulpa dokusunun inervasyonunu gerçekleştirirler. Otonom sinirler ise santral sinir sisteminden superior servikal gangliondan pulpa dokusuna gelirler. Bu sinirler pulpanın mikrosirkülasyonunun düzenlenmesini sağlar (Bayırlı 1999; Pashley ve Liewehr 2006; Torabinejad ve Walton 2011).

Pulpada, miyelinli (A-lifi) ve miyelinsiz (C-lifi) olmak üzere iki tip afferent sinir lifi bulunmaktadır. Her ikisi de ağrı impulsunu iletirler.

A-Lifleri: Dentin pulpa sınırında bulunan çapları geniş, miyelinli liflerdir. Keskin ve batıcı tipte ağrıların iletiminden sorumludur. İletim hızları oldukça yüksektir. Hızlarına göre; alfa , beta, gama ve delta olarak sınıflandırılırlar. Pulpada çoğunlukla A-delta lifleri bulunur (Pashley ve Liewehr 2006).

C-Lifleri: Çapları küçük, miyelinsiz, yavaş iletim yapan liflerdir. Spontan ağrıların iletiminden sorumludurlar (Pashley ve Liewehr 2006).

Myelinli sinir lifleri pulpanın merkezine doğru uzanırlar. Myelinsiz lifler de bu sinir yığınlarının arasında seyreder. Sinir demetleri subodontoblastik tabakaya ulaştıklarında Raschkow pleksusunu oluştururlar. Kök gelişiminin tamamlanmasıyla bu pleksusun gelişimi tamamlanır. Bu pleksustan gelen sinir liflerinin bir kısmının odontoblastlar arasına girdiği bir kısmının dentin tübüllerine ilerlediği ya da pulpaya geri döndüğü bilinmektedir (Pashley ve Liewehr 2006).

2.2.8. Pulpanın Görevleri

2.2.8.1. Dentin Formasyonu

Pulpa dokusu odontoblastlar sayesinde yaşam boyu dentin yapabilme özelliği gösterir. Dişin gelişimi esnasında büyük bir kısmı dişin sürmesinden önce oluşan primer dentin meydana gelir. Primer dentin oluşumu hızlı ve düzenli şekilde ilerler. Kök gelişimi tamamlandıktan sonra primer dentine göre çok daha düşük hızda ve düzensiz şekilde sekonder dentin oluşumu gerçekleşir. Primer ve sekonder dentin aynı odontoblastlar tarafından oluşturulduğu için dentinin tübüler yapısının devamlılığı sağlanır (Bayırlı 1991; Murray ve ark. 2002).

Çürük, travma, kimyasal iritanlar, restoratif işlemler gibi uyaranlara bağlı olarak dentin üretimi devam etmektedir. Bu uyaranlara bağlı olarak primer ve sekonder dentine göre daha düzensiz tersiyer dentin meydana gelir (Bayırlı 1991; Torabinejad ve Walton 2011). Tersiyer dentin, dış uyaranlara bağlı olarak reaksiyoner tersiyer dentin ve tamir dentin olarak ayrılır. Hafif yaralanmalar sonucunda zarar görmeyen odontoblastlar tarafından reaksiyoner tersiyer dentin, şiddetli yaralanmalar sonucunda ise canlılığını kaybeden odontoblastlar farklılaşarak tamir dentini meydana getirir (Bayırlı 1991; Mjör ve ark. 2002; Torabinejad ve Walton 2011).

2.2.8.2. Besleyici Görevi

Pulpa dokusu metabolik faaliyetlerini devam ettirebilmesi için besin ve O₂'ne ihtiyaç duymaktadır. Gerekli olan bu besin ve O₂ pulpa dokusunun zengin kapiller ağından ve odontoblastik tabakaya uzanan uzantılardan sağlanmaktadır (Bayırlı 1999).

2.2.8.3. Savunma Görevi

Çürük, travma ya da restoratif işlemler gibi dış etkenlere bağlı olarak pulpa dokusu etkenin şiddetine göre dentin kanallarının tıkanması (sklerotik dentin oluşumu), tamir dentin yapımı veya iltihabi reaksiyon oluşumu şeklinde cevap verir (Bayırlı 1999; Torabinejad ve Walton 2011).

Odontoblastlar, pulpanın en önemli savunma hücreleridir. Odontoblastlar, dış uyaranlara bağlı olarak uyarılıp, farklılaşıp ve ilgili bölgeye göç ederek yeni dentin yapımını sağlarlar. Odontoblastların dentin yapımı aynı zamanda bir savunma reaksiyonudur (Bayırlı 1999; Torabinejad ve Walton 2011).

2.2.8.4. Sinirsel Görevi

Pulpa dokusu, kan damarları ile seyreden zengin bir sinir ağına sahiptir. Pulpa dokusunda seyreden bu sinir fibrilleri kan akımını düzenleyerek doku ve kan damarları arasındaki sıvı alışverişini etkiler böylece pulpa içi kan basıncını düzenlerler. Dış uyaranlara karşı ağrı duyusunun oluşması bu sinir fibrilleri sayesinde (Bayırlı 1999; Alaçam 2012).

2.3. Kök Hücre

1800'lü yılların başında Carl Rudolph Wirschow tüm hücrelerin başka hücrelerden geliştiğine dair bir yaklaşımda bulunmuştur (Pittenger ve ark. 1999). 1900'lü yıllara gelindiğinde Alexander Maksimov ilk kez kök hücre terimini kullanmıştır. Dental kök hücrenin varlığına ait bulgular ise ilk kez 21. yüzyıl başlarında ortaya atılmıştır. Yapılan çalışmalarda kök hücrelerin pek çok yeteneği keşfedilmesine karşın dental ve kraniyofasiyal alandaki kök hücreler ile ilgili çalışmalar diğer dokulara oranla daha geride kalmıştır. (Gronthos ve ark. 2000; Zhao ve Chai 2015).

Kök hücreler farklılaşmamış, uygun koşullar ve uyarılara bağlı olarak bir veya daha fazla farklı hücre tipine farklılaşabilme yeteneğine sahip, bölünebilme, kendini yenileyebilme özelliği gösteren hücrelerdir. Bu hücreler özelleşmemiş hücreler olup, özelleşmiş hücrelere kaynaklık edebilirler (Spangrude 2003; Herzog ve ark. 2003; Lodi ve ark. 2011).

2.3.1. Kök Hücrelerin Özellikleri

Bir hücreyi kök hücre olarak tanımlayabilmek için şu özellikler gerekmektedir.

- Kök hücreler uzun zaman diliminde kendilerini yenileyebilme ve bölünebilme özelliği gösterirler. Bölünebilme özelliklerini, kromozomların yapısal bütünlüğünü sağlayan telomer adı verilen DNA zincirleri belirler. Ancak her bölünme bir miktar DNA kaybına neden olur bu noktada telomeraz enzimi DNA tekrar dizilerini kromozomların ucuna ekleyerek kısalmayı, parçalanmayı önler. Somatik hücrelerde ise tekrar eden bölünmeler sonrasında telomerlerde meydana gelen aşınmalar nedeniyle hücreler bölünme aktivitelerini kaybederler. Kök hücrelerde ise telomerlerin belirli bir uzunlukta kalmasını sağlayacak şekilde telomeraz üretilmektedir (Yıldırım ve ark. 2015).
- Kök hücreler özelleşmemiş hücreler olup, herhangi bir dokuya özgün değildir. Belirli sinyal moleküllerine bağlı olarak özelleşebilmektedirler (Nutti ve ark. 2016).
- Kök hücreler farklılaşabilme özelliği gösteren hücreler olup büyüme faktörleri, genetik faktörler ve kontakta oldukları hücrelerden etkilenebilirler. Bu hücreler somatik 3 germ tabakasına; totipotent, pluripotent ve multipotent olarak farklılaşabilmektedirler (Nutti ve ark. 2016).
- Hasarlı doku ve organlarda çevre dokuların yeniden çoğalabilmelerini sağlamaktadır (Huang ve ark. 2008).
- Hasar bulunmayan dokulara nakledildiklerinde bile farklılaşmamış diğer dokulara yardımcı olmaktadır (Loeffler ve Roeder 2002)

2.3.2. Farklılaşma Kapasitelerine Göre Kök Hücreler

2.3.2.1. Totipotent Kök Hücreler

Sperm ve yumurta hücresinin bir araya gelmesiyle oluşan zigot tüm organizma için gerekli ve yeterli olan genetik bilgiyi barındırmaktadır. Bu hücreler zigot evresindeki 8 hücreli blastomerde bulunan herşeyi yapabilen hücrelerdir. Sınırsız farklılaşma yeteneğine sahip olan bu hücreler embriyo ve embriyo dışı organların kaynağını oluşturan tek kök hücre tipidir. Bir organizmayı tümüyle meydana getirebilme kapasitesine sahip olan bu hücreler özelliklerini döllenmeden sonraki 5. güne kadar devam ettirirler (Blau ve ark. 2001; Sandhu ve Nair 2009).

2.3.2.2. Pluripotent Kök Hücreler

Döllenmeden 5 gün sonrasında blastosit adı verilen küresel şekil alan hücreler ektoderm, endoderm ve mezoderm adı verilen hücrelere farklılaşabilmektedirler. Bu tür hücrelere pluripotent hücreler adı verilmektedir. Totipotent hücreler gibi tek başlarına tüm organizmayı meydana getiremeyen bu hücreler uygun ortama bağlı olarak 200'e yakın farklı hücreye farklılaşabilmektedirler. Bu hücrelerin vücuttaki tüm hücrelere farklılaşabilme kapasitelerinden dolayı gerçek kök hücreler olarak tanımlanmaktadır (Karaöz ve Ovalı 2004; Oyar 2016).

2.3.2.3. Multipotent Kök Hücreler

Embriyonik kök hücrelere göre sınırlı farklılaşma potansiyeline sahip olan bu hücreler tek germ tabakasına ait hücrelere farklılaşmaktadırlar. İn vitro koşullarda erişkin bireylerin dokularında bu hücreler fazla miktarda çoğaltılabilir ve hasarlı bölgelerde çevre dokulara farklılaşarak iyileşme sağlayabilirler (Freshney ve ark. 2007).

2.3.2.4. Oligopotent Kök Hücreler

Az sayıda hücre tipine farklılaşabilme potansiyeline sahip olan hücrelerdir (Rao ve Mattson 2001).

2.3.2.5. Unipotent Kök Hücreler

Sadece tek tip hücreye farklılaşabilme potansiyeline sahip olan hücrelerdir (Rao ve Mattson 2001).

2.3.3. Kaynaklarına Göre Kök Hücreler

2.3.3.1. Embriyonik Kök Hücreler

Pluripotent özellik gösteren embriyonik kök hücreler, döllenme sonrasında blastosit adı verilen embriyonun iç hücre kitlesinden elde edilirler. Bu hücreler kendilerini yenileyebilir ve organizmadaki pek çok hücre tipine farklılaşabilmektedirler. Embriyonik kök hücreler in vitro koşullarda hücresel özelliklerini korur ve dondurulabilirler. Ancak bu hücrelerin sınırsız bölünebilme yeteneklerinden dolayı tümör meydana getirme potansiyelleri mevcuttur (Pera ve ark. 2000; Hatoya ve ark. 2006).

2.3.3.2. Yetişkin Kök Hücreler

Yetişkin kök hücreler multipotent özellik gösteren göbek kordon kanı, kemik iliği, amniyotik sıvı, diş pulpası gibi pek çok dokudan izole edilebilen hücrelerdir. Embriyonik kök hücrelere göre daha az farklılaşma potansiyeline sahip olan bu hücreler, kendilerini yenileyebilen, özelleşmiş hücrelere farklılaşabilme potansiyeli olan hücrelerdir. Son yapılan çalışmalar plastik yüzeylere yapışabilme özelliklerini bildirmiştir (Fuchs ve ark. 2004; Prentice 2006).

2.3.3.3. Hematopoetik Kök Hücreler

Kanın hücresel yapılarını ve immün sistem hücrelerini meydana getiren hücrelerdir. Kendilerini yenileyebilme özelliğine sahip olan bu hücreler myeloid ve lenfoid dokulardan kan hücrelerine farklılaşabilirler. Yenileyebilme ve farklılaşabilme özelliklerini kontrol altında tutabilen bu hücrelerin yaşam boyu üretimi söz konusudur (Martinez-Agosto ve ark. 2007; Ratajczak 2008).

2.3.3.4. Mezenkimal Kök Hücreler (MKH)

Mezenkimal kök hücreler; kendini yenileyebilen, pek çok dokudan izole edilebilen, çeşitli hücre tiplerine farklılaşabilen, hematopoetik kökenli olmayan multipotent özellikli hücrelerdir. Bu hücrelerin ilk olarak tanımlanması 1970'li yıllarda Dr. Friedenstein ve arkadaşları tarafından kemik iliğinden izole edilerek yapılmıştır. Mezenkimal kök hücreler, nöral arktan orjin alarak mezodermal kökenli hücrelere farklılaşırlar bu sebepten adları mezenkimal kök hücreler olarak isimlendirilir (Friedenstein ve ark. 1976; Jiang ve ark. 2002). Kemik, yağ, kıkırdak, periodonsiyum, dental dokular gibi dokulara farklılaşabilen mezenkimal kök hücreler doku yenilenmesi konusunda son yıllarda adından sıklıkla söz ettirmektedir (Nardi ve Da Silva Meirelles 2006).

Mezenkimal Kök Hücrelerin Karakteristik Özellikleri

Mezenkimal kök hücreler morfolojik olarak fibroblastlara benzeyen uzun, ince, iğsi yapıdaki hücrelerdir. Hücresel olarak; nükleus etrafında kromatin parçaları, golgi aygıtı, lizozom, mitokondri ve poliribozomlar bulunmaktadır (Alhadlaq ve Mao 2004).

Mezenkimal kök hücrelerin in vitro koşullarda tanımlanması Uluslararası Hücresel Tedavi Derneği (ISCT) tarafından üç kriterle belirlenmiştir.

- Plastik yüzeylere tutunabilme yeteneği
- Spesifik yüzey antijenlerinin ekspresyonu
- Multipotent farklılaşma potansiyelidir (Dominici ve ark. 2006).

Mezenkimal kök hücreler plastik doku kültür yüzeylerine tutunarak hücre kolonileri oluştururlar (Le Blanc ve Mougiakakos 2012). MKH'ların ilk kez yüzey antijenlerinin tanımlanarak karakterize edilmesi 1999 yılında Pittenger ve ark. tarafından yapılmıştır. Yüzey antijenleri, mezenkimal kök hücreleri tanımlayarak hematopoetik hücre grubundan ayrılmasını sağlar (Pittenger ve ark. 1999). ISCT'e göre mezenkimal kök hücreler için pozitif yüzey antijenleri CD90, CD73, CD105, CD146, CD29 olarak belirlenirken, negatif yüzey antijenleri CD34, CD14, CD45, CD19, CD28 şeklinde tanımlanır (Dominici ve ark. 2006). MHK'ların pozitif ve negatif yüzey antijenleri akım sitometri veya fiksasyon işlemiyle belirlenir (Forte ve ark. 2010). MHK'lar yüksek farklılaşma yeteneğine sahip olan in vitro koşullarda osteojenik, kondrojenik ve adipojenik dokulara farklılaşabilen hücrelerdir. MHK'lardaki farklılaşmalar Alizarin Red, Von Kossa, Oil Red ve Alkalın Fosfataz gibi boyalarla boyanarak belirlenir. Dexamethasone, beta glycerophosphate ve askorbik asid'in eklenmesiyle osteojenik farklılaşma, indomethacineve insülin gibi maddelerin eklenmesiyle adipojenik farklılaşma, dexamethason, TGF β 3 gibi maddelerin eklenmesiyle kondrojenik farklılaşma uyarılmaktadır (Pittenger ve ark. 1999; Ichinose ve ark. 2005).

Mezenkimal kök hücreler; dental doku, adipoz doku, göbek kordonu, kemik iliği gibi pek çok kaynaktan izole edilebilirler. MKH'ların gerektiğinde kullanılmak üzere dimetilsülfoksit ile kriyoprezervasyonu gerçekleştirilebilmektedir (Orbay ve ark. 2012).

2.3.4. Dental Dokulardan Elde Edilen Mezenkimal Kök Hücreler

Dental dokuların embriyonik dönemdeki gelişimi ektoderm kökenlidir. Diş germi ektodermal yapı sayesinde meydana gelirken, dental papilla ve dental folikül nöral kret hücrelerinin özelleşmesiyle meydana gelmektedir. Buna bağlı olarak dental dokular ektoderm kökenli nöral kret hücrelerini de yapısında barındıran mezenkimal bileşenler bulundurmaktadır (Morsezeck ve ark. 2008). Dental dokulardan elde edilen mezenkimal kök hücreler; dental pulpa kök hücreler (DPSCs), eksfoliye süt dişlerindeki

kök hücreler (SHEDs), periodontal ligament kök hücreleri (PDLSCs), dental folikül kök hücreler (DFSCs), dental apikal papilla kökenli kök hücreler (SCAPs), dişeti mezenkimal kök hücreler olarak sınıflandırılabilir (Oyar 2016).

2.3.4.1. Dental Pulpa Kök Hücreleri

Dental pulpa kök hücreleri yüksek proliferasyon ve plastisite yeteneği gösteren, klonlanabilen multipotent özellikteki hücrelerdir. Bu hücrelerin izolasyonu ve tanımlanması ilk kez 2000 yılında Gronthos ve ark. tarafından yirmi yaş dişi kullanılarak yapılmış ve bu hücrelerin odontoblastik, osteojenik, adipojenik ve kondrojenik farklılaşmalar gösterdikleri görülmüştür (Gronthos ve ark. 2000). Dental pulpa kök hücre kaynakları arasında özellikle en son süren diş olması ve zengin pulpa kaynağı içermesi sebebiyle yirmi yaş dişleri, ortodontik tedavi, travma veya periodontal sebeplerden dolayı çekilmiş dişler ve süt dişleri sayılabilir (Liu ve ark. 2006).

Dental pulpa kök hücrelerin kolay elde edilebilmeleri, etik bir sorun yaşanmaması, yaşam sürelerinin uzun olması, yüksek farklılaşma yetenekleri, güvenli bir şekilde dondurulup saklanabilmeleri (kriyoprezervasyon), çözüldüklerinde herhangi bir sorun olmaması, kültür ortamında kolay çoğaltılabilmeleri, elde edilen kök hücre ekstraksiyonun yüksek verimli olması gibi olumlu özellikleri bu hücrelerin tedavi amaçlı kullanımına olanak sağlamaktadır (Todorovic ve ark. 2008).

Dental pulpa kök hücreleri, anti-inflamatuar ve T, B lenfositlerinin proliferasyonunu baskılayarak immunsupresif özellik gösteren hücrelerdir, bu şekilde bağışıklık cevabının oluşumunu sağlarlar (D'Aquino ve ark. 2008). Hücresel olarak büyük çekirdek, bol miktarda sitoplazmik uzantıya sahip olan iğsi şekilli hücrelerdir (Gronthos ve ark. 2000).

Dental pulpa kök hücrelerinin gen ekspresyonları belirlendiğinde, dentin siyalofosfoproteinleri, alkalın fosfatazı ve dentin matriks protein-1'i eksprese ettiği bildirilmektedir. Bu yapılar, hücre adezyon moleküllerini, büyüme faktörlerini ve ekstrasellüler matriks bileşenlerini kodlamaktadır (Krebsbach ve Robey, 2002). Dental pulpa kök hücreleri ile kemik iliği kök hücreleri benzer yapılara sahiptir ancak dental pulpa kök hücrelerinin hücre döngüsü ile ilgili genleri eksprese etmeleri ve yüksek proliferasyon yetenekleri onları kemik iliği kök hücrelerine göre daha üstün kılar

(Todorovic ve ark. 2008). Dental pulpa kök hücreleri yüzeylerinde CD44, CD146 ve Stro-1 gibi hücre yüzey belirteçlerini eksprese ederler (Shi ve ark. 2005).

İnsan dental pulpa mezenkimal kök hücrelerinin; odontoblastlara (Gronthos ve ark. 2002), osteoblastlara, kas hücrelerine(Kerkis ve ark. 2008; Pisciotta ve ark. 2015), endotel hücrelerine (D'Aquino ve ark. 2007), yağ hücrelerine, kıkırdak hücrelerine (Waddington ve ark. 2009) ve sinir hücrelerine (Martens ve ark. 2014) farklılaştığı bildirilmektedir.

2.3.4.2. Eksfoliye Süt Dişlerindeki Kök Hücreler

Eksfoliye süt dişi pulpasından elde edilen kök hücreler, yetişkin diş pulpasından elde edilen kök hücrelere göre daha yüksek proliferasyon yeteneğine sahiptir ancak bu hücrelerin dentin pulpa kompleksi oluşturmamaları bildirilmiştir. Bu hücreler nörojenik, adipojenik, odontojenik, osteojenik hücrelere farklılaşabilirler (Miura ve ark. 2003).

2.3.4.3. Periodontal Ligament Kök Hücreleri

Çekilen dişlerin kök yüzeylerinin kürete edilmesiyle elde edilen periodontal ligament kök hücreleri, yapılan in vitro çalışmalarda osteoblast, sementoblast ve adipositlere farklılaştığı bildirilen hücrelerdir. Bu hücreler Stro-1, CD146 ve CD 44 yüzey belirteçlerini eksprese ederler (Seo ve ark. 2005).

2.3.4.4. Dental Folikül Kök Hücreleri

Diş germi etrafında bulunan, mezenkimal yapıdaki dental folikül kök hücreleri genellikle gelişmekte olan 20 yaş dişlerinden kaynak alırlar. Notch-1, Stro-1, CD133 gibi yüzey antijenlerini eksprese edebilen dental folikül kök hücreleri osteoblast, sementoblast gibi hücrelere diferansiye olabilirler. Yapılan çalışmalar, dental folikül kök hücrelerinin sahip oldukları heterojen yapının medikal tedavilerde önemli etkisi olduğunu göstermiştir (Yücel ve Gültekin 2015).

2.3.4.5. Dental Apikal Papilla Kökenli Kök Hücreler

Dental apikal papilla kökenli kök hücreler, dental dokuların erken gelişim evresinde gömük ve kesici dişlerin köklerinin ucundan izole edilirler. Stro-1, CD24, ve CD29 gibi hücre yüzey antijenlerini eksprese eden bu kök hücreler primer odontoblastlara

kaynaklık ederler. Ayrıca dental pulpa kök hücrelerine göre daha fazla dentin oluşturabilme özelliği gösterirler (Atalayın ve ark. 2012).

2.4. Biyouyumluluk ve Sitotoksosite

Biyouyumluluk, materyalin canlı dokuya temas etmesiyle beraber oluşan uygun yanıt olarak tanımlanır. Bir materyalin biyouyumluluğu materyalin çeşidine, uygulandığı yüzeye ve fonksiyonuna bağlı olarak değişir. Biyouyumlu bir materyal sistemik ve lokal toksisite, alerjik, mutajenik ve karsinojenik etki gibi reaksiyonlar oluşturmamalıdır. (Atalayın ve ark. 2016).

Diş hekimliğinde yeni bir materyalin klinik kullanımına geçilmeden önce biyouyumlu olup olmadığının tespit edilmesi gerekir. Bu amaçla materyalin biyolojik özelliklerini saptamak için çeşitli testler uygulanır. Bu testlerden öncelikli olarak hızlı ve ucuz olması sebebiyle sıklıkla tercih edilen hücre kültürünün kullanıldığı in vitro testler ile başlanır, daha pahalı ve uzun zaman gerektiren hayvan testleri ile devam edilir en son ise kullanım testleri (in vivo) ile daha ayrıntılı değerlendirmeler yapılır (Tuncer ve Demirci 2011)

Biyouyumluluk göstermeyen materyaller biyolojik sistemlere zarar verecek düzeyde reaksiyonlar meydana getirir. Bu durum toksisite olarak ifade edilir. Sitotoksosite ise moleküler düzeyde reaksiyonlar sonucunda hücrelerin yapısı ve fonksiyonunda hasar meydana gelmesine bağlı olarak gerekli olan makromoleküllerin sentezlenmesinin engellenmesi olarak tanımlanır (Hanks ve ark.1996; Murray ve ark. 2007).

Sitotoksosite testlerinde, hücre canlılığı ve ölümü, hücre membran bütünlüğü, hücre organel yapısı, DNA sentezi ile ilgili bilgiler elde edilerek materyalin biyolojik özellikleri tanımlanmış olur (Nicholson 2002; Uzun ve Bayındır 2011).

2.4.1. Sitotoksosite Değerlendirme Yöntemleri

Biyouyumluluğu değerlendirmede ilk basamak olarak kullanılan testler, in vitro sitotoksosite testleridir. Bu yöntemde hücre kültürü kullanılarak hücrelerin morfolojik özellikleri, enzim aktiviteleri, metabolizmaları (DNA, RNA), büyüme oranları değerlendirilerek daha kompleks hayvan deneylerine geçmeden önce materyal hakkında ön bilgi edinilmiş olur. Hücre kültür çalışmalarında temel hedef dokulardan alınan örneklerin 37°C sıcaklık, %5 CO₂ ve %95 nem içeren koşullarda çoğalmalarını

sağlamaktır. Kullanılan hücre kültürleri arasında devamlı hücre hatları (L929; fare gingival fibroblast; MDPC-23; fare odontoblast ECV 304; insan endoteliyal hücresi) ve primer hücreler gelmektedir (Schmalz 1998; Tuncer ve Demirci 2011).

Primer hücre kültürleri, alınan doku örneklerinin kültüre edilmesiyle oluşan dokunun fizyolojik özelliklerini en iyi yansıtan hücre kültürleridir. Özellikle izolasyon ve pasajlama işlemleri yüksek hassasiyet gerektiren primer hücre kültürlerinin, orijinal doku ile aynı tip özellikler göstermeleri en önemli avantajlarıdır. Çalışmalarda ise çoğunlukla daha kolay ve hızlı çoğalma potansiyellerinden dolayı devam hücre hatlarından fare fibroblastları (L929) kullanılmaktadır (Schmalz 1998; Craig ve ark. 2006).

İn vitro sitotoksikite testleri, hücre metabolizmasını ayrıntılı olarak değerlendirebilmesi, karşılaştırabilir ve nicel sonuçlar elde edilmesi, tekrarlanabilir ve ucuz olması, standart değerlendirmelerin yapılabilmesi gibi avantajlarının yanı sıra hücre izolasyon ve pasajlama işlemlerinin zorluğu, her test için tek tip hücrenin kullanılması, in vitro ortamın tam olarak in vivo şartları yansıtmaması gibi dezavantajları bulunmaktadır (Uzun ve Bayındır 2011).

2.4.1.1. Canlılık Değerlendirme Testleri

Canlılık değerlendirme testleri, toksik etkene bağlı olarak kısa zaman aralığında meydana gelen sitotoksik reaksiyonları değerlendirmek için kullanılır. Bu testlerde materyal etki ettikten sonraki kültürde kalan canlı hücre sayıları vital olan ve vital olmayan boyalar kullanılarak değerlendirilir. Membran bütünlüğünü koruyan hücreler için diasetil florasan veya nötral kırmızı boyası, membran bütünlüğünü koruyamayan hücreler için tripan mavisi, eritrosin, naftalin siyahı kullanılır (Craig ve ark. 2006; Yıldırım ve ark. 2017).

Nötral kırmızı testi: Canlılık testlerinde yaygın bir şekilde kullanılan nötral kırmızısı vital bir boyadır. Nötral kırmızı boyası membran bütünlüğü bozulmamış hücrelerin lizozom organelleri tarafından tutulur. Hemositometredeki canlı hücreler optik mikroskop altında tespit edilir (Craig ve ark. 2006; Tuncer ve Demirci 2011).

Tripan mavisi testi: Membran bütünlüğü bozulmuş hücrelerin sitoplazmalarında biriken vital olmayan bir boyadır. Cansız hücreleri mavi, canlı hücreleri ise şeffaf bir

görünümüne kavuşturur. Boyanan hücreler spektrofometre ile değerlendirilir (Craig ve ark. 2006; Tuncer ve Demirci 2011).

Floresan metodu: Floresan boyalar (diasetil floresan ya da propidium iodide) kullanılarak boyanan hücreler akım sitometri veya floresan mikroskobu ile değerlendirilir (Craig ve ark. 2006; Tuncer ve Demirci 2011).

2.4.1.2. Yaşam Değerlendirme Testleri

Sadece ölü hücrelerin değerlendirildiği uzun dönemde meydana gelen toksik reaksiyonların incelendiği testlerdir. Hücrelerin maruz kaldığı toksik etkiler saatler, günler sonra etki edebilir. Bu sebeple hızlı ve kolay olan kısa dönem testleri yerine uzun dönem yaşam değerlendiren testleri kullanmak daha doğru sonuçlar vericektir (Moharamzadeh ve ark. 2009; Freshney 2015).

2.4.1.3. Metabolizma Değerlendirme Testleri

Canlı hücrelerin enzim aktivitelerini, metabolik ve proliferatif kapasitelerini mikropkaka okuyuculu spektrofotometre aracılığıyla değerlendiren kalorimetrik testlerdir. Uzun dönem toksisitenin değerlendirildiği ucuz ve kolay olan bu yöntemde MTT testi, alamar mavisi testi ve laktat dehidrogenaz testi gibi testler metabolizmayı değerlendiren testlerdir (Tuncer ve Demirci 2011; Yıldırım ve ark. 2017). Bu testler arasında en sık kullanılan MTT (3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) testidir. Bu testte canlı hücreler tarafından suda çözünebilen, sarı renkli tetrazolyum tuzları parçalanarak, suda çözünemeyen mor renkli formazon ürünlerini oluşturmaktadır. Formazon oluşumunun değerlendirilmesi ise spektrofotometre aracılığıyla olmaktadır. (Moharamzadeh ve ark. 2009; Freshney 2015).

2.4.1.4. Hücre Proliferasyonu Değerlendirme Testleri

Örnek sayısının az olduğu durumlarda etkili sonuçlar alınabilen, büyüme eğrilerinden yararlanıldığı, H-timidin testi ve bromodeoksiuridin immünohistokimyasal tekniklerin kullanıldığı, hücre proliferasyonunun değerlendirildiği testlerdir. Bu testlerde kültürde bulunan hücrelerin mid-log fazı içerisinde bulunduğu andaki büyüme eğrileri kullanılarak sonuçlar elde edilir (Tuncer ve Demirci 2011; Freshney 2015).

2.4.2. Apoptozun Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

Organizmada yeniden yapım ve yıkım faaliyetleri olarak nitelendirilen hemostaz kavramının bir düzen içerisinde ilerlemesi hücre ölümü (apoptoz) ve proliferasyon dengesinin devamlılığına bağlıdır. Organizma bir hücreye ihtiyaç duymadığı anda, hücre içi haberci moleküllerini aktive ederek o hücrenin ölüm sürecini başlatır. Bu olay çok hücreli organizmalarda programlanmış hücre ölümü olarak da nitelendirilen apoptoz kavramıdır. Apoptoz kelimesi Yunanca kökenli olup yaprak dökümü anlamına gelmektedir. Bu olay, doku hemostazını korumaya yönelik fizyolojik olarak meydana gelebildiği gibi organizma için tehlikeli olabilecek ajanlara karşı ve immunolojik reaksiyonlara bağlı olarak koruyucu amaçla da meydana gelebilir. Fizyolojik ve patolojik koşullarda meydana gelebilen, enflamasyonun olmadığı, genellikle hücrelerin tek tek etkilendiği apoptoz olayında hücre kendi ölüm sürecine katılır (Edinger ve Thompson 2004; Elmore 2007; Akşit ve Bildik 2008).

Hücre, hücre içi sinyal moleküllerine maruz kaldıktan sonra biyokimyasal ve morfolojik değişiklikler göstermeye başlar. Erken dönemde, hücreler birleşme bölgelerinden ayrılarak hacimsel olarak küçülürler. Işık mikroskopunda, etrafında açık bir daire şeklinde görülen bu durum iyon kanalları ve pompalarının aktivasyonunun bozulmasına bağlı olarak gerçekleşir. Apoptozda temel morfolojik olay, çekirdeğin yoğunlaşması, çekirdek zarı ve çekirdek DNA'sının parçalara ayrılmasıdır. Meydana gelen bu bozulmalar parçalanan kromatinlerin çekirdek membranının iç yüzüne doğru yapışmasına neden olarak at nalı görüntüsü oluşturur. Apoptoza uğrayan hücrede laminin ve aktin filamentlerinin parçalanmasıyla sitoplazma küçülür. Normal şartlar altında hücre membranının yüzeyinde bulunan negatif yüklü fosfolipidlerin bu süreçte hücre membranının dışına çıkar. Bu durum kollektin gibi proteinlerin apoptotik hücre zarına yapışmasına ve N-asetil glikozamin ve N,N- diasetilşitabroz gibi hücre zarında gizlenmiş yapıların ortaya çıkmasına neden olur. Bu şekilde apoptotik hücre makrofajlar tarafından tanınarak ortamdan uzaklaştırılır. Diğer bir değişim ise apoptotik hücrelerden vezikül şeklinde kopan tomurcuklardır. Apoptozun sonuna doğru görülen bu tomurcuklara apoptotik cisim denir (Öktem ve ark. 2001; Edinger ve Thompson 2004; Güleş ve Eren 2008).

Apoptoz, erken ve geç olarak iki evrede gözlenmektedir. Hücre membranından kopan tomurcuklar küçük ve çok sayıda ise hücre erken apoptoz sürecinde, daha büyük

ve asimetrik bir dağılım gösteriyorlarsa geç apoptoz sürecinde bulunmaktadır. Bir başka ölüm şekli olan nekroz ise, fiziksel ve kimyasal uyaranlar (hipoksi, UV, ağır metaller, hipertermi) sonucunda meydana gelen patolojik bir durumdur. Bu süreçte membran geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak lipid peroksidasyonu sonucu meydana gelen ürünler hücreler arası sıvıya geçiş gösterir ve enflamatuvar yanıt gelişir (Öktem ve ark. 2001; Elmore 2007). Apoptoz ve nekroz arasındaki farklılıklar Tablo 2-6'da gösterilmiştir.

Tablo 2-6: Nekroz ve apoptoz arasındaki farklılıklar (Eröz ve ark. 2012)

NEKROZ	APOPTOZ
Patolojik	Fizyolojik ve patolojik
Enflamasyon oluşur	Enflamasyon oluşmaz
Hücreler şişer	Hücreler büzülür
Hücre membran bütünlüğü kaybolur	Hücre membran bütünlüğü korunur
Komşu hücre grupları etkilenir	Hücreler tek tek etkilenir

Uyaranın tipi, derecesi, şiddetine bağlı olarak hücreler nekroz veya apoptoza uğrayabilirler. Erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz gibi hücre ölüm tiplerinin belirlenmesinde pek çok yöntem mevcuttur (Galluzi ve ark. 2009).

1) Morfolojik görüntüleme yöntemleri

a. Işık Mikroskobu

i. Hematoksilen Boyama

ii. Giemsa Boyama

b. Floresan Mikroskobu

c. Elektron Mikroskobu

d. Faz Kontrast Mikroskobu

2) İmmünohistokimyasal yöntemler

a. Anneksin V Yöntemi

b. TUNEL Yöntemi

c. M30 Yöntemi

d. Kaspaz-3 Yöntemi

3) Biyokimyasal Yöntemler

a. Agaroza Jel Elektrofözezi

b. Westen Blotting

c. Akım Sitometri

4) İmmunolojik Yöntemler

a. ELİSA

b. Fluorimetrik Yöntem

5) Moleküler biyoloji yöntemleri

2.4.3. Akım Sitometri

Akım sitometri, bir akışkan içerisindeki hücre veya mikroskobik partiküllerin fiziksel veya kimyasal karakterlerinin belirlenmesi yöntemi olarak tanımlanmaktadır. Çalışma prensibi, akışkan içerisindeki hücre veya partiküllerin lazer ışığı ile aydınlatılması ve bu işlem sürecinde hücrelerin lazer ışığına verdikleri sinyallerin toplanması esasına dayanır. Akım sitometri ile hücrelerin boyut, şekil gibi fiziksel özelliklerinin yanında enzim aktiviteleri, DNA içeriği, granüleritesi, canlılığı ve membran potansiyeli gibi özellikleri de değerlendirilebilir (Karaboz ve ark. 2008; Kanev ve Muranlı 2016).

Akım sitometride floresan bir madde olan propidium iyodür ve Anneksin V kullanılarak apoptozda ortaya çıkan hücre yüzey proteinleri ve apoptotik hücreler belirlenebilir. Bu yöntemin kolay uygulanabilir olması, kısa sürmesi ve nicel sonuçlar vermesi gibi özellikleri apoptozun değerlendirilmesi açısından kullanışlıdır. (Güleş ve Eren 2008).

Hücre apoptoz sürecine girdiğinde erken dönemde membran yüzeyinde bulunan fosfatidilserin hücre membranının dış yüzeyine transfer olur. Anneksin V, floresan bir madde ile işaretlenerek fosfatidilserine bağlanır ve apoptotik hücrelerin belirlenmesini

sağlar. Anneksin V'in nekrotik hücelere de bağlanabilme özelliğı olmasından dolayı ortama non vital bir boya olan propidium iodide ilave edilerek canlı, nekrotik, erken ve geç apoptotik hüceler ayırt edilebilir (Güleş ve Eren 2008).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için gerekli olan pulpa dokuları İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'na başvuran 19-25 yaş aralığında, sistemik hastalığı bulunmayan bireylerin çekim endikasyonu konulmuş olan gömük üçüncü büyük azı dişlerinden elde edilmiştir. Çalışmada, hücre kültürlerinin hazırlanması ve canlılık deneyleri Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiş olup, deneylerde kullanılan materyallerin hazırlanması İstanbul Üniversitesi Pedodonti Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma için İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Dosya No:2018/93). Çalışmaya dahil edilen bireylerin “Gönüllü Bilgilendirme ve Onam Formu” nu okumalarından sonra ve imzalı onayları alınarak çalışmanın içeriği, amacı, yöntem ve sorumlulukları hakkında bilgi sahibi olmaları sağlanmıştır (Ek 1. Gönüllü Bilgilendirme ve Onam Formu).

Pedodonti de kullanılan güncel restoratif materyallerin insan dental pulpa kök hücreleri üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışma 4 aşamada gerçekleştirilmiştir. Çalışma planı Tablo 3-1’de gösterilmektedir.

Tablo 3-1: Çalışma planı

1. AŞAMA: <i>Ortodontik veya cerrahi olarak çekim endikasyonu konmuş gömük yirmi yaş dişin çekilmesiyle elde edilen dokulardan dental pulpa kök hücrelerin izolasyonu ve pasajlanması</i>
2. AŞAMA: <i>İzole edilen dental pulpa kök hücrelerin akım sitometri ile hücre marker ekspresyonunun saptanması ve farklılaşma potansiyellerinin belirlenmesi</i>
3. AŞAMA: <i>Restoratif materyallerin hazırlanması ve elde edilen salınım sıvılarının dental pulpa kök hücrelerine temas ettirilmesi.</i>
4. AŞAMA: <i>Restoratif materyallerin hücrelerin canlılığı üzerine olan etkilerinin 1. 3. 7. gün sonunda değerlendirilmesi</i>

3.1. Gereçler

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Materyaller

Çalışmada kullanılan materyallerin (Şekil 3-1), içerikleri ve üretici firma bilgileri (Tablo 3-2)'de gösterilmektedir.



Şekil 3-1: Çalışmada kullanılan materyaller

A) APA Cam Karbomer B) APA Esthetic Fill C) GC EQUIA Forte D) GC Fuji IX GP

E) CDMEM

Tablo 3-2: Çalışmada kullanılan materyaller, içerikleri ve üretici firma bilgileri

Materyal	İçerik	Üretici Firma
APA Cam Karbomer	Floroaluminosilikat, poliakrilik asit, nanofloro/hidroksiapatit, distile su	GCP Dental, Ridderkerk, Netherlands
APA Esthetic Fill	Floroaluminosilikat, poliakrilik asit, nanofloro/hidroksiapatit, fosfat	GCP Dental, Ridderkerk, Netherlands
GC EQUIA Forte	Floroalüminosilikat cam, polikarboksilik asit, karboksilik asit	GC Corp. Japan
GC Fuji IX GP	Floroalüminosilikat cam, poliakrilik asit, distile su	GC Corp. Japan
Complete DMEM (CDMEM)	%10 oranında FBS (Fötal sığır serumu), %1 penisilin/ streptomycin ilave edilmiş DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium)	Gibco, Grand Island, USA

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

3.1.2.1. Kimyasal Malzemeler

- Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline (DPBS, Thermo Fischer; USA; 1419094)
- Phosphate Buffered Saline (PBS, Thermo Fischer; USA; 14200067)
- Fetal sığır serumu (FBS; Thermo Fischer, USA; 10270106)
- Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Thermo Fischer; USA; 31885023)
- %0,25 tripsin-EDTA solusyonu (Thermo Fischer, USA; 25200056)
- Penicillin/streptomycin (Thermo Fischer, USA; 15140122)
- Tip I kollajenaz (Thermo Fischer, USA; 17100017)
- Tripan Mavisi Solüsyonu %0.4 (Sigma-Aldrich T8154, St. Louis, MO, USA)
- Dimetilsülfoksit (DMSO, Santa Cruz, USA; 358801)
- Osteogenesis Differentiation Kit (StemPro, Thermo Fischer, USA; A1007201)
- Adipogenesis Differentiation Kit (StemPro, Thermo Fischer, USA; A1007001)
- Chondrogenesis Differentiation Kit (StemPro, ThermoFischer, USA; A1007101)
- Annexin V Human Apoptosis Detection Kit (BD Pharmingen, USA, 550474)
- 7-Amino-Actinomycin D (7-AAD, BD Pharmingen, USA; 559925)
- Bağlama Tamponu (Binding Buffer, eBioscience, USA; 118056000)
- Hücre yıkama solüsyonu (Cell Wash, BD Biosciences, USA; 349524)
- CD45 PE (BD Biosciences, United States; 344563)
- CD90 PE (BD Biosciences, United States; 562385)
- CD73 PE (BD Biosciences, United States; 550257)
- CD105 PE (BD Biosciences, United States; 560839)
- CD28 PE (BD Biosciences, United States; 562323)
- CD14 PE (BD Biosciences, United States; 342408)
- CD29 APC (BD Biosciences, United States; 559883)
- Oil Red O (Sigma-Aldrich, USA; O0625-100G)
- Alizarin Red (Sigma-Aldrich, USA; A5533-25G)
- Alcian Blue (Sigma-Aldrich, USA; A5268-10G)

3.1.2.2. Restoratif Malzemeler

- APA Cam Karbomer (GCP Dental, Ridderkerk, Netherlands)
- APA Esthetic Fill (GCP Dental, Ridderkerk, Netherlands)
- GC EQUIA FORTE (GC Corp. Japan)
- GC FUJI IX GP (GC Corp. Japan)

3.1.2.3. Sarf Malzemeler

- Steril pensler ve bistüri uçları
- Steril ekskavatör
- 15ml'lik steril falkon tüp
- 50 ml'lik steril falkon tüp
- 25 cm²'lik steril plastik hücre kültür flasks
- 75 cm²'lik steril plastik hücre kültür flasks
- 6 kuyucuklu steril hücre kültürü plakları
- 48 kuyucuklu steril hücre kültürü plakları
- Tip I kollajen kaplı lameller
- Cam Pastör pipeti
- Tek kullanımlık steril plastik Pastör pipeti
- 2 µl- 20 µl'lik otomatik pipet
- 20 µl-200 µl' lik otomatik pipet
- 100 µl - 1000 µl'lik otomatik pipet
- Şarjlı pipet pompası
- Steril petri kabı
- Hemositometre Lamı
- %70 alkol
- Steril pudrasız cerrahi eldiveni

3.1.2.4. Kullanılan Cihazlar

- Laminar Akım Hücre Kültür Kabini (Nuve, Ankara, Türkiye; LN 09/120)
- CO₂ İnkübatörü (Nuve, Ankara, Türkiye; EC 160)
- 37°C su banyosu (Nuve, Ankara, Türkiye; ST 402)
- Santrifüj (Nuve Ankara, Türkiye; NF 800/800R)
- Sıvı azot tankı (MVE Chart Industries, Minnesota, USA)

- Hassas Terazı (Shimadzu, Makati, Philippines)
- Invert Mikroskop (EVOS, AMG, Mill Creek, Washington)
- Invert Mikroskop (LEICA, DMi 1, Wetzlar, Germany)
- Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus, Hamburg, Germany; BH2-RFCA)
- Buzdolabı (+4°C) (Uğur, Aydın, Türkiye)
- Derin Dondurucu (-20 °C) (Beko, İstanbul, Türkiye)
- Mikropipet Seti (Thermo Fischer, USA)
- Vorteks (Labart, Berlin, Germany)
- Akım Sitometri (Beckman Coulter, USA)
- Kapsül tabancası (GC Capsule Applier, GC, Tokyo, Japan)
- Kapsül karıştırıcı (Silamat S6, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein)
- LED ışık cihazı (Bluephase, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein)

3.2. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi

Deney grupları, pozitif (+) kontrol grubu (Complete DMEM), APA Esthetic Fill, APA Cam Karbomer, Fuji IX GP ve Equia Forte olmak üzere 5 grup olarak belirlendi. Belirlenen restoratif materyallerden her birinden 20 adet olacak şekilde steril teflon kalıplarda örnekler oluşturuldu. Bu örneklerden salınım sıvıları elde edilerek Tablo 3-3’ de gösterildiği gibi çalışma grupları belirlendi.

Tablo 3-3: Çalışma grupları

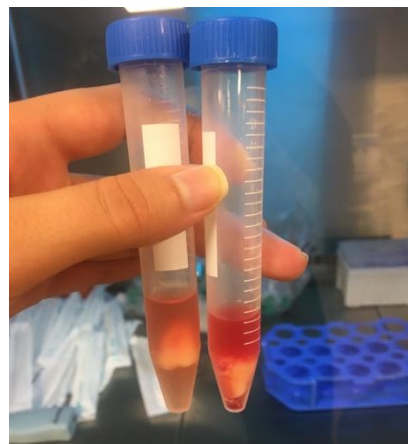
DENEY GRUPLARI				
	APA	APA	GC	GC
C-DMEM	CAM KARBOMER	ESTHETIC FILL	FUJI IX GP	EQUIA FORTE
	n=20	n=20	n=20	n=20

3.3. Yöntem

3.3.1. Hücre Kültürü, Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin İzolasyonu ve Karakterizasyonu

3.3.1.1. Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücre İzolasyonu ve Ekimi

Çalışma için gerekli olan dental pulpa doku numuneleri İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'na başvuran 18-25 yaş aralığında, sistemik hastalığı bulunmayan bireylerin ortodontik veya cerrahi olarak çekim endikasyonu konulmuş gömük üçüncü büyük azı dişlerinden elde edildi (Şekil 3-2). Çekim işlemleri etik ve asepsi koşullarına uygun olarak gerçekleştirildi. Gömük dişlerin çekiminden hemen sonra örnekler %10 Penisilin-Streptomisin (Thermo Fischer, USA) ve %10 PBS (Phosphate Buffer Salin) bulunan steril falkon tüpleri ile 4 saat içerisinde buz kalıpları arasında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı, Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'na ulaştırıldı (Şekil 3-2). Çekilmiş dişlerin yüzeyindeki gingival ve periodontal dokular laminar akım steril hücre kültür kabini (Nuve, Ankara, Türkiye; LN 09/120) içerisinde dental scaler yardımıyla kazınarak uzaklaştırıldı. Dişler steril gazlı bez arasında tutulup mengene ile kırılarak steril laminar hücre kültür kabini içerisinde steril pens ve ekskavatör yardımıyla pulpa dokuları çıkartıldı (Şekil 3-3, Şekil 3-4).



Şekil 3-2: Yirmi yaş diş çekimi ve elde edilen dişlerin steril falkon tüpü içindeki görüntüsü

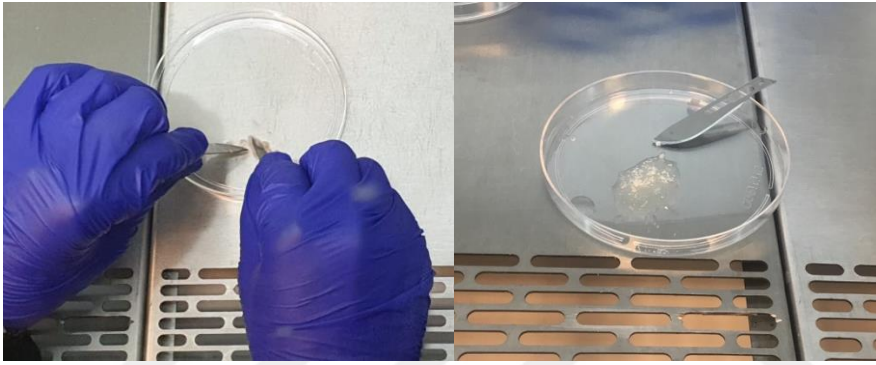


Şekil 3-3: Laminar akım hücre kültür kabini (Nuve, Ankara, Türkiye; LN 09/120)

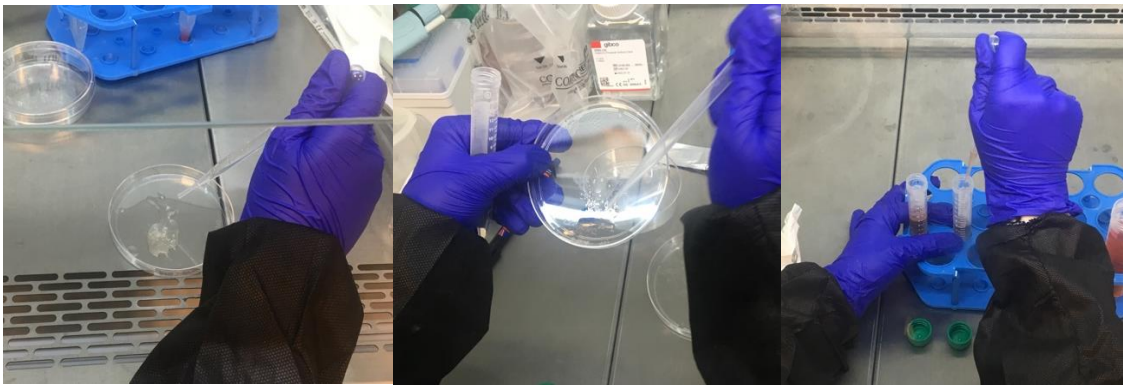
Çekilmiş dişlerden elde edilen pulpa dokuları laminar akım steril hücre kültür kabini içerisinde 22 numaralı bistüri yardımıyla mikromekanik ayrıştırma yöntemi ile 1mm^3 'lik parçalara ayrılarak homojenize edildi (Şekil 3-5). Mekanik ayrışma işlemi sonrasında 15 ml'lik steril tüp içerisine 1 ml DPBS ve 3 mg/ml kollajenaz tip 1 (Thermo Fischer, USA) ilave edilerek oluşturulmuş olan kollajenaz solusyonu, homojenize olan dokuların üzerine 2 ml olarak eklendi ve enzimatik olarak ayrışma işlemine geçildi (Şekil 3-6). Steril tüp içerisinde ayrılmış olan dokular 37°C sıcaklık, %5 CO_2 ve nemli ortamını sağlayan inkübatörde (Nuve EC 160 Ankara, Türkiye) 45 dk kadar bekletildi (Şekil 3-7). Lifli yapı oluşumunun gözlenmesiyle beraber tüpler inkübatörden çıkartılıp, hücre solüsyonundaki eşit dağılımı sağlayabilmek için pipetaj işlemine geçildi. Kollajenaz enzim aktivasyonunu durdurmak için DMEM ile yıkanan hücreler 1500 rpm (devir/dakika)'de 5 dk santrifüj (Nuve NF 800/800R Ankara, Türkiye) edildi (Şekil 3-8).



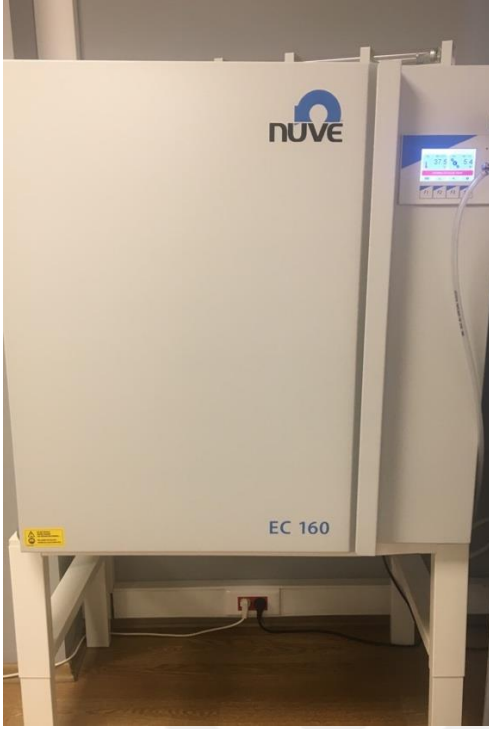
Şekil 3-4: Gömük yirmi yaş diş yüzeyindeki doku artıklarının temizlenmesi ve pulpa dokusunun elde edilmesi



Şekil 3-5: Pulpa dokusunun mikromekanik olarak parçalanması

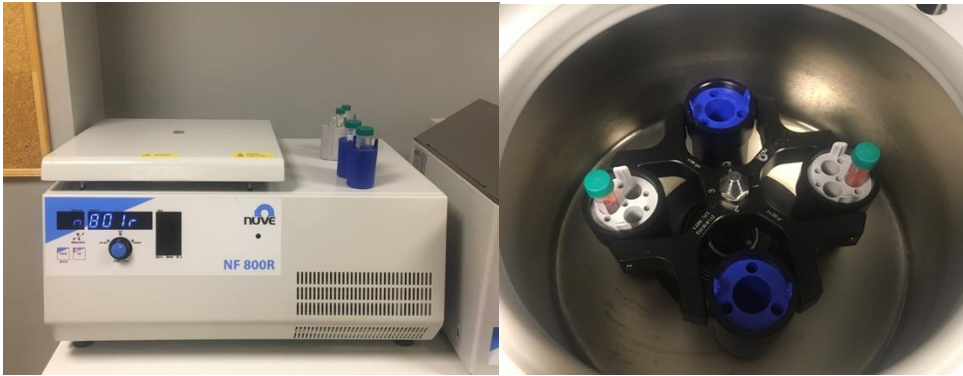


Şekil 3-6: Dokuların kollajenaz ile enzimatik parçalanma işlemi

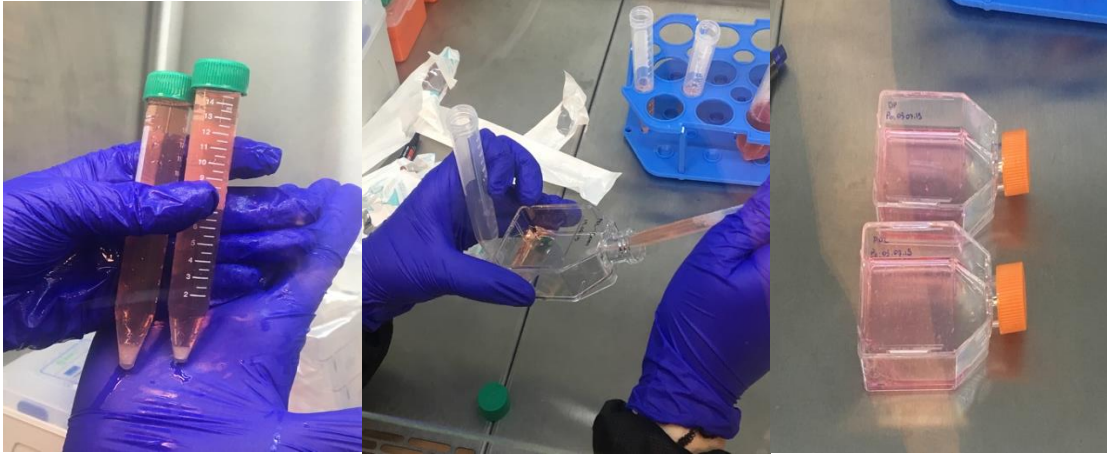


Şekil 3-7: İnkübatör (Nuve EC 160 Ankara, Türkiye)

Santrifüj işlemi sonrasında hücreler tüpün alt kısmında kalarak üst kısımdaki süpernatant uzaklaştırıldı. Hücreler, ekim işlemi için hücre kültür medyumunu ile beraber 25 cm²'lik hücre kültür flaskına alındı (Şekil 3-9). Hücre kültür medyumunu, hücrelerin tamamının üzerine kaplayacak şekilde uygulandı. Ekim işlemi sonrası hücre kültür flaskları hücrelerin yerlerinden kalkmasını önleyecek şekilde 37°C sıcaklık, %5 CO₂ ve nemli ortamdaki inkübatöre konuldu. Besiyerleri 2-3 günde bir değiştirilip taze besiyeri eklenerek hücrelerin çoğalmaları ve yayılmaları invert mikroskop (EVOS-AMG) altında düzenli aralıklarla takip edildi (Şekil 3-10).



Şekil 3-8: Santrifüj cihazı (Nuve NF 800/800R Ankara, Türkiye)



Şekil 3-9: Santrifüj işlemi sonrası hücrelerin DMEM ile yıkanması ve ekimi



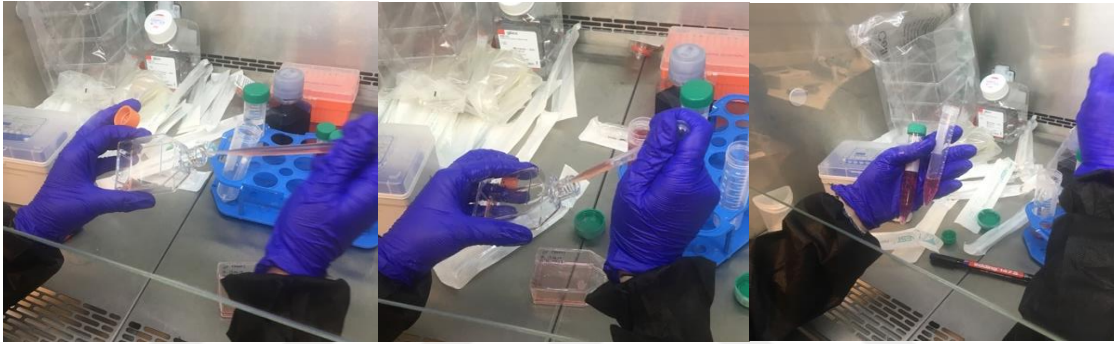
Şekil 3-10: İnvert mikroskop (EVOS-AMG)

3.3.1.2. İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Pasajlanması

T-25 cm²'lik flasklar içerisinde inkübatörde bekletilen hücreler uygun yoğunluğa ulaşip konfluent özellik kazandığında, tripsinizasyon yöntemi kullanılarak hem morfolojilerini korumak hem de canlılıklarını yitirmemeleri amacıyla pasajlama işlemine geçildi. Yaklaşık 10-14 gün sonrasında flask üzerinde %70 oranında yoğunluk göstermeye başlayan hücrelerin birinci pasajlama işlemi gerçekleştirildi. Birinci kültür işlemi sıfırcı pasaj (P0) olarak kabul edilerek, birinci kültür işlemi takip eden her kültür işlemi sonrası pasaj sayıları P1, P2, P3 şeklinde belirlendi.

Laminar akışlı steril kabin içerisinde gerçekleştirilen pasajlama işleminde; hücre medyumunu steril pipetlerle uzaklaştırılarak, flask üzerine yapışan hücreler 5 ml DPBS solüsyonu ile yıkandı. Yıkama işlemi sonrasında DPBS solüsyonu uzaklaştırılarak, flask yüzeyindeki hücrelerin yapıştıkları alandan ayrılmasını sağlamak amacıyla 500 µl Tripsin-EDTA solüsyonu (Thermo Fischer, USA) hücreler üzerine eklenerek 37°C

inkübatörde 4 dakika bekletildi. Hücrelerin yapıştıkları flask yüzeyinden ayrılıp ayrılmadıkları mikroskop yardımıyla kontrol edildikten sonra, flask içerisine tripsinin inaktivasyonunu sağlamak amacıyla 5 ml hücre kültür medyumuna eklendi. Flask içerisindeki sıvı ve hücreler santrifüj işlemi için 15 ml'lik steril plastik santrifüj tüpüne transfer edildi. Santrifüj işlemi 1500 rpm'de 5 dk süre ile gerçekleştirildikten sonra tüplerin üzerinde kalan supernatan uzaklaştırıldı ve alt kısımda kalan hücreler, besiyeri ile yıkanıp tekrar santrifüj edildi. Bu işlem sonrası üstteki supernatan tekrar uzaklaştırılarak alt kısımda kalan pelete 1 ml besiyeri eklendi. Homojenizasyon sağlayabilmek için pipetaj işlemi yapıldıktan sonra hücre sayımına geçildi (Şekil 3-11).



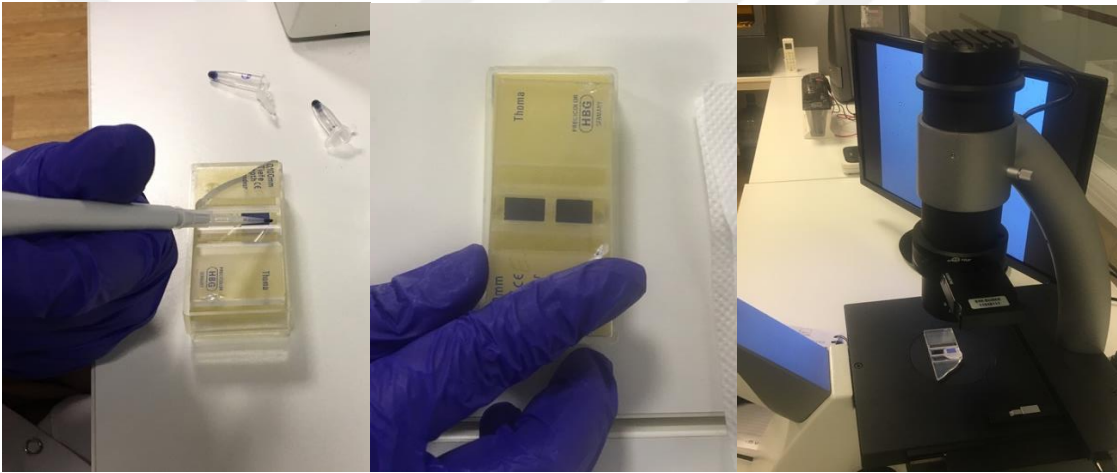
Şekil 3-11: Hücrelerin pasajlanma işlemi

3.3.1.3. İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Sayımı

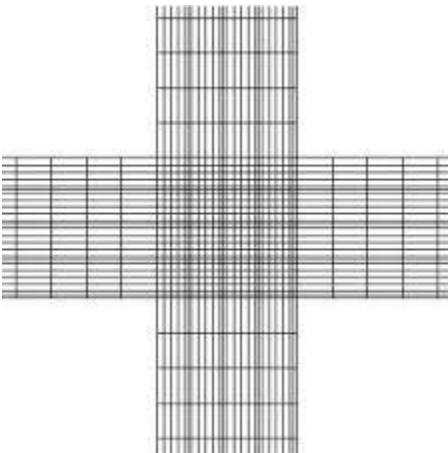
Dental pulpadan izolasyonu sağlanan kök hücreler için pasajlama işlemleri sırasında, dondurma işlemleri sonrasında ve karakterizasyon işlemleri sonrasında hücre sayımı gerçekleştirildi. Hücre sayımı için; homojenize edilen hücrelerden eppendorf tüpüne aktarılan 10 µl hücre süspansiyonu üzerine, mikropipet yardımıyla 10 µl %0,4 tripan mavisi solüsyonu (Sigma Aldric, USA) eklendi (Şekil 3-12). Hücre sayımı için hemositometre kullanıldı. Düz bir zemin üzerine konulan hemositometrenin sayım yapılacak olan çerçevesinin üzeri lamel ile kapatıldı. Tripan mavisi solüsyonu eklenerek eppendorf tüpünde hazırlanmış olan süspansiyondan 10 µl mikropipet yardımıyla alınarak lam ile lamelin birleştiği alandan dikkatli bir şekilde pipetlendi. Hücrelerin ışık mikroskobu altında 40x büyütme ile sayımı gerçekleştirildi (Şekil 3-13).



Şekil 3-12: Hücre sayımına hazırlık aşaması



Şekil 3-13: Hücrelerin sayım işlemi



Şekil 3-14: Hemositometrede canlı hücre sayımı

Hücre sayımı için; $Hs \times Do \times Ss$ formülü kullanıldı.

Hs: Mikroskop altında sayılan hücre sayısı,

Do: Seyreltme oranı,

Ss: Standart sonuç elde etmek için kullanılan sabit sayı (10.000)'dir.

Bu formül sonrasında elde edilen toplam sayı, 1 ml'de ne kadar sayıda hücre olduğunu gösterdi (Şekil 3-14). Hücre sayım işlemi tamamlandıktan sonra uygun oranda hücre kültür süspansiyonu 10 ml hücre kültür medyumuna ile sulandırılıp homojenize edildi ve T-75 cm²'lik flasklara ekim işlemi sonrası flasklar inkübatöre yerleştirildi. Bu şekilde dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin 1. pasajlama işlemi gerçekleştirildi. Her iki günde bir hücre kültür medyumunu değiştirilerek, mikroskop altında hücrelerin konfluent olup olmadığı takip edildi. Hücre kültür işlemleri hücreler 3. pasaja gelene kadar tekrarlandı. Canlılık deneyleri için 3. pasajdaki hücreler kullanıldı.

3.3.1.4. İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Karakterizasyonu

İzole edilip konfluent hale gelen dental pulpa mezenkimal kök hücrelerinin osteojenik, kondrojenik ve adipojenik farklılaşma kapasiteleri belirlendi. Aynı zamanda akım sitometri cihazı ile dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin immünofenotip özelliklerini değerlendirebilmek için hücre marker ekspresyonları incelendi.

- **İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi**

İzole edilen dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin farklılaşma kapasitelerini belirlemek için 3. pasaja getirilen hücreler 6 kuyucuklu plaklara her birinde 5×10^4 hücre bulunacak şekilde tip I kollajen kaplı lamellere ekildi. İnkübatörde bekletilen hücrelerin belirli aralıklarda besi yerleri değiştirilerek konfluent özellik kazanmaları sağlandı. 3. günün sonunda konfluent özellik kazanan hücrelerin üzerine 2 ml farklılaşma besi yerleri (Osteogenesis Differentiation Kit, StemPro, Thermo Fischer, USA, A1007201, Adipogenesis Differentiation Kit, StemPro, Thermo Fischer, USA, A1007001, Chondrogenesis Differentiation Kit, StemPro, Thermo Fischer, USA, A1007101) ilave edildi. Farklılaşma besi yerleri 3 günde bir yenilendi. 21 gün sonunda farklılaşmaları tespit edebilmek için boyama işlemine geçildi. Bunun için farklılaşma besiyerleri aspire edilerek, 2 ml DPBS 1 dk süreyle bekletildikten sonra uzaklaştırılıp 2 ml formalin eklendi.

45 dakika fiksasyon amacıyla karanlık ortamda bekletilen formalin uzaklaştırılarak hücreler distile su ile yıkandı.

Osteojenik farklılaşma tespiti için 2 ml ALR (Alizarin Red, Sigma Aldrich, USA; A5533-25G) hücreler üzerine uygulanarak 45 dakika karanlık, oda sıcaklığında bir ortamda inkübe edildi. Daha sonra ALR boya aspire edilip uzaklaştırılarak, hücreler distile su ile 2 kez yıkandı. Tip 1 kollajen lameller lam üzerine yerleştirilerek hücre dışı kalsifikasyonlar mikroskopik olarak değerlendirildi.

Kondrojenik farklılaşma tespiti için 3 ml Alcian Blue (Alcian Blue Sigma Aldrich, USA; A5268-10G) hücreler üzerine uygulanarak 45 dakika boyunca karanlık, oda sıcaklığında bir ortamda inkübe edildi. Daha sonra Alcian Blue boya aspire edilip uzaklaştırılarak 1,2 ml etil alkol ve 800 µl asetik asit hücreler üzerine eklendi. 15 dakika beklenildikten sonra sıvılar uzaklaştırılarak hücreler 2 kez DPBS ile yıkandı. Tip 1 kollajen lameller lam üzerine yerleştirilerek proteoglikanların varlığı mikroskopik olarak incelendi.

Adipojenik farklılaşma tespiti için 2 ml %60'lık izopropanol hücreler üzerine eklenerek 5 dakika süre ile bekletildi, sonrasında 2 ml 'Oil Red O' (Sigma-Aldrich, USA; O0625-100G) hücreler üzerine uygulanarak 45 dakika boyunca karanlık, oda sıcaklığında bir ortamda inkübe edildi. Oil Red O boya aspire edilip uzaklaştırılarak hücreler distile su ile 2 kez yıkandı. 1 dakika süre ile hücreler hematoksilene maruz bırakıldıktan sonra 2 kez tekrar distile su ile yıkandı. Tip 1 kollajen lameller lam üzerine yerleştirilerek yağ damlacıklarının varlığı mikroskopik olarak incelendi.

- **İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Akım Sitometri ile Hücre Marker Ekspresyonunun Saptanması**

Akım sitometri cihazı ile izole edilen dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin immünofenotip özelliklerini değerlendirebilmek için hücre marker ekspresyonları tespit edildi. Hücreler sayılıp ortalama 5×10^6 kadar hücre homojenize edildikten sonra polistiren tüplere transfer edildi. Belirlenen hücre yüzey işaretleyicilerine özel fluorezan izotiyosiyonat (FITC), fikoeritrin (PE), allophycocyanin (APC), konjuge monoklonal antikorlar; CD73 PE, CD90 PE, CD105 PE, CD29 APC, CD45 FITC, CD28 PE, CD14 PE ve izotip kontrollerinden (Mouse IgG1, κ) 10 µl eklenerek 15 dakika boyunca oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda inkübe edildi. İşlem sonrası 2 ml DPBS ilave edilerek

1500 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi. Tüpün üst kısmındaki medyum aspire edildikten sonra 500 µl hücre yıkama solüsyonu ilave edilerek yeni bir süspansiyon hazırlandı. Bu sıvı akım sitometri cihazında (Beckman Coulter, USA) değerlendirilerek hücre marker ekspresyonları belirlendi.

3.3.1.5. İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Dondurularak Saklanması

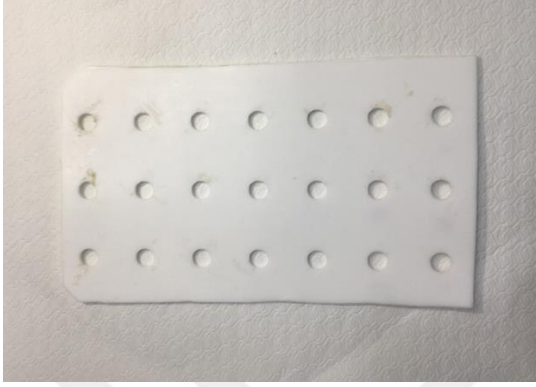
İnsan dental pulpasından izole edilen mezenkimal kök hücreler, karakterizasyon işleminden sonra deneyler için kullanılmak üzere dondurularak saklandı. Dondurma işlemi için özel besiyeri hazırlanarak içerisine %5 oranında dimetilsülfoksit (DMSO) (Santa Cruz, USA) eklendi. Dimetilsülfoksit, hazırlanan özel besiyeri ile birlikte 15 ml’lik konik vida kapaklı tüp içerisine yavaş yavaş ve damlalar halinde eklendi. Dimetilsülfoksit dondurma işlemi sırasında oluşabilecek termal şok etkisi, solüsyon etkisi gibi olumsuzlukları önlemek için kullanıldı. Karakterizasyonu yapılan ve 3. pasaja gelen dental pulpa mezenkimal kök hücreler hazırlanan dondurma ortamına eklendi ve pipetle homojenize edildikten sonra -196°C’de sıvı azot tankına (MVE Chart Industries, Minnesota, USA) alınarak saklandı (Şekil 3-15). Deneyler için kullanılacağı gün 37°C’deki su banyosunda çözülme işlemi yapıldı ve 37°C’de %5 CO₂’li ortamın oluşturulduğu inkübatöre konuldu.



Şekil 3-15: İzolasyonu sağlanan dental pulpa kök hücrelerin dondurulma işlemi

3.3.2. Materyallerin hazırlanması

4 farklı restoratif materyal, her bir materyalden 20 adet olacak şekilde, 8 mm iç çapında ve 2 mm derinliğinde Şekil 3-16’da gösterildiği gibi steril teflon kalıplarda üretici firmanın talimatlarına uygun olarak aseptik koşullarda hazırlandı (Tablo 3-4).



Şekil 3-16: Steril teflon kalıp

Tablo 3-4: Materyallerin uygulama prosedürleri

Materyal	Uygulama	Sertleşme Zamanı
APA Cam Karbomer	Kapsül 10-15 sn süre ile karıştırılır ve özel tabancası ile uygulanır	60 sn led ışık cihazı ile
APA Esthetic Fill	Kapsül 10 sn süre ile karıştırılır ve özel tabancası ile uygulanır	60 sn led ışık cihazı ile
EQUIA Forte	Kapsül 10 sn süre ile karıştırılır ve özel tabancası ile uygulanır	20 sn led ışık cihazı ile
Fuji IX GP	1 ölçek toz ve 1 damla likit karıştırma pedinin üzerinde el ile karıştırılır	Oda sıcaklığında 3dk

APA Cam Karbomer (GCP Dental, Ridderkerk, Netherlands) materyalinin aktivasyonu öncesinde tozu gevşetmek için kapsülün yan tarafı sert bir şekilde yüzeye vuruldu. Aktivasyon için piston, kapsülün ucuna doğru itildi. Kapsül, kapsül tabancasına yerleştirilerek ayarlamak için bir defa tıklatıldı. Kapsül, karıştırıcıya yerleştirilerek 10-15 sn süreyle yüksek frekanslı karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Karışım işlemi sonrası püskürtücü başlıktan pimi çıkartılarak tabancaya yerleştirildi ve kol iki defa çekilerek hazırlanan materyal teflon kalıplara uygulandı. Led ışık cihazı (Bluephase, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein) yardımıyla 60 sn süreyle polimerizasyon sağlandı (Şekil 3-17).



Şekil 3-17: APA Cam Karbomer materyali

APA Esthetic Fill (GCP Dental, Ridderkerk, Netherlands) materyalinin aktivasyonu öncesinde tozu gevşetmek için kapsülün yan tarafı sert bir şekilde yüzeye vuruldu. Aktivasyon için piston, kapsülün ucuna doğru itildi. Kapsül, kapsül tabancasına yerleştirilerek ayarlamak için bir defa tıklatıldı. Kapsül, karıştırıcıya yerleştirilerek 10 sn süreyle yüksek frekanslı karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Karışım işlemi sonrası püskürtücü başlıktan pimi çıkartılarak tabancaya yerleştirildi ve kol iki defa çekilerek hazırlanan materyal teflon kalıplara uygulandı. Led ışık cihazı (Bluephase, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein) yardımıyla 60 sn süreyle polimerizasyon sağlandı (Şekil 3-18).



Şekil 3-18: APA Esthetic Fill materyali

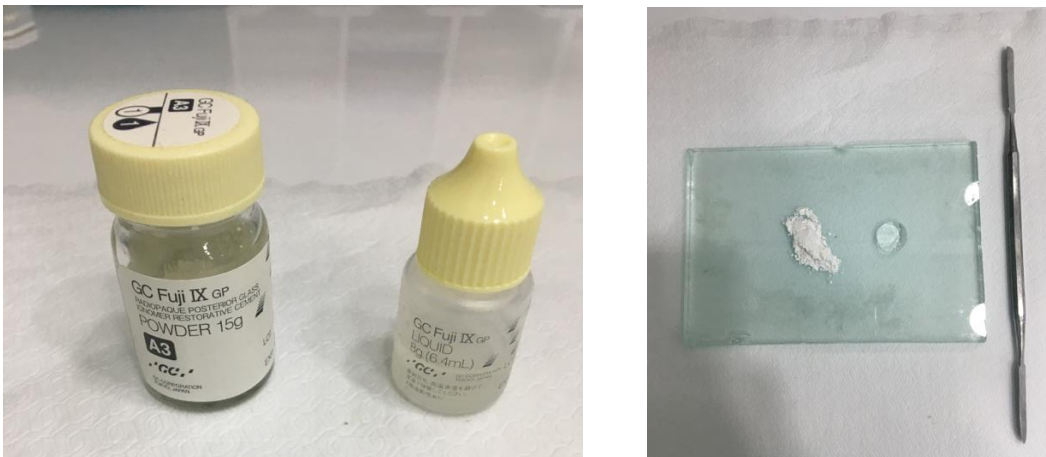
EQUIA Forte (GC Corp. Japan) materyali, toza akışkanlık kazandırmak için sert bir şekilde yüzeye vuruldu. Kapsülü kullanıma hazır duruma getirmek için alt kısmı kapsül gövdesine kadar itildi ve kapsül tabancasına yerleştirilip kola bir defa basılarak

kapsül kullanıma hazır hale getirildi. Kapsül karıştırıcıya yerleştirilerek yüksek hızda (4000 rpm) 10 sn süreyle karıştırıldı. Karışım işlemi sonrasında kapsül tabancaya yerleştirilip kola iki defa basılarak materyal teflon kalıplara uygulandı. Led ışık cihazı (Bluephase, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein) yardımıyla 20 sn süreyle polimerizasyon sağlandı (Şekil 3-19).



Şekil 3-19: GC EQUIA Forte materyali

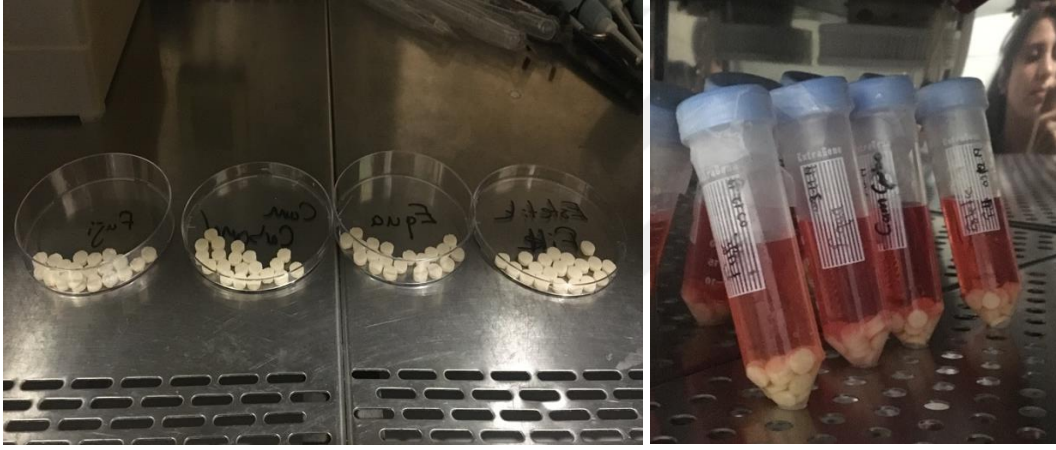
Fuji IX GP (GC Corp. Japan) materyali için, 1 ölçek toz ve 1 damla likit karıştırma pedinin üzerine konuldu. Siman spatülü kullanılarak toz iki eşit parçaya ayrıldı. İlk porsiyon 10 sn süreyle tüm likit ile karıştırıldı. Arta kalan porsiyon eklenerek 15-20 sn süreyle tümüyle karıştırılarak teflon kalıplara uygulandı (Şekil 3-20).



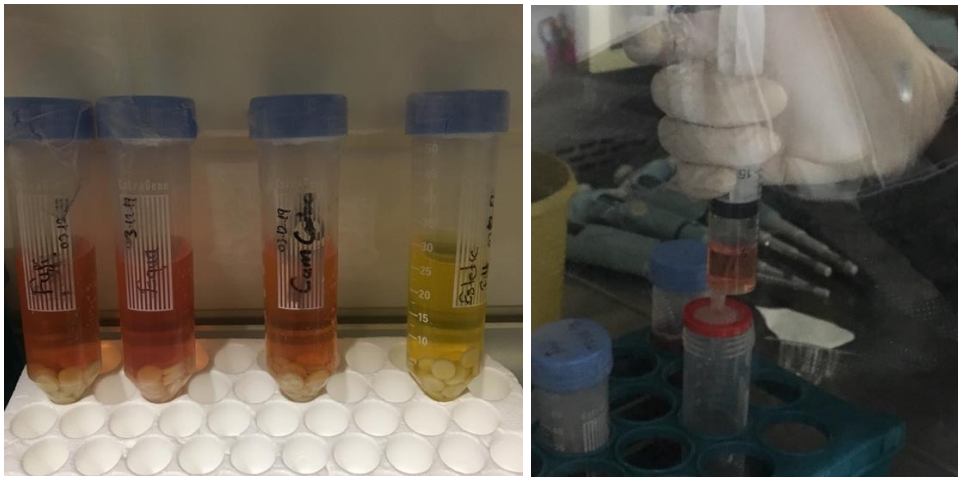
Şekil 3-20: GC Fuji IX GP materyali

3.3.3. Materyallerin Salınım Sıvılarının Elde Edilmesi

Örneklerin, sertleşme reaksiyonlarının ISO standartlarına uygun olarak tamamlanabilmesi için 1 gün süreyle beklenildi. Örnekler tartılarak gerekli olan besiyeri tespit edildi. Daha sonra petri kaplarına konulan örnekler bakteri, mantar kontaminasyonunu engellemek amacıyla 1 saat süreyle UV şartları altında tutuldu. Steril 50'lik falkon tüplerine konulan örneklerin üzerine gerekli olan besi yeri eklenerek 72 saat süreyle 37°C sıcaklık, %5 CO₂ ortamında inkübe edildi (Şekil 3-21). Bu işlem sonrasında sıvılar, 0,22 µm'lik mikrobiyolojik filtreden geçirilerek partüküllerden arındırıldı ve materyallerin salınım sıvıları elde edildi (Şekil 3-22). Dört farklı restoratif materyalden elde edilen salınım sıvıları -20°C'de saklandı.



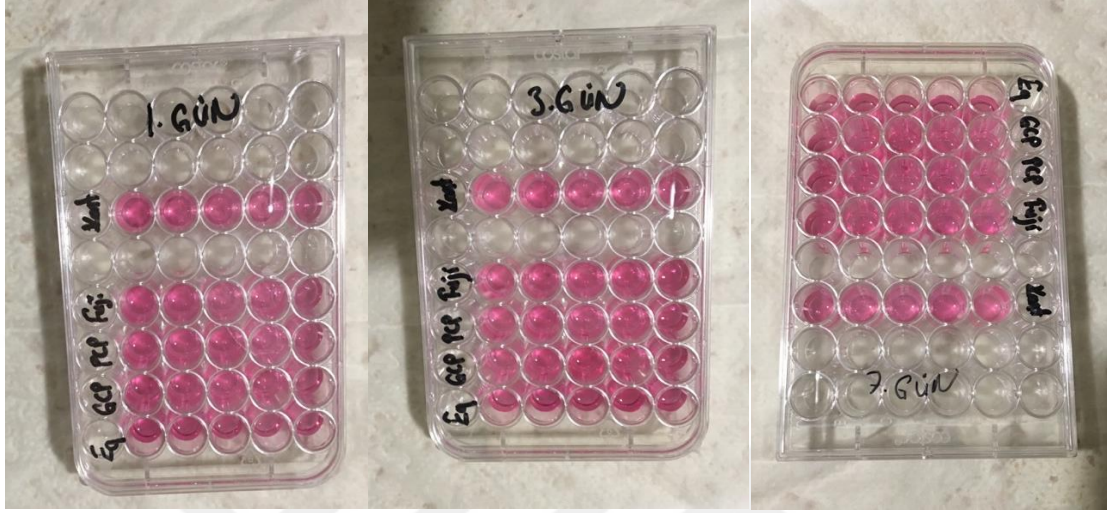
Şekil 3-21: Örneklerin UV altında 1 saat süreyle bekletilmesi ve 72 saat süreyle inkübe edilmesi



Şekil 3-22: Örneklerin 72 saat sonraki hali ve sıvıların 0,22 µm'lik filtreden geçirilmesi

3.3.4. Dental Pulpa Kök Hücrelerin 48 Kuyucuklu Plaklara Ekilmesi

Hücre sayımı yapıp 3. pasaja getirilen hücreler 48 kuyucuklu plaklara her birinde 5×10^5 hücre bulunacak şekilde her grup için ayrı ayrı olmak üzere ekim yapıldı. Ekim işlemi sonrası üzerlerine besiyeri eklenerek inkübatöre konuldu (Şekil 3-23).



Şekil 3-23: Dental pulpa kök hücrelerinin 48 kuyucuklu plaklara ekilmesi

3.3.5. Dental Pulpa Kök Hücrelerin Elde Edilen Salınım Sıvılarına Maruz Bırakılması

Dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin ekim işlemi yapıldıktan 1 gün sonra Annexin V deneyi için kuyucuklardaki besiyerleri uzaklaştırıldı. Dört farklı restoratif materyalin salınım sıvısı ve pozitif kontrol grubunu oluşturan CDMEM her bir kuyucukta 0,5 ml olacak şekilde hücrelerle temas ettirildi. Gün içerisinde besiyerleri değiştirilerek 1. 3. ve 7. gün sonundaki kuyucuklardaki hücre canlılıkları değerlendirildi (Şekil 3-24).



Şekil 3-24: Dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin salınım sıvılarına maruz bırakılması

3.3.6. Akım Sitometri Cihazı İle Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi

Bir pozitif kontrol grubu ve dört restoratif materyal grubu olmak üzere toplamda beş grubun bulunduğu kuyulardaki hücreler ve supernatant, 1000'lik pipetler yardımıyla 48'li kuyucuklardan flow tüplerine alındı ve 5 dk boyunca 1500 rpm'de santrifüj yapıldı. Üzerinde kalan süpernatant uzaklaştırılarak 1 ml hücre yıkama solüsyonu (Cell Wash BD Biosciences, USA; 349524) eklendi ve homojen bir karışım sağlanabilmesi için vortekslenerek (Labart, Berlin, Germany) 5 dk boyunca santrifüj yapıldı. Üzerinde kalan süpernatant tekrar uzaklaştırıldıktan sonra üretici firmanın talimatlarına göre hazırlanan 200 µl bağlama tamponu (Binding Buffer, eBioscience, USA) eklenerek vortekslendi. 5 µl Anneksin V (BD Pharmingen, USA; 550474) ve 5 µl 7-Aminoactinomycin D (7-AAD, BD Pharmingen, USA; 559925) ilave edilerek 15 dk süreyle karanlık ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 1 ml hücre yıkama solüsyonu eklenip vortekslenerek tekrar 1500 rpm de 5 dk boyunca santrifüj edildi. Restoratif materyallerin kök hücre üzerindeki canlı, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz hücre ölçümleri akım sitometri cihazı (Beckman Coulter, USA) ile yapıldı (Şekil 3-25). Analizler Kaluza 2.1 Analiz programı yardımıyla değerlendirilerek materyallerin birbirlerine ve kontrol grubuna göre olan sonuçları karşılaştırıldı. Tüm işlemler 1. 3. ve 7. gün için tekrarlandı. Canlılık ölçümleri her bir grup için 5 kez tekrarlanarak sonuçlar için ortalama değerler kullanıldı.



Şekil 3-25: Akım sitometri cihazı (Beckman Coulter, USA)

3.4. İstatistiksel Analiz

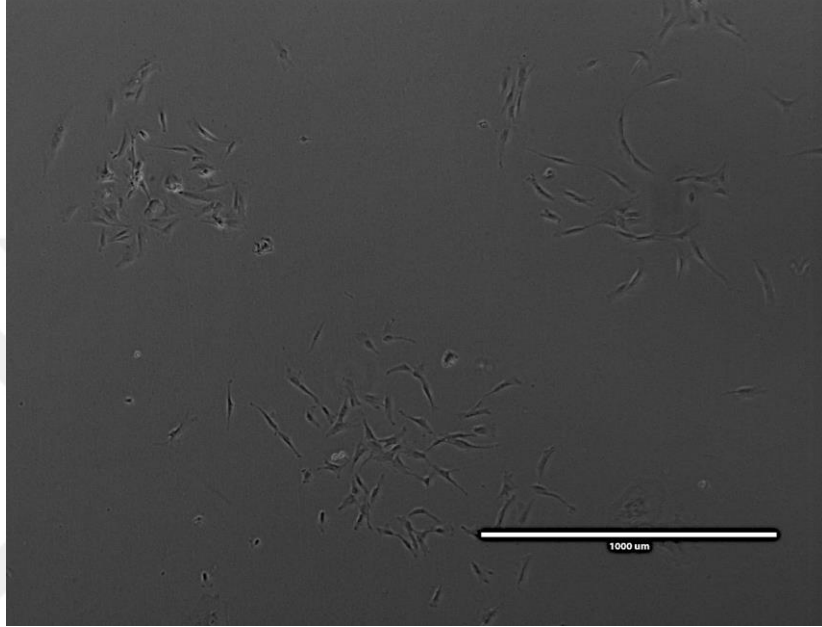
Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edildi. Normal dağılıma uygunluk Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Grup, zaman ana etkilerinin ve etkileşimlerinin parametreler üzerindeki etkisi genelleştirilmiş lineer model ile incelendi ve Wald ki-kare testi kullanıldı. Analiz sonuçları nicel veriler için ortalama $\pm$ s. sapma olarak sunuldu. Önem düzeyi $p < 0,05$ olarak alındı.



4. BULGULAR

4.1. BİRİNCİ AŞAMA: Gömük Yirmi Yaş Dişinden Elde Edilen Dokulardan Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin İzolasyonu ve Pasajlanması

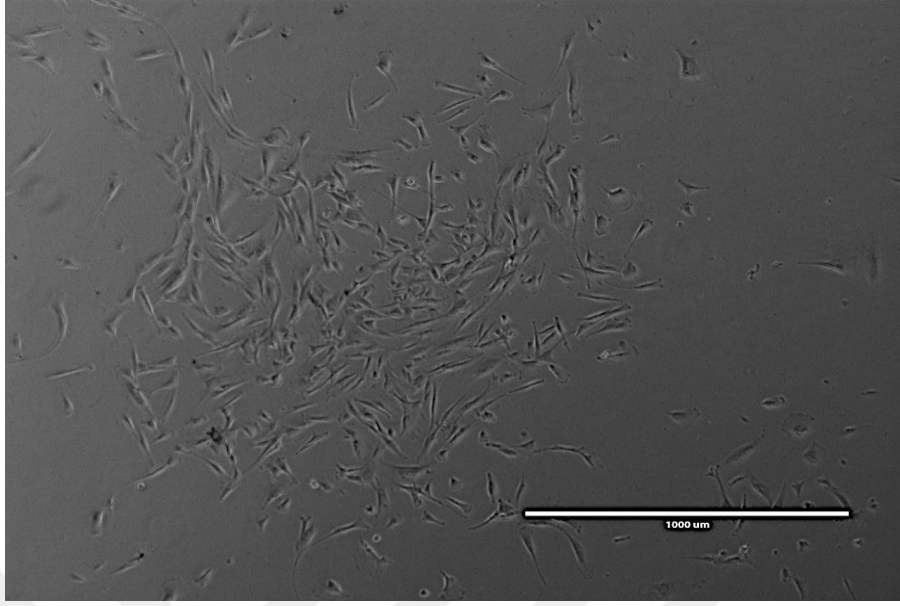
4.1.1. İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerinin Pasajlanması



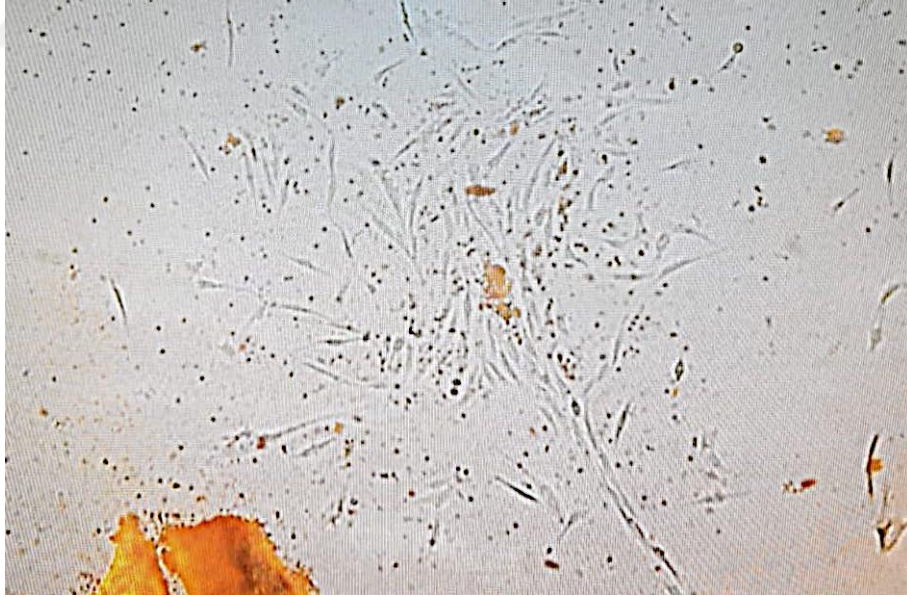
Şekil 4-1: P0 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X



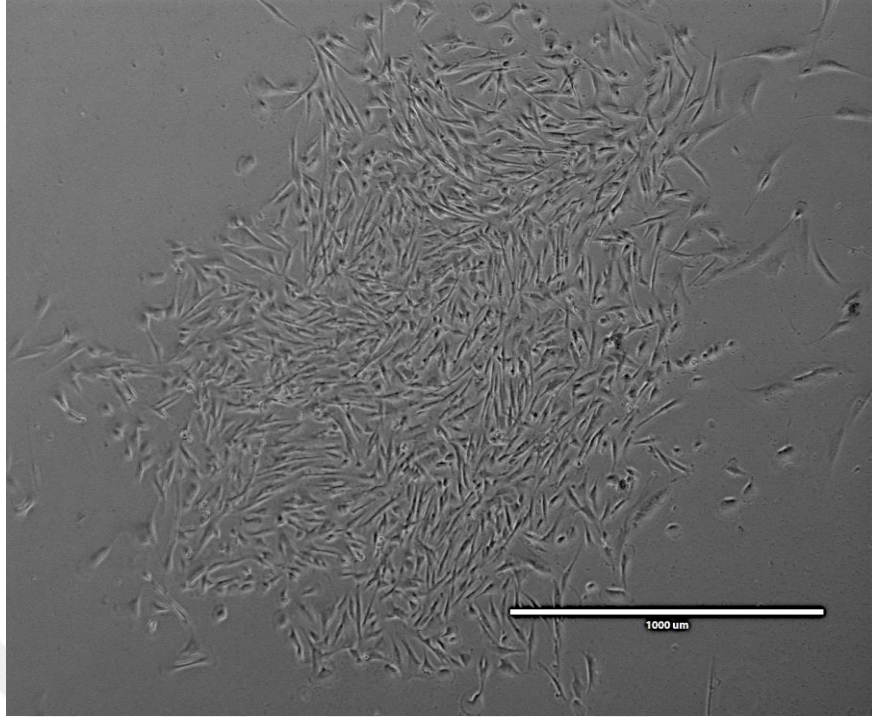
Şekil 4-2: P0 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (LEICA, DMi 1), 10X



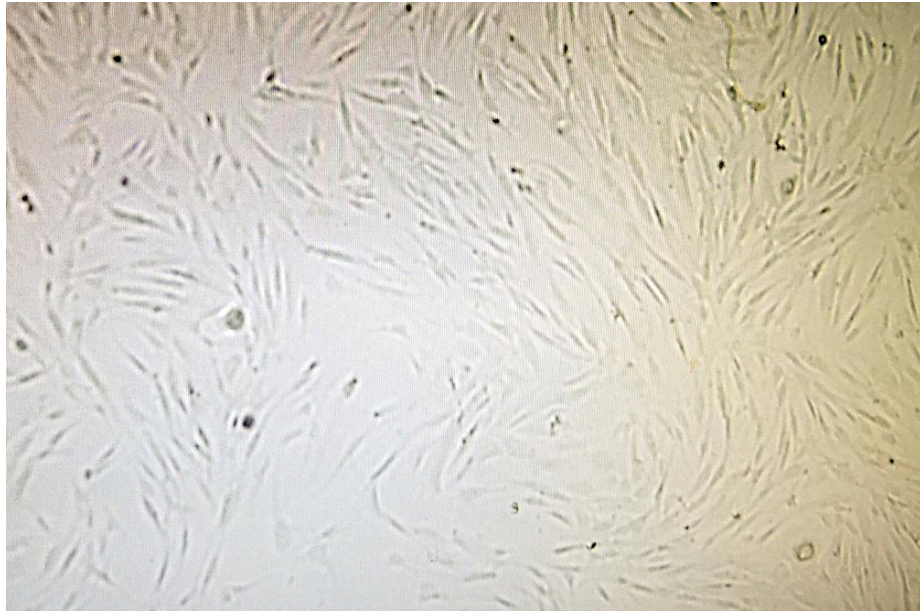
Şekil 4-3: P1 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X



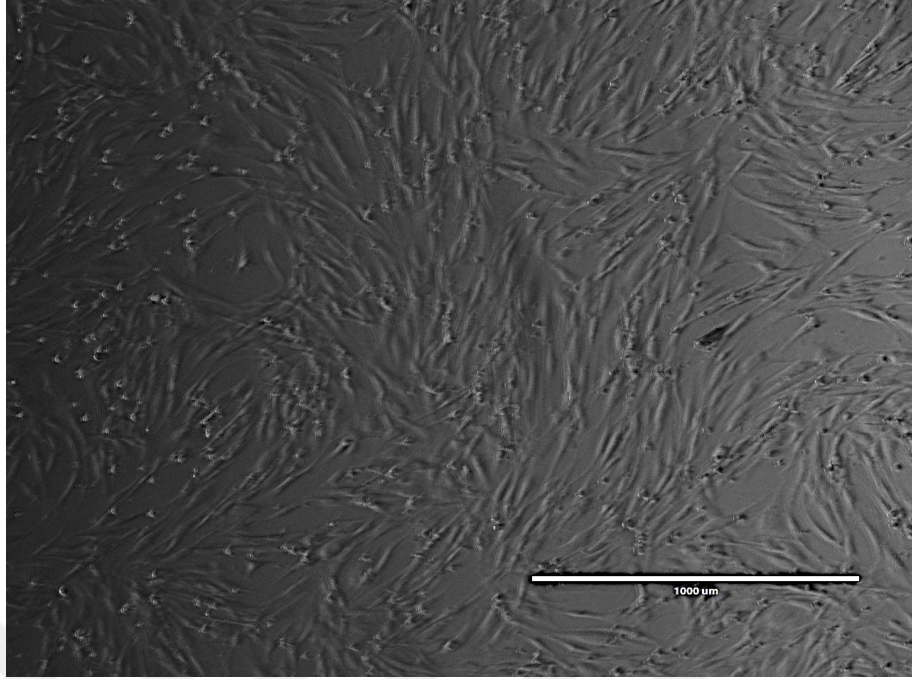
Şekil 4-4: P1 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (LEICA, DMi 1), 10X



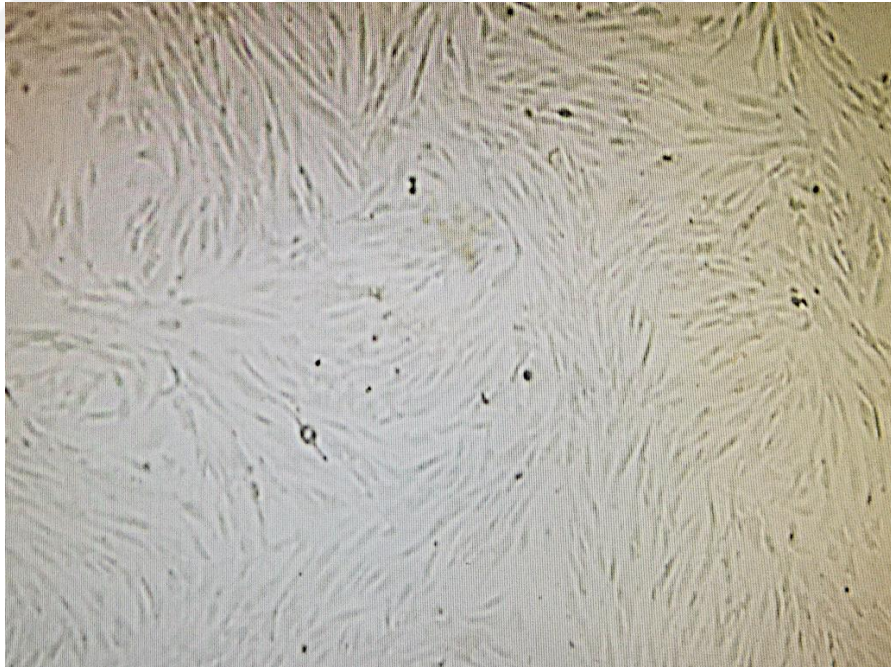
Şekil 4-5: P2 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X



Şekil 4-6: P2 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (LEICA, DMi 1), 10X



Şekil 4-7: P3 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (EVOS, AMG), 10X



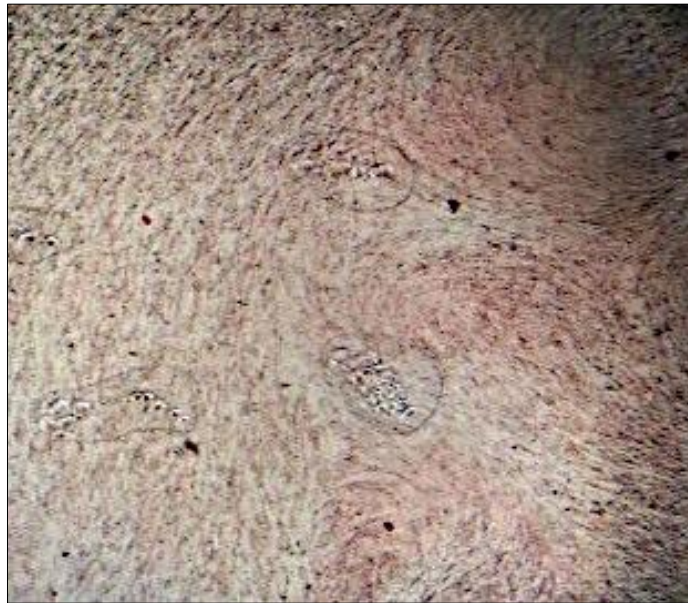
Şekil 4-8: P3 Dental pulpa kök hücrelerin invert mikroskop görüntüsü (LEICA, DMi 1), 10X

Tam gömük 20 yaş dişlerinden dental pulpa mezenkimal kök hücreler izole edildikten sonra ekim işlemi yapılarak hücrelerin çoğalmaları ve morfolojik özellikleri invert mikroskop altında incelendi. Dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin fibroblasta benzeyen iğsi bir morfolojiye ve belirgin hücre konturlarına sahip oldukları görüldü. 3. pasaja geldiklerinde plastisite yetenekleri sebebiyle flask yüzeyine tamamen yapıştıkları ve yüzeyi tamamen kaplayarak konfluent hale geldikleri gözlemlendi. Pasaj sayısı arttıkça hücrelerin birbirleriyle temas ettikleri görüldü (Şekil 4-1, 4-2, 4-3, 4-4, 4-5, 4-6, 4-7, 4-8).

4.2. İKİNCİ AŞAMA: İzole Edilen Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Osteojenik, Adipojenik ve Kondrojenik Farklılaşma Kapasitelerinin ve Hücre Marker Ekspresyonlarının Belirlenmesi

4.2.1. Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Osteojenik Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi

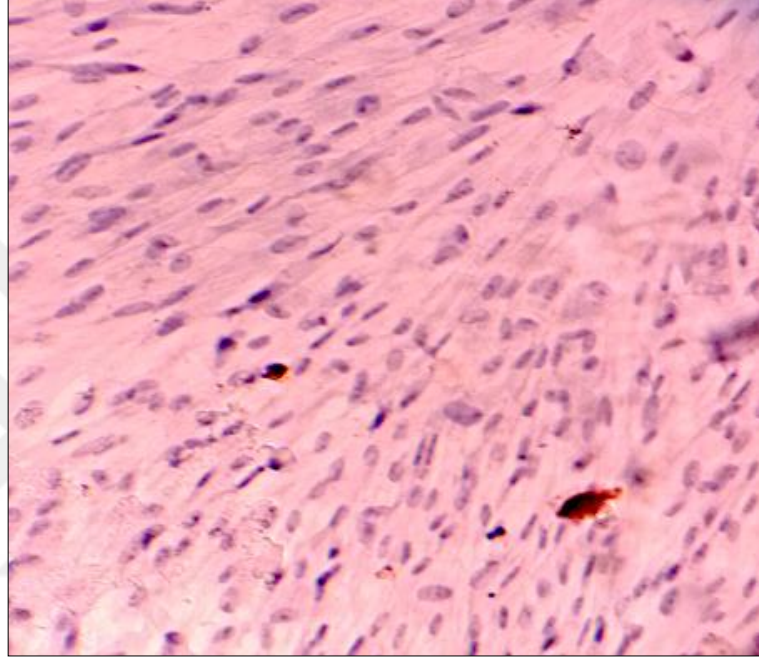
Osteojenik farklılaşma besiyeri eklenerek 21 gün sonunda ALR (alizerin red) ile boyanan dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile yapılan incelemesinde osteoblast benzeri hücrelere farklılaştıkları ve mineralize kemik nodüllerinin oluşumu gözlemlendiği görülmüştür (Şekil 4-9).



Şekil 4-9: Dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin osteojenik farklılaşma potansiyelinin ALR boyama ile saptanması, 10X

4.2.2. Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Adipojenik Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi

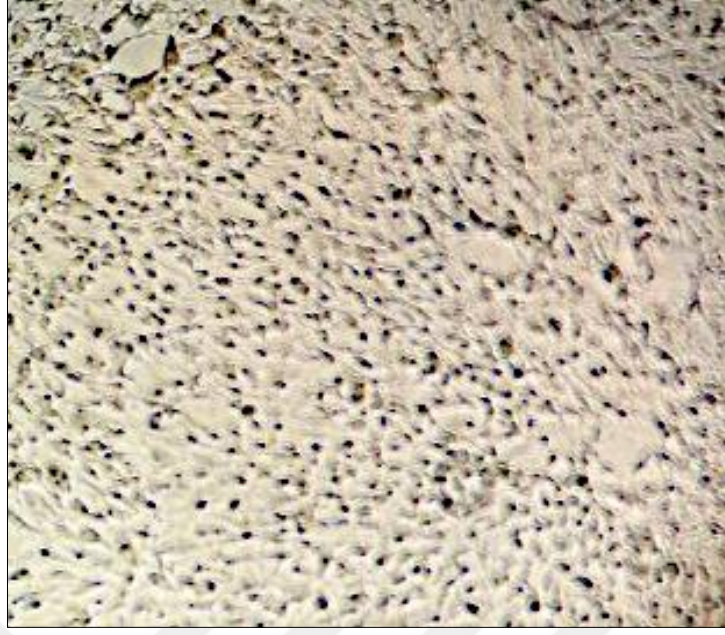
Adipojenik farklılaşma besiyeri eklenerek 14 gün sonunda Oil Red O ile boyanan dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile yapılan incelemesinde adiposit benzeri hücelere farklılaştıkları ve kırmızı renkte hücre içi yağ damlacıkları tespit edildi (Şekil 4-10).



Şekil 4-10: Dental pulpa kök hücrelerin adipojenik farklılaşma potansiyelinin Oil Red O boyama ile saptanması, 10X

4.2.3. Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Kondrojenik Farklılaşma Kapasitelerinin Belirlenmesi

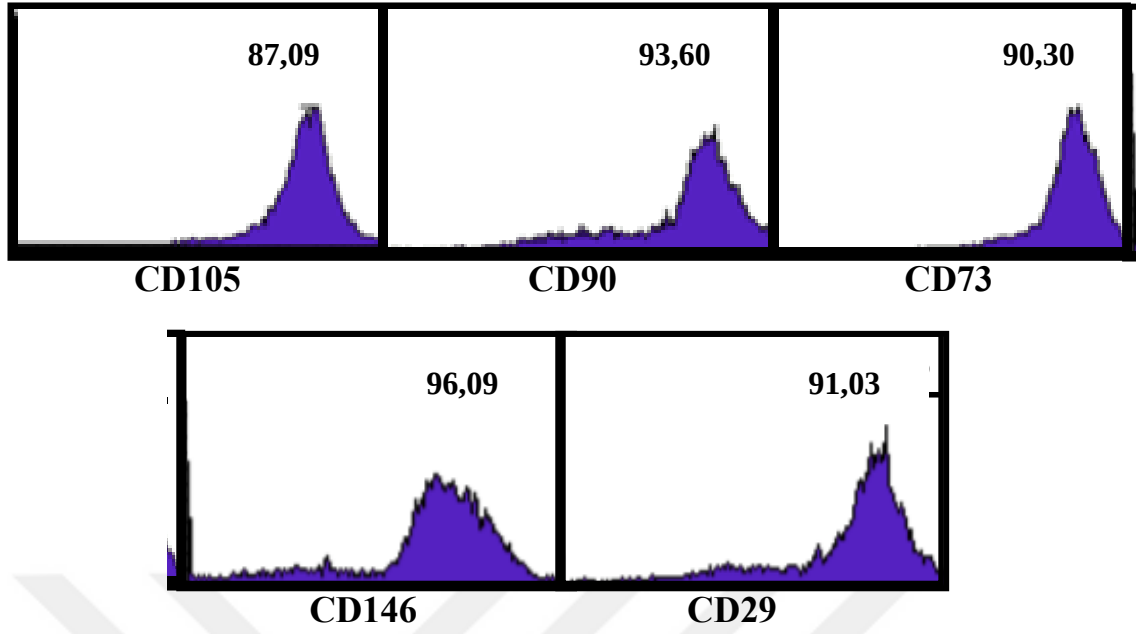
Kondrojenik farklılaşma besiyeri eklenerek 14 gün sonunda Alcian blue ile boyanan dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin Binoküler Araştırma Mikroskobu (Olympus BH2-RFCA) ile yapılan incelemesinde kondrojenik benzeri hücelere farklılaştıkları ve kondrositler tarafından üretilen mavi renkte boyanan proteoglikanlar tespit edildi (Şekil 4-11).



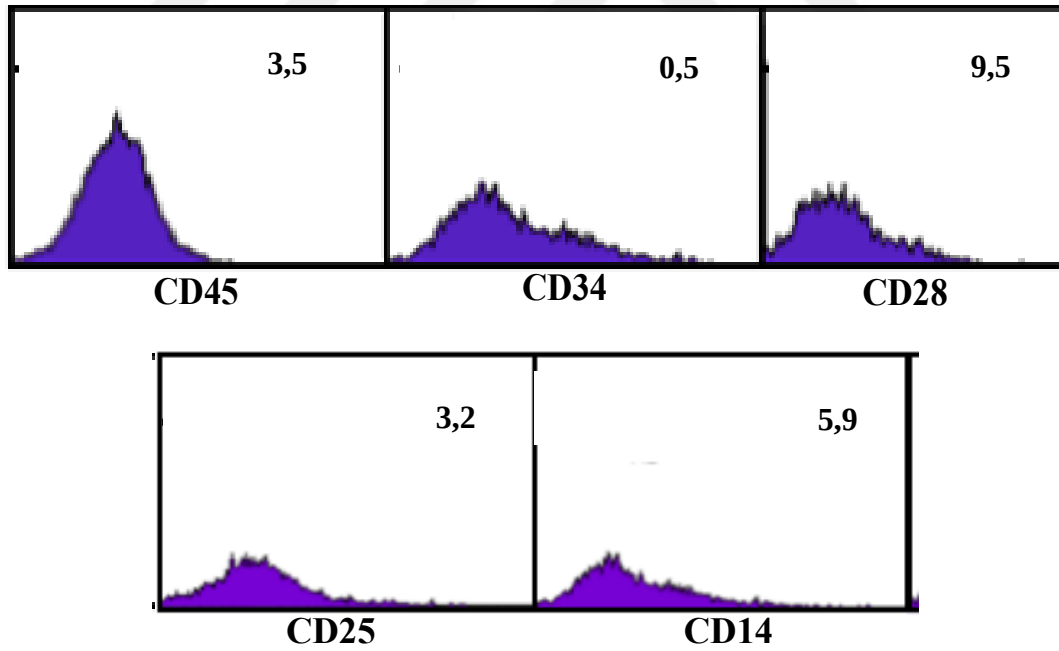
Şekil 4-11: Dental pulpa kök hücrelerin kondrojenik farklılaşma potansiyelinin Alcain Blue boyama ile saptanması, 10X

4.2.4. Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Marker Ekspresyonlarının Belirlenmesi

Dental pulpa dokusundan izole edilen hücreler 3. pasaja getirildikten sonra akım sitometri analizi ile hücre marker ekspresyonları belirlenmiştir. Bu hücrelerin analiz sonucunda hematopoetik kök hücre belirteci olan CD45, CD34, CD25, CD28 ve CD14 işaretlerini göstermedikleri, mezenkimal kök hücre belirteci olan CD73, CD90, CD105, CD146 ve CD29 işaretleri yüzeylerinde gösterdikleri görülmüştür (Şekil 4-12, Şekil 4-13).

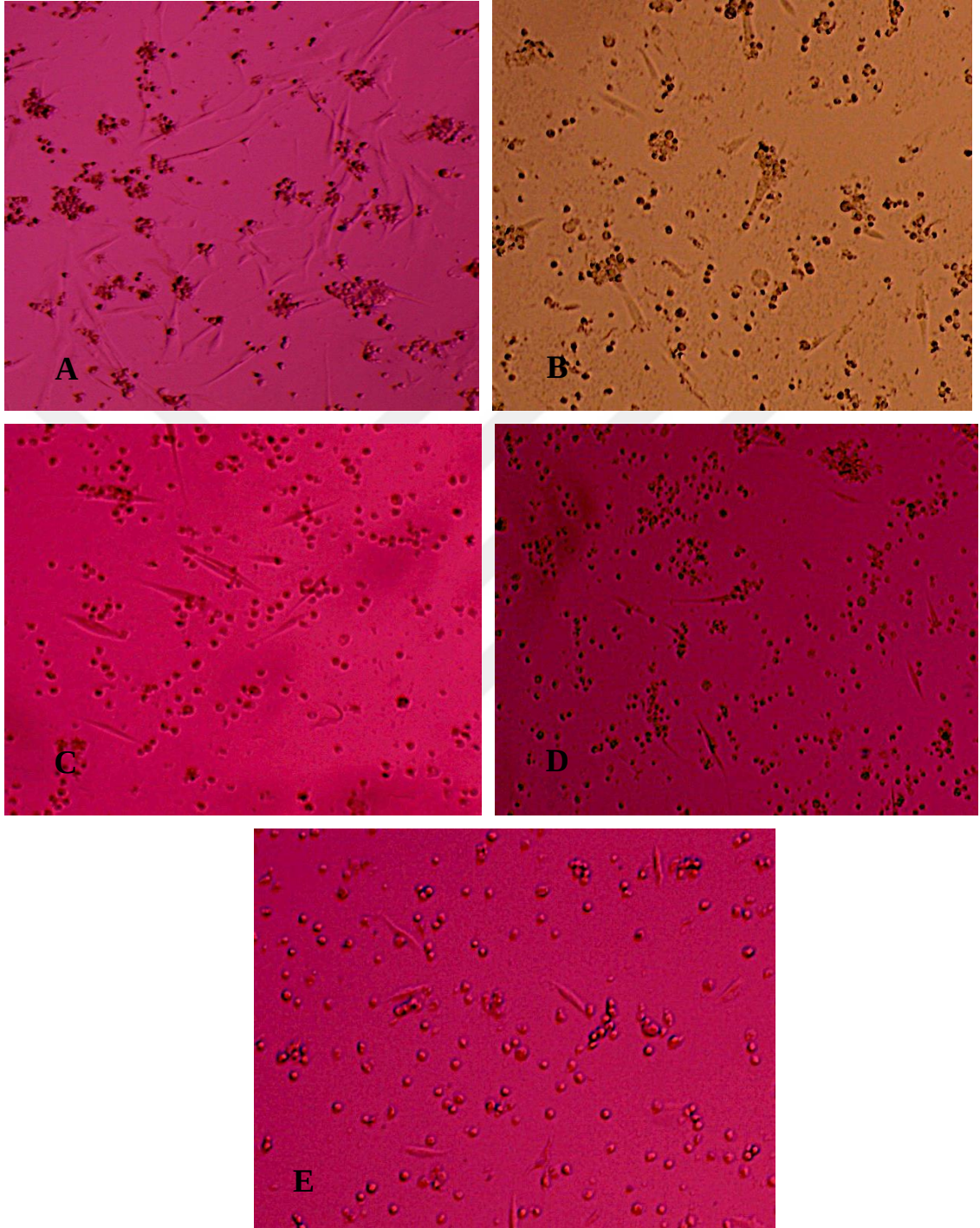


Şekil 4-12: Dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin akım sitometri analizi ile mezenkimal kök hücre markerlarının belirlenmesi



Şekil 4-13: Dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin akım sitometri analizi ile hematopoetik kök hücre markerlarının belirlenmesi

4.3. ÜÇÜNCÜ AŞAMA: Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Restoratif Materyallerden Elde Edilen Salınım Sıvılarına Maruz Bırakılması

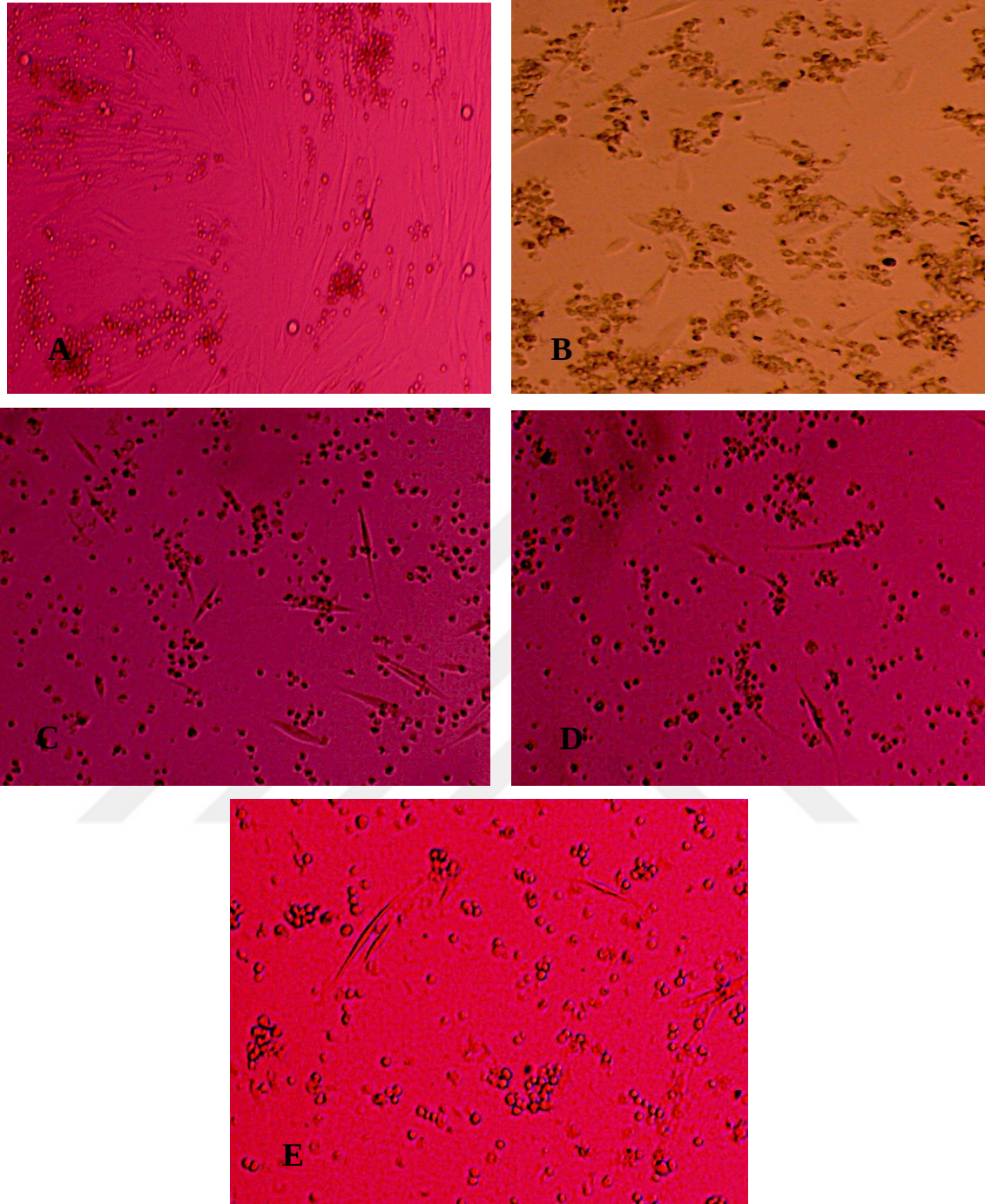


Şekil 4-14: 1. gün sonunda restoratif materyallerin hücreler üzerine olan etkisi (EVOS XL Core), 10X

- A) CDMEM B) APA Esthetic Fill C) APA Cam Karbomer D) GC EQUIA Forte
E) GC Fuji IX GP

1. gün sonundaki dental pulpa mezenkimal kök hücrelerinin kontrol grubuna ve restoratif materyallerin salınım sıvılarına maruz kalma görüntüleri Şekil 4-14'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ve APA Cam Karbomer materyal gruplarına maruz bırakılan hücrelerde; fibroblasta benzeyen iğsi şekilde, hücre kenar konturları belirgin ve parlak morfolojik özellikler gözlenmiştir (Şekil 4-14. A, C). APA Esthetic Fill, GC Equia Forte ve GC Fuji IX GP gruplarına maruz bırakılan hücrelerin ise yoğunlukları kontrol grubu ve APA Cam Karbomer'e göre daha az olduğu görülmüştür (Şekil 4-14. B, D, E).



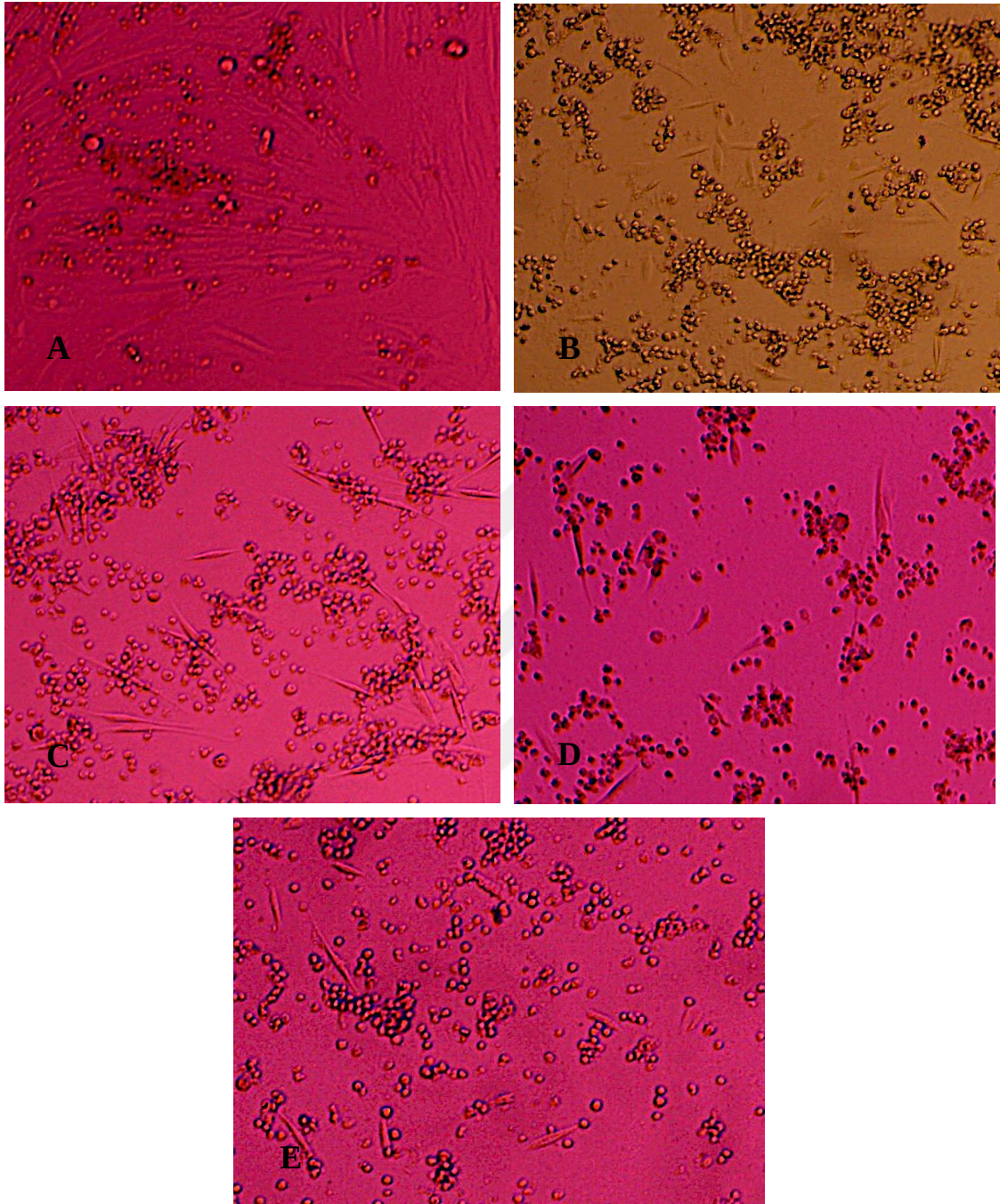


Şekil 4-15: 3. gün sonunda restoratif materyallerin hücreler üzerine olan etkisi (EVOS XL Core), 10X

**A) CDMEM B) APA Esthetic Fill C) APA Cam Karbomer D) GC EQUIA Forte
E) GC Fuji IX GP**

3. gün sonundaki dental pulpa mezenkimal kök hücrelerinin kontrol grubuna ve restoratif materyallerin salınım sıvılarına maruz kalma görüntüleri Şekil 4-15’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna maruz bırakılan hücrelerin yoğunluklarında artış gözlenirken, fibroblasta benzeyen içsi morfolojik özellikleri daha belirginleşmiş ve flask yüzeyine yapışkanlıkları artmıştır (Şekil 4-15. A). APA Esthetic Fill, APA Cam Karbomer, GC Equia Forte ve GC Fuji IX GP’nin hücresel yoğunlukları ise kontrol grubuna göre daha az olmakla beraber APA Esthetic Fill materyaline maruz kalan hücrelerin 3. gün sonunda daha yuvarlaklaşmış ve kısa uzantılara sahip oldukları gözlenmiştir (Şekil 4-15. B, C, D, E).





Şekil 4-16: 7. gün sonunda restoratif materyallerin hücreler üzerine olan etkisi (EVOS XL Core), 10X

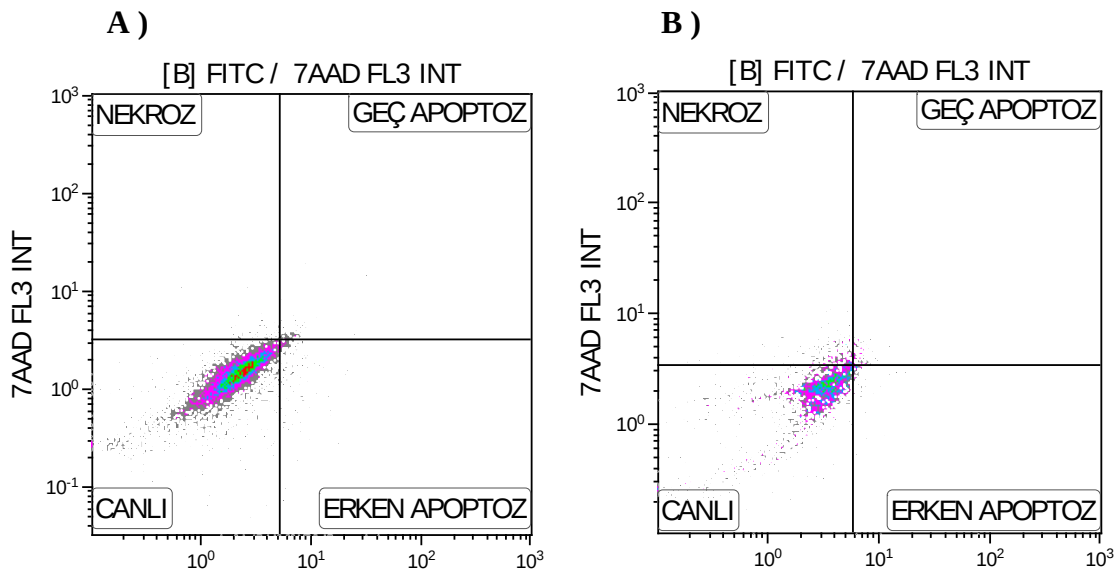
- A) CDMEM B) APA Esthetic Fill C) APA Cam Karbomer D) GC EQUIA Forte
E) GC Fuji IX GP**

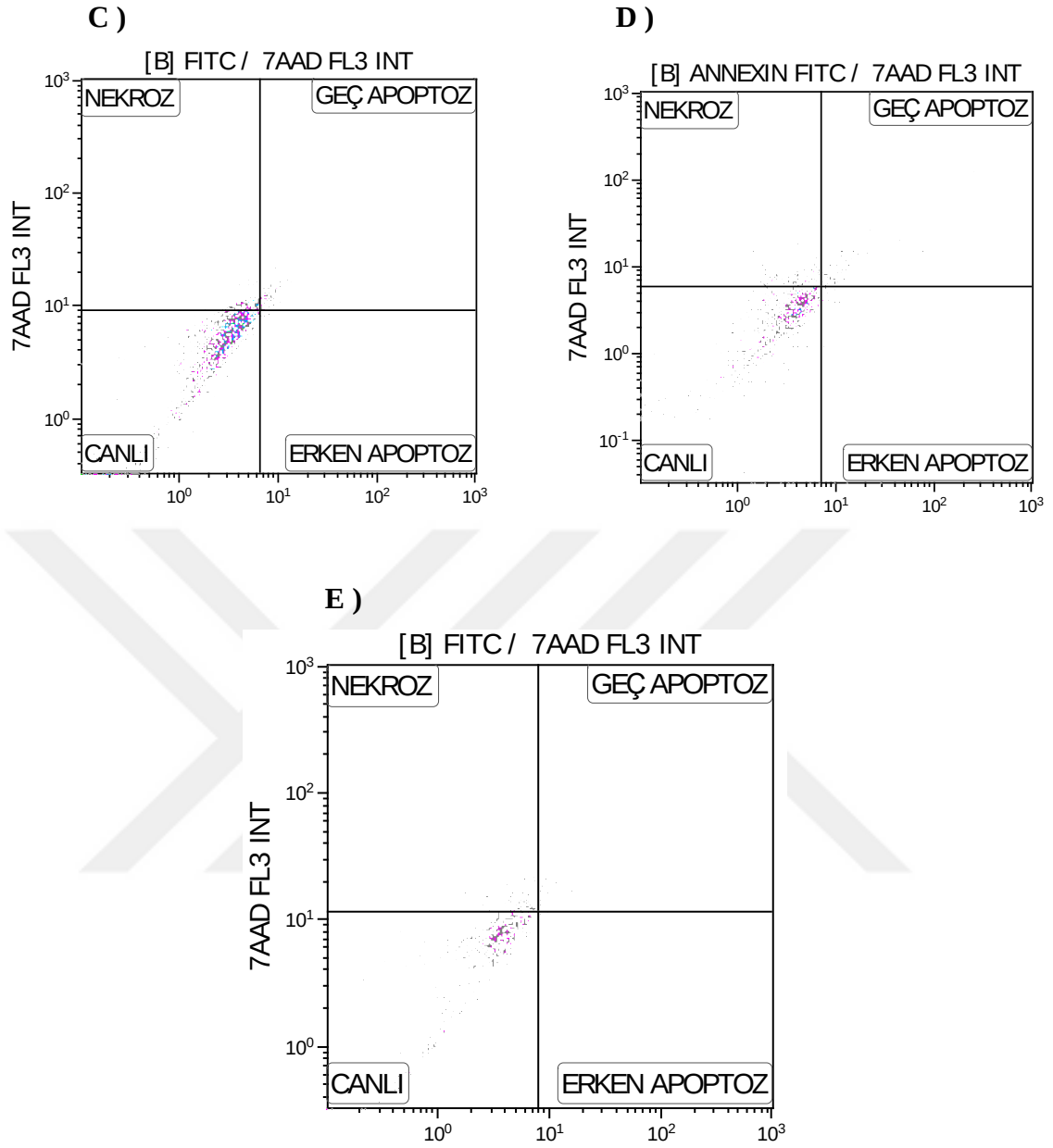
7. gün sonundaki dental pulpa mezenkimal kök hücrelerinin kontrol grubuna ve restoratif materyallerin salınım sıvılarına maruz kalma görüntüleri Şekil 4-16'de gösterilmiştir. Kontrol grubuna maruz bırakılan hücrelerin yoğunluğunda belirgin bir artış gözlenmekle beraber hücrelerin sıkışık, iğsi şekilde, flask yüzeyine tamamen yapışmış halde oldukları görülmüştür (Şekil 4-16. A). APA Cam Karbomer materyaline maruz bırakılan hücrelerin ise diğer restoratif materyal gruplarına maruz bırakılan hücrelere göre uzun, ince, mekik şeklinde oldukları, hücresel konturlarının belirginleştiği ve hücresel yoğunluklarının daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 4-16. C). APA Esthetic Fill, GC Equia Forte ve GC Fuji IX GP materyaller gruplarında ise hücresel yoğunluk az olmakla beraber ölü hücre artıklarının varlığı görülmüştür (Şekil 4-16. B, D, E).

4.4. DÖRDÜNCÜ AŞAMA: Restoratif Materyallerin Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Canlılığı Üzerine Etkilerinin 1. 3. ve 7. Gün Sonunda Değerlendirilmesi

4.4.1. Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücrelerin Akım Sitometri ile Analizine ait Bulgular

Kontrol grubu olan CDMEM ve restoratif materyal gruplarının 1.güne ait akım sitometri grafiği şekil 4-17'de, 3. güne ait akım sitometri grafiği şekil 4-18'de, 7. güne ait akım sitometri grafiği şekil 4-19'da verilmiştir. Akım sitometri grafiğinde canlı hücre grubunu alt-sol alan, erken apoptotik hücre grubunu alt-sağ alan, nekrotik hücre grubunu üst sol alan, geç apoptotik hücre grubunu üst sağ alan temsil etmektedir.



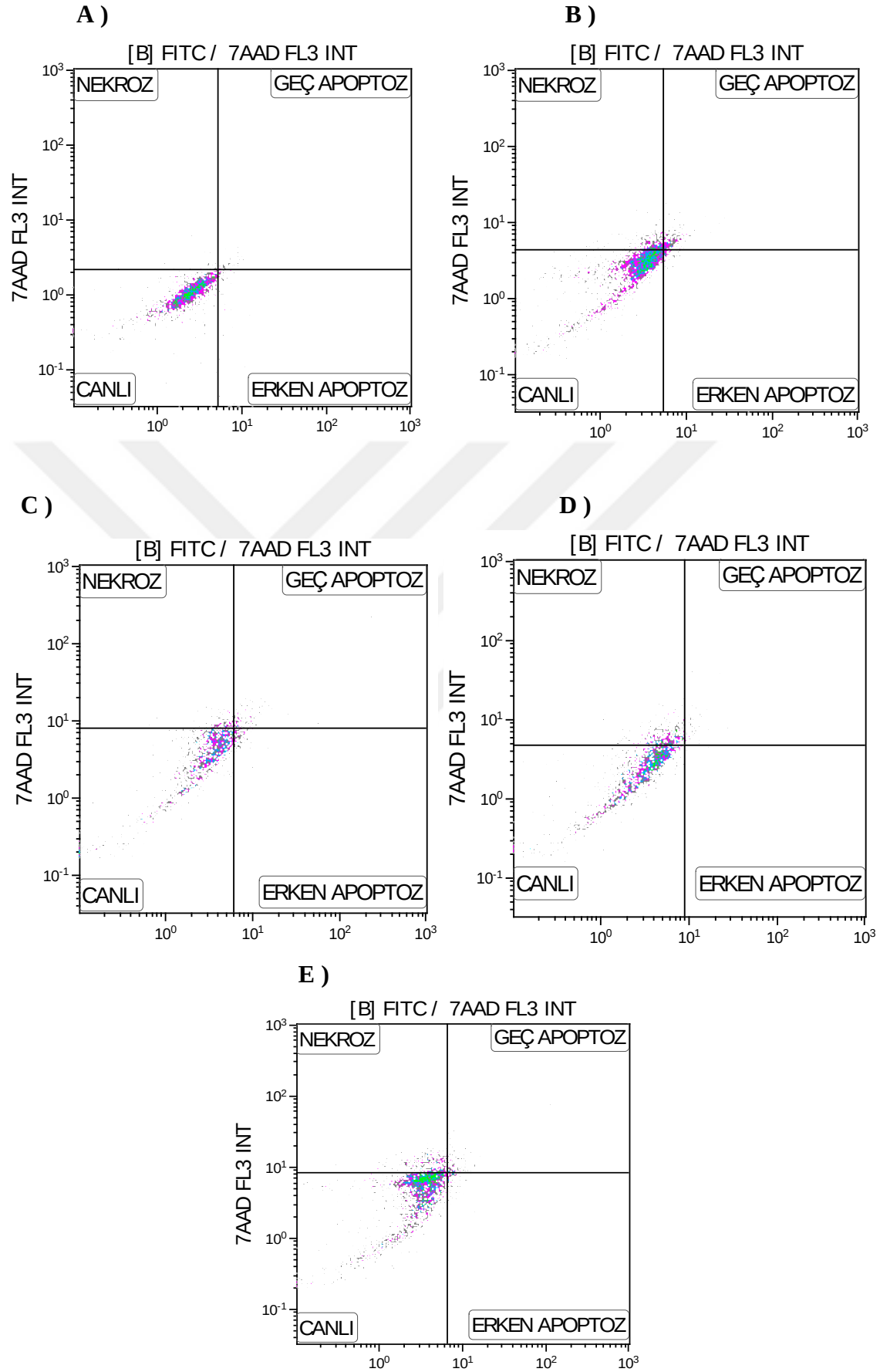


Şekil 4-17: Hücre kontrol grubu ve restoratif materyallerin 1. güne ait akım sitometri örneği

(x: Anneksin V FITC, y: 7AAD FL3 INT)

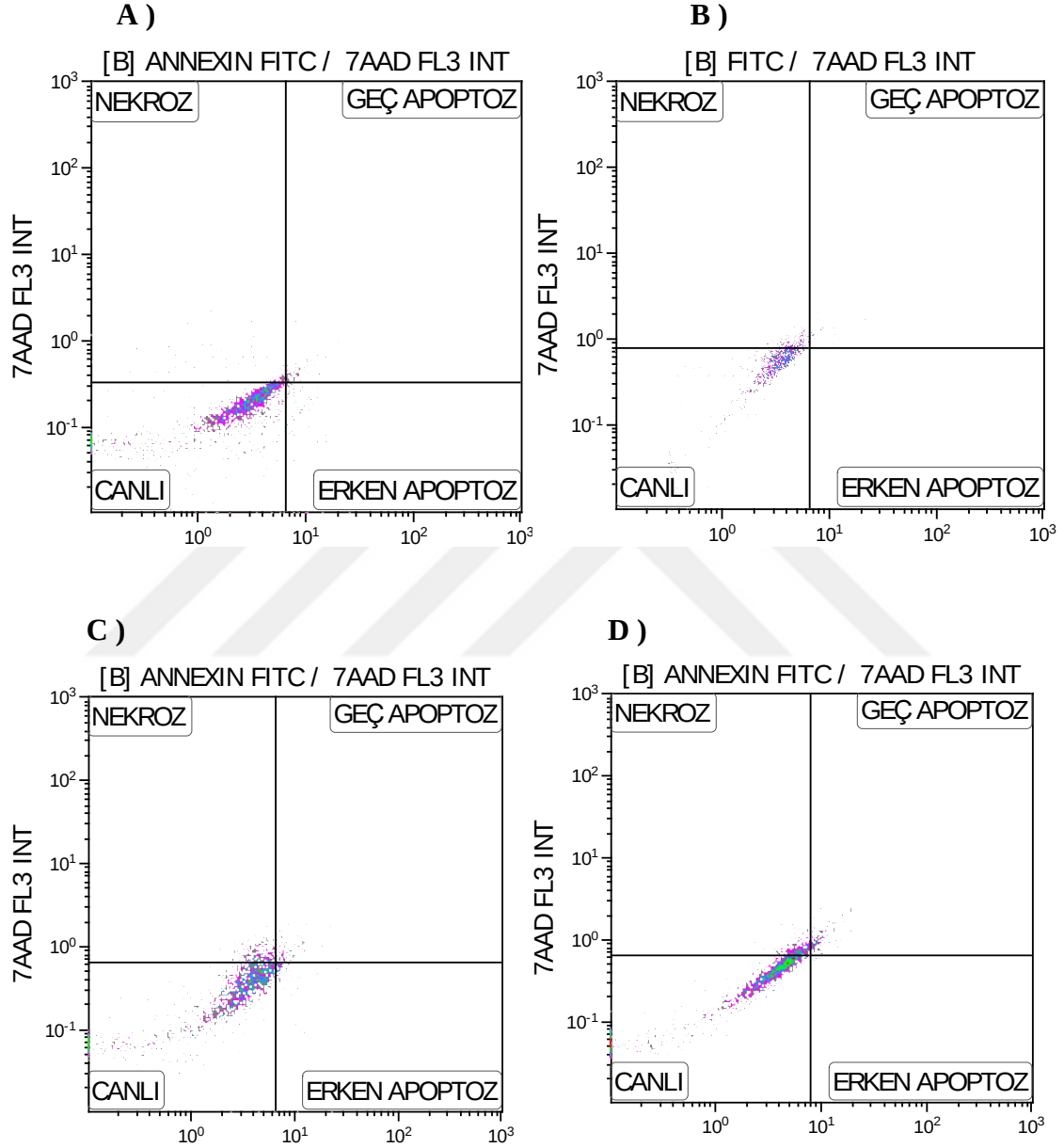
A) CDMEM, B) APA Esthetic Fill, C) APA Cam Karbomer D) GC EQUIA Forte

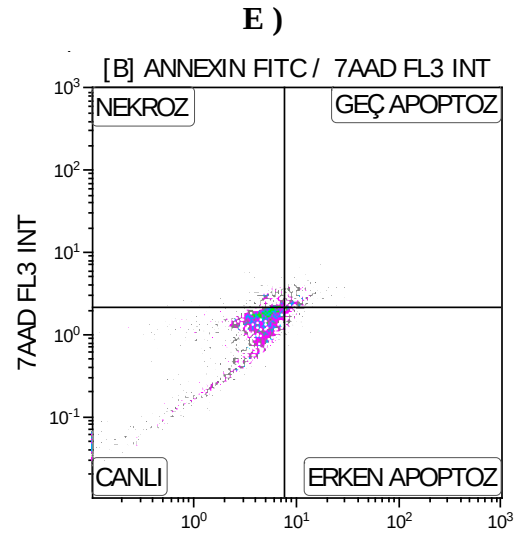
E) GC Fuji IX GP



Şekil 4-18: Hücre kontrol grubu ve restoratif materyallerin 3. güne ait akım sitometri örneği
(x: Anneksin V FITC, y: 7AAD FL3 INT)

A) CDMEM, B) APA Esthetic Fill, C) APA Cam Karbomer D) GC EQUIA Forte
E) GC Fuji IX GP





Şekil 4-19: Hücre kontrol grubu ve restoratif materyallerin 7. güne ait akım sitometri örneği
(x: Anneksin V FITC, y: 7AAD FL3 INT)

A) CDMEM, B) APA Esthetic Fill, C) APA Cam Karbomer D) GC EQUIA Forte
E) GC Fuji IX GP

4.4.1.1. Akım Sitometri Analizinde Canlı Hücre Bulgularının Değerlendirilmesi

Tablo 4-1: Zaman ve gruplara göre canlı hücre değerlerinin karşılaştırılması

	Test İstatistiği*	sd	p
Grup	550,234	4	<0,001
Zaman	63,687	2	<0,001
Grup*Zaman	16,912	8	0,031

sd: serbestlik derecesi

*Wald ki-kare test istatistiği,

Tablo 4-2: Zaman ve gruplara göre canlı hücre değerlerinin karşılaştırılması

	Canlı Hücre			Total
	1. gün	3. gün	7. gün	
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
Kontrol	94,91 ± 1,31 ^E	93,74 ± 0,65 ^{DE}	90,58 ± 1,71 ^{BD}	93,07 ± 2,24^c
GC EQUIA Forte	81,39 ± 2,2 ^{AC}	79,8 ± 1,14 ^{AC}	78,55 ± 1,5 ^C	79,91 ± 1,96 ^a
GC Fuji IX GP	81,02 ± 3,89 ^{AC}	79,94 ± 1,96 ^{AC}	78,35 ± 1,24 ^C	79,77 ± 2,67 ^a
APA Cam Karbomer	87,97 ± 1,97 ^B	82,33 ± 2,48 ^{AC}	80,3 ± 1,86 ^{AC}	83,53 ± 3,89^b
APA Esthetic Fill	82,87 ± 2,86 ^A	80,9 ± 1,91 ^{AC}	79,66 ± 2,04 ^{AC}	81,14 ± 2,53 ^a
Total	85,63 ± 5,87^a	83,34 ± 5,62^b	81,49 ± 4,94^c	83,49 ± 5,68

a-c: Aynı harfe sahip zamanlar ve gruplar arasında fark yoktur, A-E: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında fark yoktur

Wald ki-kare testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Akım sitometri analizi ile kontrol grubu ve dört farklı restoratif materyal grubunun dental pulpa mezenkimal kök hücreler üzerindeki etkisini inceleyen çalışmamızda grup ana etkisinin hücre canlılık parametresine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmaktadır ($p<0,001$) (Tablo 4-1). Grupların ana etkisi incelendiğinde kontrol grubunun ortalaması 93,07, GC EQUIA Forte grubunun ortalaması 79,91, GC Fuji IX GP grubunun ortalaması 79,77, APA Cam Karbomer grubunun ortalaması 83,53 ve APA Esthetic Fill grubunun ortalaması 81,14 olarak elde edilmiştir (Tablo 4-2). Gruplara göre toplam hücre canlılık parametresinin ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p<0,001$). Kontrol grubu ile diğer restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$). GC EQUIA Forte, GC Fuji IX GP ve APA Esthetic Fill restoratif materyal grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$). APA Cam Karbomer grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). En yüksek toplam ortalama canlı hücre oranı, kontrol grubundan sonra APA Cam Karbomer grubuna, en düşük toplam ortalama canlı hücre oranı ise GC Fuji IX GP grubuna aittir. Gruplara göre canlı hücre bulgularının karşılaştırılması Tablo 4-1 ve Tablo 4-2’de gösterilmektedir.

Zaman ana etkisinin hücre canlılık parametresi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi vardır ($p<0,001$). Hücre canlılık değer ortalamaları 1. gün için 85,63, 3. gün için 83,34 ve 7. gün için 81,49 olarak elde edilmiştir. Günler arasında toplam canlı hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur. Zamana göre canlı hücre bulgularının karşılaştırılması Tablo 4-1 ve Tablo 4-2’de gösterilmektedir. 1. 3. ve 7. güne ait canlı hücre bulguları ise Şekil 4-20’de gösterilmektedir.

Kontrol grubu için ; canlı hücre değerleri açısından 1. gün ile 3. gün arasında ve 3. gün ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$). Ancak 1. gün ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$).

GC EQUIA Forte grubu için ; canlı hücre değerleri açısından günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

GC Fuji IX GP grubu için; canlı hücre değerleri açısından günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

APA Cam Karbomer grubu için; canlı hücre değerleri açısından 1. gün ile 3. gün arasında ve 1. gün ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur. Ancak 3. gün ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

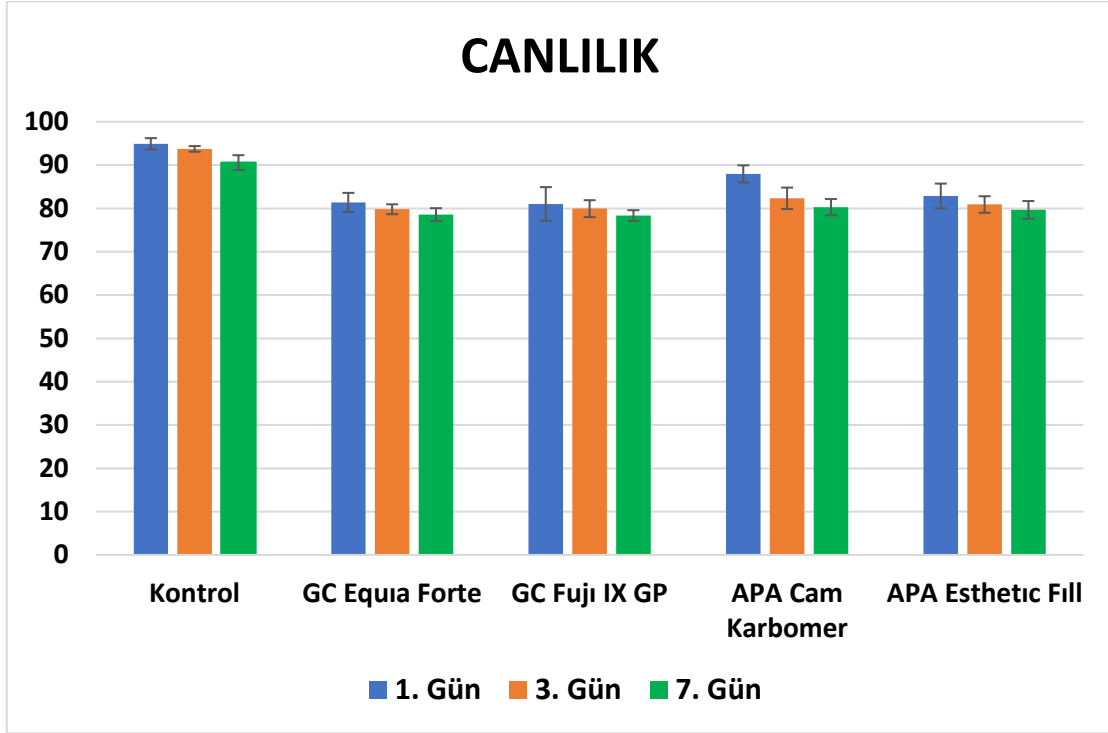
APA Esthetic Fill grubu için; canlı hücre değerleri açısından günler arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Grup ve zaman etkileşiminin hücre canlılık parametresi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmaktadır ($p=0,031$). 1. günde dört farklı materyal ve bir kontrol grubu olmak üzere beş farklı gruba ait ortalama hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p<0,05$). 1. gün hücre canlılık değer ortalamaları kontrol grubunun 94,91, GC EQUIA Forte grubunun 81,39, GC Fuji IX GP grubunun 81,02, APA Cam Karbomer grubunun 87,97 ve APA Esthetic Fill grubunun 82,87 olarak elde edilmiştir. 1. günde en yüksek ortalama hücre canlılık değeri kontrol grubuna ait olmak ile beraber diğer gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$). GC EQUIA Forte grubu, GC Fuji IX GP grubu ve APA Esthetic Fill grubu arasında hücre canlılık değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$) ve en düşük ortalama hücre canlılık değeri GC EQUIA Forte ile GC Fuji IX GP restoratif materyal gruplarına aittir. APA Cam Karbomer grubu ile diğer gruplar arasında ise hücre canlılık değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p<0,05$). 1. günde kontrol grubundan sonra en yüksek ortalama hücre canlılık değeri 87,97 olmak üzere APA Cam Karbomer grubuna, en düşük ortalama hücre canlılık değeri ise 81,02 olmak üzere GC Fuji IX GP grubuna aittir (Tablo 4-2). 1. güne ait canlı hücre bulguları Şekil 4-21’de gösterilmektedir.

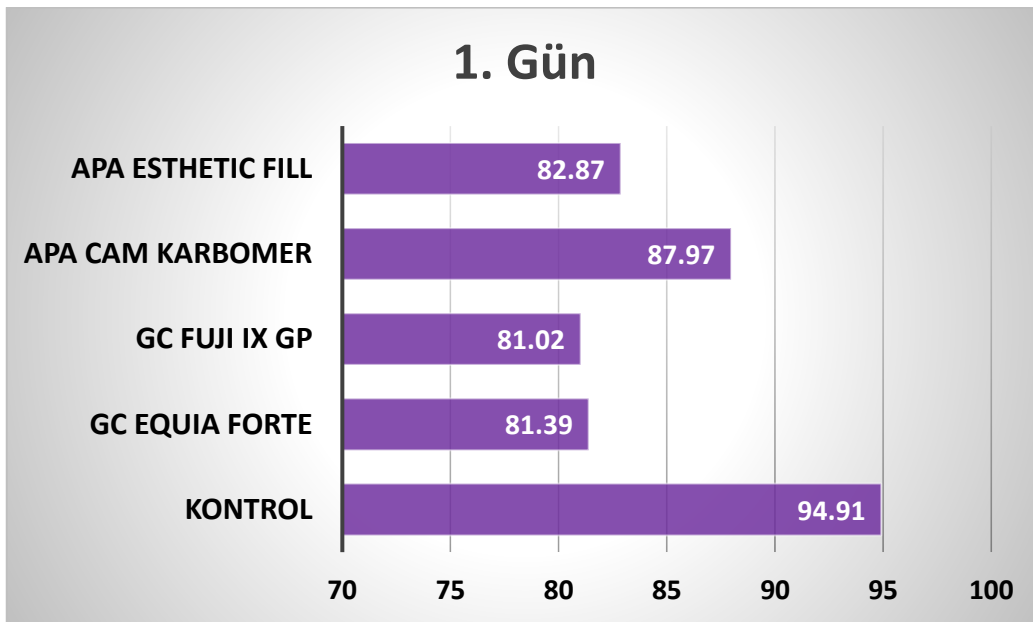
3. günde en yüksek ortalama hücre canlılık değeri kontrol grubuna ait olmakla beraber diğer gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p<0,05$). Restoratif materyal grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). 3. gündeki en düşük ortalama hücre canlılık değeri ise 79,8 olmak üzere Equia Forte grubuna aittir (Tablo 4-2). 3. güne ait canlı hücre bulguları Şekil 4-22’de gösterilmektedir.

7. günde ise en yüksek ortalama hücre canlılık değeri kontrol grubuna ait olmakla beraber diğer gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p<0,05$). Restoratif materyal grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark

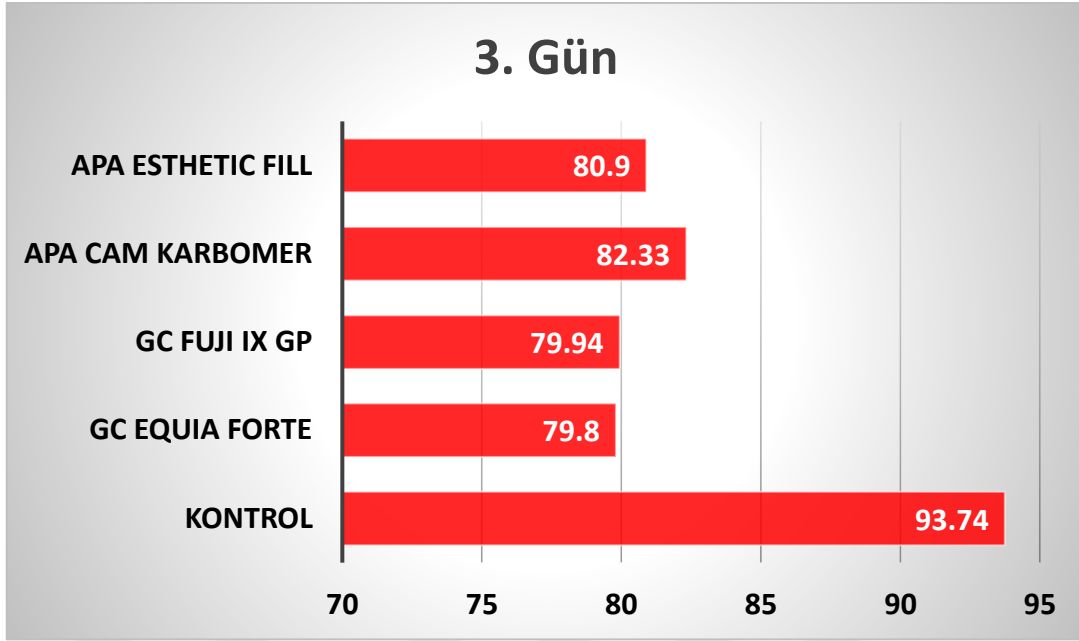
bulunmamaktadır ($p>0,05$). 7. gündeki en düşük ortalama hücre canlılık değeri ise 78,35 olmak üzere GC Fuji IX GP grubuna aittir (Tablo 4-2). 7. güne ait canlı hücre bulguları Şekil 4-23’de gösterilmektedir.



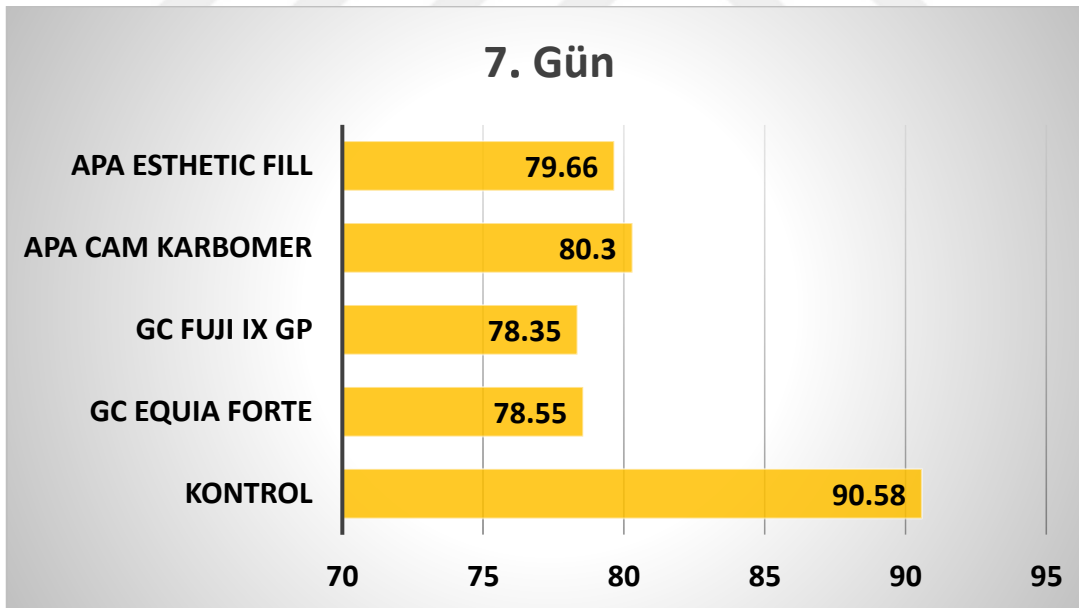
Şekil 4-20: Zaman ve gruplara göre canlı hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-21: 1. gün için gruplar arasında canlı hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-22: 3. gün için gruplar arasında canlı hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-23: 7. gün için gruplar arasında canlı hücre değerlerinin karşılaştırılması

4.4.1.2. Akım Sitometri Analizinde Erken Apoptotik Hücre Bulgularının Değerlendirilmesi

Tablo 4-3: Zaman ve gruplara göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

	Test İstatistiği*	sd	p
Grup	4,729	4	0,316
Zaman	2,728	2	0,256
Grup*Zaman	21,978	8	0,005

sd: serbestlik derecesi

*Wald ki-kare test istatistiği,

Tablo 4-4: Zaman ve gruplara göre erken apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

	Erken Apoptoz			Total
	1. gün	3. gün	7. gün	
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
Kontrol	2,18 ± 0,73 ^{ABC}	2,67 ± 0,64 ^{ABC}	3,15 ± 1,33 ^{ABC}	2,67 ± 0,97
GC EQUIA Forte	3,28 ± 3,99 ^{ABC}	0,67 ± 0,75 ^A	0,94 ± 0,65 ^{AB}	1,63 ± 2,51
GC Fuji IX GP	0,85 ± 0,64 ^A	3,79 ± 4,06 ^C	3,75 ± 1,14 ^C	2,8 ± 2,69
APA Cam Karbomer	1,68 ± 1,15 ^{ABC}	3,67 ± 1,76 ^{BC}	2,49 ± 1,23 ^{ABC}	2,61 ± 1,55
APA Esthetic Fill	2,27 ± 0,77 ^{ABC}	3,33 ± 1,96 ^{ABC}	1,74 ± 1,86 ^{ABC}	2,45 ± 1,65
Total	2,05 ± 1,95	2,83 ± 2,33	2,41 ± 1,56	2,43 ± 1,97

a-c: Aynı harfe sahip zamanlar ve gruplar arasında fark yoktur, A-E: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında fark yoktur

Wald ki-kare testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Akım sitometri analizi ile yapılan değerlendirmede grup ve zaman ana etkisinin erken apoptoz parametresi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi yoktur ($p>0,05$). Grup ve zaman etkileşiminin ise erken apoptoz parametresi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi mevcuttur ($p=0,005$). Grup ve zamana göre erken apoptoz hücre bulgularının karşılaştırılması Tablo 4-3 ve Tablo 4-4’de gösterilmektedir. 1. 3. ve 7. güne ait erken apoptoz hücre bulguları ise Şekil 4-24’de gösterilmektedir.

1. gün için erken apoptotik hücre bulguları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). En yüksek ortalama erken apoptotik hücre bulgusu 3,28 ile GC EQUIA Forte grubuna aittir. En düşük ortalama erken apoptotik hücre bulgusu ise 0,85 ile GC Fuji IX GP grubuna aittir (Tablo 4-4). 1. güne ait erken apoptoz hücre bulguları Şekil 4-25’de gösterilmektedir.

3. gün için erken apoptotik hücre bulguları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$). Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). GC EQUIA Forte grubu ile GC Fuji IX GP ve APA Cam Karbomer grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunurken ($p<0,05$), APA Esthetic Fill grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). GC Fuji IX GP, APA Cam Karbomer ve APA Esthetic Fill grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcut değildir ($p>0,05$). 3. gün için ortalama en yüksek erken apoptotik hücre bulgusu 3,79 ile GC Fuji IX GP grubuna aittir. En düşük erken apoptotik hücre bulgusu ise 0,67 ile GC EQUIA Forte grubuna aittir (Tablo 4-4). 3. güne ait erken apoptoz hücre bulguları Şekil 4-26’de gösterilmektedir.

7. gün için erken apoptotik hücre bulguları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$). Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcut değildir ($p>0,05$). GC EQUIA Forte grubu ile GC Fuji IX GP grubu arasında erken apoptotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken ($p<0,05$), GC EQUIA Forte grubu ile APA Esthetic Fill ve APA Cam Karbomer grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcut değildir ($p>0,05$). 7. gün için ortalama en yüksek erken apoptotik hücre bulgusu 3,75 ile GC Fuji IX GP grubuna aittir. En düşük erken apoptotik hücre bulgusu ise 0,94 ile GC EQUIA Forte grubuna aittir. GC Fuji IX GP, APA Cam Karbomer ve

APA Esthetic Fill grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo 4-4). 7. güne ait erken apoptoz hücre bulguları Şekil 4-27’de gösterilmektedir.

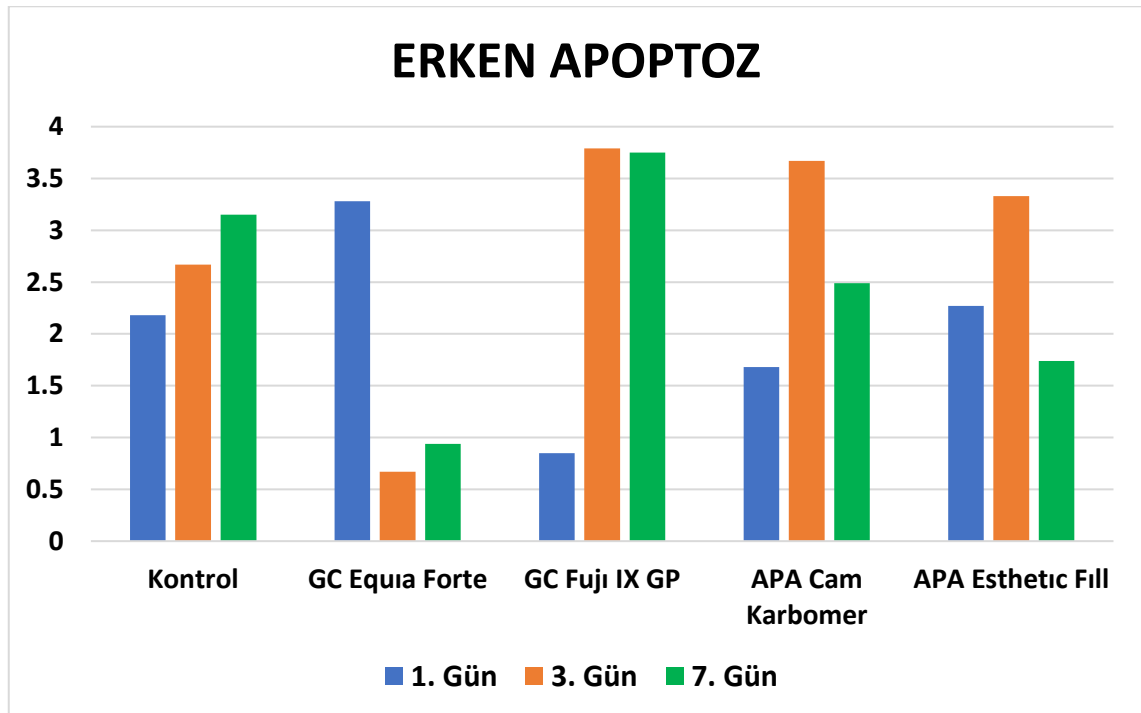
Kontrol grubu için; günler arasında erken apoptotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

GC EQUIA Forte grubu için; günler arasında erken apoptotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

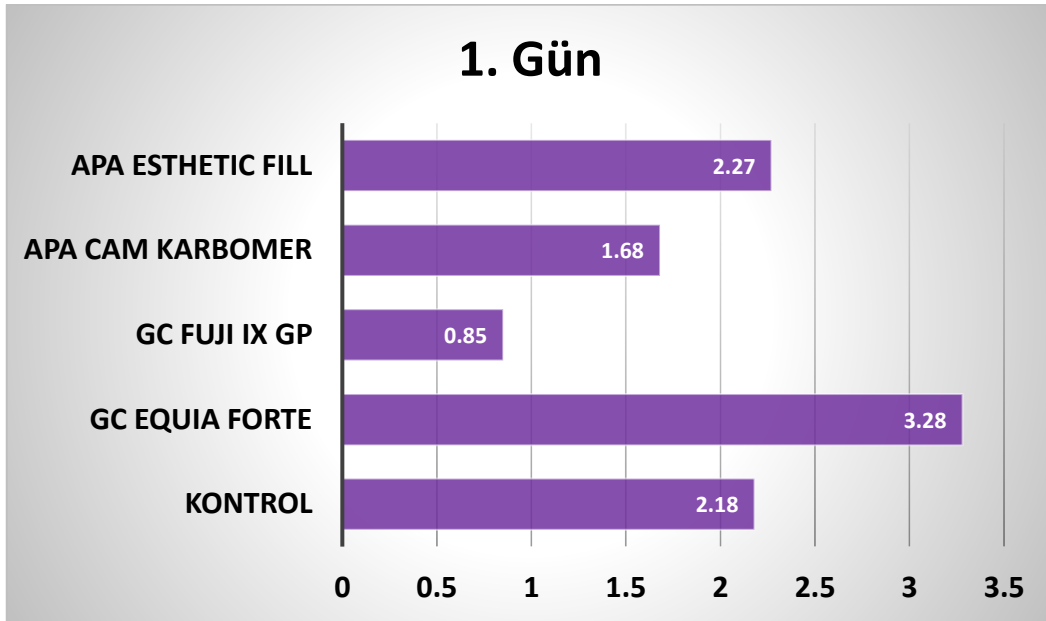
GC Fuji IX GP grubu için; 1. gün ile 3. gün arasında ve 1. gün ile 7. gün arasında erken apoptotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p<0,05$). 3. gün ile 7. gün arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

APA Cam Karbomer grubu için; günler arasında erken apoptotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

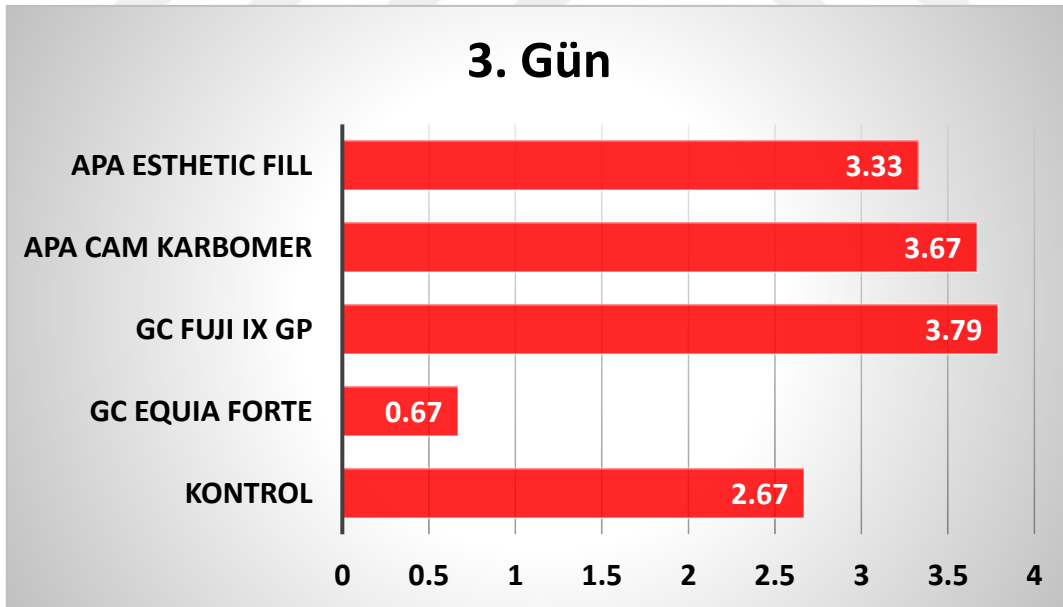
APA Esthetic Fill grubu için; günler arasında erken apoptotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).



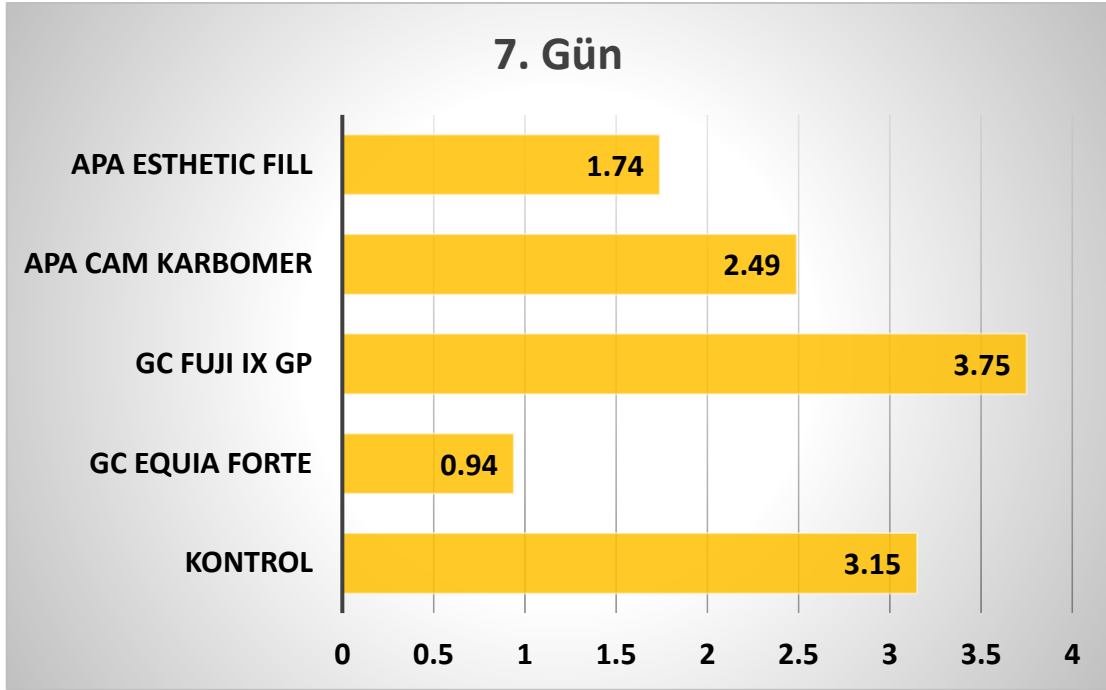
Şekil 4-24: Zaman ve gruplara göre erken apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-25: 1. gün için gruplar arasında erken apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-26: 3. gün için gruplar arasında erken apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-27: 7. gün için gruplar arasında erken apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması

4.4.1.3. Akım Sitometri Analizinde Geç Apoptotik Hücre Bulgularının Değerlendirilmesi

Tablo 4-5: Zaman ve gruplara göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

	Test İstatistiği*	sd	p
Grup	93,467	4	<0,001
Zaman	17,212	2	<0,001
Grup*Zaman	22,917	8	0,003

sd: serbestlik derecesi

*Wald ki-kare test istatistiği

Tablo 4-6: Zaman ve gruplara göre geç apoptoz değerlerinin karşılaştırılması

	Geç Apoptoz			Total
	1. gün	3. gün	7. gün	
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
Kontrol	1,29 ± 0,56 ^F	2,18 ± 0,57 ^{EF}	2,51 ± 0,74 ^{DEF}	1,99 ± 0,79^a
GC EQUIA Forte	5,46 ± 1,16 ^{ABCD}	4,21 ± 1,22 ^{ABDEF}	8,14 ± 1,08 ^C	5,94 ± 2 ^b
GC Fuji IX GP	5,64 ± 3,6 ^{ABC}	5,32 ± 1,44 ^{ABCD}	7,07 ± 2,21 ^{BC}	6,01 ± 2,51 ^b
APA Cam Karbomer	5,04 ± 0,91 ^{ABDEF}	6,14 ± 1,94 ^{ABC}	5,67 ± 1,69 ^{ABC}	5,62 ± 1,53 ^b
APA Esthetic Fill	4,01 ± 0,62 ^{ADE}	6,66 ± 0,97 ^{ABC}	6,02 ± 1,06 ^{ABC}	5,56 ± 1,44 ^b
Total	4,29 ± 2,3 ^a	4,9 ± 2,02 ^a	5,88 ± 2,35^b	5,02 ± 2,29

a-c: Aynı harfe sahip zamanlar ve gruplar arasında fark yoktur, A-E: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında fark yoktur

Wald ki-kare testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Akım sitometri analizi ile yapılan değerlendirmede grup ana etkisinin geç apoptoz parametresi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi vardır ($p<0,001$) (Tablo 4-5). Grupların ana etkisi incelendiğinde, geç apoptotik hücre bulguları açısından kontrol grubunun ortalaması 1,99, GC EQUIA Forte grubunun 5,94, GC Fuji IX GP grubunun ortalaması 6,01, APA Cam Karbomer grubunun ortalaması 5,62 ve APA Esthetic Fill grubunun ortalaması 5,56 olarak elde edilmiştir (Tablo 4-6). Gruplara göre geç apoptoz parametresinin ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p<0,001$). Gruplar arasında toplam geç apoptozda bulunan hücre oranları açısından kontrol grubu ile diğer restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$). Restoratif materyal grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Toplam en yüksek ortalama geç apoptotik hücre değeri 6,01 ile GC Fuji IX GP grubuna ait iken toplam en düşük ortalama geç apoptotik hücre değeri ise 1,99 ile kontrol grubuna aittir. Gruplara göre geç apoptoz hücre bulgularının karşılaştırılması Tablo 4-5 ve Tablo 4-6’da gösterilmektedir.

Zaman ana etkisinin geç apoptoz parametresinin üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi vardır ($p<0,001$). Günler arasında toplam geç apoptozda bulunan hücre oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$). 1. gün ile 7. gün arasında ve 3. gün ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). 1. gün ve 3. gün arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Zamana göre geç apoptoz hücre bulgularının karşılaştırılması Tablo 4-5 ve Tablo 4-6’da gösterilmektedir. 1. 3. ve 7. güne ait geç apoptoz hücre bulguları ise Şekil 4-28’de gösterilmektedir.

Kontrol grubu için; günler arasında geç apoptotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

GC EQUIA Forte grubu için; 1. gün ile 3. gün arasında geç apoptotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). 3. gün ile 7. gün arasında ise geç apoptotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$).

GC Fuji IX GP grubu için; günler arasında geç apoptotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

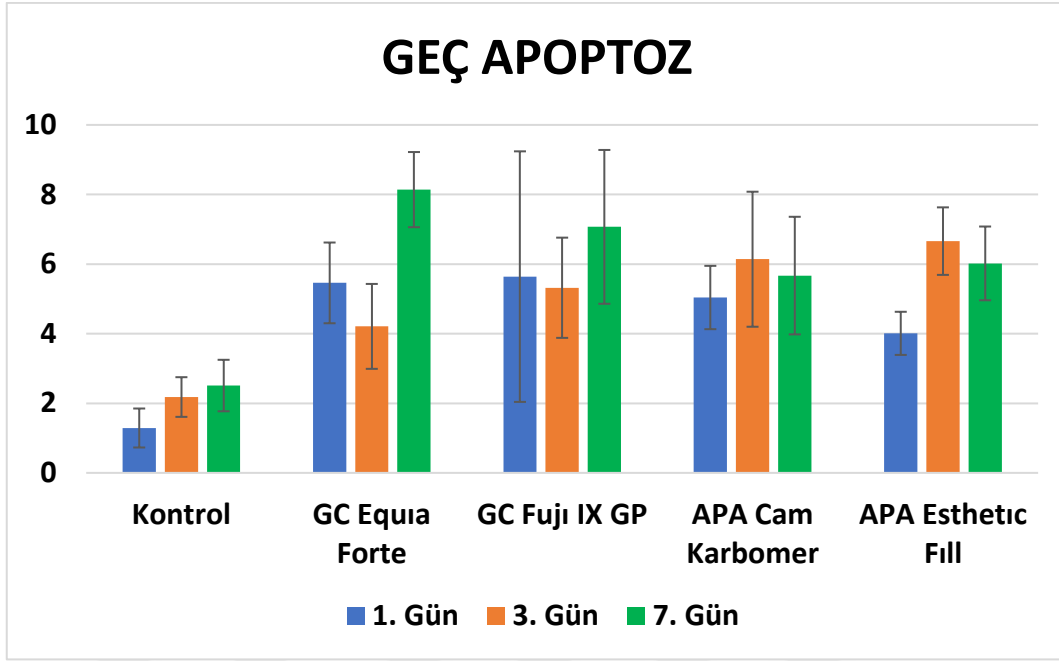
APA Cam Karbomer grubu için; günler arasında geç apoptotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

APA Esthetic Fill grubu için; günler arasında geç apoptotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

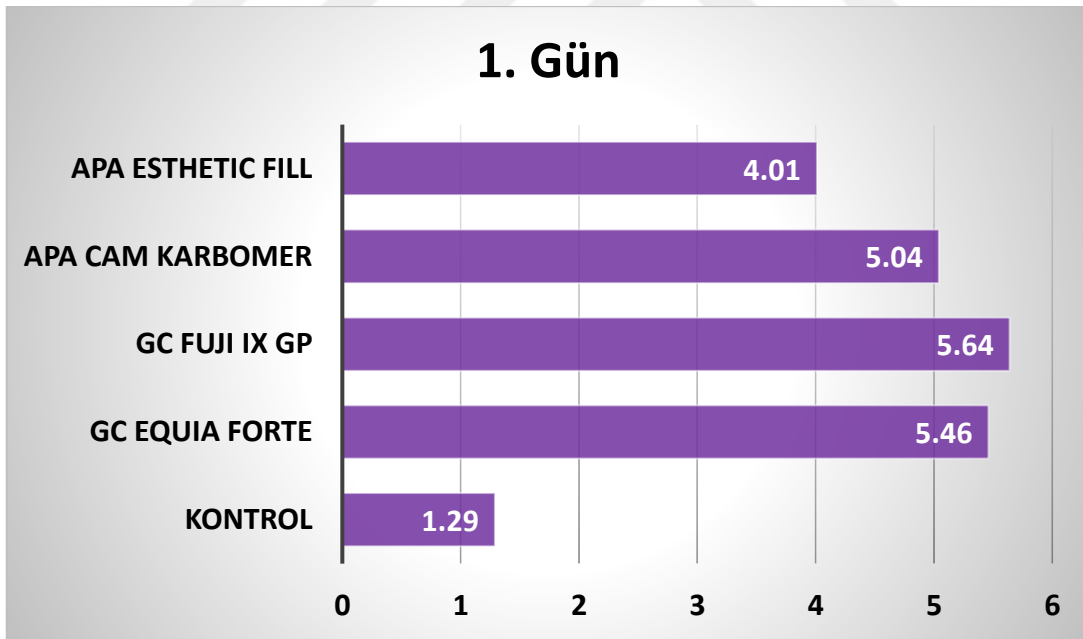
Grup ve zaman etkileşiminin geç apoptoz parametresinin üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi vardır ($p=0,003$). 1. gün için geç apoptotik hücre bulguları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,05$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda, kontrol grubu ile GC EQUIA Forte, GC Fuji IX GP ve APA Esthetic Fill grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,05$). Kontrol grubu haricindeki diğer restoratif materyal grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcut değildir ($p>0,05$). 1. gün için en yüksek ortalama geç apoptotik hücre değeri 5,64 ile GC Fuji IX GP grubuna aittir. En düşük ortalama geç apoptotik hücre değeri ise 1,29 ile kontrol grubuna aittir (Tablo 4-6). 1. güne ait geç apoptoz hücre bulguları Şekil 4-29'da gösterilmektedir.

3. gün için geç apoptotik hücre bulguları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,05$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda, kontrol grubu ile GC Fuji IX GP, APA Cam Karbomer ve APA Esthetic Fill arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,05$). Kontrol grubu haricindeki diğer restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak bir farklılık mevcut değildir ($p>0,05$). 3. gün için en yüksek ortalama geç apoptotik hücre değeri 6,66 ile APA Esthetic Fill grubuna ait iken en düşük ortalama geç apoptotik hücre değeri ise 2,18 ile kontrol grubuna aittir (Tablo 4-6). 3. güne ait geç apoptoz hücre bulguları Şekil 4-30'da gösterilmektedir.

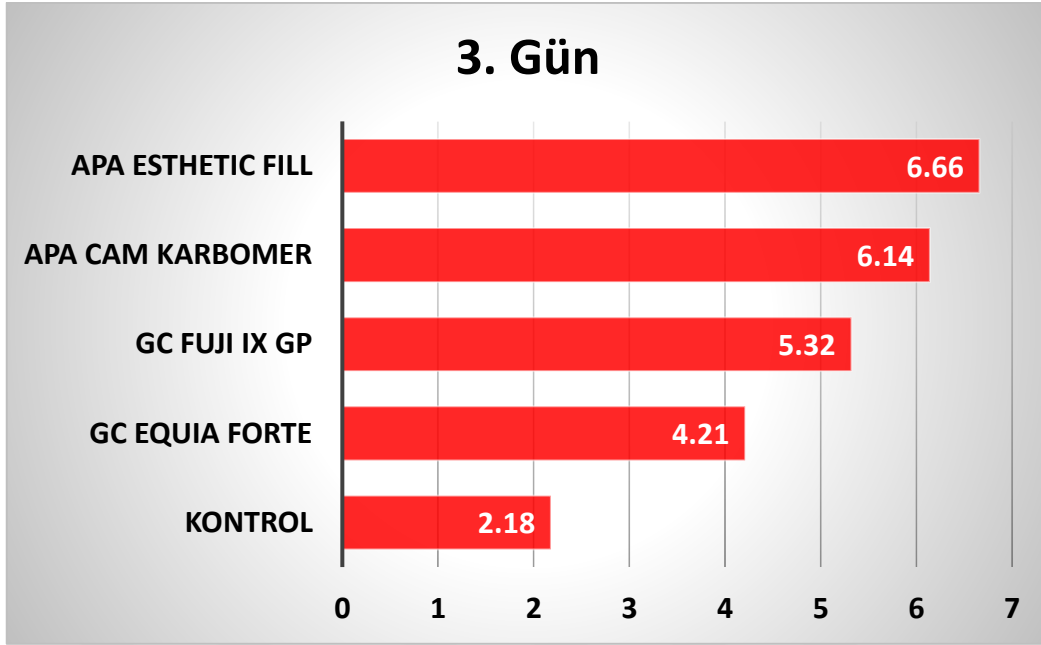
7. gün için geç apoptotik hücre bulguları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,05$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda, kontrol grubu ile diğer restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$). Kontrol grubu haricinde diğer restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak bir farklılık mevcut değildir ($p>0,05$). 7. gün için en yüksek ortalama geç apoptotik hücre değeri 8,14 ile GC EQUIA Forte grubuna aittir. En düşük ortalama geç apoptotik hücre değeri ise 2,51 ile kontrol grubuna aittir (Tablo 4-6). 3. güne ait geç apoptoz hücre bulguları Şekil 4-31'de gösterilmektedir.



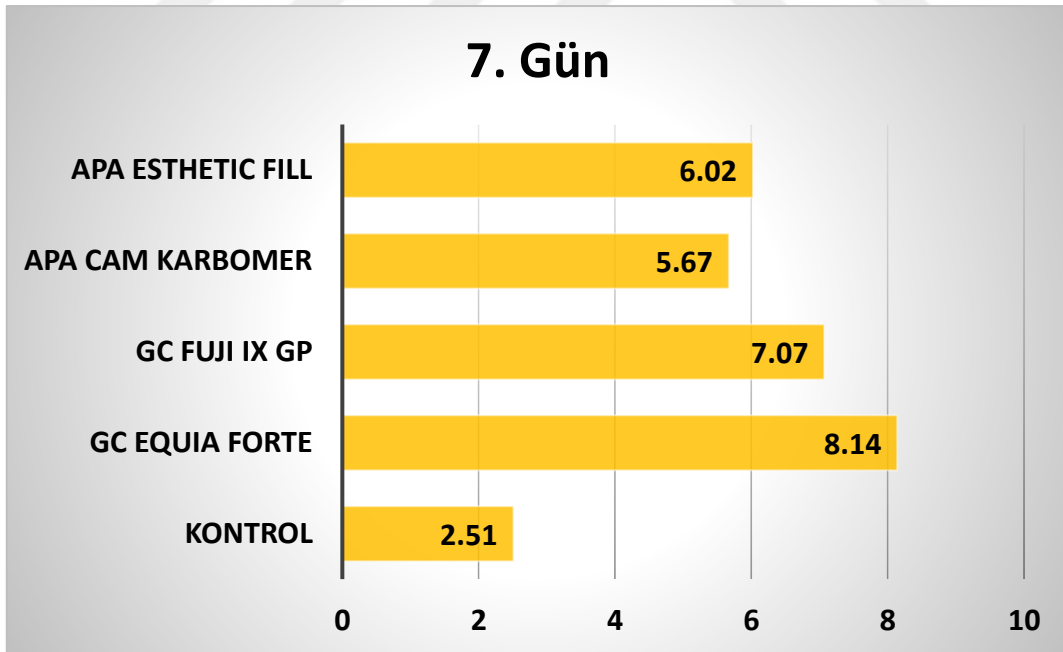
Şekil 4-28: Zaman ve gruplara göre geç apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-29: 1. gün için gruplar arasında geç apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-30: 3. gün için gruplar arasında geç apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-31: 7. gün için gruplar arasında geç apoptotik hücre değerlerinin karşılaştırılması

4.4.1.4. Akım Sitometri Analizinde Nekrotik Hücre Bulgularının Değerlendirilmesi

Tablo 4-7: Zaman ve gruplara göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması

	Test İstatistiği*	sd	p
Grup	227,4	4	<0,001
Zaman	13,372	2	0,001
Grup*Zaman	37,31	8	<0,001

sd: serbestlik derecesi

*Wald ki-kare test istatistiği

Tablo 4-8: Zaman ve gruplara göre nekroz değerlerinin karşılaştırılması

	Nekroz			Total
	1. Gün Ort±SS (medyan)	3. Gün Ort±SS (medyan)	7. Gün Ort±SS (medyan)	
Kontrol	1,62 ± 1,32 ^A	1,41 ± 0,97 ^A	3,77 ± 1,45 ^{AB}	2,26 ± 1,61^c
GC EQUIA Forte	9,87 ± 3,6 ^{CD}	15,32 ± 2,26 ^E	12,37 ± 1,8 ^{DE}	12,52 ± 3,38 ^a
GC Fuji IX GP	12,5 ± 1,68 ^{DE}	10,94 ± 3,44 ^{DE}	10,83 ± 1,9 ^{DE}	11,42 ± 2,42 ^a
APA Cam Karbomer	5,31 ± 2,38 ^{ABC}	7,86 ± 2,03 ^{BCD}	11,47 ± 2,05 ^{DE}	8,21 ± 3,29^b
APA Esthetic Fill	10,85 ± 2,71 ^{DE}	9,11 ± 3,47 ^{CD}	12,58 ± 2,44 ^{DE}	10,85 ± 3,06 ^a
Total	8,03 ± 4,66^a	8,93 ± 5,2 ^{ab}	10,2 ± 3,79^b	9,05 ± 4,62

a-c: Aynı harfe sahip zamanlar ve gruplar arasında fark yoktur, A-E: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında fark yoktur

Wald ki-kare testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Akım sitometri analizi ile yapılan değerlendirmede grup ana etkisinin nekroz parametresi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi vardır ($p<0,001$) (Tablo 4-7). Grup ana etkisi incelendiğinde, nekrotik hücre bulguları açısından kontrol grubunun ortalaması 2,26, GC EQUIA Forte grubunun ortalaması 12,52, GC Fuji IX GP grubunun ortalaması 11,42, APA Cam Karbomer grubunun ortalaması 8,21 ve APA Esthetic Fill grubunun ortalaması 10,85 olarak elde edilmiştir (Tablo 4-8). Gruplara göre nekroz parametresinin ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p<0,001$). Gruplar arasında toplam nekrotik hücre bulguları açısından kontrol grubu ile diğer restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$). APA Cam Karbomer grubu, kontrol grubundan sonra toplam en düşük nekrotik hücre değerine sahip olan materyal olup diğer restoratif materyal grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). GC EQUIA Forte, GC Fuji IX GP ve APA Esthetic Fill grupları arasında ise toplam nekrotik hücre bulguları açısından anlamlı bir farklılık mevcut değildir ($p>0,05$). Gruplara göre nekroz hücre bulgularının karşılaştırılması Tablo 4-7 ve Tablo 4-8’de gösterilmektedir.

Zaman ana etkisinin nekroz parametresinin üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi vardır ($p=0,001$). 1. gün ortalaması 8,03, 3. gün ortalaması 8,93 ve 7. gün ortalaması 10,2 olarak elde edilmiştir. Günler arasında toplam ortalama nekrotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur. 1. gün ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık varken, 1. gün ile 3. gün arasında ve 3. gün ile 7.gün arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Zamana göre nekroz hücre bulgularının karşılaştırılması Tablo 4-7 ve Tablo 4-8’de gösterilmektedir. 1. 3. ve 7. güne ait nekroz hücre bulguları ise Şekil 4-32’de gösterilmektedir.

Kontrol grubu için; günler arasında nekrotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

GC EQUIA Forte grubu için; 1. ve 3. gün arasında nekrotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$). Ancak 1. ve 3. gün arasında ve 3. ve 7. gün arasında nekrotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

GC Fuji IX GP grubu için; günler arasında nekrotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

APA Cam Karbomer grubu için; 1. gün ile 3. gün arasında ve 3. gün ile 7. gün arasında nekrotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). 1. gün ile 7. gün arasında ise nekrotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$).

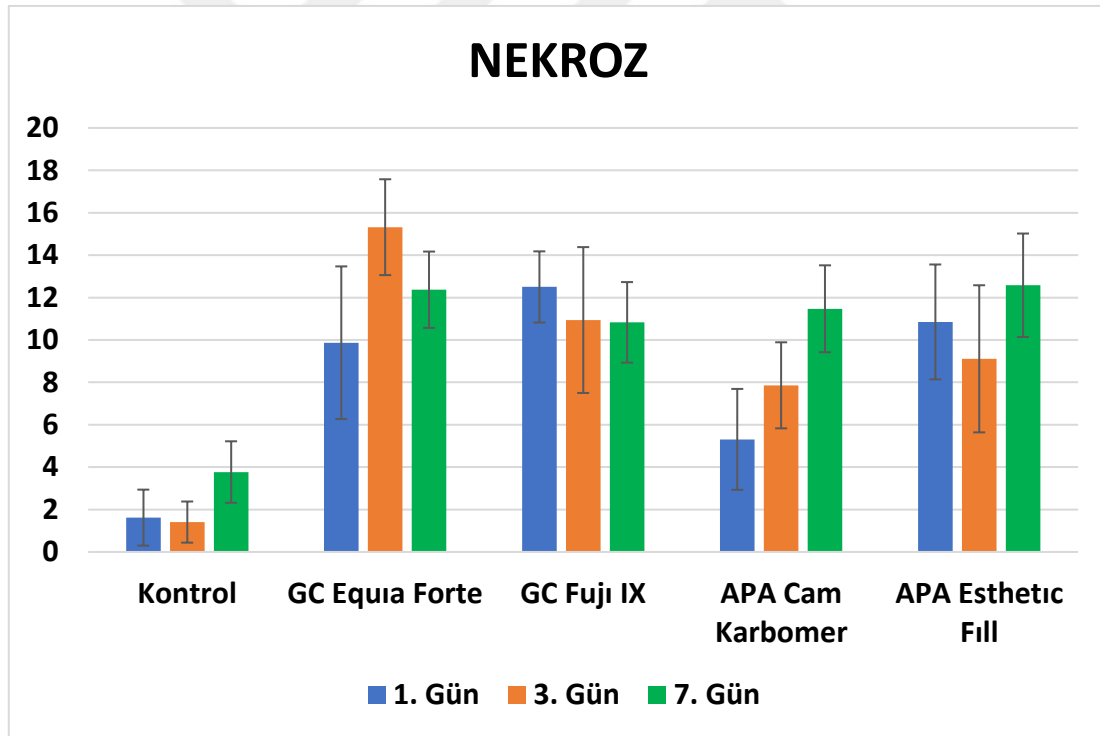
APA Esthetic Fill grubu için; günler arasında nekrotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Grup ve zaman etkileşiminin nekroz parametresinin üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi vardır ($p<0,001$). 1. gün için nekrotik hücre bulguları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda, kontrol grubu ile GC EQUIA Forte, GC Fuji IX GP ve APA Esthetic Fill grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p<0,001$). GC EQUIA Forte grubu ile diğer restoratif materyal grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcut değildir ($p>0,05$). GC Fuji IX GP grubu 1. gün için en yüksek ortalama nekrotik hücre değerine sahip olan materyal olup APA Cam Karbomer grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken ($p<0,001$), APA Esthetic Fill grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). APA Cam Karbomer grubu, 1. gün için kontrol grubundan sonra en düşük ortalama nekrotik hücre değerine sahip olan materyal olup APA Esthetic Fill grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p<0,001$) (Tablo 4-8). 1. güne ait nekroz hücre bulguları Şekil 4-33'de gösterilmektedir.

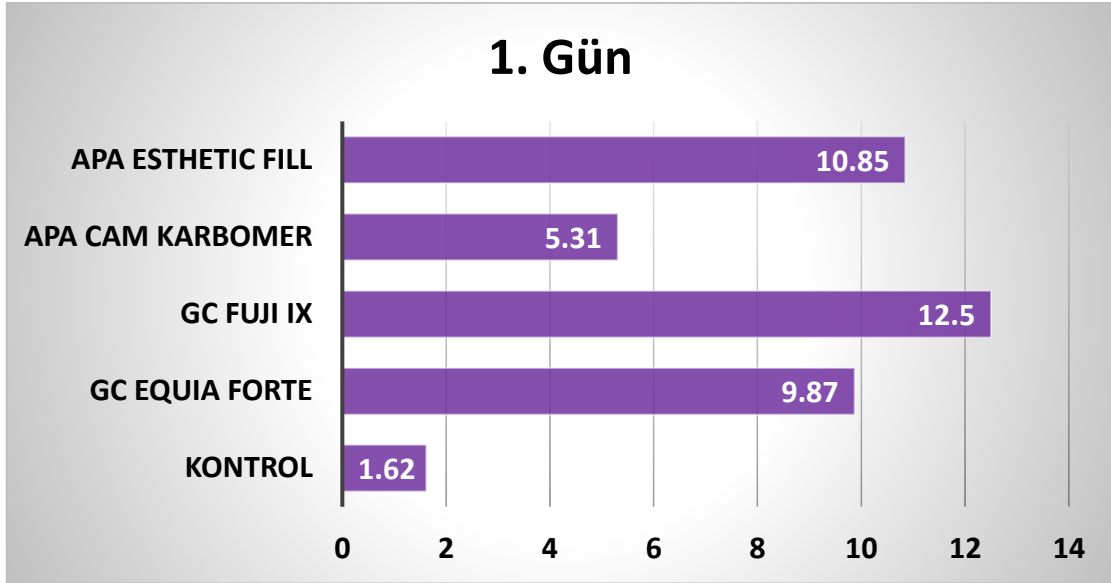
3. gün için nekrotik hücre bulguları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda, kontrol grubu ile diğer restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p<0,001$). GC EQUIA Forte grubu 3. gün için en yüksek ortalama nekrotik hücre değerine sahip olan materyal olup, APA Cam Karbomer ve APA Esthetic Fill grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcut iken ($p<0,001$), GC Fuji IX GP grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). APA Cam Karbomer grubu ise kontrol grubundan sonra 3. gün için en düşük ortalama nekrotik hücre değerine sahip olan materyal olup, GC Fuji IX GP ve APA Esthetic Fill grupları ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). APA Esthetic Fill grubu ile GC Fuji IX GP grubu arasında

ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcut değildir ($p>0,05$). 3. güne ait nekroz hücre bulguları Şekil 4-34’de gösterilmektedir.

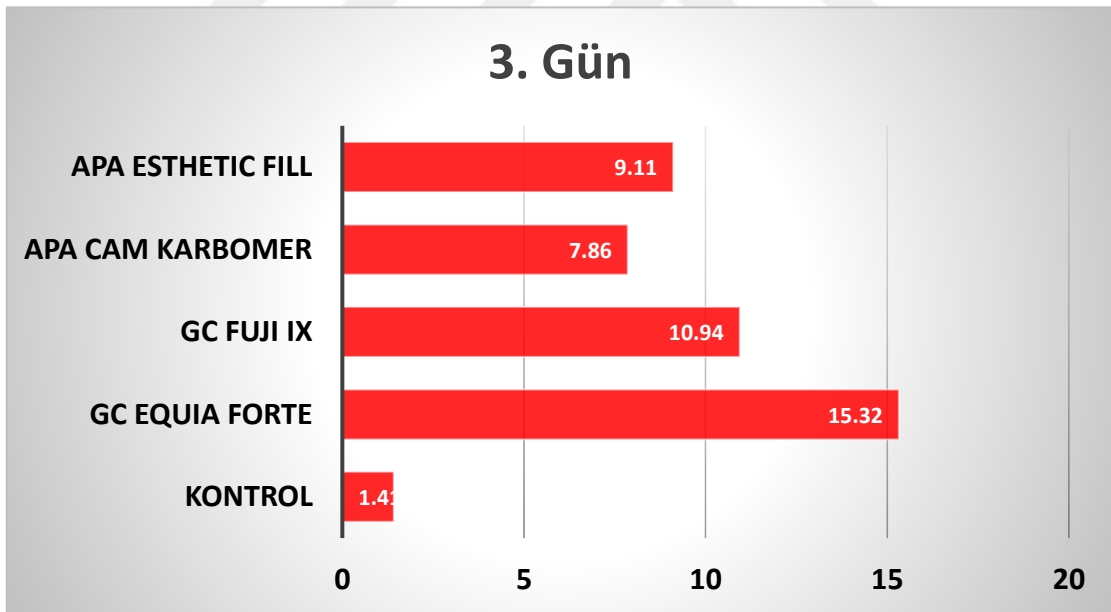
7. gün için nekrotik hücre bulguları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda, kontrol grubu ile diğer restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). Restoratif materyallerin kendi aralarında ise nekrotik hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). 7. gün için en yüksek ortalama nekrotik hücre değeri 12,52 ile GC EQUIA Forte grubuna aittir. En düşük ortalama nekrotik hücre değeri ise kontrol grubundan sonra 8,21 ile APA Cam Karbomer grubuna aittir. 7. güne ait nekroz hücre bulguları Şekil 4-35’de gösterilmektedir.



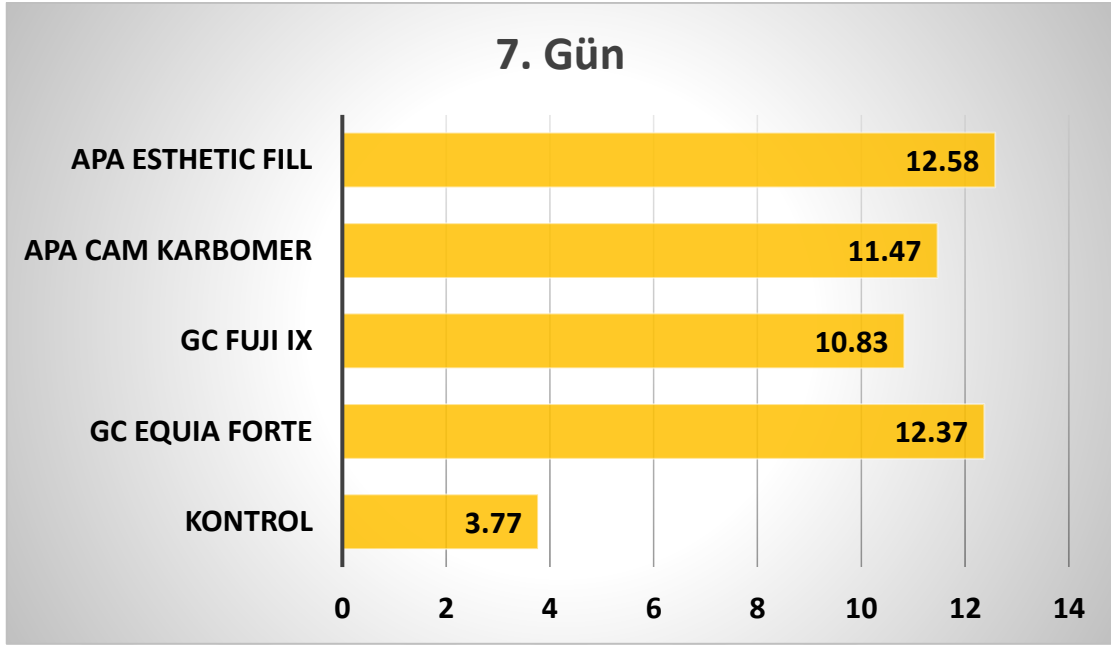
Şekil 4-32: Zaman ve gruplara göre nekrotik hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-33: 1. gün için gruplar arasında nekrotik hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-34: 3. gün için gruplar arasında nekrotik hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-35: 7. gün için gruplar arasında nekrotik hücre değerlerinin karşılaştırılması

4.4.1.5. Akım Sitometri Analizinde Ölü Hücre Bulgularının Değerlendirilmesi

Tablo 4-9: Zaman ve gruplara göre ölü hücre değerlerinin karşılaştırılması

	Test İstatistiği*	sd	p
Grup	552,765	4	<0,001
Zaman	63,523	2	<0,001
Grup*Zaman	16,795	8	0,032

sd: serbestlik derecesi

*Wald ki-kare test istatistiği

Tablo 4-10: Zaman ve gruplara göre ölü hücre değerlerinin karşılaştırılması

	Ölü Hücre (Nekroz+Geç Apoptoz+Erken Apotoz)			Toplam
	1. Gün	3. Gün	7. Gün	
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
Kontrol	5,09 ± 1,31 ^E	6,26 ± 0,65 ^{DE}	9,42 ± 1,71 ^{BD}	6,93 ± 2,25^c
GC EQUIA Forte	18,61 ± 2,2 ^{AC}	20,2 ± 1,14 ^{AC}	21,45 ± 1,5 ^C	20,09 ± 1,96 ^a
GC Fuji IX GP	18,99 ± 3,89 ^{AC}	20,06 ± 1,95 ^{AC}	21,65 ± 1,24 ^C	20,23 ± 2,67 ^a
APA Cam Karbomer	12,03 ± 1,97 ^B	17,67 ± 2,47 ^{AC}	19,63 ± 1,79 ^{AC}	16,44 ± 3,86^b
APA Esthetic Fill	17,13 ± 2,85 ^A	19,1 ± 1,91 ^{AC}	20,34 ± 2,03 ^{AC}	18,86 ± 2,53 ^a
Toplam	14,37 ± 5,87^a	16,66 ± 5,62^b	18,5 ± 4,93^c	16,51 ± 5,67

a-c: Aynı harfe sahip zamanlar ve gruplar arasında fark yoktur, A-E: Aynı harfe sahip etkileşimler arasında fark yoktur

Wald ki-kare testi

* 0,05 düzeyinde anlamlı p değeri

Akım sitometri analizi ile yapılan değerlendirmede grup ana etkisinin ölü hücre (nekroz+erken apoptoz+geç apoptoz) parametresi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi vardır ($p<0,001$) (Tablo 4-9). Grup ana etkisi incelendiğinde, ölü hücre bulguları açısından kontrol grubunun ortalaması 6,93, GC EQUIA Forte grubunun ortalaması 20,09, GC Fuji IX GP grubunun ortalaması 20,23, APA Cam Karbomer grubunun ortalaması 16,44 ve APA Esthetic Fill grubunun ortalaması 18,86 olarak elde edilmiştir (Tablo 4-10). Gruplara göre toplam ölü hücre değer ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p<0,001$). Gruplar arasında toplam ölü hücre bulguları açısından kontrol grubu ile diğer restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$). APA Cam Karbomer grubu, kontrol grubundan sonra toplam en düşük ölü hücre değerine sahip olan materyal olup diğer restoratif materyal grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,001$). GC Fuji IX GP grubu ise toplam en yüksek ölü hücre değerine sahip olan materyaldir. GC EQUIA Forte, GC Fuji IX GP ve APA Esthetic Fill grupları arasında ise toplam ölü hücre bulguları açısından anlamlı bir farklılık mevcut değildir ($p>0,05$). Gruplara göre ölü hücre bulgularının karşılaştırılması Tablo 4-9 ve Tablo 4-10'da gösterilmektedir.

Zaman ana etkisinin apoptoz, geç apoptoz ve nekroz toplamı ölü hücre bulguları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi vardır ($p<0,001$). 1. gün ortalaması 14,37, 3. gün ortalaması 16,66 ve 7. gün ortalaması 18,5 olarak elde edilmiştir. Günler arasında toplam ortalama ölü hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur. Zamana göre ölü hücre bulgularının karşılaştırılması Tablo 4-9 ve Tablo 4-10'da gösterilmektedir. 1. 3. ve 7. güne ait nekroz hücre bulguları ise Şekil 4-36'da gösterilmektedir.

Kontrol grubu için; 1. gün ile 3. gün arasında ve 3. gün ile 7. gün arasında ölü hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Ancak 1. gün ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$).

GC EQUIA Forte grubu için; günler arasında ölü hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

GC Fuji IX GP grubu için; günler arasında ölü hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

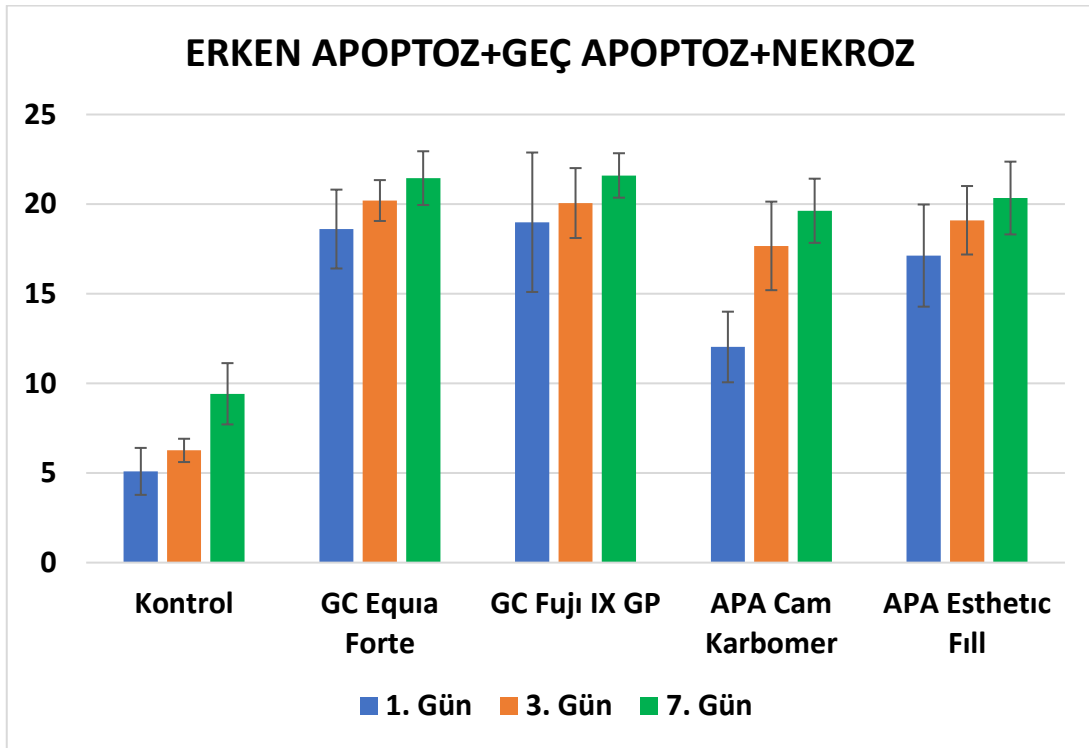
APA Cam Karbomer grubu için; 1. gün ile 3. gün ve 7. gün arasında ölü hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,001$). 3. gün ile 7. gün arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

APA Esthetic Fill grubu için; günler arasında ölü hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

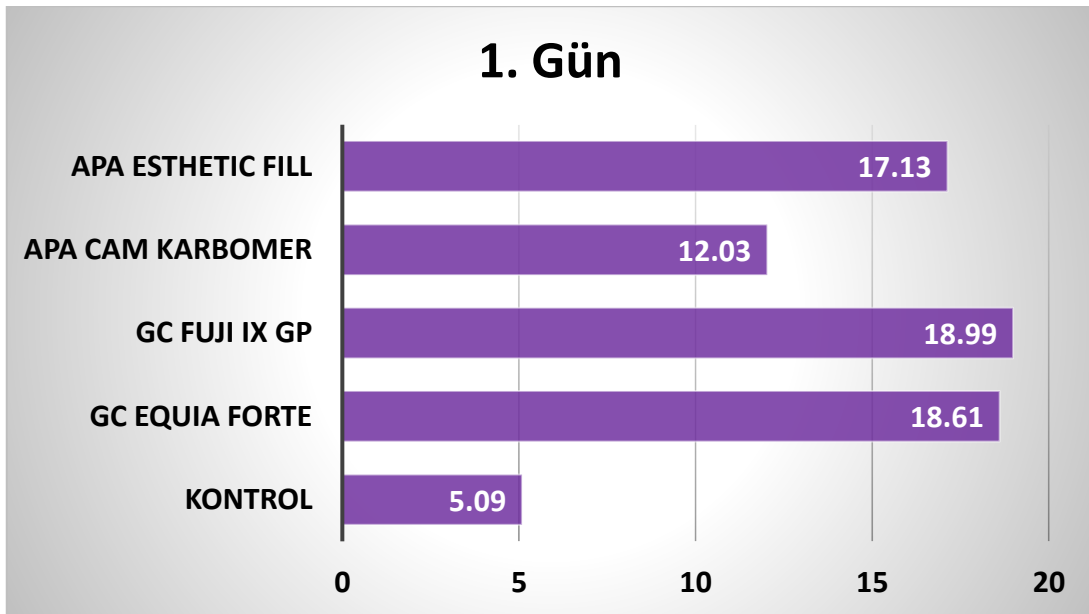
Grup ve zaman etkileşiminin ölü hücre parametresi (erken apoptoz+geç apoptoz+nekroz) üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi vardır ($p=0,032$). 1. gün için ölü hücre bulguları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,05$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda, kontrol grubu ile diğer restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p<0,05$). APA Cam Karbomer grubu, kontrol grubundan sonra en düşük ölü hücre değerine sahip olan materyal olup, diğer restoratif materyallerle aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,05$). GC EQUIA Forte, GC Fuji IX GP ve APA Esthetic Fill grupları arasında ise ölü hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). 1. gün için en yüksek ortalama ölü hücre değeri GC Fuji IX GP grubuna aittir (Tablo 4-10). 1. güne ait ölü hücre bulguları Şekil 4-37’de gösterilmektedir.

3. gün için ölü hücre bulguları açısından kontrol grubu ile diğer restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p<0,05$). 3. gün için ortalama en düşük ölü hücre bulgusu kontrol grubundan sonra APA Cam Karbomer grubuna ait iken en yüksek ortalama ölü hücre bulgusu EQUIA Forte grubuna aittir. Restoratif materyal grupları arasında ise ölü hücre bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcut değildir ($p>0,05$) (Tablo 4-10). 3. güne ait ölü hücre bulguları Şekil 4-38’de gösterilmektedir.

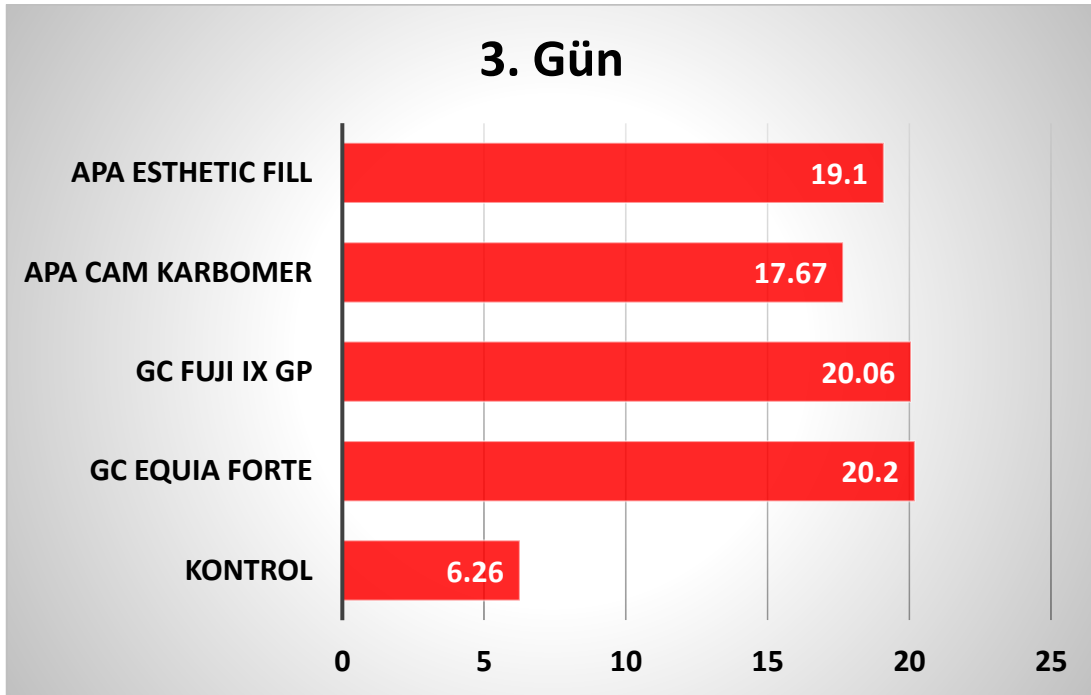
7.gün için ölü hücre bulguları açısından kontrol grubu ile diğer restoratif materyal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p<0,05$). Restoratif materyal grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcut değildir ($p>0,05$). 7. gün için ortalama en yüksek ölü hücre bulgusu GC Fuji IX GP grubuna ait iken ortalama en düşük ölü hücre bulgusu kontrol grubundan sonra APA Cam Karbomer grubuna aittir (Tablo 4-10). 7. güne ait ölü hücre bulguları Şekil 4-39’da gösterilmektedir.



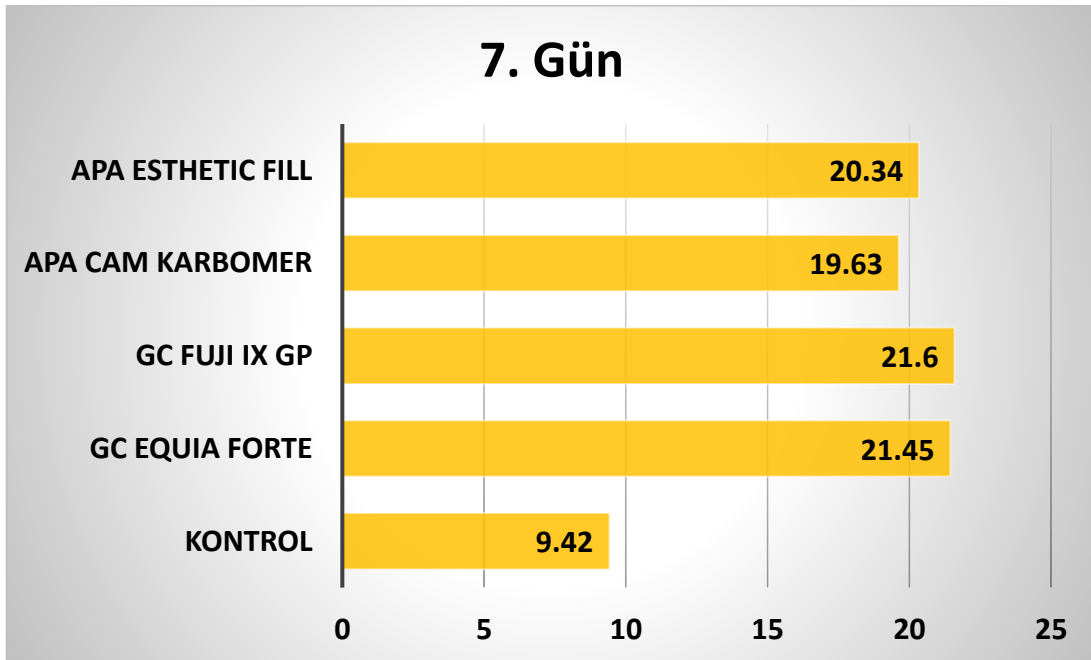
Şekil 4-36: Zaman ve gruplara göre ölü hücre (erken apoptoz+geç apoptoz+nekroz) değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-37: 1. gün için gruplar arasında ölü hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-38: 3. gün için gruplar arasında ölü hücre değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4-39: 7. gün için gruplar arasında ölü hücre değerlerinin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Günümüz çocuk diş hekimliğinde restoratif amaçlı pek çok materyal kullanılmaktadır. Klinisyenler için ideal restoratif materyalin seçimini yapmak her geçen gün yeni ve gelişmiş materyallerin piyasaya sürülmesiyle zorlaşmaktadır. Restorasyonlar için uygun materyali seçerken fiziksel, mekanik, estetik ve biyolojik özellikler göz önünde bulundurulmalıdır. İdeal bir restoratif materyal mine ve dentine adezyonla bağlanmalı, mikrosızıntı göstermemeli, estetik olarak kabul edilebilir ve biyolojik olarak uyumlu olmalıdır (Dhar ve ark. 2015; Erdem ve Gençay 2013; Şener ve ark. 2011). Pulpanın canlılığını sürdürebilmesi için restoratif bir materyalin, uygulandığı diş dokusunda toksik etki göstermemesi ve bakteri geçişine engel olacak şekilde hermetik bağlanma sağlaması gerekmektedir. (Demirci ve ark. 2014). Restoratif materyaller ile ilgili yapılan çalışmalar daha çok mekanik, fiziksel ve estetik özelliklerinin karşılaştırılmasına yönelik olmuştur. Bu çalışmada ise güncel restoratif materyallerden olan cam iyonomer içerikli restoratif materyallerin çevre dokular üzerindeki biyoyumluluğunu değerlendirmek amacıyla dental pulpa kök hücreler üzerindeki etkilerinin in vitro ortamda incelenmesi hedeflenmiştir.

Biyoyumluluk, bir maddenin canlı dokular ile kontakta iken zararlı etkiler oluşturmada dokunun biyolojik özellikleri ile uyumlu olabilmesidir. İdeal bir dental materyal oral kavite içerisine uygulandığında oral dokular üzerinde toksik, alerjik, mutajenik ve karsinojenik etkiler göstermemelidir (Zorba ve Yıldız 2007). Restoratif materyallerin hücreler üzerindeki toksik etkilerinin veya biyoyumluluklarının değerlendirilmesinde pek çok yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler in vitro hücre kültür testleri, hayvan deneyleri ve klinik kullanım testleri olarak sıralanabilir. Materyallerin klinik kullanımına geçilmeden önce ilk olarak in vitro sitotoksikite testleri uygulanmaktadır. Materyalin toksik etki göstermediği sonucuna varıldığında materyal subkütanoz dokulara yerleştirilerek lokal doku reaksiyonları incelenir. En son ise hayvan ve insan deneklerde materyale karşı meydana gelen in vivo reaksiyonlar değerlendirilerek materyalin biyoyumlu olup olmadığı sonucuna varılmaktadır (Craig ve ark. 2006; Atalayın ve ark. 2016).

İn vitro hücre kültür testleri, bir materyalin biyolojik dokular üzerindeki sitotoksik etkisini incelemek için sıklıkla kullanılan, özellikle canlı dokuların fizyolojik durumunu yansıtabilme özelliğine sahip olan testlerdir. Bu testlerin kolay ve hızlı uygulanabilmeleri,

tekrar edilebilir olmaları, standardize edilebilmeleri, deney ortamının rahat bir şekilde kontrol edilebilir olması, bireysel faktörlerden etkilenmemeleri ve ucuz olmaları gibi pek çok avantajı mevcuttur. Diğer yöntemlerde ise sonuçların değerlendirilmesinin zor olması, etik açısından tartışmaya açık olması, daha fazla zaman alması ve maliyet bakımından pahalı olması gibi problemlerin varlığı in vitro hücre kültür testlerini dental materyallerin biyouyumluluklarının değerlendirilmesinde birinci basamak haline getirmektedir (Craig ve ark. 2006; Uzun ve Bayındır 2011; Schmalz 1998). Bu çalışmada da restoratif materyallerin hücreler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde in vitro hücre kültür testleri kullanılmıştır.

Hücre kültür çalışmalarında materyallerin biyouyumluluklarının değerlendirilmesinde primer hücre kültürleri veya devamlı hücre hatları kullanılmaktadır. Bu tür çalışmalarda kullanılan hücre tipinin materyalin kullanıldığı alanla doğrudan ilişkili olarak seçilmesi önemlidir. L929, 3T3 (fare fibroblastları), HSC-2, MRC-5 gibi devamlı hücre hatları primer hücrelere göre kolay elde edilebilmeleri ve hızlı çoğalabilmeleri sebebiyle diş hekimliğinde materyallerin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Ülker ve ark. ile Cao ve ark. L929 fare fibroblast hücrelerini, Kolada ve ark. ile Zhou ve ark. insan dişeti fibroblast hücrelerini, Imaizumi ve ark. fare dental pulpa hücrelerini kullanarak materyallerin biyouyumluluklarını değerlendirmişlerdir (Ülker ve ark. 2014; Cao ve ark. 2005; Marczuk-Kolada ve ark. 2017; Zhou ve ark. 2013; Imaizumi ve ark. 2006). Huang ve ark. ise in vitro sitotoksite testlerinin insan dokusuna ait homolog hücreler kullanılarak yapılması gerektiğini vurgulamaktadır (Geurtsen 2000; Huang ve ark. 2002; Huang ve ark. 2006). Primer hücre kültürü izolasyon ve kültür aşamaları oldukça zor ve hassas olmasına rağmen fizyolojik durumu en iyi taklit edebilen ve in vivo şartları daha iyi yansıtabilen deney ortamı oluşturabilmesi nedeniyle sitotoksite çalışmalarında tercih edilmektedir (Schmalz ve Arenholt-Bindslev 2009; Craig ve ark. 2006; Tuncer ve Demirci 2011). Bu olumlu özelliklerden dolayı bu çalışmada insan dental pulpa dokusundan izole edilen primer hücre kültürleri kullanılarak restoratif materyallerin hücreler üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir.

Mezenkimal kök hücreler özelleşmemiş hücreler olup, kendilerini yenileyebilme potansiyeline sahip, farklı tip hücrelere farklılaşabilen hücrelerdir. Bu hücreler dokularda meydana gelen hasarın tamirini salgıladıkları biyoaktif maddeler, immünmodülatör, antiinflamatuvar, antiapoptotik ve anjiyogenik özellikleri sayesinde sağlarlar. Kolay elde

edilebilir olmaları, yüksek çoğalma potansiyelleri, plastisite özellikleri ve dental dokulardan rahatlıkla izole edilebilmeleri sebebiyle diş hekimliği çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadırlar. Dental dokulardan pulpa, periodontal ligament, dişeti, apikal papilla, folikül gibi mezenkimal kök hücreler izole edilebilir (Oyar 2016; Zhang ve ark. 2012). İn vitro biyouyumluluk çalışmalarında dental materyallerin temas halinde oldukları çevre dokular üzerindeki etkilerini in vivo ortama benzer şekilde incelemek amacıyla insan dental dokularından elde edilen kök hücreler son yıllarda yapılan çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bakopolou ve ark. insan süt dişi pulpa kök hücreleri ve insan dental apikal papilla kök hücrelerini, Chrepa ve ark. apikal papilla kök hücrelerini, Gonzales ve ark. insan periodontal ligament kök hücrelerini, Chen ve ark. dental pulpa kök hücrelerini çalışmalarında kullanmışlardır (Bakopoulou ve ark. 2011; Chrepa ve ark. 2017; Collado-Gonzalez ve ark. 2017; Chen ve ark. 2019). Dental pulpa kolay elde edilebilirliği, etik problemler oluşturmaması, yüksek farklılaşma potansiyeli, uzun yaşam süreleri ve dondurulabilirliği gibi avantajları nedeniyle kök hücre çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (Todorović ve ark. 2008). Bu hücrelerin pulpal rejenerasyonu sağlamada odontoblastlara farklılaştığı bildirilmektedir (Chen ve ark. 2019). Huang ve ark. yaptıkları çalışmada dental pulpa kök hücrelerini dentin üzerine ektiklerinde odontoblast benzeri hücrelere değişim gösterdiklerini bildirmişlerdir (Huang ve ark. 2006). Bu çalışmada da in vitro ortamda doku cevabını en iyi yansıtabilen hücreler oldukları için dental pulpa mezenkimal kök hücreleri tercih edilerek restoratif materyallerin in vitro ortamdaki özellikleri incelenmiştir.

Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, dental dokulardan kök hücrelerin elde edilmesi için genellikle 19-25 yaş arası sağlıklı bireylerin herhangi bir patolojik sebebi olmayan çekim endikasyonu konmuş gömük 20 yaş dişleri kullanılmaktadır. Shafiei ve ark. iki farklı kompozitin dental pulpa kök hücre üzerindeki sitotoksitesini inceledikleri çalışmada 20-25 yaş arası sağlıklı bireylerin gömük 20 yaş dişlerinden hücre izole etmişlerdir (Shafiei ve ark. 2014). Trubiani ve ark. adeziv materyallerin dental pulpa kök hücre üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmada 14-16 yaş arası ortodontik nedenle çekilmiş 20 yaş dişlerinden yararlanmışlardır (Trubiani ve ark. 2010). Literatürde pek çok çalışmada kök hücre kaynağı olarak gömük 20 yaş dişlerinin tercih edilmesinin nedenleri olarak bu dişlerin en son gelişim gösteren diş olması nedeni ile hücresel açıdan zengin olmaları ve hücrelerin çoğalma potansiyelleri, gömük olmaları sebebiyle ağız ortamında

kontamine olmayıp steril kalabilmeleri ve klinik ortamında çekim endikasyonunun sık olması sayılmaktadır (D'Aquino ve ark. 2008; Gronthos ve ark. 2000). Bu nedenle restoratif materyallerin dental pulpa mezenkimal kök hücreleri üzerindeki canlılık potansiyellerinin değerlendirildiği bu çalışmada 19-25 yaş arası herhangi sistemik problemi olmayan sağlıklı bireylerin ortodontik nedenlerle çekilen gömük 20 yaş dişleri tercih edilmiştir. Çalışmada bu dişlerin enfekte olmayan, çürüksüz ve tamamen gömük dişler olmalarına dikkat edilerek izolasyon gerçekleştirilmiştir.

Hücrel canlılığın devamlılığı için gömük yirmi yaş dişleri çekildikten sonra uygun koşullar altında laboratuvar ortamına ulaştırılması gerekmektedir (Süzergöz ve ark. 2009). Bu çalışmada da kontaminasyon riskini engellemek amacıyla çekilen dişler antibiyotik içeren özel bir taşıma solüsyonu içerisinde iki saat içerisinde ilgili merkeze ulaştırılmıştır. Literatürde çekilmiş dişlerden pulpa dokusu elde edilmesi için steril aeratör yardımıyla yüksek devirde fissür frezler kullanılarak su soğutması altında diş kesilmesi veya steril gazlı bez ile dişin sarılıp mengene yardımıyla kırılması gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır (Liu ve ark. 2006; Gronthos ve ark. 2000). Bu çalışmada yüksek devirde aeratör kullanımının ısı oluşturmaya nedeni ile pulpanın canlılığına zarar verebilme ve aeratörden gelen suda bulunan bakterilerin pulpa dokusunu kontamine etme riskinden dolayı diş steril gazlı beze sarılıp mengene yardımıyla kırılarak pulpa dokusu elde edilmiştir.

Bu çalışmada dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin izolasyonu ve tanımlanması Gronthos ve ark.'nın 2000 yılında bildirdiği şekilde enzimatik ayrışma yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Bu yöntem dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin izolasyonunda temel yöntem olarak kabul edilmektedir (Gronthos ve ark. 2000). Enzimatik ayrışma yöntemindeki temel amaç hücrelerarası bağların enzimler aracılığıyla koparılıp hücrelerin serbestleşmesi esasına dayanmaktadır (Gronthos ve ark. 2000; Miura ve ark. 2003). Hücreler izole edildikten sonra pasajlama aşamasına geçilmiştir. Bu çalışmada 3. pasaja getirilen hücreler kullanılmış olup artan pasaj sayısının hücrelerde stres oluşturup sitogenetik bozukluklar meydana getireceği bildirilmiştir. Pasaj sayısındaki artma hücrelerin tutunmada azalma gibi karakteristik özelliklerinde büyük oranda değişim meydana getirmektedir. Bu nedenle hücre kültür çalışmalarında üçten fazla pasajlama önerilmemektedir (Rastegar ve ark. 2010).

Bu çalışmada kullanılan restoratif materyallerin günümüz çocuk diş hekimliğinde geniş kullanım alanı olan materyaller olmasına dikkat edilerek seçilmiştir. Kullanılan materyaller cam iyonomer içerikli olup GC Fuji IX, GC EQUIA Forte, APA Cam Karbomer ve APA Esthetic Fill olmak üzere dört farklı restoratif materyaldir. Bu materyallerden APA Esthetic Fill yeni geliştirilmiş bir materyal olup hücreler üzerindeki etkisine dair henüz yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. APA Cam Karbomer, monomer içermeyen nanoflorür hidroksiapatit parçacıkları içeren yeni bir dolgu malzemesidir. Malzemenin nanopartikül yapısı nedeniyle, sıvı ve toz parçacıkları arasındaki temas artmakta, böylece dolgu maddesinin sertliği ve mekanik özellikleri de artmaktadır (Chen ve ark. 2010). APA Cam Karbomer materyalinin insan dental pulpa kök hücreleri üzerindeki etkisini inceleyen literatürde henüz bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Michel ve ark. Cam Karbomer materyalinin peridontal hücreler üzerindeki etkisini kalsiyum silikat materyalleri ile karşılaştırarak incelerken, Ülker ve ark. ise Cam Karbomer materyalinin bovine dental pulpa kök hücreleri üzerindeki etkisini rezin modifiye cam iyonomer simanlar ile karşılaştırarak incelemişlerdir (Michel ve ark. 2017; Ülker ve ark. 2016). GC EQUIA Forte ise bulk fill özellik gösteren küçük ve reaktif silikat parçaları içeren yüksek vizkoziteli cam hibrit restoratif bir materyaldir (GC EQUIA Forte, <https://europe.gc.dental/tr-TR/products/equiaforte>). Ersahan ve ark. GC EQUIA Forte'nin insan dental pulpa kök hücreleri ve L929 fare fibroblast hücreleri üzerindeki, Coşgun ve ark. ise GC EQUIA Forte'nin vero hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini rezin modifiye cam iyonomer siman ve metal içeren cam iyonomer simanlar ile karşılaştırarak incelemişlerdir (Ersahan ve ark. 2019; Coşgun ve ark. 2020). Daha önce literatürde çalışmamızda kullanılan dört farklı cam iyonomer içerikli restoratif materyalin dental pulpa kök hücreleri üzerindeki etkisini birlikte inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Cam iyonomer içerikli restoratif materyallerin dental pulpa kök hücreler üzerindeki canlılık potansiyellerinin değerlendirildiği bu çalışmada gruplar arası farklılıkların doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için tüm örneklerin standart boyutlarda olması önemlidir. Bu durumu sağlayabilmek için çalışmalarda çeşitli boyutlarda çeşitli materyallerden yapılmış kalıplar kullanılmaktadır. Kullanılan bu farklı materyaller plastik, teflon veya polietilen esaslı olabilir. Ancak plastik ve cam esaslı kalıpların restoratif malzemelerden elde edilen salınım sıvılarını etkileyebileceği

bildirilmiştir (Hamid ve Hume 1997). Bu çalışmada ise bu olumsuzlukları elimine etmek için steril teflon kalıplar kullanılmıştır. Işık cihazından yayılan merkezi ışık yoğunluğu, ışık cihazı çevresinden yayılan ışık yoğunluğundan daha fazladır. Bu durum örneklerin merkezi kısmının çevreleyen kısımdan daha fazla polimerize olmasına neden olabilmektedir (Vandewalle ve ark. 2008). Bu çalışmada örneklerin yüzey alanının eşit ışık yoğunluğuna sahip olabilmesi için uç çapı 9 mm olan ışık cihazı kullanılarak iç çapı 8 mm derinliği 2 mm olan steril teflon kalıplarda örnekler hazırlanmıştır. Coşgun ve ark. çalışmalarında 7 mm iç çapında 2 mm derinliğinde steril teflon kalıp, Kong ve ark. ise çalışmalarında 5 mm iç çapında 2 mm derinliğinde polietilen ring kullanmışlardır (Coşgun ve ark. 2019; Kong ve ark. 2009).

Çalışmada kullanılan materyaller üretici firmanın talimatlarına uygun olarak hazırlanmıştır. Ergün ve ark. yaptıkları bir çalışmada ışık cihazının ucu ile restoratif materyal arasındaki mesafenin, materyalin biyouyumluluğu açısından önemli olduğunu bundan dolayı bu mesafenin olabildiğince az olması gerektiğini bildirmiştir. İdeal polimerizasyon gerçekleşmezse diş ile restorasyon arasında bağlanma gücünün azalması, mikrosızıntı ve sitotoksik etkinin oluşması gibi sonuçların meydana gelebileceğini bildirmişlerdir (Ergün ve ark. 2011). Bu nedenle bu çalışmada GC EQUİA Forte, APA Cam Karbomer ve APA Esthetic Fill'e ait örnekler LED ışık cihazı aracılığıyla 1 dk süre ile ışık cihazı ile örnekler arasında 1 mm olacak şekilde polimerize edilmiştir. Ayrıca oluşturulan örneklerde hava kabarcığı oluşmaması açısından teflon kalıp iki cam arasına yerleştirilerek polimerizasyon gerçekleştirilmiştir.

Restoratif materyallerin hücreler üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde direkt veya indirekt yöntemler kullanılmaktadır (Uzun ve Bayındır 2011). Direkt yöntemde hücreler ya doğrudan materyal ile temas etmektedir ya da materyalden elde edilen salınım sıvıları ile temas söz konusudur. İndirekt yöntemde ise materyal ile hücreler arasında agar, filtre şeklinde bir bariyer mevcuttur (Tuncer ve Demirci 2011). Sjögren ve ark. ile Marczuk-Kolada ve ark. milipor kullanarak indirekt yöntem ile materyallerin hücreler üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir (Sjögren ve ark. 2000; Marczuk-Kolada ve ark. 2017). Nooroni ve ark. ise örnekleri kabin içerisinde UV ile steril ettikten sonra üzerine besiyeri ekleyerek 72 saat süre ile inkübasyon sonucu salınım sıvılarını elde etmişlerdir (Nooroni ve ark. 2017). Hücre ile materyal arasındaki temas ne kadar iyi ise in vivo şartlara o kadar yakın sonuçlar oluşturacağı bildirilmektedir (Cao ve ark. 2005). Ancak

diğer bir yaklaşım ise test edilecek materyalin direk olarak hücreler üzerine uygulanmasının klinik ortamı tam anlamıyla yansıtmayacağı yönündedir. Buna neden olarak vücudun savunma sisteminin hasarın şiddetini azaltabileceği gösterilmektedir (Gandolfi ve ark. 2011). Saw ve ark. yaptıkları çalışmada kompozit materyallerinin L-929 hücre hattı üzerindeki toksik etkilerini ekstraksiyon temas testi, direk temas testi, indirek temas testi kullanarak değerlendirmişler ve ekstraksiyon temas testinin en hassas yöntem olduğunu belirtmişlerdir (Saw ve ark. 2005). Bu çalışmada da Nooroni ve ark.'nın yöntemine benzer şekilde salınım sıvıları elde edilerek klinik sonuçların fizyolojik şartlara daha uygun olması sağlanmış ve materyallerin hücreler üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda kontaminasyon riskini en aza indirgeyebilmek adına sterilizasyon filtreleri kullanılarak salınım sıvıları steril hale getirilmiştir. Bu şekilde hem kontaminasyon probleminin önüne geçilmiş hem de materyalin uzakta kalan hücreler üzerindeki etkileri daha sağlıklı şekilde incelenebilmiştir (Cao ve ark. 2005).

Restoratif materyallerin polimerizasyon sonrasında zamana bağlı olarak hücresel canlılıklarında değişim gösterdikleri bilinmektedir. Özellikle materyallerin biyouyumluluklarının değerlendirildiği çalışmalarda farklı inkübasyon sürelerindeki hücresel canlılık düzeylerinin incelenmesi önemlidir. ISO 10993-5 standartlarına göre materyallerin in vitro sitotoksikite yöntemlerinde inkübasyon süresi olarak 37°C' de en az 24 saatlik süre tavsiye edilmektedir. Ayrıca inkübasyon süresinin arttırılması ile hücresel proliferasyonun daha iyi olabileceğine dair çalışmalar da bulunmaktadır (Huang ve ark. 2006; ISO 10993-5 2009; Dahl ve ark. 1994; Vallittu ve Ekstrand 1999). Hii ve ark. iki farklı restoratif materyalin dental pulpa kök hücreler üzerindeki hücresel canlılığını 1. ve 3. gün için değerlendirirken, Ersahan ve ark. beş farklı cam iyonomer simanın dental pulpa kök hücreler ve fare fibroblast kültürü üzerindeki sitotoksik etkilerini 1. 3. ve 7. gün için değerlendirmişlerdir (Hii ve ark. 2019; Ersahan ve ark. 2019). Bu çalışmada da farklı inkübasyon süreleri düşünülerek kullanılan restoratif materyallerin dental pulpa kök hücreler üzerindeki hücresel canlılıkları 1. 3. ve 7. gün için değerlendirilmiştir.

2006 yılında Uluslararası Hücresel Tedavi Derneği (ISCT) tarafından mezenkimal kök hücrelerin diğer hücrelerden farklı olduklarını belirtmek adına çeşitli kriterler belirlenmiştir. Bu kriterler arasında mezenkimal kök hücrelerin farklılaşma potansiyelleri, plastisite yetenekleri ve spesifik yüzey antijenlerinin ekspresyonu

bulunmaktadır. Özellikle mezenkimal kök hücrelerin hematopoetik hücrelerden ayırt edilebilmesi için spesifik yüzey antijenlerinin tespit edilmesi önemlidir. Bu hücrelerin yüzey antijenleri belirlenerek veya farklılaşma potansiyelleri tespit edilerek karakterizasyonları gerçekleştirilmektedir (Dominici ve ark. 2006). Bu çalışmada da dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin spesifik yüzey antijenleri akım sitometri analizi ile belirlenerek karakterizasyon işlemleri yapılmıştır. Buna göre çalışmamızdaki dental pulpa mezenkimal kök hücrelerin pozitif yüzey antijenleri CD73, CD90, CD105 ve CD146 olarak belirlenirken negatif yüzey antijenleri CD45, CD34, CD25, CD28 ve CD14 olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda mezenkimal kök hücrelerin tanımlanmasında farklılaşma potansiyellerinin de belirtilmesi gerekir. Bu çalışmada dental pulpa kök hücrelerin adipojenik, osteojenik ve kondrojenik farklılaşma gösterdikleri görülmüştür.

Dental restoratif materyallerin biyoyumluluklarının değerlendirilmesinde pek çok yöntem kullanılmaktadır. Hücresel canlılığın değerlendirildiği çalışmalarda MTT, MTS, mikronukleus yöntemi, tripan mavisi testi, gibi yöntemler kullanılmıştır. MTT testi, suda çözünebilen tetrazolyum tuzunun renk değişimi ile düşük toksisite değerlerinin incelenmesini sağlar. MTS testinde ise suda çözme prosedürü ortadan kalkmıştır ve MTT'ye göre uygulama prosedürü daha kolaydır. Tripan mavisi testinde ise sadece canlı ve ölü hücre ayrımı yapılabilmektedir (Galluzzi ve ark. 2009). Hücresel canlılığının tespitinde Kolada ve ark. ISO'yu referans alarak MTT yöntemini kullanırken (Marczuk-Kolada ve ark. 2017), Cannella ve ark. hızlı, ucuz, tekrarlanabilir olması sebebiyle MTS yöntemini tercih etmişlerdir (Cannella ve ark. 2019). Bu yöntemler arasından akım sitometri ise diğer yöntemlere göre daha hızlı olması, daha güvenilir sonuçlar vermesi ve daha hassas olması bakımından son yıllarda hücresel canlılığın değerlendirilmesinde önerilen bir yöntemdir (Zhou ve ark. 2013). Bu yöntem ile iki farklı ölüm tipi olan apoptotik ve nekrotik hücre ayrımının yapılabilmesi en büyük avantajları arasındadır. Akım sitometri ile nükleer boyutta değişiklikler meydana gelmeden membrandaki erken dönemde oluşan farklılıklar sırasında bile apoptozis ölçülebilmektedir. Hücrede apoptozis meydana geldiğinde erken dönemde membran yüzeyinde bulunan fosfatidilserin hücre membranının dış yüzeyine transfer olup Anneksin V'e bağlanarak apoptozisin ölçümü yapılabilmektedir (Karaboz ve ark. 2008; Kanev ve Muranlı 2016). Bu çalışmada da daha güvenilir ve hassas sonuçlar vermesi ve erken dönem değişikliklerin daha hızlı belirlenebilmesi bakımından dental pulpa mezenkimal kök

hücreleri Anneksin V ile işaretlendikten sonra akım sitometri analizi kullanılarak canlı, erken apoptotik, geç apoptotik ve nekrotik hücreler değerlendirilmiştir.

Coşgun ve ark. beş farklı cam iyonomer restoratif materyalin in vitro ortamda sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. Çalışmalarında Argion (VOCO, Germany), Zirconomer (Shofu Inc., Japan), EQUIA Forte (GC, Japan), Fuji II LC kapsül (GC, Japan), ve Fuji IX GP kapsül'ü (GC, Japan) kullanmışlardır. Sitotoksik değerlendirme için materyallerden elde edilen salınım sıvıları devamlı hücre hatlarından vero hücrelerine temas ettirilerek 12, 24, 48 ve 72 saat sürelerle inkübe edilmiştir. Çalışmada canlı hücrelerin kalorimetrik ve kantitatif sayımı MTT testi ile yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda 24 ve 48 saat sonunda beş farklı cam iyonomer restoratif materyal arasında kontrol grubuna kıyasla hücresel canlılık açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. 72 saat sonunda ise kontrol grubu ile diğer dört farklı cam iyonomer restoratif materyal grupları arasında anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür. Zirconomer, EQUIA Forte, Fuji II LC kapsül ve Fuji IX GP kapsülün canlı hücre sayılarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir. 72 saat sonunda invert mikroskop ile hücreler incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla hücre morfolojisinde herhangi bir patolojik farklılık olmamasına rağmen, canlı hücre sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir farkla daha düşük olduğu bulunmuştur. Başka bir deyişle, bu dört cam iyonomer restoratif materyalin salınım sıvılarının, süre ile ilişkili olarak canlı hücre sayısında bir azalmaya yol açtığı belirlenmiştir. 72 saat sonunda Argion ile kontrol grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı dolayısıyla toksik bir etki göstermediği sonucuna varılmıştır. Coşgun ve ark.'ları cam iyonomer restoratif materyallerden salınan F^- , Al^{+3} ve Sr^{+2} gibi iyonların konsantrasyonlarının toksik potansiyellerini belirlediğini belirtmişlerdir. Ayrıca bazı cam iyonomer restoratif materyallerin yüksek konsantrasyonlarda DNA hasarı ve hücre ölümüyle sitotoksik ve genotoksik etkiler oluşturabileceği bildirilmiştir (Coşgun ve ark. 2019). Bu çalışmada ise materyallerden elde edilen salınım sıvıları primer hücrelerden olan dental pulpa mezenkimal kök hücrelerine temas ettirilerek akım sitometri analizi ile değerlendirilmiştir. Canlı hücre parametresi açısından 1. gün sonunda Coşgun ve ark.'larının yaptığı çalışmanın sonucundan farklı olarak EQUIA Forte ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur. 3. ve 7. gün sonunda ise EQUIA Forte ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık

mevcuttur. Aynı zamanda bu çalışmaya benzer şekilde çalışmamızda zamana bağlı olarak materyallerin canlı hücre sayılarında azalma görülmüştür.

Ersahan ve ark. yaptıkları çalışmada farklı cam iyonomer simanların dental pulpa ve L929 fare fibroblast hücre kültürleri üzerindeki sitotoksik etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında 3 adet yüksek vizkoziteli cam iyonomer siman (GC EQUIA Forte, Riva Self Cure, IonoStar Plus), 3 adet rezin modifiye cam iyonomer siman (Photac Fil, Riva Light Cure, Ionolux) ve 1 adet metal ile zenginleştirilmiş cam iyonomer siman (Riva Silver) kullanmışlardır. Restoratif materyallerin 24, 48 ve 72 saat sonundaki hücresel canlılıkları MTT ile değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda restoratif materyallerin L929 fare fibroblast hücreleri üzerindeki etkisini değerlendirdiklerinde Ionolux materyalinin, hücresel canlılığı kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde düşürürken, Riva Self Cure, Riva Silver ve GC EQUIA Forte materyallerinin, kontrol grubuna kıyasla önemli derecede hücresel proliferasyona neden olduğunu bildirmişlerdir. Photac Fil, Riva Light Cure, IonoStar Plus materyalleri ve kontrol grubu arasında hücresel canlılık açısından fark bulunamamıştır. Materyallerin L929 fare fibroblast hücreleri üzerindeki gruplar arasındaki hücresel canlılık değerleri; Riva Self Cure = Riva Silver > GC EQUIA Forte > IonoStar Plus = Riva Light Cure = Photac Fil > Ionolux şeklindedir. Ayrıca, inkübasyon süresinin (24 saat / 48 saat / 72 saat) test edilen grupların hiçbirisi için hücresel canlılık üzerinde anlamlı bir etkisi olmamıştır. Restoratif materyallerin dental pulpa hücreleri üzerindeki etkisinde ise; Ionolux materyali, kontrol grubuna ve test edilen diğer tüm cam iyonomer simanlara kıyasla hücresel canlılığı önemli ölçüde azaltırken, GC EQUIA Forte ve Riva Silver materyalleri kontrol grubuna kıyasla hücresel proliferasyonu indüklemiştir. Kontrol grubu ve test edilen diğer cam iyonomer simanlar arasında hücresel canlılık açısından herhangi bir fark bulunmamıştır. Ayrıca inkübasyon süresinin (24 saat / 48 saat / 72 saat) teste tabi tutulan grupların hiçbirisi için hücresel canlılık üzerinde anlamlı bir etkisi olmamıştır. L929 fare fibroblast hücreleri ve dental pulpa hücrelerinin Ionolux, Riva Self Cure ve Riva Silver materyalleri için hücresel canlılık yanıtları farklılık göstermiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Riva Self Cure ve Riva Silver materyalleri 24 saat, 48 saat ve 72 saat inkübasyondan sonra L929 fibroblast hücrelerinde anlamlı derecede daha yüksek canlılık görülürken, dental pulpa hücrelerinin canlılığında hiçbir fark bulunamamıştır. Ionolux materyali, L929 fibroblast hücreleri üzerinde hafif ile orta dereceli sitotoksik etki gösterirken, dental pulpa hücreleri

üzerinde sitotoksik etki göstermemişlerdir. Çalışmada GC EQUIA Forte materyali hem L929 fare fibroblast hücreleri hem de dental pulpa hücreleri üzerinde kontrol grubuna kıyasla hücreyel canlılığı arttırmıştır. GC EQUIA Forte materyali için her iki hücre grubu benzer yanıtlar vermiştir (Ersahan ve ark. 2019). GC EQUIA Forte, yüksek vizkoziteli bir cam iyonomer siman olup, bu simanların iyi biyouyumluluk özellik göstermelerinin, küçük partikül yapısına sahip cam doldurucular içermelerine, düşük düzeyde egzotermik reaksiyon göstermelerine, hızlı nötralize olabilmelerine ve iyi huylu iyonların salınımına bağlı olabileceği düşünülmektedir (Nicholson ve Czarnecka 2008). Ersahan ve ark. yaptıkları çalışmada yüksek vizkoziteli cam iyonomer simanlar ile metal ile güçlendirilmiş cam iyonomer simanların, rezin modifiye cam iyonomer simanlara göre hücreyel canlılık açısından daha iyi sonuçlar verdiklerini belirtmişlerdir. Aynı zamanda L929 fare fibroblast hücreleri, dental pulpa hücrelerine göre Ionolux, Riva Self Cure, Riva Silver'a karşı daha duyarlı sonuçlar göstermiştir. Bu çalışmada ise 1. gün için GC EQUIA Forte materyali dental pulpa mezenkimal kök hücreleri üzerinde kontrol grubu ve cam karbomer materyaline kıyasla daha düşük oranda hücreyel canlılık gösterirken, geleneksel cam iyonomer siman olan GC Fuji IX GP ile aralarında istatistiksel bir fark görülmemiştir. Ersahan ve ark.'larının çalışmasına benzer şekilde GC EQUIA Forte materyali için günler arasında hücreyel canlılık açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Ersahan ve ark. 2019).

Nooroni ve ark. yaptıkları çalışmada, nano-hidroksiapatit-silika cam iyonomer simanın insan dental pulpa kök hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini, geleneksel cam iyonomer siman ve rezin modifiye cam iyonomer siman ile karşılaştırmalı olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmada Fuji IX GP, Fuji II LC ve nano-hidroksiapatit-silika cam iyonomer simana ait salınım sıvıları 3,125, 6,25, 12,5, 25, 50, 100 ve 200 mg / ml olacak şekilde yedi farklı konsantrasyonda oluşturulmuştur. Hücreyel canlılık 24 saat ve 72 saat sonunda MTT testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda, tüm konsantrasyonlarda 24 ve 72 saat sonunda geleneksel cam iyonomer siman olan Fuji IX GP'nin en yüksek hücreyel canlılık gösteren materyal olduğu, rezin modifiye cam iyonomer siman olan Fuji II LC'nin ise en düşük hücreyel canlılık gösteren materyal olduğu görülmüştür. Bulgular, Fuji IX GP'den salınan bileşenlerin hafif derecede veya hiç toksik etki göstermediğini belirtirken, Fuji II LC'den salınan bileşenin artık monomer olan HEMA olması sebebiyle toksik bir etki gösterdiğini belirtmiştir. Monomer

içermeyen nano-HA-silika cam iyonomer simanın ise orta derecede sitotoksik etki gösterdiğini buna sebep olarak da nano-HA-silika cam iyonomer hazırlanımı esnasında poliakrilik asit ile reaksiyona girmesi için daha az cam parçacıkları mevcut olabileceği buna bağlı olarak da reaksiyona girmeyen serbest halde kalan poliakrilik asit bileşenlerinin sitotoksik etki gösterebileceği belirtilmiştir (Nooroni ve ark. 2017).

Hii ve ark. yaptıkları çalışmada geleneksel cam iyonomer siman ile nano-HA-silika-cam iyonomer simanların dental pulpa kök hücreleri üzerindeki sitotoksosite ve hücresel bağlanma özelliklerini karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında nano-HA-silika-cam iyonomer siman ile Fuji IX GP'i materyalini altı farklı konsantrasyon ile değerlendirmişlerdir. Restoratif materyallerin dental pulpa kök hücreler üzerindeki 72 saat sonundaki sitotoksiteleri MTT ile 24 ve 72 saat sonundaki hücresel bağlanma özellikleri ise SEM ile karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda konsantrasyon derecesi arttıkça restoratif materyallerin hücreler üzerindeki canlılık aktivitesinin azaldığı görülmüştür. 3,125 ve 6,25 mg / ml konsantrasyonlarında, nano - HA - silika - cam iyonomer simanın toksik etki göstermediği, Fuji IX GP materyalinin ise bu konsantrasyonlarda hafif veya toksik olmayan etki gösterdiği görülmüştür. Her iki materyalin de 12,5, 25, 50 ve 100 mg / ml konsantrasyonlarda hafif toksik etki, 200 mg/ml'de ise orta derecede toksik etki gösterdiği görülmüştür. Genel olarak, nano - HA - silika - cam iyonomer siman, 6,25 ve 12,5 mg / ml hariç tüm konsantrasyonlarda Fuji IX GP materyalinden daha iyi hücresel canlılık değerleri göstermiştir ancak sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildir. Her iki materyal de dental pulpa kök hücrelerinin bağlanmasını ve çoğalmasını desteklemiştir. Yapılan çalışmalar, geleneksel cam iyonomer simana HA partiküllerinin eklenmesinin florürün serbet salınımını, fiziksel özelliklerini, dişe olan adezyonunu geliştirdiğini bildirmiştir. Çalışmada konsantrasyon değeri arttırıldıkça restoratif materyallerden salınan bileşenlerin daha fazla sitotoksik etkiye neden olabileceğini belirtilir. Hii ve ark. yaptıkları çalışmanın bulguları aynı materyalleri değerlendiren Nooroni ve ark. yaptıkları çalışmanın bulguları ile uyuşmamaktadır. Buna, çalışmalarda farklı kültür mediumlarının kullanılmasının neden olabileceği belirtilmiştir. Nooroni ve ark. mezenkimal kök hücre bazal mediumunu kullanırken, Hii ve ark. ise daha ekonomik olan a-DMEM'i kullanarak sitotoksositeyi dental pulpa kök hücreleri üzerinde değerlendirmişlerdir (Nooroni ve ark. 2017). Bu çalışmada ise farklı konsantrasyonlar yerine farklı günler arasında akım sitometri analizi

ile restoratif materyallerin hücreler üzerindeki canlılık aktiviteleri karşılaştırılmıştır ve geleneksel cam iyonomer siman olan Fuji IX GP materyalinin dental pulpa kök hücreler üzerindeki canlılık değerleri zaman içinde azalmıştır ancak istatistiksel olarak günler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Hii ve ark. 2019).

Michel ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada dört kalsiyum silikat materyalinin, bir rezin modifiye cam iyonomer siman materyalini ve cam karbomer materyalinin insan primer diş eti fibroblast hücreleri, alveolar osteoblast hücreleri ve insan osteoblast hücre hattı üzerindeki etkilerini karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında kalsiyum silikat materyali olarak ProRoot MTA, Harvard MTA OptiCaps, Biodentine, EndoSequence Root Repair, rezin modifiye cam iyonomer siman olarak GC Fuji II LC materyali ve GCP Cam Karbomer materyallerini kullanmışlardır. Primer hücre olarak insan diş eti fibroblast hücreleri, alveolar osteoblast hücreleri, devamlı hücre hattı olarak ise insan osteoblast hücreleri kullanılmıştır. Çalışmada MTS kullanılarak 1 ve 24 saat sonundaki sitotoksosite ile 4, 24, 48 ve 72 saat sonundaki hücresel proliferasyon değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda 1 saat sonunda kontrol grubuna göre kalsiyum silikat materyalleri insan diş eti fibroblast (HGF) hücreleri üzerinde % 71-81 oranında, insan alveolar osteoblast (HAO) hücreleri üzerinde % 80-82 oranında hücresel canlılık göstermiştir. GC Fuji II LC materyalinin, HGF hücreleri üzerinde % 64 oranında, HAO hücreleri üzerinde % 56 oranında hücresel canlılık gözlemlendiği bildirilmiştir. GCP Cam Karbomer materyali ise HGF hücreleri üzerinde % 59-64 oranında, HAO hücreleri üzerinde % 67-68 oranında hücresel canlılık gözlemlenmiştir. 24 saat sonunda ise kalsiyum silikat materyallerine maruz kalan hücrelerde hücresel canlılık artarken, GC Fuji II LC (% 43 HGF, % 56 HAO) ve GCP Cam Karbomer (% 18 HGF, % 40 HAO) materyalleri için azalmıştır. Kalsiyum silikat materyalleri ve GC Fuji II LC materyali her iki hücre tipi için de eşit derecede adezyon gösterirken GCP Cam Karbomer materyali diğerlerine göre daha az hücresel canlılık ve adezyon göstermiştir. Hiçbir materyal spesifik olarak hücresel proliferasyonu uyarmamıştır. Mevcut çalışmada GCP Cam Karbomer materyalinin periodontal hücreler üzerinde kalsiyum silikat materyallerine göre 24 saat sonunda belirgin sitotoksosite gösterdiği görülmüştür. Bu durumu GCP Cam Karbomerin polimerizasyon sonrasında bile potansiyel olarak sitotoksik bileşenler sızdırmasıyla ve GCP Cam Karbomer materyalinin siloran bazlı bir materyal olması ve siloran esaslı kompozitlerin, metakrilat esaslı kompozitlerden daha düşük oranda bile olsa in vitro olarak ciddi başlangıç

sitotoksik etkiler göstermesiyle açıklamışlardır. Aynı zamanda çalışmada GC Fuji II LC materyalinin GCP Cam Karbomer materyaline göre 24 saat sonunda daha fazla hücresel canlılık göstermesinin, yüzey topografyası ve yüzey pürüzlülüğü ile ilişkili olabileceğini, bu iki faktörün hücresel etkileşimde önemli bir rol oynadığını belirtmişlerdir (Michel ve ark. 2017). Schweikl ve ark. yaptıkları çalışmada yüzey topografyasının bir biyometaryal ile temas eden hücrelerin fonksiyonel aktivitesini belirlemede önemli bir etken olacağını, hücrelerin pürüzsüz yüzeylerde daha iyi yayılım göstereceğini, pürüzlü yüzeylerde ise daha küçük görünüme sahip olabileceğini belirtmişlerdir (Schweikl ve ark. 2007). Bu çalışmada ise APA Cam Karbomer materyali diğer restoratif materyallere göre 1. 3. ve 7. gün sonunda dental pulpa kök hücreleri üzerinde daha yüksek hücresel canlılık değerleri göstermiştir. APA Cam Karbomer materyalinin daha yüksek canlılık değerlerine sahip olmasını, polimerizasyon sonrası salınan bileşenlerin diğer restoratif materyallere göre hücresel canlılığı negatif yönde daha az oranda etkilemesi sebebiyle veya içeriğindeki partiküllerin daha pürüzsüz yüzeylere sahip olması nedeniyle olabileceğini düşünmekteyiz.

Collado-Gonzalez ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada GC EQUIA Forte ve Voco Ionostar Molar cam iyonomer içerikli restoratif materyallerin dental pulpa mezenkimal kök hücreler üzerindeki sitotoksitelerini değerlendirmişlerdir. 72 saat sonundaki hücresel canlılık MTT ile hücresel apoptoz ve nekroz değerleri Anneksin V/ 7AAD kullanılarak akım sitometri ile incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda GC EQUIA Forte ile Voco Ionostar Molar materyalleri arasında hücresel canlılık, apoptoz ve nekroz değerleri arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Ancak GC EQUIA Forte materyalinin dental pulpa mezenkimal kök hücreleri üzerinde Voco Ionostar Molar materyaline göre daha iyi biyolojik cevaplar meydana getirdiği sonucuna varılmıştır. Bir materyalin pH aralığı, pulpal cevapla ilişkili olarak önemli bir fiziksel özelliktir. Çalışmada kullanılan materyallerin (7,60-7,63) pH aralığı kontrol grubuna (7,58) göre daha yüksektir. Ancak hücresel canlılık açısından aralarında anlamlı farklılık görülmemiştir. (Collado-Gonzalez ve ark. 2017). Bu çalışmada da benzer şekilde restoratif materyallerin canlılık değerleri primer dental pulpa kök hücreleri üzerinde Anneksin V/ 7AAD kullanılarak akım sitometri ile incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda APA Cam Karbomer materyali diğer restoratif materyallere göre daha iyi hücresel canlılık değerleri göstermiştir. Bu durum

APA Cam Karbomer materyalinin diğerlerine göre daha yüksek pH aralığına sahip olması ile ilişkili olabilir.

Restoratif materyallerin hücreler üzerindeki canlılık seviyelerinin değerlendirilmesinde yapılan çalışmalar pek çok etkenin varlığına dikkat çekmektedir. Bunlar materyallerin pH seviyeleri, flor salınımları, içeriklerindeki iyon konsantrasyonları şeklinde sayılabilmektedir (Schmid-Schwap ve ark. 2009). Yapılan bazı çalışmalarda düşük pH seviyesinin materyallerin sitotoksitesinde etkili olduğunu ve pH seviyesindeki değişikliğin hücresel yaralanmayı indüklediğini bildirmişlerdir. Consiglio ve ark. yaptıkları çalışmada pH seviyesindeki azalmanın hücresel protein sentezi üzerinde zararlı bir etki oluşturduğunu bildirmiştir (Consiglio ve ark. 1998). Geleneksel cam iyonomer simanın yapısında bulunan poliakrilik asit sebebiyle bu restoratif materyallerin çevresel doku pH'sını düşürdükleri ve pulpaya zarar verdikleri bildirilmiştir (Stanislawski ve ark. 1999). Bu çalışmada da geleneksel cam iyonomer siman olan Fuji IX GP materyalinin ortalama hücresel canlılık değeri diğer restoratif materyallere göre daha düşüktür. Bu durum içeriğindeki asitten kaynaklanıyor olabilir. Ancak yapılan bir başka in vitro çalışmada ise sekiz farklı cam iyonomer siman materyalinin tavşan dental pulpa hücreleri üzerindeki sitotoksitesileri değerlendirilmiş ve sitotoksitenin sadece düşük pH sebebiyle olmadığı sonucuna varılmıştır (Müller ve ark. 1990). Keenan ve ark. yaptıkları çalışmada pH aralığının 6 ile 7 arasında olmasının 1 ve 7 gün sonrasındaki osteoblast ve fibroblast hücrelerinin canlılığını etkilemediğini bildirmiştir (Keenan ve ark. 2016). Lan ve ark. pH'nın 6.0'dan yüksek olmasının 3 saat içinde insan dişeti fibroblastlarının önemli hücre ölümüne yol açmadığını göstermiştir (Lan ve ark. 1999). Hirose ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada ise ekstrasellüler pH değişiminin dental pulpa kök hücreler üzerindeki etkisini incelemişler ve asidik ekstrasellüler pH durumunun dental pulpa kök hücrelerin proliferasyonunun durması ve hücresel ölüm ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Hirose ve ark. 2016).

Restoratif materyallerin içeriklerinde bulunan iyon çeşitleri ve konsantrasyonlarının hücreler üzerindeki sitotoksite değerlendirilmesinde önemli olduğu bildirilmiştir. Kanjevac ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada yedi farklı cam iyonomer siman materyalinin eksfoliyé süt dışından elde edilen kök hücreler (SHED) üzerindeki sitotoksitesilerini değerlendirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda cam iyonomer simanların sitotoksitesilerinin içeriklerinde bulunan florür, alüminyum ve stronsiyum

iyonlarının konsantrasyonları ile ilişkili olduğunu, en toksik etki gösteren materyal olarak Fuji Plus, Vitrebond ve Fuji VIII materyallerinin diğerlerine göre en yüksek oranda florür salgıladıklarını, alüminyum ve stronsiyum iyonu konsantrasyonu ile SHED üzerindeki sitotoksosite arasında herhangi bir korelasyon bulunamadığı bildirilmiştir (Kanjevac ve ark. 2015). Kanjevac ve ark.'nın 2015 yılında yapmış olduğu çalışma, 2012 yılında yapmış olduğu çalışmayı destekler nitelikte olup, aynı materyalleri kullanarak dental pulpa kök hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerini değerlendirmiş ve florür salınımı yüksek olan materyallerin daha toksik etkiler gösterdiklerini bildirmişlerdir (Kanjevac ve ark. 2012). Jantova ve ark. yaptıkları çalışmada Florapatit (FA), Hidroksiapatit (HA) ve Florahidroksiapatit (FHA) yapılarının fare fibroblast hücreleri (NIH-3T3) üzerindeki yanıtlarını karşılaştırmışlar ve flor yüklenmiş biyomateryal ürünlerinin (FHA ve FA) saf hidroksiapatitten (HA) daha yüksek sitotoksositeye neden olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda yapılan akım sitometri analizinde FHA ve FA'nın NIH-3T3 hücrelerinin hücresel döngüsünü etkilediğini bildirmişlerdir. 72 saat sonrasında her iki biyomateryal, G0 / G1 fazında hücre sayısının artmasını, G2 / M ve S fazlarında hücre sayısının özellikle azalmasını indüklemiştir. HA herhangi bir hücre fazını etkilememiştir (Jantova ve ark. 2009). Consiglio ve ark. yaptıkları çalışmada cam iyonomer simanların insan diş eti fibroblast hücreleri üzerindeki protein sentezine olan etkilerini değerlendirmişler ve protein sentezi üzerinde inhibitör etki oluşturan etkenlerden birini florür konsantrasyonu olarak bildirmişlerdir. Florür konsantrasyonu arttıkça hücrelerin protein sentezleri negatif yönde etkilenmiştir (Consiglio ve ark. 1998). Chang ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada florür iyonunun insan dental pulpa kök hücreleri üzerindeki sitotoksitesini değerlendirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda florürün insan dental pulpa kök hücrelerinin büyümesini, proliferasyonunu, mitokondriyal aktivitesini ve protein sentezini inhibe ettiğini ve meydana gelen bu sitotoksik etkinin doz ve zamana bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda in vivo olarak dentin yapısı ve pulpal dolaşımın pulpayı florürün etkisinden koruduğunu bu sebepten gerçek anlamda ne kadar florürün pulpa dokusuna etki ettiğini belirlemenin zor olacağını belirtmişlerdir. Ancak çalışmada çok düşük florür konsantrasyonunun bile pulpa hücrelerinde sitotoksik seviyeye ulaşabileceği bulunmuştur. Bu nedenle derin kaviterlerde cam iyonomer simanların pulpa dokusu üzerindeki florür salınım etkilerini in vitro ve in vivo olarak netleştirmek için kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır (Chang ve ark. 2001). Yapılan literatür araştırmasında cam iyonomer simanların biyouyumluluklarının değerlendirilmesinde florür salınımının etkili

olduğu ve yüksek florür konsantrasyonunun, anöploid hücre hattı ve insan diploid hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Oguro ve ark. 1982). Wiegand ve ark. yaptıkları bir çalışmada GC Equia Forte materyalinin diğer cam iyonomer simanlara göre daha fazla florür iyonu salınımı yaptığını bunun sebebi olarak da Ca^{+2} iyonunun, florür salınım hızını arttıran Sr^{+2} ile yer değiştirmesi olduğunu bildirmektedir (Wiegand ve ark. 2007). Bu çalışmada da kullanılan GC EQUIA Forte'nin dental pulpa kök hücreler üzerindeki toplam ortalama canlı hücre sayısı APA Cam Karbomer göre daha düşüktür. Diğer materyallerle ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Restoratif materyallerden salınan iyonların hücreler üzerindeki etkisini değerlendiren pek çok çalışma bulunmaktadır. Stanislawski ve ark. yaptıkları çalışmada cam iyonomer simanların içeriğinde bulunan Al^{+3} ve Sr^{+2} iyonlarının dental pulpa hücreleri üzerindeki sitotoksitelerini değerlendirmişler ve Al^{+3} ile Sr^{+2} seviyelerinin dental pulpa hücrelerinin canlılığına zarar vermeyecek kadar düşük olduğunu bildirmiştir. Bu yazarların görüşüne göre sitotoksiteden sorumlu ana faktör bakır ve gümüş iyonlarının varlığı olmuştur (Stanislawski ve ark. 1999). Majd ve ark. cam iyonomer simanların içeriğinde bulunan metal iyonlarının kültürlenmiş hücreler üzerinde oksidatif stres ve sitotoksositeye neden olabileceğini bildirmişlerdir (Majd ve ark. 2003). Chen ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada modifiye edilmiş cam iyonomer siman ile geleneksel cam iyonomer simanın (GCIS) odontoblast benzeri hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışma grupları, geleneksel cam iyonomer siman, MTA ile modifiye edilmiş GCIS (M-GCIS), Wollastonite (doğal kalsiyum silikat) ile modifiye edilmiş GCIS (W-GCIS) ve MTA olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda MTA'nın en az toksik materyal olduğu, GCIS'nin en sitotoksik etki gösterdiği ve M-GICS ile W-GICS'nin geleneksel GIC ile karşılaştırıldığında azalmış bir sitotoksosite gösterdiği görülmüştür. Çalışmada kültür ortamındaki her bir materyalin pH seviyeleri ve iyon konsantrasyonları sitotoksosite bulguları ile ilişkilendirilmiştir. Geleneksel cam iyonomer siman, gruplar arasında en düşük pH seviyesini gösterse de, pH seviyesi 6,3'ün üzerindedir. Önceki çalışmalar pH'nın 6.0'ın üzerinde olmasının 3 saat içerisinde insan dişeti fibroblast hücreleri üzerinde önemli düzeyde hücre ölümüne yol açmadığını bildirmiştir. Bu nedenle geleneksel cam iyonomer simanların diğerlerine göre daha düşük pH'ya sahip olması tek başına sitotoksitenin ana nedeni olarak belirtilmemiştir. Çalışmada sitotoksitenin geleneksel cam iyonomer siman içeriğinde bulunan F, Ca, Al,

Si ve Sr gibi iyonlardan kaynaklanmadığı çünkü konsantrasyonlarının oldukça düşük olduğu bildirilmiş ve asıl toksik etkinin salınan organik bileşiklerden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Chen ve ark. 2016). Bu çalışmada da en düşük hücresel canlılık değeri geleneksel cam iyonomer siman olan Fuji IX GP olarak belirlenmiştir.

Collado-Gonzalez ve ark. çalışmalarında EDX analizi kullanarak Equia Forte ve Ionostar Molar materyallerinin içeriklerini değerlendirmişlerdir. Oksijen, flor, alüminyum, silikon, fosfor, potasyum ve stronsiyum varlığı her materyalde farklı yüzdelerde tespit edilmiştir; Equia Forte materyalinde karbon bulunmazken Ionostar Molar materyalinde büyük yüzdeyi oluşturduğu görülmüştür. Her iki materyalinde alüminyum içerdiği ancak Equia Forte materyalinde daha yüksek oranda flor varlığı bildirilmiştir. Bir başka çalışmada da restoratif materyallerin içeriklerinde bulunan alüminyumun flor iyonu ile ilişkili olabileceği ve toksik etkileri indükleyebileceği bildirilmiştir (Nicholson ve Czarnecka 2009). Ancak çalışmanın sonucunda Equia Forte materyalinin Ionostar Molar materyaline göre daha biyouyumlu olduğu bu nedenle cam iyonomer simanların oluşturduğu sitotoksik etkilerin iyonik iyonlardan değil, organik bileşiklerden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır (Collado-Gonzalez ve ark. 2018).

Çelik ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada en sık kullanılan dental restoratif materyallerin insan dişeti fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik ve oksidatif etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında mikrohibrit kompozit olarak Filtek Z250, kompomer olarak Dyract XP, cam iyonomer olarak Fuji IX GP ve amalgam alaşımı olarak Cavex Avalloy kullanılmıştır. Çalışmada primer hücrelerden yararlanılmış olup hücre canlılık değerlendirilmesi nötral kırmızı testi ile yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda, materyaller arasındaki hücre canlılık sıralaması Filtek Z250 < Fuji IX < Cavex avalloy < Dyract XP şeklindedir. Tüm materyallerin hücre canlılık seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. Cam iyonomer ve kompozit materyallerinin, amalgam ve kompomer materyaline göre daha sitotoksik olduğu görülmüştür. Yapılan pek çok çalışma cam iyonomer simanın pulpa da inflamatuvar bir cevap oluşturup nekrotik bir alan meydana getirdiğini, cam iyonomer simanın tozunda bulunan Al, Ca, Na gibi metal iyonlarının canlı hücreler üzerinde toksik bir etki oluşturmadığını asıl toksik etkinin likit kısmında bulunan poliakrilik asitten kaynaklandığını belirtmektedir. Toz ve likit karışımı tamamlandıktan sonra başlangıç aşamasında cam iyonomer siman yüksek asidik karakterdeyken (pH:1.6–3.7), sertleşme

aşamasının tamamlanması ile yüksek asidik karakter azalmaya başlar (pH: 5.4–7.3). Çalışmada cam iyonomer simanın toksik etkisinin 7. gün sonunda azalmaya başlamasının nedeni olarak sertleşme reaksiyonunun tamamlanmasından sonra asiditenin azalması şeklinde açıklanmaktadır (Çelik ve ark. 2019). Bu çalışmada da kullanılan Fuji IX GP materyali, diğer restoratif materyallere göre 1. 3. ve 7. gün sonunda en düşük canlı hücreye sahip olan materyaldir.

Marczuk - Kolada ve ark. yaptıkları çalışmada, 13 farklı cam iyonomer simanın insan dişeti fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında; Argion Molar, Fuji Triage, Chemfil Molar, Ionofil Molar AC Quick, Fuji IX GP, Fuji IX Extra, Fuji IX Fast, Riva Silver, Ketac Silver, Ketac Molar, Ketac Fill Plus ve Riva SC materyallerini kullanmışlardır. Sitotoksisite değerlendirmesinde MTT testinden yararlanmışlardır. Çalışmanın sonucunda, 13 materyalden hiçbiri yüksek veya orta düzeyde sitotoksik etki göstermemiştir. Tüm cam iyonomer simanların gösterdiği hücresel canlılık değeri % 60'ı aşmıştır. Sadece düşük düzeyde sitotoksik etki gösterenler; geleneksel cam iyonomer simanlardan Fuji IX GP, Fuji IX Extra ile gümüş ile güçlendirilmiş cam iyonomer simanlardan olan Argion Molar ve Riva Silver'dır. Argion Molar'ın sitotoksik etkileri Fuji Triage, Chemfil Molar ve Ionofil Molar AC Quick'dan anlamlı derecede daha güçlüdür. Fuji IX GP ve Fuji IX Extra, Chemfil Molar'dan ve Ionofil Molar AC Quick'dan anlamlı derecede daha güçlü toksik etki göstermektedir (Marczuk-Kolada ve ark. 2017). Daha önceki geleneksel cam iyonomer simanların biyolojik etkilerini değerlendiren çalışmalar, bu tür cam iyonomer simanların düşük sitotoksisite ile karakterize olduklarını bildirmişlerdir (Lan ve ark. 2003; De Souza Costa ve ark. 2003). Bu çalışmada da kullanıldığımız geleneksel cam iyonomer siman olan GC Fuji IX GP materyali diğer materyallere göre daha düşük hücresel canlılık değerleri göstermiştir. Marczuk-Kolada ve ark. düşük toksisitenin nedeni olarak; düşük pH seviyesi ve salınan çeşitli bileşenlerin etkisi olduğunu vurgulamıştır. Kan ve ark. yaptıkları çalışmada iki rezin modifiye cam iyonomer simanın, bir geleneksel cam iyonomer simanın ve bir kompozit rezinin flor salınımını ve sitotoksitesini değerlendirmişler ve çalışmanın sonucunda rezin modifiye cam iyonomer simanlardan birinin diğerlerine göre anlamlı derecede daha yüksek sitotoksik etki gösterdiğini, diğer rezin modifiye cam iyonomer siman ve geleneksel cam iyonomer simanın ise flor salınımlarının kompozit rezin ve daha toksik olan rezin modifiye cam iyonomer simana göre daha fazla olduğunu

olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada tek başına flor salınımının sitotoksik etkinin oluşmasında etkili olmadığını başka faktörlerin de sitotoksitenin oluşumunda etkili olabileceğini belirtmişlerdir (Kan ve ark. 1997).



6. SONUÇLAR

Pedodontide kullanılan güncel restoratif materyallerin insan dental pulpa kök hücreleri üzerindeki hücresel canlılığının akım sitometri ile değerlendirildiği bu çalışmada şu sonuçlar elde edilmiştir.

1. Restoratif materyal grupları arasında hücresel canlılık değeri sırasıyla APA Cam Karbomer > APA Esthetic Fill > GC EQUIA Forte > GC Fuji IX GP materyali olarak sıralanmaktadır.
2. En yüksek hücresel canlılık değeri APA Cam Karbomer materyaline aittir. Diğer restoratif materyal grupları arasında ise anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.
3. Restoratif materyal grupları arasında erken ve geç apoptoz bulguları açısından anlamlı bir farklılık yoktur.
4. Ölü hücre değerleri açısından materyaller GC Fuji IX GP > GC EQUIA Forte > APA Esthetic Fill > APA Cam Karbomer olarak sıralanmaktadır.
5. En yüksek ölü hücre değeri GC Fuji IX GP materyaline aittir.
6. Çalışmada materyallerin hücresel canlılık değerleri, materyallerin kültür medyumundaki pH seviyelerine, iyon salınımlarına, salınan iyonların konsantrasyonlarına, sürelerine bağlı olabilir. Bu sebepten bu çalışmada materyallerin içeriklerine ait herhangi bir kimyasal analiz yapılamadığından dolayı ileriki dönmelerde materyallerin içerikleri, konsantrasyonları, pH seviyeleri ile sitotoksisite bulgularının ilişkilendirildiği daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Akşit, H., Bildik, A. (2008). Apoptozis. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **19(1)**, 55-63.
- Al-Badry, I. A., Kamel, F. M. (1994). Clinical use of glass ionomer cement: a literatüre review. *The Saudi Dent J*, **6**, 107-116.
- Alaçam, T. (2012). *Endodonti*. Ankara: Özyurt Matbaacılık; 41-70.
- Alhadlaq, A., Mao, J. J. (2004). Mesenchymal stem cells: isolation and therapeutics. *Stem cells and development*, **13(4)**, 436-448.
- Altun, C. (2005). Kompozit dolgu materyallerinde son gelişmeler. *Gülhane Tıp Dergisi*, **47(1)**, 77-82.
- American Academy of Pediatric Dentistry. (2013). Guideline on pediatric restorative dentistry. *Pediatric Dentistry*, **35**, 226-234
- American Academy on Pediatric Dentistry Council on Clinical Affairs. (2014). Clinical guideline on pediatric restorative dentistry. *Pediatric Dentistry*, **37**, 232-243.
- American Dental Association. (2009). ADA statement on dental amalgam. Erişim: 12.05.2020. <https://www.ada.org/en/about-the-ada/ada-positions-policies-and-statements/statement-on-dental-amalgam>
- APA Esthetic Fill. Instruction for use. Erişim: <http://dualdental.com.tr/dental/apa-esthetic-fill/>
- Atalayın, Ç., Ergücü, Z., Tezel, H. (2012). Diş hekimliğinde kök hücre ve dental pulpa kök hücreleri. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **29(2)**, 115-120.
- Atalayın, Ç., Tezel, H., Ergücü, Z. (2016). Rezin Esaslı Dental Materyallerin Sitotoksitesine Genel Bir Bakış. *EÜ Dişhek Fak Derg*, **37(2)**, 47-53
- Avery, J. K., Chiego, D. J. (2006). Dental Pulp. İçinde Avery JK, Chiego DJ (Eds). *Essentials of oral histology and embryology: A clinical approach*. St. Louis: Mosby Elsevier; 121-136
- Bakopoulou, A., Leyhausen, G., Volk, J., Tsiftoglou, A., Garefis, P., Koidis, P., Geurtsen, W. (2011). Comparative analysis of in vitro osteo/odontogenic differentiation potential of human dental pulp stem cells (DPSCs) and stem cells from the apical papilla (SCAP). *Archives of Oral Biology*, **56(7)**, 709-721.
- Bala, O. (1998). Poliasit-Modifiye Kompozit Rezinler (Kompomerler): Literatür taraması. *Cumhuriyet Üni Diş Hek Fak Derg*, **1(2)**, 113-18.

Baloch, F. A., Mirza, A. J., Baloch, D. (2010). An in-vitro study to compare the microhardness of glass ionomer cement set conventionally versus set under ultrasonic waves. *International Journal of Health Sciences*, **4(2)**, 149.

Basting, R. T., Serra, M. C., Rodrigues, A. L. (2002). In situ microhardness evaluation of glass-ionomer/composite resin hybrid materials at different post-irradiation times. *Journal of Oral Rehabilitation*, **29(12)**, 1187-1195.

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

Bayırlı, G. Ş., Şirin, Ş. (1982). *Konservatif Diş Tedavisi*. İstanbul: Dünya Tıp Kitabevi Ltd Şti; 35-44.

Bishop, M. A., Yoshida, S. (1992). A permeability barrier to lanthanum and the presence of collagen between odontoblasts in pig molars. *Journal of Anatomy*, **181(1)**, 29.

Blau, H. M., Brazelton, T. R., Weimann, J. M. (2001). The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell*, **105(7)**, 829-841.

Brito, C. R., Velasco, L. G., Bonini, G. A., Imparato, J. C. P., Raggio, D. P. (2010). Glass ionomer cement hardness after different materials for surface protection. *Journal of Biomedical Materials Research*, **93(1)**, 243-246.

Brzović Rajić, V., Miletić, I., Gurgan, S., Peroš, K., Verzak, Ž., Ivanišević Malčić, A. (2018). Fluoride Release from Glass Ionomer with Nano Filled Coat and Varnish. *Acta Stomatologica Croatica*, **52(4)**, 307-313.

Burgess, J., Norling, B., Summit, J. (1994). Resin ionomer restorative materials: the new generation. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, **6(5)**, 207-215.

Büyükgökçesu, S. (2002). Amalgam restorasyonların bakımındaki (cila, remodelaj, onarım, yenilenme) kriterler ve amalgamın geleceği. *Türk Dişhekimliği Birliği Dergisi*, **71**, 38-41

Cannella, V., Altomare, R., Chiamonte, G., Di Bella, S., Mira, F., Russotto, L., Guercio, A. (2019). Cytotoxicity Evaluation of Endodontic Pins on L929 Cell Line. *BioMed Research International*, **2019**.

Cao, D. S. (1994). Fluoride release from glass ionomers, glass ionomer/resins and composites. *J Dent Res*, **73**, 657.

Cao, T., Saw, T. Y., Heng, B. C., Liu, H., Yap, A. U. J., Ng, M. L. (2005). Comparison of different test models for the assessment of cytotoxicity of composite resins. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, **25**(2), 101-108.

Cattani-Lorente, M. A., Dupuis, V., Payan, J., Moya, F., Meyer, J. M. (1999). Effect of water on the physical properties of resin-modified glass ionomer cements. *Dental Materials*, **15**(1), 71-78.

Cattani-Lorente, M. A., Godin, C., Meyer, J. M. (1994). Mechanical behavior of glass ionomer cements affected by long-term storage in water. *Dental Materials*, **10**(1), 37-44.

Cehreli, S. B., Ebru, T. R., Yalcinkaya, Z., Cehreli, Z. C. (2013). Microleakage of newly developed glass carbomer cement in primary teeth. *European Journal of Dentistry*, **7**(01), 015-021.

Celik, N., Binnetoglu, D., Ozakar Ilday, N., Hacimuftuoglu, A., Seven, N. (2019). The cytotoxic and oxidative effects of restorative materials in cultured human gingival fibroblasts. *Drug and Chemical Toxicology*, **2019**, 1-6.

Chang, Y. C., Chou, M. Y. (2001). Cytotoxicity of fluoride on human pulp cell cultures in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, **91**(2), 230-234.

Chen, C. A., Chen, Y. L., Huang, J. S., Huang, G. T. J., Chuang, S. F. (2019). Effects of Restorative Materials on Dental Pulp Stem Cell Properties. *Journal of Endodontics*, **45**(4), 420-426.

Chen, S., Mestres, G., Lan, W., Xia, W., Engqvist, H. (2016). Cytotoxicity of modified glass ionomer cement on odontoblast cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **27**(7), 116.

Chen, X., Cuijpers, V. M. J. I., Fan, M., Frencken, J. E. (2010). Marginal leakage of two newer glass-ionomer-based sealant materials assessed using micro-CT. *Journal of Dentistry*, **38**(9), 731-735.

China, S. A. R. (2013). FDI resolution on Global legally binding instrument on mercury. *International Dental Journal*, **63**, 6.

Chrepa, V., Pitcher, B., Henry, M. A., Diogenes, A. (2017). Survival of the apical papilla and its resident stem cells in a case of advanced pulpal necrosis and apical periodontitis. *Journal of Endodontics*, **43**(4), 561-567.

Cohen, S., Burns, R. C. (2002). *Pathways of the pulp*, (8th ed.). St. Louis: Mosby.

Collado-González, M., Pecci-Lloret, M. R., Tomás-Catalá, C. J., García-Bernal, D., Oñate-Sánchez, R. E., Llena, C., Rodríguez-Lozano, F. J. (2018). Thermo-setting glass ionomer cements promote variable biological responses of human dental pulp stem cells. *Dental Materials*, **34**(6), 932-943.

Collado-González, M., Tomás-Catalá, C. J., Oñate-Sánchez, R. E., Moraleda, J. M., Rodríguez-Lozano, F. J. (2017). Cytotoxicity of GuttaFlow Bioseal, GuttaFlow2, MTA Fillapex, and AH Plus on human periodontal ligament stem cells. *Journal of Endodontics*, **43**(5), 816-822.

Consiglio, R., Rengo, S., Liguoro, D., Riccitiello, F., Formisano, S., Palumbo, G., Di Jeso, B. (1998). Inhibition by glass-ionomer cements of protein synthesis by human gingival fibroblasts in continuous culture. *Archives of Oral Biology*, **43**(1), 65-71.

Cosgun, A., Bolgul, B., Duran, N. (2019). In vitro investigation of antimicrobial effects, nanohardness, and cytotoxicity of different glass ionomer restorative materials in dentistry. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, **22**(3), 422.

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

Crisp, S., Kent, B. E., Lewis, B. G., Ferner, A. J., Wilson, A. D. (1980). Glass-ionomer cement formulations. II. The synthesis of novel polycarboxylic acids. *Journal of Dental Research*, **59**(6), 1055-1063.

Croll, T. P., Bar-Zion, Y., Segura, A., Donly, K. J. (2001). Clinical performance of resin-modified glass ionomer cement restorations in primary teeth: a retrospective evaluation. *The Journal of the American Dental Association*, **132**(8), 1110-1116.

Croll, T. P., Nicholson, J. W. (2002). Glass ionomer cements in pediatric dentistry: review of the literature. *Pediatric Dentistry*, **24**(5), 423-429.

Çapan, B. Ş., Akyüz, S. (2016). Çocuk Diş Hekimliğinde Fluorid Salınımı Yapan Güncel Restoratif Materyaller. *Clinical and Experimental Health Sciences*, **6**(3), 129-134.

D'Aquino, R., Graziano, A., Sampaolesi, M., Laino, G., Pirozzi, G., De Rosa, A., Papaccio, G. (2007). Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblasts and endotheliocytes: a pivotal synergy leading to adult bone tissue formation. *Cell Death & Differentiation*, **14**(6), 1162-1171.

D'Aquino, R., Papaccio, G., Laino, G., Graziano, A. (2008). Dental pulp stem cells: a promising tool for bone regeneration. *Stem Cell Reviews*, **4(1)**, 21-26.

Dahl, O. E., Garvik, L. J., Lyberg, T. (1994). Toxic effects of methylmethacrylate monomer on leukocytes and endothelial cells in vitro. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, **65(2)**, 147-153.

Dayangaç, G. B. (2011). *Kompozit Restorasyonlar*. (2nd ed.). İstanbul: Quintessence Yayıncılık.

De Souza Costa, C. A., Hebling, J., Garcia-Godoy, F., Hanks, C. T. (2003). In vitro cytotoxicity of five glass-ionomer cements. *Biomaterials*, **24(21)**, 3853-3858.

Demirci, T., Gürbüz, T., Şengül, F. (2014). Dental Rezin Kompozitlerin Sitotoksitesisi: Bir in vitro çalışma. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **24(1)**, 10-15

Dhar, V., Hsu, K. L., Coll, J. A., Ginsberg, E., Ball, B. M., Chhibber, S., Johnson, M., Kim, M., Modaresi, N., Tinanoff, N. (2015). Evidence-based update of pediatric dental restorative procedures: dental materials. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, **39(4)**, 303-310.

Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F. C., Krause, D. S., Deans, R. J., Keating, A., Prockop, D. J., Horwitz, E. M., Horwitz, E. M. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, **8(4)**, 315-317.

Dowling, A. H., Fleming, G. J. (2009). Are encapsulated anterior glass-ionomer restoratives better than their hand-mixed equivalents? *Journal of Dentistry*, **37(2)**, 133-140.

Dülgergil, Ç. T., Ertürk, A. T. (2016). Diş Hekimliği Restoratif Uygulamalarında Yeni Materyal Olarak Cam Karbomer Simanlar. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **26(3)**, 517-523.

Edinger, A. L., Thompson, C. B. (2004). Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. *Current Opinion in Cell Biology*, **16(6)**, 663-669.

El Mallakh, B. F., Sarkar, N. K. (1990). Fluoride release from glass-ionomer cements in de-ionized water and artificial saliva. *Dental Materials*, **6(2)**, 118-122.

Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, **35(4)**, 495-516.

Erdem, A. P., Gençay, K. (2013). Kanıta Dayalı Diş Hekimliği Kapsamında Cam İyonomer Simanların Önerilen Klinik Kullanım Alanları. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **23(1)**, 123-130.

Ergun, G., Egilmez, F., Cekic-Nagas, I. (2011). The cytotoxicity of resin composites cured with three light curing units at different curing distances. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, **16(2)**, 252-259.

Eröz, R., Karataş, A., Alkoç, O. A., Baltacı, D., Oktay, M., Çolakoğlu, S. (2012). Apoptozis hakkında bilinenler (literatür taraması). *Duzce Medical Journal*, **14(2)**.

Ersahan, S., Oktay, E. A., Sabuncuoglu, F. A., Karaoglanoglu, S., Aydın, N., Suloglu, A. K. (2019). Evaluation of the cytotoxicity of contemporary glass-ionomer cements on mouse fibroblasts and human dental pulp cells. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 1-8.

Ertuğrul, F., Eltem, R., Eronat, C. (2003). A comparative study of plaque mutans streptococci levels in children receiving glass ionomer cement and amalgam restorations. *Journal of Dentistry for Children*, **70(1)**, 10-14.

Featherstone, J. D. (1999). Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, **27(1)**, 31-40.

Fitzgerald, M., Chiego Jr, D. J., Heys, D. R. (1990). Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. *Archives of Oral Biology*, **35(9)**, 707-715.

Food and Drug Administration, HHS. (2010). Dental devices: classification of dental amalgam, reclassification of dental mercury, designation of special controls for dental amalgam, mercury, and amalgam alloy; technical amendment. Final rule; technical amendment. *Federal Register*, **75(112)**, 33169.

Forrester, D. J., Wagner, M. L., Fleming, J. (1981). *Pediatric Dental Medicine*. Philadelphia: Lea & Febiger.

Forsten, L. (1991). Fluoride release and uptake by glass ionomers. *European Journal of Oral Sciences*, **99(3)**, 241-245.

Forte, A., Finicelli, M., Grossi, M., Vicchio, M., Alessio, N., Santé, P., De Feo, M., Cotrufo, M., Berrino, L., Rossi, F., Galderisi, U., Cipollaro, M. (2010). DNA damage and repair in a model of rat vascular injury. *Clinical Science*, **118(7)**, 473-485.

Frankenberger, R., Krämer, N., Graf, A., Petschelt, A. (1999). Cyclic fatigue of glass ionomers and compomers (Abstract in English). *Dtsch Zahnärztl Z*, **54**, 269-271.

Frencken, J. E., Pilot, T., Songpaisan, Y., & Phantumvanit, P. (1996). Atraumatic restorative treatment (ART): rationale, technique, and development. *Journal of Public Health Dentistry*, **56**(3), 135-140.

Freshney, R. I. (2015). *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications*. (5th ed.). John Wiley & Sons: 359-373

Freshney, R. I., Stacey, G. N., Auerbach, J. M. (2007). *Culture of Human Stem Cells*. USA: John Wiley & Sons.

Friedenstein, A. J., Gorskaja, J. F., Kulagina, N. (1976). Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Experimental Hematology*, **4**(5), 267-274.

Fuchs, E., Tumber, T., Guasch, G. (2004). Socializing with the neighbors: stem cells and their niche. *Cell*, **116**(6), 769-778.

Fuks, A. B. (2015). The use of amalgam in pediatric dentistry: new insights and reappraising the tradition. *Pediatric dentistry*, **37**(2), 125-132.

Galluzzi, L., Aaronson, S. A., Abrams, J., Alnemri, E. S., Andrews, D. W., Baehrecke, E. H., Bredesen, D. E. (2009). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death & Differentiation*, **16**(8), 1093-1107.

Gandolfi, M. G., Chersoni, S., Acquaviva, G. L., Piana, G., Prati, C., Mongiorgi, R. (2006). Fluoride release and absorption at different pH from glass-ionomer cements. *Dental Materials*, **22**(5), 441-449.

Gandolfi, M. G., Taddei, P., Siboni, F., Modena, E., Ciapetti, G., Prati, C. (2011). Development of the foremost light-curable calcium-silicate MTA cement as root-end in oral surgery. Chemical–physical properties, bioactivity and biological behavior. *Dental Materials*, **27**(7), 134-157.

Garg, N., Garg, A. (2010). *Textbook of Operative Dentistry*. (2nd ed.). UK: Boydell & Brewer.

GC EQUIA Forte, Japan, Instruction for use. Erişim: <https://europe.gc.dental/tr-TR/products/equiaforte>.

Geurtsen, W. (2000). Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, **11**(3), 333-355.

Giachetti, L., Scaminaci Russo, D., Bambi, C., Grandini, R. (2006). A review of polymerization shrinkage stress: current techniques for posterior direct resin restorations. *J Contemp Dent Pract*, **7(4)**, 79-88.

Gronthos, S., Brahimi, J., Li, W., Fisher, L. W., Cherman, N., Boyde, A., DenBesten, P., Robey, P. G., Shi, S. (2002). Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *Journal of Dental Research*, **81(8)**, 531-535.

Gronthos, S., Mankani, M., Brahimi, J., Robey, P. G., Shi, S. (2000). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **97(25)**, 13625-13630.

Guggenberger, R., May, R., Stefan, K. P. (1998). New trends in glass-ionomer chemistry. *Biomaterials*, **19(6)**, 479-483.

Güleş, Ö., Eren, Ü. (2008). Apoptozun belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **19(2)**, 73-78.

Hamid, A., Hume, W. R. (1997). The effect of dentine thickness on diffusion of resin monomers in vitro. *Journal of Oral Rehabilitation*, **24(1)**, 20-25.

Hanks, C. T., Wataha, J. C., Sun, Z. (1996). In vitro models of biocompatibility: a review. *Dental Materials*, **12(3)**, 186-193.

Hatoya, S., Torii, R., Kondo, Y., Okuno, T., Kobayashi, K., Wijewardana, V., Kawate, N., Tamada, H., Sawada, T., Kumagai, D., Sugiura, K., Inaba, T., Sugiura, K. (2006). Isolation and characterization of embryonic stem-like cells from canine blastocysts. *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*, **73(3)**, 298-305.

Herzog, E. L., Chai, L., Krause, D. S. (2003). Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood*, **102(10)**, 3483-3493.

Hes, K. M. Y., Leung, S. K., Wei, S. H. Y. (1999). Resin-ionomer restorative materials for children: A review. *Australian Dental Journal*, **44(1)**, 1-11.

Hii, S. C., Luddin, N., Kannan, T. P., Ab Rahman, I., Ghani, N. R. N. A. (2019). The biological evaluation of conventional and nano-hydroxyapatite-silica glass ionomer cement on dental pulp stem cells: A comparative study. *Contemporary Clinical Dentistry*, **10(2)**, 324.

Hill, R. G., Wilson, A. D. (1988). Some structural aspects of glasses used in ionomer cements. *Glass Technology*, **29(4)**, 150-158.

Hirani, R. T., Batra, R., Kapoor, S. (2018). Comparative evaluation of postoperative sensitivity in bulk fill restoratives: A randomized controlled trial. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, **8(6)**, 53.

Hirose, Y., Yamaguchi, M., Kawabata, S., Murakami, M., Nakashima, M., Gotoh, M., Yamamoto, T. (2016). Effects of extracellular pH on dental pulp cells in vitro. *Journal of Endodontics*, **42(5)**, 735-741.

Hsu, H. M., Huang, G. F., Chang, H. H., Wang, Y. L., Guo, M. K. (2004). A continuous flow system for assessing fluoride release/uptake of fluoride-containing restorative materials. *Dental Materials*, **20(8)**, 740-749.
<http://www.mercuryconvention.org/Portals/11/documents/Booklets/COP1%20version/Minamata-Convention-booklet-eng-full.pdf>.

Huang, F. M., Chang, Y. C. (2002). Cytotoxicity of resin-based restorative materials on human pulp cell cultures. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, **94(3)**, 361-365.

Huang, G. T. J., Shagrananova, K., Chan, S. W. (2006). Formation of odontoblast-like cells from cultured human dental pulp cells on dentin in vitro. *Journal of Endodontics*, **32(11)**, 1066-1073.

Huang, G. T. J., Sonoyama, W., Liu, Y., Liu, H., Wang, S., Shi, S. (2008). The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. *Journal of Endodontics*, **34(6)**, 645-651.

Ichinose, S., Tagami, M., Muneta, T., Sekiya, I. (2005). Morphological examination during in vitro cartilage formation by human mesenchymal stem cells. *Cell and Tissue Research*, **322(2)**, 217-226.

Ikemura, K., Tay, F. R., Endo, T., Pashley, D. H. (2008). A review of chemical-approach and ultramorphological studies on the development of fluoride-releasing dental adhesives comprising new pre-reacted glass ionomer (PRG) fillers. *Dental Materials Journal*, **27(3)**, 315-339.

Imaizumi, N., Kondo, H., Ohya, K., Kasugai, S., Araki, K., Kurosaki, N. (2006). Effects of exposure to 4-META/MMA-TBB resin on pulp cell viability. *Journal of medical and dental sciences*, **53(2)**, 127-133.

International Organization for Standardization. Dentistry- Biological evaluation of medical devices. Tests for in vitro cytotoxicity. ISO 10993-5: 2009

International Organization for Standardization. Dentistry- Dental Water Based Cements. ISO 9917–1: 2003.

Jackson, R. D., Morgan, M. (2000). The new posterior resins and a simplified placement technique. *The Journal of the American Dental Association*, **131**(3), 375-383.

Jantová, S., Letašiová, S., Theiszová, M., Palou, M. (2009). Comparison of murine fibroblast cell response to fluor-hydroxyapatite composite, fluorapatite and hydroxyapatite by eluate assay. *Acta Biologica Hungarica*, **60**(1), 89-107.

Jiang, Y., Jahagirdar, B. N., Reinhardt, R. L., Schwartz, R. E., Keene, C. D., Ortiz-Gonzalez, X. R., Reyes, M., Lenvik, T., Lund, T., Blackstad, M., Du, J., Aldrich, S., Lisberg, A., Low, W. C., Largaespada, D. A., Verfaillie, C. M. (2002). Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, **418**(6893), 41-49.

Kan, K. C., Messer, L. B., & Messer, H. H. (1997). Variability in cytotoxicity and fluoride release of resin-modified glass-ionomer cements. *Journal of Dental Research*, **76**(8), 1502-1507.

Kanev, M., Muranlı, F. G. (2016). Flow sitometri ve kullanım alanları. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **20**(1), 33-38.

Kanık, Ö., Türkün, L. Ş. (2016). Restoratif Cam İyonomer Simanlarda Güncel Yaklaşımlar. *Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, **37**(2), 54-65.

Kanjevac, T. V., Milovanovic, M. Z., Milosevic-Djordjevic, O., Tešić, Ž. L., Ivanovic, M., Lukic, A. (2015). Cytotoxicity of glass ionomer cement on human exfoliated deciduous teeth stem cells correlates with released fluoride, strontium and aluminum ion concentrations. *Archives of Biological Sciences*, **67**(2), 619-630.

Kanjevac, T., Milovanovic, M., Volarevic, V., L Lukic, M., Arsenijevic, N., Markovic, D., Lukic, A. (2012). Cytotoxic effects of glass ionomer cements on human dental pulp stem cells correlate with fluoride release. *Medicinal Chemistry*, **8**(1), 40-45.

Karaboz, İ., Kayar, E., Akar, S. (2008). Flow sitometri ve kullanım alanları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, **6**(2), 1-18.

Karaöz, E., Ovalı, E. (2004). *Kök Hücreler*. Trabzon: Derya Kitabevi.

Keenan, T. J., Placek, L. M., McGinnity, T. L., Towler, M. R., Hall, M. M., Wren, A. W. (2016). Relating ion release and pH to in vitro cell viability for gallium-inclusive bioactive glasses. *Journal of Materials Science*, **51**(2), 1107-1120.

Kerkis, I., Ambrosio, C. E., Kerkis, A., Martins, D. S., Zucconi, E., Fonseca, S. A., Cabral, R. M., Maranduba, C. C., Gaiad, P. T., Morini, C. A., Vieira, M. N., Brollo,

P. M., Sant'Anna, A. O., Miglino, A. M., Zatz, M. (2008). Early transplantation of human immature dental pulp stem cells from baby teeth to golden retriever muscular dystrophy (GRMD) dogs: local or systemic? *Journal of Translational Medicine*, **6**(1), 35.

Kidd, E. A., Fejerskov, O. (2003). *Dental caries: the disease and its clinical management*. (2nd ed.). Oxford US: Backwell Munksgaard; 245-250

Kindelan, S. A., Day, P., Nichol, R., Willmott, N., Fayle, S. A. (2008). UK National Clinical Guidelines in Paediatric Dentistry: stainless steel preformed crowns for primary molars. *International Journal of Paediatric Dentistry*, **18**, 20-28.

Kitasako, Y., Shibata, S., Cox, C. F., Tagami, J. (2002). Location, arrangement and possible function of interodontoblastic collagen fibres in association with calcium hydroxide-induced hard tissue bridges. *International Endodontic Journal*, **35**(12), 996-1004.

Kleverlaan, C. J., Van Duinen, R. N., Feilzer, A. J. (2004). Mechanical properties of glass ionomer cements affected by curing methods. *Dental Materials*, **20**(1), 45-50.

Kocaaydın, S., Kasımoğlu, Y., Gençay, K. (2019). Mercury Free Diş Hekimliği. *TDB Dişhekimliğinde Klinik Dergisi*, **10**(10), 3-7

Koçanalı, B., Ak, A. T., Çoğulu, D. (2014). Çocuklarda diş çürüğüne neden olan faktörlerin incelenmesi. *Pediatric Research*, **1**(2), 76-9.

Kohli, A., Yadav, M., Pandey, V., Sharma, V., Kohli, V. (2019). Assessment of longevity of composite and amalgam restorations in posterior teeth of paediatric patients: A comparative study. *Journal of Advanced Medical and Dental Sciences Research*, **7**(1), 25-27.

Konde, S., Raj, S., Jaiswal, D. (2012). Clinical evaluation of a new art material: Nanoparticulated resin-modified glass ionomer cement. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, **2**(2), 42.

Kong, N., Jiang, T., Zhou, Z., Fu, J. (2009). Cytotoxicity of polymerized resin cements on human dental pulp cells in vitro. *Dental Materials*, **25**(11), 1371-1375.

Krebsbach, P. H., Robey, P. G. (2002). Dental and skeletal stem cells: potential cellular therapeutics for craniofacial regeneration. *Journal of Dental Education*, **66**(6), 766-773.

Lan, W. C., Lan, W. H., Chan, C. P., Hsieh, C. C., Chang, M. C., Jeng, J. H. (1999). The effects of extracellular citric acid acidosis on the viability, cellular adhesion

capacity and protein synthesis of cultured human gingival fibroblasts. *Australian Dental Journal*, **44**(2), 123-130.

Lan, W. H., Lan, W. C., Wang, T. M., Lee, Y. L., Tseng, W. Y., Lin, C. P., Chang, M. C. (2003). Cytotoxicity of conventional and modified glass ionomer cements. *Operative Dentistry*, **28**(3), 251.

Le Blanc, K., Mougiakakos, D. (2012). Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system. *Nature Reviews Immunology*, **12**(5), 383-396.

Lin, A., McIntyre, N. S., Davidson, R. D. (1992). Studies on the adhesion of glass-ionomer cements to dentin. *Journal of Dental Research*, **71**(11), 1836-1841.

Liu, H., Gronthos, S., Shi, S. (2006). Dental pulp stem cells. In *Methods in Enzymology*, **419**, 99-113.

Liu, H., Gronthos, S., Shi, S. (2006). Dental pulp stem cells. *Methods in Enzymology*, **419**, 99-113.

Lodi, D., Iannitti, T., Palmieri, B. (2011). Stem cells in clinical practice: applications and warnings. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **30**(1), 9.

Loeffler, M., Roeder, I. (2002). Tissue stem cells: definition, plasticity, heterogeneity, self-organization and models—a conceptual approach. *Cells Tissues Organs*, **171**(1), 8-26.

Lohbauer, U., Frankenberger, R., Clare, A., Petschelt, A., Greil, P. (2004). Toughening of dental glass ionomer cements with reactive glass fibres. *Biomaterials*, **25**(22), 5217-5225.

Majd, E. S., Goldberg, M., Stanislawski, L. (2003). In vitro effects of ascorbate and Trolox on the biocompatibility of dental restorative materials. *Biomaterials*, **24**(1), 3-9.

Marczuk-Kolada, G., Łuczaj-Cepowicz, E., Pawińska, M., Hołownia, A. (2017). Evaluation of the cytotoxicity of selected conventional glass ionomer cements on human gingival fibroblasts. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, **26**(7), 1041-1045.

Marshall, S. J., Grayson, W., Marshall, J. R., Anusavice, K. J. (2006). *Philips Science of Dental Materials*. (11th ed.). India: Elsevier Sciences; 499.

Martens, W., Sanen, K., Georgiou, M., Struys, T., Bronckaers, A., Ameloot, M., Philips, J., Lambrichts, I. (2014). Human dental pulp stem cells can differentiate into

Schwann cells and promote and guide neurite outgrowth in an aligned tissue-engineered collagen construct in vitro. *The FASEB Journal*, **28(4)**, 1634-1643.

Martinez-Agosto, J. A., Mikkola, H. K., Hartenstein, V., Banerjee, U. (2007). The hematopoietic stem cell and its niche: a comparative view. *Genes & Development*, **21(23)**, 3044-3060.

Marwah, N. (2018). *Textbook of Pediatric Dentistry*. (4th ed.). UK: Jaypee Brothers Medical Publishers.

Mathis, R. S., Ferracane, J. L. (1989). Properties of a glass-ionomer/resin-composite hybrid material. *Dental Materials*, **5(5)**, 355-358.

Matsunaga, T., Tsujimoto, M., Kawashima, T., Tsujimoto, Y., Fujiwara, M., Ookubo, A., Hayashi, Y. (2010). Analysis of arsenic in gray and white mineral trioxide aggregates by using atomic absorption spectrometry. *Journal of Endodontics*, **36(12)**, 1988-1990.

McDonald, R. E., Avery, D. R. (2004). *Dentistry for the Child and Adolescent*. (8th ed.). St Louis-USA: Mosby.

McLean, J. W. (1992). The clinical use of glass-ionomer cements. *Dental Clinics of North America*, **36(3)**, 693-711.

McLean, J. W. (1994). Proposed nomenclature for glass-ionomer dental cements and related materials. *Quintessence Int*, **25**, 587-589.

Menne-Happ, U., Ilie, N. (2013). Effect of gloss and heat on the mechanical behaviour of a glass carbomer cement. *Journal of Dentistry*, **41(3)**, 223-230.

Michel, A., Erber, R., Frese, C., Gehrig, H., Saure, D., Mente, J. (2017). In vitro evaluation of different dental materials used for the treatment of extensive cervical root defects using human periodontal cells. *Clinical oral investigations*, **21(3)**, 753-761.

Mickenausch, S., Mount, G., Yengopal, V. (2011). Therapeutic effect of glass-ionomers: an overview of evidence. *Australian Dental Journal*, **56(1)**, 10-15.

Mickenausch, S., Yengopal, V., Banerjee, A. (2010). Pulp response to resin-modified glass ionomer and calcium hydroxide cements in deep cavities: A quantitative systematic review. *Dental Materials*, **26(8)**, 761-770.

Mijan, M. C., Leal, S. C., Bronkhorst, E. M., Frencken, J. E. (2018). Are Clinically Successful Amalgam and ART Restorations in Primary Molars Microgap Free? *The Journal of Adhesive Dentistry*, **20(1)**, 25-32.

Miura, M., Gronthos, S., Zhao, M., Lu, B., Fisher, L. W., Robey, P. G., Shi, S. (2003). SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **100(10)**, 5807-5812.

Mjör, I. A., Sveen, O. B., Heyeraas, K. J. (2002). Normal structure and physiology. İçinde Mjör IA (Eds). *Pulp-Dentin Biology in Restorative Dentistry*. Chicago: Quintessence Pub; 1-22

Moharamzadeh, K., Brook, I. M., Noort, R. V. (2009). Biocompatibility of Resin-based Dental Materials. *Materials*, **2(2)**, 514-548

Moraschini, V., Fai, C. K., Alto, R. M., Dos Santos, G. O. (2015). Amalgam and resin composite longevity of posterior restorations: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Dentistry*, **43(9)**, 1043-1050.

Morsczeck, C., Schmalz, G., Reichert, T. E., Völlner, F., Galler, K., Driemel, O. (2008). Somatic stem cells for regenerative dentistry. *Clinical oral investigations*, **12(2)**, 113-118.

Moshaverinia, A., Chee, W. W., Brantley, W. A., Schricker, S. R. (2011). Surface properties and bond strength measurements of N-vinylcaprolactam (NVC)-containing glass-ionomer cements. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, **105(3)**, 185-193.

Moshaverinia, M., Navas, A., Jahedmanesh, N., Shah, K. C., Moshaverinia, A., Ansari, S. (2019). Comparative evaluation of the physical properties of a reinforced glass ionomer dental restorative material. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, **122(2)**, 154-159.

Mount, G. J. (1994). Glass ionomer cements and future research. *Am J Dent*, **7**, 286- 292.

Mount, G. J. (2002). *An Atlas of glass-ionomer cement: A Clinician's Guide*. (3rd ed). London: Martin Dunitz; 269-293.

Murray, P. E., García Godoy, C., García Godoy, F. (2007). How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, **12(3)**, 258-266.

Murray, P. E., Hafez, A. A., Smith, A. J., Cox, C. F. (2002). Hierarchy of pulp capping and repair activities responsible for dentin bridge formation. *American Journal of Dentistry*, **15(4)**, 236-243.

Mutluay, M. S. (2016). Süt dişlerinde restoratif materyal seçimi ve etkileyen faktörler. *Selcuk Dental Journal*, **3(3)**, 151-158.

Müller, J., Bruckner, G., Kraft, E., Hörz, W. (1990). Reaction of cultured pulp cells to eight different cements based on glass ionomers. *Dental Materials*, **6(3)**, 172-177.

Nagaraja Upadhy, P., Kishore, G. (2005). Glass ionomer cement: The different generations. *Trends Biomater Artif Organs*, **18(2)**, 158-65.

Nardi, N. B., Da Silva Meirelles, L. (2006). Mesenchymal stem cells: isolation, in vitro expansion and characterization. İçinde Wobus AM, Boheler K (Eds). *In Stem Cells*. Berlin Heidelberg: Springer; 249-282.

Nicholson, J. W. (1998). Chemistry of glass-ionomer cements: a review. *Biomaterials*, **19(6)**, 485-494.

Nicholson, J. W. (2002). *The Chemistry of Medical and Dental Materials*. Cambridge; The Royal Society of Chemistry: 186-195.

Nicholson, J. W., Czarnecka, B. (2008). The biocompatibility of resin-modified glass-ionomer cements for dentistry. *Dental Materials*, **24(12)**, 1702-1708.

Nicholson, J. W., Czarnecka, B. (2009). Role of aluminum in glass-ionomer dental cements and its biological effects. *Journal of Biomaterials Applications*, **24(4)**, 293-308.

Nicholson, J. W., Czarnecka, B., Limanowska-Shaw, H. (1999). The long-term interaction of dental cements with lactic acid solutions. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **10(8)**, 449-452.

Noorani, T. Y., Luddin, N., Rahman, I. A., Masudi, S. M. (2017). In vitro cytotoxicity evaluation of novel nano-hydroxyapatite-silica incorporated glass ionomer cement. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, **11(4)**, 105-109.

Nuti, N., Corallo, C., Chan, B. M. F., Ferrari, M., & Gerami-Naini, B. (2016). Multipotent differentiation of human dental pulp stem cells: a literature review. *Stem Cell Reviews and Reports*, **12(5)**, 511-523.

Oguro, A., Koizumi, N., Horii, K. I. (1982). Effect of fluoride ion on proliferation of vero cell line cells. *Journal of Dental Health*, **31(5)**, 453-460.

Okiji, T. (2012). Pulp as a Connective Tissue. İçinde Hargreaves KM, Goodis HE, Tay FR (Eds). *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. Chicago: Quintessence Pub; 67-89.

Okuyama, K., Murata, Y., Pereira, P. N., Miguez, P. A., Komatsu, H., Sano, H. (2006). Fluoride release and uptake by various dental materials after fluoride application. *American Journal of Dentistry*, **19(2)**, 123-127.

Onal, B., Pamir, T. (2005). The two-year clinical performance of esthetic restorative materials in noncarious cervical lesions. *The Journal of the American Dental Association*, **136(11)**, 1547-1555.

Orbay, H., Tobita, M., Mizuno, H. (2012). Mesenchymal stem cells isolated from adipose and other tissues: basic biological properties and clinical applications. *Stem Cells International*, **2012**, 1-9.

Oyar, P. (2016). Dental kök hücre kaynakları ve kemik doku rejenerasyonunda kullanılma potansiyelleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **26(15)**, 96-101.

Öktem, S., Özhan, M. H., Özol, D. (2001). Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*, **2(1)**, 91-95.

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

Özdabak, N. (2006). *Amalgam Dolguların Plazma Ve Tükürük Civa Konsantrasyonları Ve Bazı Antioksidan Seviyeleri Üzerine Etkileri*. Erişim: 02.06.2020, www.tez.yok.gov.tr. Tez no: 196237.

Palmer, G., Anstice, H. M., Pearson, G. J. (1999). The effect of curing regime on the release of hydroxyethyl methacrylate (HEMA) from resin-modified glass-ionomer cements. *Journal of Dentistry*, **27(4)**, 303-311.

Pameijer, C. H. (2012). Crown retention with three resin-modified glass ionomer luting agents. *The Journal of the American Dental Association*, **143(11)**, 1218-1222.

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

Pera, M. F., Reubinoff, B., Trounson, A. (2000). Human embryonic stem cells. *J Cell Sci*, **113(1)**, 5-10.

Pereira, L. C. G., Nunes, M. C. P., Dibb, R. G. P., Powers, J. M., Roulet, J. F., de Lima Navarro, M. F. (2002). Mechanical properties and bond strength of glass-ionomer cements. *Journal of Adhesive Dentistry*, **4(1)**, 73-80

Pisciotta, A., Riccio, M., Carnevale, G., Lu, A., De Biasi, S., Gibellini, L., La Sala, G., Bruzzesi, G., Ferrari, A., Huard, J., De Pol, A. (2015). Stem cells isolated from human dental pulp and amniotic fluid improve skeletal muscle histopathology in mdx/SCID mice. *Stem Cell Research & Therapy*, **6(1)**, 156.

Pittenger, M. F., Mackay, A. M., Beck, S. C., Jaiswal, R. K., Douglas, R., Mosca, J. D., Marshak, D. R. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, **284**(5411), 143-147.

Powis, D. R., Follerås, T., Merson, S. A., Wilson, A. D. (1982). Materials science: Improved adhesion of a glass ionomer cement to dentin and enamel. *Journal of Dental Research*, **61**(12), 1416-1422.

Prentice, D. A. (2006). Current science of regenerative medicine with stem cells. *Journal of Investigative Medicine*, **54**(1), 33-37.

Randall, R. C., Vrijhoef, M. M., Wilson, N. H. (2000). Efficacy of preformed metal crowns vs. amalgam restorations: in primary molars: a systematic review. *The Journal of the American Dental Association*, **131**(3), 337-343.

Rao, M. S., Mattson, M. P. (2001). Stem cells and aging: expanding the possibilities. *Mechanisms of Ageing and Development*, **122**(7), 713-734.

Rapp, R. (1992). Vascular pathways within pulpal tissue of human primary teeth. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, **16**(3), 183-201.

Rastegar, F., Shenaq, D., Huang, J., Zhang, W., Zhang, B. Q., He, B. C., & Wagner, E. R. (2010). Mesenchymal stem cells: Molecular characteristics and clinical applications. *World Journal of Stem Cells*, **2**(4), 67.

Ratajczak, M. Z. (2008). Phenotypic and functional characterization of hematopoietic stem cells. *Current Opinion in Hematology*, **15**(4), 293-300.

Roberson, T., Heymann, H. O., Swift Jr, E. J. (2006). *Sturdevant's art and science of operative dentistry*. (5th ed.). St. Louis, ABD: Elsevier Health Sciences; 471-500

Roberts, J. F., Attari, N., Sherriff, M. (2005). The survival of resin modified glass ionomer and stainless steel crown restorations in primary molars, placed in a specialist paediatric dental practice. *British dental journal*, **198**(7), 427-431.

Sandhu, S. S., Nair, M. (2009). Stem cells: potential implications for tooth regeneration and tissue engineering in dental science. *People J Sci Res*, **2**(1), 41-45.

Saw, T. Y., Cao, T., Yap, A. U. J., Ng, M. M. L. (2005). Tooth slice organ culture and established cell line culture models for cytotoxicity assessment of dental materials. *Toxicology In Vitro*, **19**(1), 145-154.

Schmalz, G. (1998). Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clinical Oral Investigations*, **1**(4), 154-162.

Schmalz, G., Arenholt-Bindslev, D. (2009). *Biocompatibility of Dental Materials*. Berlin: Springer; 1-12.

Schmid-Schwap, M., Franz, A., König, F., Bristela, M., Lucas, T., Piehslinger, E., Schedle, A. (2009). Cytotoxicity of four categories of dental cements. *Dental Materials*, **25(3)**, 360-368.

Schweikl, H., Müller, R., Englert, C., Hiller, K. A., Kujat, R., Nerlich, M., Schmalz, G. (2007). Proliferation of osteoblasts and fibroblasts on model surfaces of varying roughness and surface chemistry. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **18(10)**, 1895-1905.

Selwitz, R. H., Ismail, A. I., Pitts, N. B. (2007). Dental caries. *The Lancet*, **369(9555)**, 51-59.

Seo, B. M., Miura, M., Sonoyama, W., Coppe, C., Stanyon, R., Shi, S. (2005). Recovery of stem cells from cryopreserved periodontal ligament. *Journal of Dental Research*, **84(10)**, 907-912.

Shafiei, F., Tavangar, M. S., Razmkhah, M., Attar, A., Alavi, A. A. (2014). Cytotoxic effect of silorane and methacrylate based composites on the human dental pulp stem cells and fibroblasts. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, **19(4)**, 350-358.

Shi, S., Bartold, P. M., Miura, M., Seo, B. M., Robey, P. G., Gronthos, S. (2005). The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthodontics & Craniofacial Research*, **8(3)**, 191-199.

Sidhu, S. K., Watson, T. F. (1995). Resin-modified glass ionomer materials. A status report for the American Journal of Dentistry. *American Journal of Dentistry*, **8(1)**, 59-67.

Sjögren, G., Sletten, G., Dahl, J. E. (2000). Cytotoxicity of dental alloys, metals, and ceramics assessed by millipore filter, agar overlay, and MTT tests. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, **84(2)**, 229-236.

Smith, D. C. (1998). Development of glass-ionomer cement systems. *Biomaterials*, **19(6)**, 467-478.

Sonmez, D., Duruturk, L. (2010). Success rate of calcium hydroxide pulpotomy in primary molars restored with amalgam and stainless steel crowns. *British Dental Journal*, **208(9)**, E18-E18.

Spangrude, G. J. (2003). When is a stem cell really a stem cell?. *Bone marrow transplantation*, **32(1)**, S7-S11.

Stanislawski, L., Daniau, X., Lautie, A., Goldberg, M. (1999). Factors responsible for pulp cell cytotoxicity induced by resin-modified glass ionomer cements. *Journal of Biomedical Materials Research*, **48(3)**, 277-288.

Subramaniam, P., Girish Babu, K. L., Jayasurya, S. (2015). Evaluation of solubility and microleakage of glass carbomer sealant. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, **39(5)**, 429-43

Süzergöz, F., Erdem, A. P., Sepet, E., Bektaş, M., Yalman, N., Gürol, A. O. (2009). Dental Pulpa Kök Hücrlerinin İzolasyonu, Koloni Oluşturma Yeteneği ve Kök Hücre İçeriğinin Belirlenmesi Üzerine Bir Ön Çalışma. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, **29(1)**, 128-133.

Şener, Y., Şengun, A., Kuşdemir, M., Öztürk, B., Bağlar, S. (2001). Atravmatik Restoratif Tedavi İçin Kullanılan Cam İyonomer Simanların Mikrosızıntısı *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **21(3)**, 175-181.

Takahashi, K., Kishi, Y., Kim, S. (1982). A scanning electron microscope study of the blood vessels of dog pulp using corrosion resin casts. *Journal of Endodontics*, **8(3)**, 131-135.

Todorović, V., Marković, D., Milošević-Jovčić, N., Petakov, M., Balint, B., Čolić, M., Milenković, A., Čolak, I., Jokanović, V., Nikolić, N. (2008). Dental pulp stem cells: Potential significance in regenerative medicine. *Stomatološki glasnik Srbije*, **55(3)**, 170-179.

Torabinejad, M., Walton, R. (2011). *Endodonti Temel İlkeler ve Uygulamalar*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1-20.

Torabzadeh, H., Ghasemi, A., Shakeri, S., Baghban, A. A., Razmavar, S. (2016). Effect of powder/liquid ratio of glass ionomer cements on flexural and shear bond strengths to dentin. *Brazilian Journal of Oral Sciences*, **10(3)**, 204-207.

Torneck, C. D., Torabinejad, M. (2002). Biology of the dental pulp and periradicular tissues. Walton RE, Torabinejad M (Eds). *Principle and practice of endodontics*. (1st ed.). Philadelphia: Saunders Sydney Co; 3-26

Trowbridge, H. O. (1981). Pathogenesis of pulpitis resulting from dental caries. *Journal of Endodontics*, **7(2)**, 52-60.

Trowbridge, H., Kim, S., Suda, H. (2002). Structure and functions of the dentin and pulp complex. İçinde Cohen S, Burns RC (Eds). *Pathways of the Pulp*. (8th ed.). St. Louis: Mosby Elsevier; 411-455

Trubiani, O., Caputi, S., Di Iorio, D., d'Amario, M., Paludi, M., Giancola, R., Di Maio, F., De Angelis, F., D'Arcangelo, C. (2010). The cytotoxic effects of resin-based sealers on dental pulp stem cells. *International Endodontic Journal*, **43**(8), 646-653.

Tuncer, S., Demirci, M. (2011). Dental materyallerde biyouyumluluk değerdendirmeleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **2011**(2), 141-149.

United Nations Environment Programme, (2013). Text of the Minimata Convention on Mercury. Erişim: 12.05.2020.

Uzun, İ. H., Bayındır, F. (2011). Dental materyallerin biyouyumluluk test yöntemleri. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **28**(2), 115-122.

Ülker, H. E., Erkan, A. I., Günaydın, N., Kahvecioğlu, F., Ülker, M. (2016). Comparison of the mechanical and biological properties of self-adhering materials. *Journal of Adhesion Science and Technology*, **30**(10), 1119-1130.

Ülker, H. E., Ülker, M., Yalçın, M., Dündar, A. (2014). Fissür örtücülerin in vitro sitotoksitesisi. *Acta Odontologica Turcica*, **31**(1), 7-12.

Vallittu, P. K., Ekstrand, K. (1999). In vitro cytotoxicity of fibre-polymethyl methacrylate composite used in dentures. *Journal of Oral Rehabilitation*, **26**(8), 666-671.

Vandewalle, K. S., Roberts, H. W., Rueggeberg, F. A. (2008). Power distribution across the face of different light guides and its effect on composite surface microhardness. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, **20**(2), 108-117.

Vermeersch, G., Leloup, G., Vreven, J. (2001). Fluoride release from glass-ionomer cements, compomers and resin composites. *Journal of Oral Rehabilitation*, **28**(1), 26-32.

Waddington, R. J., Youde, S. J., Lee, C. P., Sloan, A. J. (2009). Isolation of distinct progenitor stem cell populations from dental pulp. *Cells Tissues Organs*, **189**(1-4), 268-274.

Welbury, R. R., Duggal, M. S., Hosey, M. T. (1997). *Paediatric Dentistry*. (5th ed.). Hong Kong: Oxford University Press.

Wiegand, A., Buchalla, W., Attin, T. (2007). Review on fluoride-releasing restorative materials—fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dental Materials*, **23**(3), 343-362.

Williams, J. A., Billington, R. W., Pearson, G. J. (1998). Effect of moisture protective coatings on the strength of a modern metal-reinforced glass-ionomer cement. *Journal of Oral Rehabilitation*, **25**(7), 535-540.

Wilson, A. D. (1974). Alumino-silicate polyacrylic acid and related cements. *British Polymer Journal*, **6**(3), 165-179.

Wilson, A. D. (1996). A hard decade's work: steps in the invention of the glass-ionomer cement. *Journal of Dental Research*, **75**(10), 1723-1727.

Yıldırım, S., Zibandeh, N., Genc, D., Ozcan, E. M., Goker, K., Akkoc, T. (2015). Comparison of the Immunological Properties of Stem Cells Isolated from Human Exfoliated Deciduous Teeth, Dental Pulp, and Dental Follicles. *Stem Cells International*, **2015**, 1-15.

Yıldırım, Z. S., Bakır, E. P., Bakır, Ş., Aydın, M. S. (2017). Diş hekimliğinde biyoyoumluluk ve değerlendirme yöntemleri. *Selcuk Dental Journal*, **4**(3), 162-169.

Yücel, Ö. Ö., Gültekin, S. E. (2015). Dental kök hücrelerin rejeneratif medikal tedavideki yeri. *Acta Odontologica Turcica*, **32**(2), 98-105.

Zainuddin, N., Karpukhina, N., Law, R. V., Hill, R. G. (2012). Characterisation of a remineralising Glass Carbomer® ionomer cement by MAS-NMR spectroscopy. *Dental Materials*, **28**(10), 1051-1058.

Zhang, Q., Nguyen, A. L., Shi, S., Hill, C., Wilder-Smith, P., Krasieva, T. B., Le, A. D. (2012). Three-dimensional spheroid culture of human gingiva-derived mesenchymal stem cells enhances mitigation of chemotherapy-induced oral mucositis. *Stem Cells and Development*, **21**(6), 937-947.

Zhao, H., Chai, Y. (2015). Stem cells in teeth and craniofacial bones. *Journal of Dental Research*, **94**(11), 1495-1501.

Zhou, H. M., Shen, Y., Wang, Z. J., Li, L., Zheng, Y. F., Häkkinen, L., Haapasalo, M. (2013). In vitro cytotoxicity evaluation of a novel root repair material. *Journal of Endodontics*, **39**(4), 478-483.

Zorba, Y. O., Yıldız, M. (2007). Adeziv Restoratif Materyallerde Biyoyoumluluk Testleri ve Kriterleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **2**, 15-21

HAM VERİLER

Tablo 1: 1. gün hücresel canlılık, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz değerleri

1. GÜN	CANLILIK	ERKEN APOPTOZ	GEÇ APOPTOZ	NEKROZ
Kontrol grubu 1	94,22	3,07	1,05	1,66
Kontrol grubu 2	96,61	2,59	0,7	0,1
Kontrol grubu 3	94,47	1,43	2,05	2,05
Kontrol grubu 4	93,36	1,42	1,69	3,53
Kontrol grubu 5	95,88	2,4	0,98	0,74
GC EQUIA Forte 1	80,56	1,96	5,99	11,49
GC EQUIA Forte 2	82,16	1,29	3,43	13,12
GC EQUIA Forte 3	79,2	10,36	6,35	4,09
GC EQUIA Forte 4	84,84	0,76	5,64	8,76
GC EQUIA Forte 5	80,2	2,04	5,88	11,88
GC Fuji IX GP 1	75,78	1,27	9,51	13,45
GC Fuji IX GP 2	78,29	1,67	9,64	10,41
GC Fuji IX GP 3	82,13	0,19	3,41	14,28
GC Fuji IX GP 4	85,11	0,87	2,99	11,04
GC Fuji IX GP 5	83,78	0,24	2,66	13,32
APA Cam Karbomer 1	90,82	3,57	3,86	1,74
APA Cam Karbomer 2	87,32	1,95	5,08	5,65
APA Cam Karbomer 3	88,85	1,2	5,62	4,33
APA Cam Karbomer 4	85,6	0,74	6,17	7,49
APA Cam Karbomer 5	87,25	0,94	4,48	7,32
APA Esthetic Fill 1	82,04	3,11	3,88	10,97
APA Esthetic Fill 2	79,12	1,41	4,75	14,71
APA Esthetic Fill 3	85,78	3,06	3,43	7,73
APA Esthetic Fill 4	81,68	1,83	4,58	11,91
APA Esthetic Fill 5	85,71	1,92	3,43	8,95

Tablo 2: 3. gün hücresel canlılık, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz değerleri

3. GÜN	CANLILIK	ERKEN APOPTOZ	GEÇ APOPTOZ	NEKROZ
Kontrol grubu 1	93,52	2,13	2,99	1,36
Kontrol grubu 2	93,9	2,56	2,46	1,08
Kontrol grubu 3	94,69	3,45	1,58	0,28
Kontrol grubu 4	93,68	3,21	1,74	1,36
Kontrol grubu 5	92,89	2,02	2,14	2,95
GC EQUIA Forte 1	79,42	1,97	4,65	13,97
GC EQUIA Forte 2	78,37	0,39	3,42	17,82
GC EQUIA Forte 3	81,29	0,17	4,16	14,38
GC EQUIA Forte 4	79,36	0,2	2,82	17,62
GC EQUIA Forte 5	80,55	0,61	6,01	12,82
GC Fuji IX GP 1	78,58	10,93	5,46	5,02
GC Fuji IX GP 2	80,04	2,66	3,84	13,46
GC Fuji IX GP 3	79,69	1,3	5,76	13,25
GC Fuji IX GP 4	83,17	1,19	4,12	11,52
GC Fuji IX GP 5	78,22	2,89	7,43	11,46
APA Cam Karbomer 1	82,55	2,39	5,1	9,96
APA Cam Karbomer 2	82,86	2,52	4,44	10,18
APA Cam Karbomer 3	85,92	2,26	5,3	6,52
APA Cam Karbomer 4	79,2	5,51	9,33	5,95
APA Cam Karbomer 5	81,1	5,67	6,52	6,71
APA Esthetic Fill 1	81,65	2,39	6,36	9,6
APA Esthetic Fill 2	78,33	1,45	5,36	14,86
APA Esthetic Fill 3	81,29	4,23	7,46	7,03
APA Esthetic Fill 4	79,86	6,32	7,78	6,05
APA Esthetic Fill 5	83,39	2,24	6,34	8,03

Tablo 3: 7. gün hücresel canlılık, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekroz değerleri

7. GÜN	CANLILIK	ERKEN APOPTOZ	GEÇ APOPTOZ	NEKROZ
Kontrol grubu 1	92,13	2,93	2,1	2,84
Kontrol grubu 2	92,01	4,11	1,51	2,36
Kontrol grubu 3	89,71	4,12	3,19	2,99
Kontrol grubu 4	88,06	3,66	3,24	5,04
Kontrol grubu 5	90,97	0,94	2,49	5,6
GC EQUIA Forte 1	78,54	0,89	9,51	11,06
GC EQUIA Forte 2	77,71	0,24	7,06	14,99
GC EQUIA Forte 3	80,87	0,65	7,04	11,43
GC EQUIA Forte 4	76,87	0,91	8,72	13,5
GC EQUIA Forte 5	78,76	1,99	8,35	10,89
GC Fuji IX GP 1	76,48	2,46	9,81	11,25
GC Fuji IX GP 2	78,8	4,07	8,74	8,39
GC Fuji IX GP 3	78,78	4,63	4,3	12,29
GC Fuji IX GP 4	79,8	4,94	5,9	9,36
GC Fuji IX GP 5	77,89	2,65	6,61	12,85
APA Cam Karbomer 1	80,01	3,77	5,26	10,96
APA Cam Karbomer 2	80,22	2,8	3,53	13,45
APA Cam Karbomer 3	83,44	3,21	4,86	8,5
APA Cam Karbomer 4	79,02	2,1	7,81	11,08
APA Cam Karbomer 5	78,82	0,58	6,87	13,37
APA Esthetic Fill 1	79,7	0,23	4,38	15,7
APA Esthetic Fill 2	77,34	3,99	6,7	11,96
APA Esthetic Fill 3	79,85	3,55	5,55	11,05
APA Esthetic Fill 4	78,6	0,46	6,51	14,43
APA Esthetic Fill 5	82,83	0,49	6,94	9,75

FORMLAR

GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

I-Araştırmayla İlgili Bilgi Verilmesi;

☐ **Araştırmanın Adı:**

Pedodontide kullanılan güncel restoratif materyallerin insan dental pulpa kök hücreleri üzerindeki etkilerinin in vitro olarak incelenmesi

☐ **Ne tür bir araştırma olduğu:**

Çekilmiş dişlerden dental pulpa kök hücrelerinin elde edilmesinden sonra bu hücreler üzerinde laboratuvar ortamında restoratif materyallerin toksik etkileri araştırılacaktır.

☐ **Amacı:**

Günümüz çocuk diş hekimliğinde, restoratif amaçlı kullanılmakta olan birçok materyal bulunmaktadır. Sürekli olarak yeni ve daha gelişmiş materyallerin üretimi klinisyenleri seçim yapma konusunda zor durumda bırakmaktadır. Uygun materyal seçilirken, materyalin fiziksel, kimyasal, estetik özelliklerinin yanı sıra biyolojik özellikleri de göz önünde bulundurulmalıdır. Restoratif materyaller, ani veya uzun süreçte sitotoksik etki göstererek veya hipersensitivite reaksiyonlarını uyarak pulpaya zarar verebilirler. Bundan dolayı restoratif materyaller diş dokusuna uygulandığında, pulpanın canlılığını devam ettirebilmesi için uygulanan materyalin toksik olmaması ve bakteri penetrasyonunu engelleyecek şekilde diş dokusuna uzun süreli hermetik bir bağlanma sağlaması gerekmektedir. Biyouyumluluk herhangi bir restoratif materyalin sahip olması gereken en önemli özelliklerden birisidir. Dental pulpa kök hücreleri sağlıklı pulpa dokusunun devamlılığının korunmasında önemli rol oynadığı için restoratif materyallerden sızan maddeler, özellikle bu hücreler için pulpa dokusunda toksik etki yaratmamalı, biyolojik olarak uyumlu olmalıdır.

Dental pulpa kök hücreleri, yüksek proliferasyon gösterebilen, yüksek plastisite yeteneğine sahip, multipotent özellikteki mezenkimal kök hücrelerdir. Bu hücreler sahip oldukları yüksek farklılaşma yetenekleri ve immunomodülatör özelliklerine bağlı olarak hasarlı pulpa dokusunda lokal yanıtın uyarılmasında ve düzenlenmesinde en iyi terapötik potansiyele sahiptir. Yeni bir materyalin biyolojik olarak kabul edilebilirliğini saptamak için günümüzde çeşitli testler kullanılmaktadır. Materyalin biyolojik özelliklerinin test edilmesine genellikle hücre kültürlerinin kullanıldığı in vitro test yöntemleri ile başlanır. Hücre kültür test yöntemleri daha iyi standardize edilebilir ve tekrarlanabilir özellikte olmakla birlikte uygulaması kolay, daha az zaman alan ve ekonomik testler oldukları için daha çok tercih edilmektedirler.

Bu çalışmanın amacı, pediatrik dişhekimliğinde kullanılan güncel restoratif materyallerden APA Cam Karbomer, APA Esthetic Fill, GC Fuji IX GP ve GC EQUIA Forte'nin insan dental pulpa kök hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin in vitro koşullarda incelenmesi amaçlanmaktadır.

☐ **Neler uygulanacağı:**

Ortodonti uzmanının kararı ya da herhangi bir şikayete sebebiyet vermesi nedeniyle uzman diş hekimi tarafından çekim kararı verilmiş gömülü yirmi yaş dişlerinin çekimi İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş-Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilecektir. Bu işlem Ağız, Diş-Çene Cerrahisi kliniklerinde uygulanan rutin bir işlemdir ve sıklıkla uygulanmaktadır.

- ❑ **Nasıl uygulanacağı:**
Sizden çekilmiş olan diş bir solüsyon içinde laboratuvara götürülecek ve çalışmalar burada devam edecektir. Hiçbir hastadan özellikle çalışmada kullanılmak amacıyla diş çekimi yapılması durumu söz konusu değildir. Bu çalışmaya katılıp katılmamanız tamamen sizin kendi iradeniz ile vereceğiniz karara bağlıdır.
- ❑ **Hangi yöntem/lerle gerçekleştirileceği:**
Sizden çekilmiş olan diş bir solüsyon içinde laboratuvara götürülecek ve çalışmalar burada devam edecektir. Uygulanacak deneyler sizden çekilen diş üzerinde uygulanacaktır.
- ❑ **Çıkabilecek istenmeyen etkilerini ve risklerini:**
Araştırmada uzman diş hekimi tarafından çekim kararı verilmiş gömülü yirmi yaş dişleri çekim sonrasında hastanın izni alınarak kullanılacaktır. Bu nedenle çalışmada herhangi bir risk söz konusu değildir.
- ❑ **Ortaya çıkan istenmeyen etki ve risklerin tedavi edilebilirliğini:**
Herhangi bir risk söz konusu değildir.
- ❑ **Bilime ve tıbbı katkıları:**
Hastaların rutin işlemleri planlandığı gibi, çalışmamızdan bağımsız olarak devam edecektir. Hastalardan alınan örneklerle yapılacak deneylerle pediatrik diş hekimliğinde kullanılan restoratif materyallerin toksik etkilerinin belirlenmesinde katkıda bulunulacaktır.
- ❑ **Süresi:**
Uzman diş hekimi tarafından çekim kararı verilmiş gömülü yirmi yaş dişleri çekim sonrasında hastanın iznini takiben alınacaktır. Herhangi bir katılım süresi söz konusu değildir.

II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgiler

1. Red etme hakkı

Bu araştırmaya katılmayı red etme hakkına sahiptir. Katılmak mecburiyetinde değildir. Araştırmayı kabul etmemeniz durumunda veya herhangi bir nedenle çalışma programından çıkarılmanız veya çıkmanız halinde, hastalığınız ile ilgili tedavinizde bir aksama olmayacaktır.

2. Çalışmadan Çıkmak

İstediğiniz takdirde başlangıçta çalışmaya katılmayı red edebilirsiniz. İstediğiniz takdirde önceden araştırmacıya haber vererek çalışma kapsamı dışında kalabileceğiniz gibi araştırmacı tarafından gerek görüldüğünde araştırma dışı da bırakılabilirsiniz. Çalışma kapsamı dışında kalmanız Diş hekimliği Fakültesinin tedavi hizmetlerinden yararlanmanızı etkilemeyecektir.

3. Çalışmadan çekilmek

Gönüllünün istediği anda araştırmacıya haber vererek çalışmadan çekilebileceği ya da araştırmacı tarafından gerek görüldüğünde araştırma dışı bırakılabileceğinin bildirilmesi.

4.Araştırmayı kabul etmemeniz durumunda

Araştırmayı kabul etmemeniz durumunda veya herhangi bir nedenle çalışma programından çıkarılmanız veya çıkmanız halinde, hastalığınız ile ilgili tedavinizde bir aksama olmayacaktır.

5.Mali Sorumluluk

Katılımcı, araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyecektir. Ayrıca katılımcıya da bir ödeme yapılmayacaktır

6.Gönüllüden alınacak numunelerin yalnızca adı geçen çalışmada kullanılacağına belirtilmesi

Sizden alınacak diş veya dişler yalnızca adı geçen bu çalışmada kullanılacaktır.

7.Gizlilik

Bu konudaki tüm kayıtlar gizli tutulacaktır. Herhangi bir yayında isminiz geçmeyecektir.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Sayın Dt. Sabiha Ceren İlisulu tarafından İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimalla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dt Sabiha Ceren İlisulu'yu 0555 7359362 no'lu telefondan ve Pedodonti Ana Bilim Dalı Çapa/İstanbul'dan arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımuma ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararımı aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

**Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının
Adı-soyadı/ İmzası/ Tarih**

**Gerekiyorsa olur işlemine tanık olan kişinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi
(varsa telefon no., faks no,...)**

**Gerekiyorsa yasal temsilcisinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon
no., faks no,...)**

ETİK KURUL KARARI



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**



Sayı :346

27.12.2018

Konu : Prof.Dr.Figen Seymen

Sayın Prof.Dr.Figen Seymen
Pedodonti Anabilim Dalı

İlgili: İÜ Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nın 20/11/2018 gün ve 321263 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz 2018/93 dosya nolu "Pedodontide kullanılan güncel restoratif materyallerin insan dental pulpa kök hücreleri üzerine etkilerinin in vitro olarak incelenmesi" başlıklı çalışma kurumumuzun 27/12/2018 tarih ve 77 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr. Gamze Aren
İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik
Araştırmalar Etik Kurul Başkanı Y.

Ekl: İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

PEDODONTİDE KULLANILAN GÜNCEL RESTORATİF MATERYALLERİN İNSAN DENTAL PULPA KÖK HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İN VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

% 14	% 8	% 6	% 11
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 3
2	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	% 1
3	acikarsiv.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
5	Submitted to Dicle University Öğrenci Ödevi	<% 1
6	wcssr.org İnternet Kaynağı	<% 1
7	Submitted to Baskent University Öğrenci Ödevi	<% 1
8	KANIK, Özgür and TÜRKÜN, L Şebnem. "Restoratif Cam İyonomer Simanlarda Güncel	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	SABİHA CEREN	Soyadı	İLİSULU
Doğ.Yeri	İSTANBUL	Doğ.Tar.	05.04.1991
Email	cerenilisulu@gmail.com	Uyruğu	T.C

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti AD	
Yük.Lis.	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2015
Lisans	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2015
Lise	Şehremini Anadolu Lisesi	2009

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi		82,5

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	77,85	69,2	60,4
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office (Word, Excel, Powerpoint)	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Yayınları

Mine Koruyucu, **Ceren İlisulu**, Esra Parmaksız, Figen Seymen. 6-12 yaş arası okul çağı çocuklarda travmatik dental yaralanmaların görülme sıklığı. Selcuk Dent J, 2019; 6: 119-126.

Ceren İlisulu, Sinem Uz, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Early Interceptive Orthodontic Treatments: Case Series. International Journal of Medical Investigation 2019; Volume 8; Number 3;104-111

Ceren İlisulu, Figen Seymen. Kemomekanik Çürük Uzaklaştırma Yöntemlerinde Güncel Yaklaşımlar. Diş Hekimliği Dergisi Temmuz 2019, Sayı:137; 36-38.

Hazal Özcan, Sinem Birant, **Sabiha Ceren İlisulu**, Ceren Aydın, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Çocukların Boyu ve Süt Dişlerinin Kron Boyutları Arasındaki İlişki. Selçuk Dental Journal, 2020; 7: 185-191.

Onur Çınar Kaya, **Sabiha Ceren İlisulu**, Sinem Birant, Hazal Özcan, Ceren Aydın, Mine Koruyucu, Derya Toparlak, Figen Seymen. Çocuklarda Ön Diş Kırıklarının Psikososyal Etkilerinin Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Dergisi (Under review).

Deniz Yenidünya, **Ceren İlisulu**, Mine Koruyucu, Hazal Özcan, Yelda Kasımoğlu, Figen Seymen. Çocuklar ve Ebeveynler Molar İnsizör Hipomineralizasyonu Ağız Sağlığı Sorunu Olarak Algılıyor Mu? Selçuk Dental Journal (Under review).

Sinem Birant, Mine Koruyucu, Hazal Özcan, **Ceren İlisulu**, Yelda Kasımoğlu, Nilüfer Üstün, Simin Kocaaydın, Dilara Dinç, Gülsevim Usta, Cansu Akay, Nural Bekiroğlu, Figen Seymen. Investigation the level of knowledge of the community about oral and dental health. European Journal of Dentistry (Under review).

Bildirileri

Ceren İlisulu, Seçil Özkurt, A. Burak Çankaya, Figen Seymen. Management of Impacted and Dilacerated Maxillary Central Incisor: A Case Report. 15th Congress of the European Academy of Paediatric Dentistry, July 3-4 2020, Hamburg, Germany.

Ceren İlisulu, Öykü Hızlıoğlu, Erkut Bolat, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Çürük Deneyimi ile Ergenler ve Anneler Arasındaki Tutarlılık Duygusunun Saptanması. 25th International Dental Congress, 4-7 September 2019, İstanbul, Turkey (oral presentation)

Deniz Yenidünya, **Ceren İlisulu**, Mine Koruyucu, Hazal Özcan, Yelda Kasımoğlu, Figen Seymen. Çocuklar ve Ebeveynler Molar İnsizör Hipomineralizasyonu Ağız-Sağlığı Sorunu Olarak Algılıyor mu? 25th International Dental Congress, 4-7 September 2019, İstanbul, Turkey (oral presentation)

Ceren Aydın, **Ceren İlisulu**, Sinem Birant, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Apexification of immature teeth with NeoMTA Case Series. AAPD Annual Session 24-27 May 2018, Honolulu, Hawai (international presentation)

Ceren İlisulu, Sinem Birant, Mine Koruyucu, Elif Bahar Tuna İnce, Figen Seymen. Clinical assessment between bad oral habits and dental caries-periodontal parameters between monozygotic and dizygotic twins. IAPD regional meeting and 25th Congress of TPD. 12-14 October 2018, Istanbul, Turkey (oral presentation)

Hazal Özcan, Buse Yılmaz, Sinem Birant, **Sabiha Ceren İlisulu**, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Correlation between height of children and crown dimensions of deciduous teeth. 24th International Dental Congress. 27-30 September 2018, Ankara, Turkey (oral presentation)

Mine Koruyucu, Sinem Birant, Hazal Ozcan, **Ceren İlisulu**, Yelda Kasımoğlu, Nilüfer Ustün, Simin Kocaaydın, Dilara Dinç, Gülsevim Usta, Cansu Akay, Nural Bekiroğlu, Figen Seymen. Investigation the level of knowledge of the community about oral and dental health. International Congress of Preventive Dentistry March 5-8, 2018 Erzurum/Turkey (Oral presentation)

Mine Koruyucu, **Ceren İlisulu**, Sıla Yardımcı, Figen Seymen. Comparison Of Biodentine And MTA Pulpotomies In The Primary Molar Teeth: 3-year Follow-up. World Dental Congress FDI 29 Agus-1 Sept 2017, Madrid, Spain (Oral presentation)

Ceren İlisulu, Seçil Özkurt, Figen Seymen. Avülse Olmuş Dişte Replantasyon Sonrası Kök Kanal Tedavisi: Olgu Sunumu. 25th International Dental Congress, 4-7 September 2019, İstanbul, Turkey (Poster).

Ceren Aydın, **Ceren İlisulu**, Yelda Kasımoğlu, Figen Seymen. Ön Diş Kırıklarının Reataçman Tedavisi: 3 Olgu. 25th International Dental Congress, 4-7 September 2019, İstanbul, Turkey (Poster).

Ceren Aydın, **Ceren İlisulu**, Yelda Kasımoğlu, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Oral Rehabilitation of the Children with Ectodermal Dysplasia: Three cases. 11th EAPD Interim Seminar & Guidelines Workshop, 3-4 May 2019, Crete, Greece (Poster).

Mine Koruyucu, **Ceren İlisulu**, Fahrettin Sarcan, Furkan Kuruoglu, Figen Seymen. Investigation of the preventive effects of matrix-metalloproteinase Inhibitors on dental erosion: In vitro study. 11th EAPD Interim Seminar & Guidelines Workshop, 3-4 May 2019, Crete, Greece (Poster).

Ceren Aydın, **Ceren İlisulu**, Hazal Özcan, Sinem Birant, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Apexification of immature teeth with NeoMTA case series. IAPD regional meeting and 25th Congress of TPD. 12-14 October 2018, İstanbul, Turkey (Poster).

Simin Kocaaydın, **S. Ceren İlisulu**, Figen Seymen, Koray Gençay. A novel approach for tooth loss in adolescent: Resin Bonded Cad/Cam Bridge. IAPD regional meeting and 25th Congress of TPD. 12-14 October 2018, İstanbul, Turkey (Poster).

S. Ceren İlisulu, Onur Çınar Kaya, Sinem Birant, Hazal Özcan, Mine Koruyucu, Derya Toparlak, Figen Seymen. Investigation of Psychosocial effects of anterior tooth fractures in children. 24th International Dental Congress. 27-30 September 2018, Ankara, Turkey (Poster).

Ceren Aydın, **Ceren İlisulu**, Sinem Birant, Figen Seymen. Dental Luksasyon Yaralanmalarında Tedavi Yaklaşımı Management of Traumatic Dental Luxation. 24th International Dental Congress. 27-30 September 2018, Ankara, Turkey (Poster).

Mine Koruyucu, Sinem Birant, Hazal Özcan, **Ceren İlisulu**, Nural Bekiroğlu, Figen Seymen. Investigation of the self-reported attitude of dentists towards fluoride applications. International Congress of Preventive Dentistry March 5-8, 2018 Erzurum/Turkey (Poster).

Ceren İlisulu, Sinem Birant, Hazal Özcan, Yelda Kasımoğlu, Mine Koruyucu, Figen Seymen. Reattachment of anterior teeth fragments: case report. 26th IAPD Congress 4-7 October 2017 Santiago, Chile (Poster).

Sabiha Ceren İlisulu, Sinem Birant, Yeliz Güven, Figen Seymen. Multidisciplinary treatment approach for traumatically extruded permanent teeth. 10th Interim Seminar of the European Academy of Pediatric Dentistry (EAPD) 21 and 22 April 2017, Turin, Italy (Poster).

S. Ceren İlisulu, Sinem Birant, Yeliz Güven, Figen Seymen. Süpernümerer Diş Nedeniyle Gömük Kalmış Keser Dişte Spontan Sürme: Olgu Sunumu. 23th TDA International Dental Congress 21-24 September 2017, İstanbul, Turkey (Poster).

Sabiha Ceren İlisulu, Sinem Uz, Derya Tabakçılar, Mine Koruyucu, Figen Seymen, Koray Gençay. Erken dönemde koruyucu ortodontik tedaviler: Olgu serisi. Türk Pedodonti Derneği 23. Bilimsel Kongresi, Celestyal Nefeli, Kuşadası, 24-28 Eylül 2016 (Poster).