

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ DİŞ
HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ



REJENERATİF ENDODONTİDE KANAL İÇİ OZON
UYGULAMASININ BÜYÜME FAKTÖRÜ SALINIMINA
ETKİSİ

ENDODONTİ ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ

SUDE OKUR

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Melis Oya ATEŞ

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 124R106 numaralı proje ile desteklenmiştir.

BOLU, EKİM 2025

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu ve Şablonuna uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, ○ Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %30'u geçmemektedir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 2024/186 sayısı ile etik izin alınmıştır.

SUDE OKUR

ÖZET

**REJENERATİF ENDODONTİDE KANAL İÇİ OZON
UYGULAMASININ BÜYÜME FAKTÖRÜ SALINIMINA ETKİSİ
UZMANLIK TEZİ
SUDE OKUR
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞRETİM ÜYESİ MELİS OYA ATEŞ)**

BOLU, EKİM-2025

Xi + 111 sayfa

Endodontide geleneksel irrigasyon protokolleri dezenfeksiyon sağlarken, dentin matriksinden büyüme faktörlerinin salınımını da etkilemektedir. Ozon, sahip olduğu güçlü antimikrobiyal, biyouyumlu ve biyostimülan özellikleri nedeniyle son yıllarda endodontide irrigasyon solüsyonu, kanal içi medikament ve gaz formunda alternatif bir dezenfektan olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca smear tabakasını ortadan kaldırarak dentin tübüllerini açma ve dentin yüzeyinde biyolojik aktiviteyi artırma potansiyeli, ozonu rejeneratif endodontik tedavi için ilgi çekici bir seçenek haline getirmiştir. Ancak ozonun dentinden büyüme faktörü salınımına etkisine dair literatürde tarafımızca bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu in vitro çalışmanın amacı, farklı formlarda kanal içine uygulanan ozonun dentin matriksinden büyüme faktörü salınımına etkisini değerlendirmektir. Çalışmada periodontal nedenlerle çekilmiş, tek köklü ve tek kanallı toplam 64 insan premolar dişi kullanılmıştır. Örnekler rastgele gruplara ayrılmış ve çeşitli irrigasyon protokolleri uygulanmıştır. İşlemlerin ardından 1. Ve 7. Günde toplanan örnekler ELISA yöntemi ile değerlendirilmiş, salınan TGF- β 1 ve IGF-1 düzeyleri ölçülmüştür. Her örneğin kök kanal iç yüzey alanı mikrobilgisayarlı tomografi (mikro-BT) ile belirlenmiş, elde edilen veriler bu alanlara göre normalize edilerek ng/mm² biriminde raporlanmıştır.

Bulgulara göre TGF- β 1 tüm gruplarda salınmış, standart irrigasyon protokolü uygulanan grup ve ozonlu EDTA grubunda 7. günde 1. güne kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Buna karşın ozonlu su grubunda anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. IGF-1 açısından ise tüm gruplarda büyüme faktörü salınımı gerçekleşmiş ancak 1. ve 7. gün değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Sonuç olarak, ozon uygulamasının dentinden büyüme faktörü salınımı üzerinde sınırlı düzeyde etkili olduğu, özellikle EDTA ile kombine edildiğinde TGF- β 1 salınımını artırabildiği gösterilmiştir.



ANAHTAR KELİMELEER: Rejeneratif endodonti, Büyüme faktörleri, Ozon, EDTA, İrrigasyon Aktivasyon

ABSTRACT

THE EFFECT OF INTRACANAL OZONE APPLICATION ON GROWTH FACTOR RELEASE IN REGENERATIVE ENDODONTICS

SPECIALTY THESIS

SUDE OKUR

BOLU ABANT IZZET BAYSAL UNIVERSITY

FACULTY OF DENTISTRY

DEPARTMENT OF ENDODONTICS

(SUPERVISOR: Asst. Prof. Dr. Melis Oya ATEŞ)

BOLU, OCTOBER 2025

XI + 111 pages

While conventional irrigation protocols in endodontics provide disinfection, they also influence the release of growth factors from the dentin matrix. Due to its potent antimicrobial, biocompatible, and biostimulatory properties, ozone has recently been introduced in endodontics as an alternative disinfectant in the form of an irrigant solution, intracanal medicament, or gas. Furthermore, its ability to remove the smear layer, open dentinal tubules, and enhance biological activity on dentin surfaces makes ozone an attractive option for regenerative endodontic procedures. However, to the best of our knowledge, no study in the literature has yet investigated the effect of ozone on the release of growth factors from dentin.

The aim of this in vitro study was to evaluate the effect of intracanal application of ozone in different forms on the release of growth factors from the dentin matrix. A total of 64 extracted human single-rooted premolar teeth with single canals, removed for periodontal reasons, were used. The samples were randomly assigned into groups and subjected to various irrigation protocols. Following the procedures, samples were incubated, and supernatants collected on days 1 and 7 were analyzed using the ELISA method to measure the levels of

TGF- β 1 and IGF-1 released. The internal root canal surface area of each specimen was determined by micro-computed tomography (micro-CT), and the obtained values were normalized according to this area and reported as ng/mm².

According to the results, TGF- β 1 was released in all groups. A statistically significant increase was observed on day 7 compared to day 1 in the standard irrigation protocol group and the ozonated EDTA group, whereas no significant change was detected in the ozonated water group. For IGF-1, growth factor release occurred in all groups, but no statistically significant difference was found between the values at day 1 and day 7.

In conclusion, intracanal application of ozone had a limited effect on the release of growth factors from dentin, and its combination with EDTA was shown to enhance TGF- β 1 release.

KEYWORDS: Regenerative endodontics, Growth factors, Ozone, EDTA, Irrigation activation

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	ix
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	x
TEŞEKKÜR	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Diş Gelişimi	4
2.2 İmmatür Daimi Dişlerin Tedavisi	5
2.2.1 Apeksogenezis	5
2.2.2 Apeksifikasyon	6
2.2.3 Revaskülarizasyon	7
2.2.4 Rejeneratif Endodontik Tedavi	8
2.2.5 Klinik Rejeneratif Endodontik Prosedür	10
2.3 Rejeneratif Endodonti ve Doku Mühendisliği	13
2.3.1 Kök Hücreler	14
2.3.2 Doku İskelesi	17
2.3.2.1 Doğal Doku İskeleleri	19
2.3.2.1.1 Kan Pıhtısı	19
2.3.2.1.2 Plateletten Zengin Plazma (PRP)	20
2.3.2.1.3 Plateletten Zengin Fibrin (PRF)	20
2.3.2.1.4 Demineralize Dentin Matriksi (DDM)	21
2.3.2.1.5 Kolajen	21
2.3.2.1.6 Kitosan	22
2.3.2.1.7 Hyaluronik Asit (HA)	22
2.3.2.2 Sentetik (Doğal Olmayan) Doku İskeleleri	23
2.3.3 Büyüme Faktörleri	24
2.3.3.1 Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (TGF- β)	26
2.3.3.2 İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)	28
2.3.4 İrrigasyon Solüsyonları	30
2.3.4.1 Sodyum Hipoklorit (NaOCl)	30
2.3.4.2 Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA)	32

2.3.4.3 İrrigasyon Aktivasyonu	34
2.3.4.3.1 Ultrasonik Aktivasyon Sistemleri	35
2.4 Ozon	37
2.4.1 Ozonun Medikal Kullanımı ve Etki Mekanizmaları	38
2.4.2 Ozonun Diş Hekimliği Alanında Kullanımı	41
2.4.2.1 Çürük Profilaksisinde Ozon	42
2.4.2.2 Dentin Hipersensitivitesinde Ozon	42
2.4.2.3 Plak Biyofilmi Üzerinde Antibakteriyel Etki	42
2.4.2.4 Beyazlatmada Ozon	42
2.4.2.5 Pedodontide Ozon	43
2.4.2.6 Protetik Tedavide Ozon	43
2.4.2.7 Cerrahi Uygulamalarda Ozon	43
2.4.2.8 Periodontolojide Ozon	43
2.4.2.9 Endodontide Ozon	43
3. MATERİYAL ve METOD	46
3.1 Etik Kurul Onayı	46
3.2 Örneklem Sayısının Belirlenmesi	46
3.3 Dişlerin Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri	46
3.4 Kök Segmentlerinin Hazırlanması	47
3.5 İrrigasyon Protokolünün Tamamlanması	49
3.6 ELISA Ölçümlerinin Yapılması	55
3.7 Mikro-bilgisayarlı Tomografi ile Dentin Yüzey Alanı Hesaplaması	57
3.8 İstatistiksel Analiz	60
4. BULGULAR	61
5. TARTIŞMA	68
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	82
7. KAYNAKLAR	83

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1. Dişlerden alınan periapikal radyografi	47
Şekil 3.2. PBS solüsyonu	48
Şekil 3.3. Chloramine T solüsyonu hazırlanarak cam şişede muhafaza edilmesi	48
Şekil 3.4 Ozon cihazı ile EDTA'nın ozonlanması	51
Şekil 3.5 Ozon cihazının insüflasyon ucu	52
Şekil 3.6. İrrigasyon aktivasyon işlemi	53
Şekil 3.7. İrrigasyon aktivasyon ucu	53
Şekil 3.8 Mikropipet yardımı ile örnek alma işlemi	54
Şekil 3.9 Örnek toplama işlemi için kullanılan mikropipet	54
Şekil 3.10 Örnek toplama işleminin yapıldığı ortam	55
Şekil 3.11 Çalışmada kullanılan ELISA kiti	56
Şekil 3.12 İnkübasyon için kullanılan etüv	56
Şekil 3.13 ELISA BioTek Elx50 otomatik yıkama cihazı	57
Şekil 3.14 ELISA otomatik okuyucu	57
Şekil 3.15. CtAn programında hacim ve yüzey alanı hesaplaması	58
Şekil 3.16. mikro-BT ile kök kanalı görüntüsünün elde edilmesi işlemi	59
Şekil 4.1. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarına göre IGF-1 ölçümlerinin dağılımı	64
Şekil 4.2. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarına göre TGF- β 1 ölçümlerinin dağılımı	65
Şekil 4.3. Çalışma Gruplarına Göre Hacim Dağılımları	67
Şekil 4.4. Çalışma Gruplarına Göre Yüzey Alanı Dağılımları	67

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. Çalışma Grupları	50
Tablo 4.1. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarına göre IGF-1 ölçümlerinin dağılımları ve karşılaştırılması	62
Tablo 4.2. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarına göre TGF- β 1 ölçümlerinin dağılımları ve karşılaştırılması	63
Tablo 4.3. Çalışma gruplarına göre hacim ve yüzey alanı dağılımları ve karşılaştırılması	66

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

AAE	: Amerikan Endodontistler Birliği
Ca(OH)₂	: Kalsiyum Hidroksit
CO	: Karbon Monoksit
DFSCs	: Dental Folikül Kök Hücreleri
DPSCs	: Dental Pulpa Kök Hücreleri
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
Er:YAG	: Erbiyum Katkılı İttriyum-Alüminyum-Garnet
HA	: Hyaluronik Asit
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
IFN-γ	: İnterferon- γ
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
KTP	: Potasyum Titanil Fosfat Lazer
mL	: Mililitre
MTA	: Mineral Trioksit Agregat
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
NO	: Nitrik Oksit
O₂	: Oksijen
PBS	: Fosfat Tamponlu Salın
PCL	: Polikaprolakton
PDLSCs	: Periodontal Ligament Kök Hücreleri
PGA	: Poliglikolik asit
PLGA	: Polilaktik-koglikolik asit
PLLA	: Poli-L-laktik asit
PRF	: Trombosit Açısından Zengin Fibrin
PRP	: Trombosit Açısından Zengin Plazma
PUI	: Pasif Ultrasonik Aktivasyon
RET	: Rejeneratif Endodontik Tedavi
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SCAP	: Apikal Papilla Kök Hücreleri
SHED	: Süt Dişi Pulpası Kök Hücreleri
TAP	: Üçlü Antibiyotik Patı
TGF-β1	: Transforme edici büyüme faktörü-beta 1
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü-alfa
UV	: Ultraviyole

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 124R106 numaralı proje ile desteklenmiştir. Projeye verilen destekten ötürü TÜBİTAK’a teşekkürlerimizi sunarız.

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana ışık tutan, tezime olan katkılarından dolayı değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Melis Oya ATEŞ’e,

Tez çalışmamda mikro-BT ölçümlerinin yapılmasında sağladığı kıymetli destek ve katkılarından dolayı Prof. Dr. Ali KELEŞ’e,

Çalışmamda yer alan ELISA analizlerinin yapılmasında göstermiş olduğu destek ve katkılarından dolayı Doç. Dr. Fatma AVCIOĞLU’na,

Çalışmamın şekillenmesinde, kendi araştırma tecrübelerini aktararak katkı sağlayan ve yönlendirmeleriyle bana destek olan Dr. Öğr. Üyesi Dilek HANÇERLİOĞULLARI’na,

Uzmanlık eğitimine birlikte başladığımız ve yine birlikte tamamlama mutluluğunu paylaştığımız değerli eşkıdemlerim Yasemin ÖZDOĞAN ESER, Furkan YILMAZ, Ali HARAÇ, Pembe Büşra KAYGISIZ ve Amine YİĞİT’e,

Asistanlığım süresince birlikte uyum içinde çalıştığımız, aynı iş ortamını paylaşmanın yanı sıra iyi birer dost olarak hayatıma dahil olan sevgili asistan arkadaşlarım Ayşegül GÜVEN KÖMÜRCÜ’ye, Esra TETİK YÜCE’ye ve diğer tüm asistan arkadaşlarıma,

Bolu’da geçirdiğim günlerimi güzelleştirdiği ve her zaman yanımda olup desteğiyle bana güç verdiği için canım arkadaşlarım Arş. Gör. Asena Kübra AKKIN’a ve Uzm. Dt. Merve YAR’a,

Bu sürecin tüm zorluklarını benimle birlikte yaşayan, desteğini ve sevgisini hep hissettiğim müstakbel eşim Harun GÖBÜT’e,

Hayatımın her anında koşulsuz sevgisiyle yanımda olan, fedakarlıklarıyla beni bugünlere taşıyan, her zorluğu sabır ve sevgisiyle karşılayan biricik annem Hediye CİVA’ya ve biricik kardeşim Yusuf CİVA’ya teşekkür eder, sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

1. GİRİŞ

Diş gelişimi, epitel-mezenkimal etkileşimler eşliğinde gerçekleşen kök oluşumu, dentin matriksi salınımı ve mineralizasyon aşamalarını içermektedir (Duailibi vd., 2006). Kök gelişimi tamamlanmamış (immatür) dişlerde geniş apikal foramen, ince dentin duvarları ve zayıf kök-kron oranı, travma ve enfeksiyon sonrası pulpanın nekroze olması halinde yapısal kırılabilirliği belirgin biçimde artırmaktadır (J. Y. Nagata vd., 2014; Rafter, 2005). Bu klinik tablo yalnızca mikrobiyal yükün azaltılmasını değil, aynı zamanda kök gelişiminin biyolojik olarak desteklenmesini gerektiren yaklaşımları gündeme taşımıştır.

Rejeneratif endodontik tedavi (RET), enfekte immatür dişlerde dahi kök gelişiminin sürdürülmesini veya pulpa benzeri doku oluşumunu hedeflemektedir (S. R. J. Simon vd., 2014). Doku mühendisliğinin üç temel bileşeni; kök hücreler, doku iskelesi ve büyüme faktörleri RET'nin biyolojik zeminini oluşturmaktadır (Sugiaman vd., 2022).

Dentin matriksi, büyüme faktörleri açısından zengin endojen bir depo niteliğindedir (Kucukkaya Eren vd., 2021; Widbiller vd., 2017; Zeng vd., 2016). Transforme edici büyüme faktörü-beta 1 (TGF- β 1) ve İnsulin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), dentin matriksinden salgılanan büyüme faktörlerindendir (Chae vd., 2018; Finkelman vd., 1990; Hancerliogullari vd., 2021). TGF- β 1 hücre kemotaksisini, odontoblast-benzeri farklılaşmayı ve matriks sentezini desteklerken; IGF-1 hücre proliferasyonu, hayatta kalım ve mineralizasyon süreçlerinde rol oynamaktadır (Hancerliogullari vd., 2021). Klinik başarı, bu faktörlerin yalnız varlığına değil, dentinden biyolojik olarak etkin düzeylerde ve uygun zamanlamayla salınmasına da bağlıdır.

İrrigasyon ve şelasyon basamakları, bir yandan antimikrobiyal etki sağlarken diğer yandan dentin-matriks kökenli biyomoleküller üzerinde düzenleyici etkiler göstermektedir (Zeng vd., 2016). Sodyum hipoklorit (NaOCl), organik dokuyu çözme ve biyofilm kontrolündeki etkinliğiyle standart bir ajan olsa da protein denatürasyonu yoluyla büyüme faktörlerinin bütünlüğünü etkileyebilmektedir (Mishra vd., 2022). Etilendiamintetraasetik asit (EDTA), smear tabakasını uzaklaştırarak dentin tübüllerini açar ve matrikse bağlı büyüme faktörlerinin salınımını artırabildiğine dair bulgular mevcuttur (Galler vd., 2015;

Roberts-Clark & Smith, 2000; Zeng vd., 2016). Bu basamakların sonik/ultrasonik aktivasyonla desteklenmesi, irrigantların penetrasyonu ve yüzeyle temasını iyileştirerek hem dezenfeksiyon hem de biyolojik sinyalleme üzerine etkileri güçlendirebilir (Retsas vd., 2022; Van Der Sluis vd., 2007; Widbiller vd., 2017). Dolayısıyla irrigasyon sıralaması, konsantrasyonlar, temas süreleri ve aktivasyon yöntemleri; rejeneratif mikroçevreyi doğrudan şekillendirir.

Ozon; yüksek oksidatif potansiyeliyle geniş spektrumlu antimikrobiyal etki gösterirken, tıp alanında anjiyogenez ve doku onarımıyla ilişkili büyüme faktörlerinin ekspresyonunu artırabildiğine dair bulgular bulunan biyomodülatör bir ajandır (S. He vd., 2020; Kaptan vd., 2014; Moraes vd., 2021; J. Zhang vd., 2014). Diş hekimliğinde; erken çürük yönetiminde remineralizasyon desteği amacıyla, periodontolojide cep içi mikrobiyal yükün azaltılması amacıyla, oral cerrahide mukozal lezyonlarda yaraların iyileşmesinde, ağrı ve ödem kontrolünde, ağartma gibi endikasyonlarda adjuvan olarak kullanılabilir (Deery vd., 2005; Eroglu vd., 2018; Sanjeevi & Kumar, 2019).

İn vitro veriler, uygun doz ve temas sürelerinde ozon/ozonlanmış suyun pulpa kökenli progenitör hücrelerde canlılık ve proliferasyonu artırabildiğini; migrasyon ile erken odontoblastik belirteçleri olumlu etkileyebileceğini göstermektedir (Küçük vd., 2021; Pasalkar vd., 2024).

Endodonti literatüründe ozon; öncelikle kök kanal dezenfeksiyonunu güçlendirme bağlamında, *Enterococcus faecalis* ve *Candida Albicans* gibi patojenlere ve biyofilmlere karşı gaz ya da ozonlanmış su formunda antimikrobiyal etkinliği, NaOCl/Klorheksidin (CHX) ile karşılaştırmaları ve aktivasyon ile olası sinerjisi yönüyle incelenmiştir; bu çalışmaların bir kısmı ozonun tek başına NaOCl kadar güçlü olmadığını, ancak irrigasyon protokollerine adjuvan olarak eklendiğinde etkinliğin arttığını göstermektedir (Estrela vd., 2007; Huth vd., 2009; Kaptan vd., 2014; Moraes vd., 2021). Ayrıca ozonlanmış yağ/su gibi ajanların kanal içi medikament olarak kullanımı ve özellikle *Candida*'ya karşı Kalsiyum Hidroksit (Ca(OH)_2) ile kıyaslamaları; doku çözünmesinde NaOCl ile birlikte kullanımında hızlanma etkisi; bazı kök kanal patlarının dentine bağlanma dayanımı üzerindeki etkileri; ve klinikte postoperatif ağrı ve konfor üzerine etkilerini değerlendiren randomize/klinik çalışmalar da yayınlanmıştır (Bojar vd., 2009; Kazancioglu vd., 2014; K. S. Reddy vd., 2015; Rezaeianjam vd., 2025). Bununla birlikte, endodonti alanında büyüme faktörlerine yönelik çalışmaların ağırlığı; EDTA ve benzeri

şelatörlerin dentin matriksinden TGF- β 1 salınımını artırdığı/kolaylaştırdığı yönündeki bulgulara dayanmaktadır; ozonun dentin kaynaklı büyüme faktörleri salınım kinetiğine etkisini nicel ve standartlaştırılmış biçimde inceleyen bir çalışma ise tarafımızca saptanmamıştır; mevcut kanıtlar büyüme faktörü modülasyonuna dair daha çok tıp/cerrahi literatüründeki genel biyomodülatör bulgularla sınırlıdır.

Bu çalışmanın amacı; büyüme faktörleri açısından rezervuar görevi olan dentin matriksine ozon uygulayarak; ozonun büyüme faktörü salınımına etkisini incelemektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Diş Gelişimi

Diş gelişimi, ektoderm kökenli dental epitelyum ve nöral ark kökenli ektomezenşim arasındaki karşılıklı etkileşimler neticesinde başlamaktadır (Duailibi vd., 2006). Odontogenezis olarak adlandırılan bu süreç, gebeliğin 6. haftasında başlamakta ve diş sürmesine kadar devam etmektedir.

Diş gelişiminin ilk belirtisi olarak; intrauterin 6. haftada maksilla ve mandibula uzantılarının laterallerinde ağız epitelinde kalınlaşma izlenir (Harris, 2015). Bu dönemde ağız boşluğunu döşeyen ektoderm, mezoderm içerisine proliferer olur ve proliferasyon dönemi başlar. Sonrasında, her bir epitel çizgiden iki uzantı ayrılarak dental ve vestibüler laminalar oluşur (T. Yu & Klein, 2020). Epitelin, mezenkim içine çoğalması ile “diş tomurcuğu” meydana gelir (Thesleff & Sharpe, 1997). Tomurcuğun periferik kısımlarında yoğunlaşmış hücre bölünmesine altta bulunan mezenkim dokusunun hücre bölünmesi de dahil olarak “takke” evresi başlar. Diş germi hücreleri morfolojik olarak büyüyerek “çan” şeklini alır (Dean vd., 2011). Dentine yapısını kazandıran odontoblastlar ve mineyi oluşturan ameloblastlar, dişlere özgü hücrelerdir ve diş gelişiminin çan aşamasında son olarak farklılaşırlar. Bu süreç, epitel ile mezenşimin arayüzünde gerçekleşir ve iki doku arasındaki etkileşimlerle düzenlenir (Ten Gate, 1996). Odontoblastlar, mezenkimal kökenli hücreler olup dentin dokusunu üretirken; ameloblastlar, ektodermal kökenli olup mine (enamel) oluşumundan sorumludur. Kron morfogenezisinin ardından diş kökleri gelişir ve dişler ağız boşluğuna sürerler (Thesleff & Åberg, 1997).

Kök gelişimini tamamlamamış ve açık apeksli dişler, immatür dişler olarak isimlendirilir (Rafter, 2005). Dişin sürmesinden yaklaşık 3 yıl sonra kök gelişimi tamamlanır ve apikal kapanma gerçekleşir (Kumar & Bhaskar, 2019).

Diş gelişimi sırasında; travma, çürük, dens evaginatus, dens invaginatus gibi gelişimsel diş anomalileri sebebiyle pulpa nekrozu oluşabilir (Albuquerque vd., 2014). Diş gelişimi tamamlanmadan pulpa canlılığını yitirdiği için kök gelişimi durur. Bu da kök gelişimi tamamlanamamış olan immatüre dişin erken kaybına sebebiyet verebilir (Nagata vd., 2014). Bu durumda endodontik açıdan farklı tedavi prosedürleri uygulanabilmektedir (Phillips vd., 2017).

2.2 İmmatür Daimi Dişlerin Tedavisi

Olgunlaşmamış daimi dişlerin tedavisinde hedeflenen klinik sonuçlar; apikal patolojileri iyileştirmek, kök gelişimini teşvik etmek ve pulpa dokusunun fonksiyonel yeterliliğini yeniden kazandırmaktır (Hargreaves vd., 2013). Genç hastalarda, kraniyofasiyal büyüme devam ettiğinden implant kontrendikedir. Bu sebeple dişin semptomsuz bir şekilde ağızda tutulması hem kemik gelişimi hem de hasta motivasyonu açısından büyük önem taşır (Op Heij vd., 2003).

İmmatür dişlerde kök gelişimi tamamlanmadığından apeks açıktır. Apeks tamamen gelişmediğinden foramene doğru genişleyen huni şeklindedir, kök kanalı geniş olduğundan dezenfeksiyon ve şekillendirme zordur (Law, 2013). Geniş kök kanalı ve açık apeks nedeniyle hermetik tıkama mümkün değildir, dolum materyalinin periapikal bölgeye taşma riski, aynı zamanda ince ve zayıflamış kök duvarları nedeniyle potansiyel kök kırığı riski mevcuttur (Wigler vd., 2013; Wikström vd., 2021). Bu sebeple bu dişlerde kök gelişimini teşvik eden ve apeks oluşumunu sağlayan tedaviler öncelikli olarak uygulanmalıdır.

Bu tedavi seçenekleri; apeksogenezis, apeksifikasyon ve revaskülarizasyon tedavileridir.

2.2.1 Apeksogenezis

İmmatür dişlerde tedavi seçeneği belirlenirken en önemli kriter pulpanın vitalitesi ve sağlık durumudur (Waterhouse PJ, 2011). Açık apeksli dişlerde pulpa vital olduğu takdirde kök gelişiminin devamının sağlanması ve dişlerin ağız içinde sağlıklı bir şekilde fonksiyonunu idame ettirmesi amacıyla ilk tedavi seçeneği vital pulpa tedavileri olmalıdır (Ghoddusi vd., 2013). Vital pulpa tedavilerinde öncelikli hedef pulpanın sağlıklı olarak korunması, canlılığını sürdürmesi ve yeni mineralize doku oluşumunu başlatmaktır. Maksillofasiyal gelişim esnasında ark bütünlüğünün korunması açısından vital pulpa tedavileri önem taşımaktadır (In Cohen S, 1998). Pulpanın travma, çürük veya restoratif prosedürler nedeniyle tehlikeye girdiği ancak zarar görmediği durumlarda vital pulpa tedavileri denenebilmektedir (Ghoddusi vd., 2013).

Pulpanın açılmadığı durumlarda indirekt pulpa kaplaması, pulpanın açıldığı ancak kanama kontrolünün sağlandığı durumlarda üzerine doku dostu bir materyal yerleştirilerek direkt pulpa kaplaması, iltihaplı pulpanın çıkarılmasının ardından doku dostu bir materyal yerleştirilmesi ile parsiyel pulpatomi ya da tüm koronal

pulpanın çıkarılarak üzerine doku dostu bir materyal yerleştirilmesi ile total pulpatomi tedavisi yapılmaktadır. Bu tedavideki amaç inflamasyonlu pulpanın çıkarılarak kalan pulpa dokusunun canlılığını sürdürerek konservatif bir tedavi yaklaşımı sağlamaktır (Rafter, 2005). Tedavi tamamlandıktan sonra pulpa canlılığı, apikal kapanmanın devam etmesi ve periapikal dokuların sağlığı soğuk testi ve periapikal radyografi yardımı ile 3 aylık periyotlarda takip edilmelidir (Matsuo vd., 1996).

2.2.2 Apeksifikasyon

Vitalitesini kaybetmiş immatür daimi dişlerde apeksifikasyon tedavisi ile apekte mineralize bir doku oluşturularak apikal kapanmanın sağlanması mümkündür (Fuks & Eidelman, 1991). Apikal kapanmanın uyarılması için çeşitli medikamentler kullanılmış olup en yaygın olarak kullanılan ve kabul gören materyal kalsiyum hidroksittir. Kalsiyum hidroksitin (Ca(OH)_2) pH'ının bazik olması antibakteriyel etki sağlayarak granülasyon dokusu oluşumunu teşvik eder, osteoklastik aktiviteyi engelleyerek apikalde kalsifiye doku oluşumunu sağlar (Heithersay, 1970). Düzenli aralıklarla Ca(OH)_2 pansumanı ile immatür dişin apikalinde sert doku oluşumu sağlanarak apikal açıklığın kapanması sağlanır (Frank, 1966). Apikalde sert doku bariyeri oluşturulması sayesinde kök kanal dolumu daha kolay bir şekilde tamamlanmaktadır (G. T. J. Huang, 2009). Ancak bu yöntemin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Ca(OH)_2 ile apeksifikasyon tedavisi uzun seanslar Ca(OH)_2 materyalinin değiştirilmesi sonucunda sert doku oluşumunu teşvik eder, yapılan bazı çalışmalarda bu sürenin 5 ile 20 ay arasında değiştiği gözlenmiştir (Sheehy & Roberts, 1997). Bu uzun tedavi süresi hastaların tedaviyi idame ettirmesi açısından risk teşkil etmektedir.

Yapılan çalışmalarda kök kanalının uzun süre Ca(OH)_2 medikamentine maruz kalması sonucunda kök dentininin zayıflayarak kök kırığı oluşma riskinin arttığı görülmüştür (Andreasen vd., 2002; Mohammadi & Dummer, 2011). Her seansta dişin geçici restoratif materyal ile restore edilmesi sebebiyle de kök kanalının kontamine olma riski mevcuttur (Mohammadi, 2011). Bu sebeplerden dolayı tek seansta apeksifikasyon tedavisi ihtiyacı doğmuştur (Doyon vd., 2005).

1993 yılında, Torabinejad ve Chivian sementoblastlar üzerinde indüktif etkiye sahip Mineral Trioksit Agregatın (MTA) kullanımını önermişlerdir (Torabinejad vd., 1993). Günümüzde tek seans apeksifikasyon tedavisinde apikal tıkaç olarak Biodentine, MTA, Endosequence gibi biyoseramik esaslı materyaller

kullanılmaktadır (Duraivel vd., 2017). MTA, yüksek pH sayesinde antibakteriyel etkiye sahiptir (El Meligy & Avery, 2006; Witherspoon & Ham, 2001). Biyouyumlu olması, yüksek sızdırmazlık özelliğine sahip olması, sert doku oluşumunu uyarması ve bakteriostatik etkisi sebebi ile apeksifikasyon tedavisinde en uygun ve en sık kullanılan materyaldir (Andreasen vd., 2002; Hargreaves vd., 2013; Shabahang, 2013).

MTA ile tek seans apeksifikasyonun avantajları arasında; $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile yapılan çoklu seans apeksifikasyona göre daha az seans gerektirmesi, daha öngörülebilir tedavi başarısı, hasta uyumuna daha az bağlılık olması, sert doku oluşumunu daha hızlı uyarma, daha başarılı bir apikal kapama sağlanması sayılabilmektedir (El Meligy & Avery, 2006; A. Kumar, Yadav, vd., 2014; S. Simon vd., 2007). Bu avantajlar dışında tek seans apeksifikasyonun bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Tek seans apeksifikasyon tedavisinde, kök kanalı duvarında dentin ya da dentin benzeri sert doku oluşumu sağlanamamaktadır ve kök gelişimi devam etmemektedir. İnce kalan kök kanal duvarları nedeniyle kök kırılma riski mevcuttur (G. T. J. Huang, 2009). Bu nedenle çok kısa köklerde apeksifikasyon tedavisi önerilmemektedir (Yeşilsoy, 1990).

Başarılı sonuçlara rağmen; kök oluşumunu stimüle etmediğinden, kalan ince dentin duvarları ve dişin vitalitesinin geri kazanılmaması nedeniyle araştırmacılar yeni tedavi yöntemleri arayışına girmiş; kök oluşumunu ve dişin canlılığını devam ettirebilecek alternatif bir tedavi seçeneği olarak revaskülarizasyon üzerinde çalışmaya başlamışlardır (G. T. J. Huang, 2009).

2.2.3 Revaskülarizasyon

İmmatür nekrotik pulpalı daimi dişlerde kök gelişiminin sağlanması ve dentin duvarlarının iyileşmesi için en ideal tedavi, pulpa-dentin kompleksinin rejenerasyonu ve onarımına olanak tanıyan revaskülarizasyondur. Ancak, bazı araştırmacılar bu tedavinin amacının, apikal periodontitisin iyileşmesi sırasında kök gelişiminin devam etmesi olduğunu belirterek, revaskülarizasyon yerine "indüklenmiş doku rejenerasyonu" terimini önermiştir (Hargreaves vd., 2008). Bu nedenle, genellikle RET terimi tercih edilmektedir ve bu terim günümüzde yaygın olarak kabul görmüştür (G. T. J. Huang & Lin, 2008).

Rejeneratif endodontik prosedürler; dentin, kök yapıları ve pulpa-dentin kompleksindeki hücreler gibi hasar görmüş dokuların onarılması amacıyla

geliştirilmiş biyolojik temelli tedavi yöntemleri olarak tanımlanabilir (Murray vd., 2007). Revaskülarizasyon ya da revitalizasyon olarak da adlandırılır. Doku rejenerasyonunun amacı, orijinal dokunun hem yapısını hem de fonksiyonunu yeniden oluşturan yeni doku meydana getirmek iken, doku onarımı sadece fonksiyon geri kazandırılmadan skar dokusu benzeri bir doku oluşumunu ifade eder (Hargreaves vd., 2013).

Amerikan Endodontik Derneği (AAE) tarafından RET, hasar gören diş yapılarını fizyolojik olarak yenileyen bir tedavi olarak tanımlanır (*AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure*, 2021). Bu tedavi, nekrotik immatür dişlerde kök gelişimini teşvik etmeyi ve apikal periodontitisin iyileşmesini sağlamayı hedefler (Alghamdi & Alqurashi, 2020). Ayrıca, dişlerin uzun vadeli ağızda tutulmasını ve fizyolojik fonksiyonların (beslenme, hissetme, immün savunma) iyileşmesini amaçlar (Xie vd., 2021). Direkt pulpa kaplaması, apeksogenez, revaskülarizasyon, kök hücre tedavisi ve doku mühendisliği rejeneratif endodontik prosedürlere örnek olarak sayılabilir (Garcia-Godoy & Murray, 2012).

2.2.4 Rejeneratif Endodontik Tedavi

1952 yılında Hermann, Ca(OH)₂ kullanarak yaptığı vital amputasyon tedavisi ile diş hekimliğinde rejeneratif tedavi yaklaşımlarının temelini atmıştır (Hermann, 1952). Rejeneratif endodontiye öncülük eden ilk çalışmalardan biri de 1961 yılında Nygaard-Qstby tarafından yapılmıştır (Ostby, 1961). Bu klinik çalışmada apikal periodontitis ve pulpa onarımında kan pıhtısının rolü değerlendirilmiştir. Nekrotik pulpalı ve apikal lezyonlu matür dişlerin kök apikal üçlüsünde yeni vaskülarize doku oluşumunun indüklenebildiği histolojik olarak gösterilmiştir. Çalışmada kök kanalları temizlenmiş, dezenfekte edilmiş, Ca(OH)₂ medikamenti yerleştirilmiş ve genişletilmiş apikal foramenden kök kanal egesi ile kanama indüksiyonu sağlanmıştır. Oluşan pıhtının koronale kloroperka patı konulmuştur. Hastalar 17. günden 3 yıla kadar takip edilmiştir. 17. günde inflamasyonun azaldığı görülmüştür. Çekim endikasyonu koyulan dişlerde çekimden sonra yapılan histolojik incelemelerde kanal içine büyüyen bağ dokusu ve kanal duvarları boyunca mineralize odaklar tespit edilmiştir. Kanal içinde sementoblastlar gibi istenmeyen hücre tiplerinin saptanması ve odontoblastlar gibi istenen hücre tiplerine rastlanmaması, bu protokolün diş pulpasının tam histolojik

rejenerasyonuna yol açmadığını göstermiştir. Buna rağmen bu çalışma endodontik rejenerasyon literatürüne öncülük etmiştir (Diogenes vd., 2016).

1966 yılında Rule ve Winter tarafından yapılan bir çalışmada nekrotik immatür dişlerin tedavisinde seanslar arasında poliantibiyotik patı kullanılmıştır ve tedavi sonucunda kök gelişiminin devam ettiği ve enfeksiyon belirtilerinin azaldığı gözlenmiştir (Rule & Winter, 1966).

Ostby ve Hjortdal'ın 1971 yılında gerçekleştirdiği bir diğer çalışmada, 47 diş kullanılmıştır; bunlardan 35'i vital pulpalı, 12'si ise nekrotik pulpalıdır. Dişlerin periapikal dokularından kanal boşluğuna kanama indüklenmiş ve kanallar kısmi olarak doldurulmuştur. Bazı dişlerde kanama gözlemlenmemiştir, bu dişler kök kanalındaki kan pıhtısının onarım sürecindeki rolü veya bu süreci hızlandırıp hızlandırmadığı ile ilgili bilgi edinmek amacıyla kontrol materyali olarak kullanılmıştır. Çalışma, 9 gün ile 3 yıl arasında değişen sürelerde çekilen ya da apikal bölgesi rezeke edilen dişlerin histolojik analizini içermiştir. Sonuçlar, vital pulpa içeren dişlerin apikal kanal boşluğunda fibröz bağ dokusu ve hücresel sementum oluşumunu gösterirken, nekrotik pulpalı dişlerde ise apikal bölgede herhangi bir onarım dokusu gözlemlenmemiştir (Nygaard-Ostby & Hjortdal, 1971).

2000'li yılların başlarında, rejeneratif endodontik prosedürlere dair çeşitli vakalar yayımlanmaya başlanmıştır. Iwaya ve ark., immatür nekrotik pulpalı ve introoral sinüs yoluna sahip bir dişte 'revaskülarizasyon' adı verilen bir prosedür kullanmışlardır. %5 NaOCl ve %3 hidrojen peroksit (H₂O₂) ile dezenfekte ettikten sonra kanalda ikili antibiyotik patı kullanmış ve 2,5 yıl boyunca takip etmişlerdir. Bu takip sürecinde, dişin kök gelişiminin sağlandığı ve vitalite testine olumlu yanıt verdiği gözlenmiştir (Iwaya vd., 2001). Başka bir vakada ise, immatür nekrotik pulpalı diş %5,25 NaOCl ile dezenfekte edildikten sonra, üçlü antibiyotik patı 1 ay boyunca kök kanalında bekletilmiştir. İkinci seansta, bu antibiyotik karışımı salin solüsyonu ile temizlenmiş ve apikal bölgeden kanama sağlanmıştır. Oluşan kan pıhtısının üzerine, MTA yerleştirilmiş ve kavite nemli bir pamuk pelet ve geçici bir restorasyon ile kapatılmıştır. 14 gün sonra, daimi restorasyon uygulanmış ve dişin semptomsuz olduğu gözlenmiştir. Hastanın 2 yıl süresince yapılan takibinde, kök gelişiminin sürdüğü, dişin vitalite testlerinde pozitif yanıt verdiği ve klinik semptomların olmadığı bildirilmiştir (Banchs & Trope, 2004).

2008 yılında Huang ve ark. tarafından kanal boşluğunda kan damarlarının yanı sıra sert ve yumuşak dokuların da yenilendiği vurgulanarak

‘revaskularizasyon’ yerine ‘revitalizasyon’ terimi öne sürülmüştür (G. T. J. Huang & Lin, 2008; Iwaya vd., 2001). 2007 yılında Murray ve ark., doku mühendisliği kavramına dayanarak "rejeneratif endodonti" terimini önermiş ve bu terim AAE tarafından kabul edilmiştir (Murray vd., 2007).

2012 yılında Jeeruphan ve ark. tarafından yapılan çalışmada, rejeneratif tedavi kapsamında MTA ile yapılan apeksifikasyon ve Ca(OH)_2 ile uygulanan uzun süreli apeksifikasyon tedavilerinin klinik ve radyolojik sonuçları incelenmiştir. Revaskularizasyon protokolü uygulanan vakalarda kök uzunluğunda %14,9 oranında, kök kalınlığında yaklaşık %28 oranında bir artış gözlemlenirken, MTA ile tek seansta yapılan apeksifikasyon tedavisinde kök uzunluğunda %6.1 oranında bir artış gözlemlenmiş fakat kök kalınlığında herhangi bir değişim saptanmamıştır. Ca(OH)_2 ile yapılan çoklu seans apeksifikasyon tedavisinde ise kök uzunluğunda %0.4 oranında, kök kalınlığında %1.5 oranında bir artış gözlenmiştir. Ayrıca, bu çalışmada ilk defa dişlerin ağızda kalma süreleri de değerlendirilmiştir. Ağızda kalma süreleri revaskularizasyon protokolü uygulanan vakalarda %100, MTA ile yapılan apeksifikasyon tedavisinde %95 ve Ca(OH)_2 ile uzun süreli apeksifikasyon tedavilerinde ise %77.22 olarak bulunmuştur. Ca(OH)_2 uygulanan vakalarda diş kayıplarının %23'ünde restorasyonu mümkün olmayan kök fraktürleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda, RET'nin dişlerin ağızda kalma sürelerini olumlu yönde etkilediği söylenebilir (Jeeruphan vd., 2012).

2.2.5 Klinik Rejeneratif Endodontik Prosedür

RET'ye dair en güncel kılavuz, 18 Mayıs 2021 tarihinde Amerikan Endodontistler Birliği (AAE) tarafından yayımlanmıştır. Bu yaklaşım, önerilen tedavi protokolü olarak kabul edilmelidir. Rejeneratif endodontideki hızlı gelişmeler göz önünde bulundurulmalıdır (*AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure*, 2021).

AAE Tarafından 2021 Yılında Revize Edilen RET Prosedürü Vaka

Seçimi:

- Nekrotik pulpalı ve immatür diş
- Post/kor ve son restorasyon için kanal boşluğundan destek alınmasına gerek olmayan dişler
- Uyumlu hasta/ebeveyn

- Prosedürü tamamlamak için gerekli ilaç ve antibiyotiklere alerjisi olmayan hastalar (ASA 1 veya 2)

Bilgilendirilmiş Onam:

- RET, en az iki randevu gerektiren bir tedavi sürecidir.
- Bu tedavi sürecinde farklı antimikrobiyal ajanların kullanılması gerekmektedir.
- Tedavi; ağrı, tedaviye yanıt alınamaması, enfeksiyonun kontrol altına alınamaması ve dişin renk değişikliği gibi olumsuz sonuçlarla karşılaşılmasına neden olabilir.
- Ebeveynin tedaviyi kabul etmemesi durumunda alternatif olarak MTA ile apeksifikasyon, dişin kurtarılamaz duruma gelmesi halinde diş çekimi veya tedavi yapılmaması seçenekleri sunulabilir.

İlk Randevu:

- Lokal anestezi uygulandıktan sonra, diş izole edilir ve rubberdam takılır. Ardından endodontik giriş kavitesi açılır.
- İrrigasyon ajanlarının periapikal boşluğa taşma riskini en aza indirmek için, kapalı uçlu ve yandan perfore enjektör ya da EndoVac gibi bir sistem kullanılarak her kanal için düşük konsantrasyonlarda (%1.5-%3) 20 mL NaOCl ile 5 dakika irrigasyon yapılır. Daha sonra her kanal, 20 mL salin veya EDTA ile 5 dakika boyunca temizlenir. Apikal bölgedeki kök hücrelere zarar vermemek için irrigasyon iğnesi, kök ucundan yaklaşık 1 mm uzaklıkta yerleştirilmelidir.
- Kanallar, paper pointlerle kurutulur.
- Kanallara antimikrobiyal etkili tedavi için Ca(OH)₂ veya düşük konsantrasyonlu (1-5 mg/mL) üçlü antibiyotik patı (TAP) (1:1:1 siprofloksasin: metronidazol: minosiklin) uygulanır. Minosiklin kaynaklı renklenmenin önüne geçmek amacıyla TAP uygulanmadan önce dentin bağlayıcı ajan kullanılabilir. Alternatif olarak, minosiklin içermeyen ikili antibiyotik patı veya minosiklin yerine klindamisin, amoksisilin ya da sefaklor gibi antibiyotiklerin kullanıldığı TAP tercih edilebilir.
- Klinisyen, seçilen kök kanal dezenfektanını enjektör ile kanal içerisine uygular. (Minosiklin içeren TAP kullanıldıysa, renklenmeyi önlemek amacıyla patın minesement sınırını aşmaması sağlanmalıdır.)
- Medikamentin kök kanallarına yerleştirilmesinin ardından açılan kavite, Cavit™, IRM™, cam iyonomer ya da 3-4 mm kalınlığında başka bir geçici dolgu maddesi ile kapatılır.
- Hasta, 1-4 hafta sonra ikinci randevu için çağrılır.

İkinci Randevu (ilk seanstan 1-4 hafta sonra):

- İlk seanstan sonra, klinik semptomlar gözden geçirilir. Eğer enfeksiyon belirtileri devam ediyorsa, aynı antimikrobiyal ajan veya alternatif bir tedavi ile ek bir tedavi süresi planlanabilir.
- Olumsuz klinik semptomların bulunmaması durumunda, vazokonstriktör içermeyen %3 mepivakain ile lokal anestezi yapılır ve ardından rubber dam yerleştirilir.
- Kanallar, 20 mL %17 EDTA ile irrigasyon yapılır.
- Kanallar, paper pointlerle kurutulur.
- Endodontik el aletleri (kanal eğesi, endodontik sond vb.) kullanılarak, aşırı enstrümantasyon yapılır ve kanama sağlanarak kanalın tümü, mine-sement birleşimine kadar kanla dolması sağlanır. (K tipi el eğesi ile apikal foramenden 2 mm daha derine inerek kanama sağlanabilir.) Kan pıhtısına alternatif olarak, trombosit açısından zengin plazma (PRP), trombosit açısından zengin fibrin (PRF) veya otolog fibrin matrisi gibi yapı iskeleleri de kullanılabilir.
- Kanamanın, 3–4 mm'lik restoratif materyal yerleştirilmesine olanak sağlayacak düzeyde durdurulması gerekir.
 - Gerekli görülürse, kan pıhtısının üzerine CollaPlug™, Collacote™, CollaTape™ gibi rezorbe olabilen bir matriks ve kaplama materyali olarak beyaz MTA yerleştirilir.
 - Ardından, kaplama materyalinin üzerine 3–4 mm kalınlığında cam iyonomer (örneğin Fuji IX™, GC America, Alsip, IL) nazikçe uygulanır ve 40 saniye boyunca ışıkla polimerize edilir. MTA'nın renklenmeye neden olabileceği bildirilmiştir. Estetik kaygının bulunduğu dişlerde, MTA'ya alternatif olarak biyoseramikler veya trikalsiyum silikat esaslı simanlar (örneğin Biodentine®, Septodont, Lancated, PA, ABD; EndoSequence® BC RRM-Fast Set Putty, Brasseler, ABD) değerlendirilmelidir.
- Ön ve premolar dişler-** Collatape/Collaplug kullanımının ardından 3 mm kalınlığında renklenmeye neden olmayan restoratif materyal uygulanması ve sonrasında mine kenarının bizotajlanarak kompozit ile restore edilmesi önerilmiştir.
- Molar dişler veya kronlu dişler-** Collatape/Collaplug kullanımının ardından 3 mm kalınlığında MTA uygulaması, üzerinin rezin modifiye cam iyonomer siman ile örtülmesi ve dişin kompozit dolgu veya amalgam ile restore edilmesi önerilmiştir.

Takip (6., 12., 24. ay):**Klinik ve radyografik muayene:**

- Ağrı, yumuşak doku şişliği veya sinüs yolu olmamalıdır.
- Apikal bölgedeki radyolusentlik kaybolmalıdır (genellikle tedavi sonrası 6-12 ay içinde gözlemlenir).
- Kök duvarlarında kalınlaşma olup olmadığı kontrol edilmelidir (genellikle 12-24 ay sonra gözlemlenir).
- Kök uzunluğunda bir artış olup olmadığı değerlendirilmelidir.
- Vitalite testi yapılmalıdır.
- İlk değerlendirme ve takipler için konik ışınlı bilgisayarlı tomografi (KIBT) önerilmektedir.
- İlk 2 yıldan sonra yıllık takip yapılması tavsiye edilir.

Rejeneratif endodontik prosedürlerin başarısı, birincil, ikincil ve üçüncül hedeflerin ne ölçüde gerçekleşebildiğiyle değerlendirilir:

- Birincil hedef: Semptomların ortadan kaldırılması ve kemik iyileşmesinin kanıtlanması.
- İkincil hedef: Kök duvar kalınlığının ve/veya kök uzunluğunun artışı (bu hedef istenen bir sonuçtur, ancak mutlaka zorunlu değildir).
- Üçüncül hedef: Canlılık testlerine pozitif yanıt (başarı durumunda, daha organize, vital bir pulpa dokusunun varlığına işaret edebilir).

2.3 Rejeneratif Endodonti ve Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği, canlı dokuların ve organların onarımını ya da yeniden üretimini sağlamak amacıyla biyoloji ve mühendislik alanlarının birleşiminden doğan bir alandır (Fisher vd., 1993). Rejeneratif endodonti de bu alandan yararlanarak, pulpa-dentin kompleksi hücrelerindeki hasarı biyolojik olarak onarmayı amaçlamaktadır (Albuquerque vd., 2014; Nowicka vd., 2021). Rejeneratif uygulamalar, dişlerin doğal iyileşme süresini desteklemeyi hedefleyen biyomühendislik çözümleri sunmaktadır (Xie vd., 2021). Rejeneratif endodontik uygulamaların temeli; kök hücreler, doku iskelesi ve büyüme faktörlerinden oluşan üç temel bileşenden oluşmaktadır (Nakashima & Akamine, 2005) .

2.3.1 Kök Hücreler

Kök hücreler, kendini yenileme kapasitesine sahip ve çeşitli özel hücre tiplerine farklılaşabilen, henüz farklılaşmamış hücrelerdir (McCulloch & Till, 2005). Bu özellikleri sayesinde doku gelişimi, onarımı ve homeostazın sağlanmasında kritik bir rol üstlenmektedirler (Prentice, 2019). Rejeneratif tıp alanındaki ilerlemelerin temelinde de bu hücrelerin sunduğu potansiyel yatmaktadır (Kolios & Moodley, 2013). Doku reddi riski açısından hastanın kendi kök hücresi en uygun seçenek olarak kabul edilmektedir (Malhotra vd., 2009) .

Kök hücreler, farklılaşma kapasiteleri ve elde edildikleri kaynaklara göre sınıflandırılabilir (G. T. J. Huang vd., 2009; Murray vd., 2007; Shukla vd., 2008). Farklılaşma potansiyellerine göre totipotent hücreler tüm hücre tiplerine ve embriyonik dokulara dönüşebilirken, pluripotent hücreler vücuttaki hemen her hücre tipine dönüşebilir fakat plasenta gibi ekstraembriyonik dokuları oluşturamaz (Sonoyama vd., 2008; Şahin vd., 2005). Multipotent kök hücreler, belirli doku veya hücre gruplarına dönüşebilirken; oligopotent hücreler sınırlı sayıda hücre tipine, unipotent hücreler ise yalnızca tek bir hücre tipine farklılaşabilir (Habib vd., 2005; Verfaillie vd., 2002). Kaynağa göre ise embriyonik kök hücreler erken evre embriyolardan; yetişkin kök hücreler kemik iliği, deri, yağ dokusu gibi olgun dokulardan; indüklenmiş pluripotent kök hücreler ise genetik olarak yeniden programlanan erişkin hücrelerden elde edilir (Cable vd., 2020; Nichols & Smith, 2011; Volponi vd., 2010).

Embriyonik kök hücreler, döllenme sonrası ilk birkaç gün içinde oluşan blastosist yapısındaki iç hücre kitlesinden elde edilen ve tüm hücre türlerine dönüşebilme kapasitesine sahip olan pluripotent hücrelerdir (Nichols & Smith, 2011). Bu hücreler, laboratuvar ortamında sınırsız sayıda bölünebilir ve kendilerini yenileyebilirler, bu da onları özellikle tıbbi araştırmalar açısından oldukça değerli kılar (Rippon & Bishop, 2004). Nörolojik hastalıklar, diyabet gibi kronik rahatsızlıkların incelenmesinde, ilaçların güvenliğinin test edilmesinde ve hasarlı doku ya da organların onarılmasında önemli rol oynarlar (Gerecht-Nir & ItskovitzEldor, 2004; Worku, 2021). Ancak bu hücrelerin embriyolardan elde edilmesi etik kaygılara neden olduğundan ve teratom oluşma riskinden dolayı alternatif olarak,. yetişkin bireylerden alınan kök hücreler ve genetik olarak yeniden programlanarak pluripotent hale getirilen indüklenmiş pluripotent kök hücreler gibi seçenekler geliştirilmektedir (Hentze vd., 2009; Prentice, 2019; Weissman, 2000).

Yetişkin kök hücreler, insan vücudunda doğumdan sonra doğal olarak bulunan ve hasar gören doku ya da organların onarımında görev alan hücrelerdir (Alison & Islam, 2009; Cable vd., 2020). Kemik iliği, kan, deri, yağ dokusu ve sinir sistemi ve dental pulpa gibi çeşitli dokulardan elde edilmektedir (Tian vd., 2023). Mezenşimal kök hücre, somatik kök hücre veya postnatal kök hücreler olarak da adlandırılırlar (Morsceck vd., 2008). Bu hücreler yalnızca belirli hücre türlerine dönüşebildikleri için sınırlı bir farklılaşma kapasitesine, yani multipotent özelliğe sahiptirler (Verfaillie vd., 2002). Embriyo kullanılmadan elde edildikleri için etik tartışmalara yol açmazlar ve bireyin kendi hücrelerinden alındıklarında bağışıklık sistemi tarafından reddedilme olasılığı oldukça düşüktür (Lo & Parham, 2009). Özellikle kemik iliği nakilleri başta olmak üzere bazı kan hastalıklarının tedavisinde uzun süredir başarıyla kullanılmaktadırlar (Körbling & Estrov, 2003). Bununla birlikte, laboratuvar ortamında üretimlerinin zor olması ve farklı hücre türlerine dönüşme kapasitelerinin sınırlı olması, bu hücrelerin kullanımını bazı alanlarda kısıtlamaktadır (Redondo vd., 2017; Wagers & Weissman, 2004).

Dental kaynaklı kök hücre türlerine; daimi dişlerin pulpa dokusundan elde edilen Dental Pulpa Kök Hücresi (DPSC), süt dişlerinin pulpasından izole edilen İnsan Süt Dişlerinden Elde Edilen Kök Hücreler (SHEDs), dişi çevreleyen periodontal bağ dokusundan alınan Periodontal Ligament Kök Hücreleri (PDLSCs), gelişmekte olan dişlerin kök ucundaki apikal papilladan türeyen Apikal Papilladan Elde Edilen Kök Hücreler (SCAP) ve diş folikülünden izole edilen Dental Folikül Kök Hücreleri (DFSCs) olarak örnek verilebilir (Soudi vd., 2021). Rejeneratif endodontik prosedürlerde sıklıkla kullanılan kök hücreler arasında; diş pulpasından izole edilen DPSC, SHED, kök ucundaki gelişmekte olan dokudan kaynaklanan SCAP ve dişi çevreleyen periodontal bağ dokusundan alınan PDLSC'lerdir (Bansal & Jain, 2015).

Diş pulpasında yer alan mezenkimal kök hücrelerin (DPSCs) hasar durumunda yeni dentin oluşumunu sağlayarak dişin onarımında görev aldığı düşünülmektedir (Tsutsui, 2020). Bu durum, dışsal etkenlere karşı gelişen reaksiyonel (tersiyer) dentin oluşumuyla ilişkilendirilmektedir (P. He vd., 2022). DPSC'ler insan üçüncü molar dişinden izole edilen ve doğum sonrası elde edilen ilk kök hücre türlerinden biridir (Gronthos vd., 2000). Bu hücreler yüksek koloni oluşturma kapasitesine sahiptir ve hem in vitro kültür ortamında hem de canlı

organizmalarda mineralize doku üretme yeteneği göstermektedir (Gronthos vd., 2000; M. Nagata vd., 2020).

Yapılan araştırmalar, DPSC'lerin; odontoblastlara, osteoblastlara, yağ, kemik, kıkırdak, pigment ve damar hücreleri gibi birçok farklı hücre tipine dönüşebildiğini ortaya koymuştur (Stefańska vd., 2024). Ayrıca diş pulpası bağışıklık sistemini aktive edebilecek çeşitli sitokin ve kemokinleri salgılayarak, dentin düzeyinde enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmasında da rol oynayabilir (Farges vd., 2015; M. Nagata vd., 2020). DPSC'ler, yalnızca diş pulpasının yapısal bütünlüğünü korumakta değil, aynı zamanda rejeneratif tıp uygulamaları açısından da gelecek vadeden hücresel kaynaklar arasında yer almaktadır (Gronthos vd., 2000; Sui vd., 2020).

Fizyolojik olarak dökülme zamanı gelmiş süt dişlerinin pulpasından izole edilen SHED yüksek plastisite ve proliferasyon yeteneğine sahip multipotent kök hücrelerdir (Guo & Yu, 2022). Bu hücreler, nöral hücreler, adipositler ve odontoblastlar gibi çeşitli hücre tiplerine farklılaşabilme kapasitesine sahiptirler (Guo & Yu, 2022). Ayrıca SHED, osteoblastik ve odontoblastik belirteçlerin yanı sıra, diş pulpasının nöral krest kökeniyle bağlantılı olabilecek nöronal ve glial hücre belirteçlerini de ifade edebilmektedir (SolisCastro vd., 2022). Özellikle kemik iliğinden elde edilen mezenkimal kök hücreler (MSC) ile karşılaştırıldığında, daha yüksek odontojenik potansiyel sergilemeleri, dentin rejenerasyonu açısından değerli bir biyolojik kaynak hâline getirmektedir (Sukarawan vd., 2017). Ancak; pulpa-dentin kompleksi oluşturma açısından, süt dişi pulpası kök hücrelerinin performansı yetişkin dental pulpa kök hücrelerine kıyasla biraz daha sınırlıdır (Stefańska vd., 2024).

Gelişmekte olan dişlerin apeks bölgesinde bulunan dental papilla, apikal papilla olarak tanımlanmakta ve buradan izole edilen mezenkimal kök hücrelere 'SCAP' adı verilmektedir (Sonoyama vd., 2008). SCAP'lar, diş kökü gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. SCAP'ler özellikle üçüncü molar dişler ve açık apeksli dişlerde bulunur (Lymperi vd., 2013). Yapılan çalışmalar, SCAP'lerin canlı organizmalarda osteoblast ve odontoblastlara, laboratuvar ortamında ise osteoblast, odontoblast ve adiposit hücrelerine dönüşebildiklerini göstermiştir (Nada & El Backly, 2018; S. Yu vd., 2020). Ayrıca, 18-20 yaş arasındaki yetişkinlerden elde edilen SCAP'lerin yüksek rejeneratif kapasiteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Sonoyama vd., 2006). İzole edilen SCAP'ler, klasik kök hücre belirteçlerini

sergilemekte ve in vitro ortamda osteoblast, adiposit ve odontoblastlara, DPSC'lere kıyasla daha hızlı bir şekilde farklılaşabilmektedir (Sonoyama vd., 2008). Transplantasyon sonrası ise SCAP'lerin sinir hücreleri, kondrositler ve hepatositler gibi alıcı organizmaya özgü olmayan hücre tiplerine dönüşebildiği gösterilmiştir (N. Zhang vd., 2016).

Periodontal ligament; dişi alveolar kemiğe bağlayan, zengin damar ağı içeren bağ dokusudur. Bu kompleks yapıda, sementoblast ve osteoblastlara dönüşme potansiyeline sahip öncül hücreler yer almaktadır (N. Zhang vd., 2016). PDLSC'lerin güçlü rejeneratif kapasiteye sahip olduğu ve fonksiyonel bir periodonsiyum dokusu oluşturabildiği rapor edilmiştir (Sonoyama vd., 2006). İnsan klinik vakalarından elde edilen histolojik veriler ise kök kanalında yeniden oluşan dokunun pulpa dokusu yerine, periodontal ligamentten kaynaklanan kök hücrelerin farklılaşmasıyla ortaya çıkan sementoblast ve osteoblastların sentezlediği sementoosteoid doku olabileceğine işaret etmektedir (G. Martin vd., 2013).

2.3.2 Doku İskelesi

RET'de dokuların yeniden oluşumunu desteklemek için kullanılan en önemli bileşenlerden biri doku iskeleleridir (Sequeira vd., 2023). Bu yapılar, kök hücrelerin tutunabileceği, çoğalabileceği ve organize bir şekilde farklılaşabileceği biyolojik bir ortam sunar (Galler vd., 2011). Temel amaç, yeni dokuların gelişimi için uygun bir yapı sağlayarak pulpa-dentin kompleksinin yeniden oluşumuna olanak tanımaktır (Noohi vd., 2022).

İdeal bir doku iskelesi, uygulandığı ortamla biyolojik olarak uyumlu olmalı ve herhangi bir toksik ya da inflamatuvar reaksiyona neden olmamalıdır (Goodis vd., 2012). Ayrıca zamanla vücut içinde doğal olarak parçalanabilmeli ve geride zararlı bir artık bırakmamalıdır. Bu özellik, rejenerasyon süreci tamamlandığında doku iskelesinin vücuttan tamamen uzaklaşmasını sağlar (Ghosh Dastidar vd., 2023). İskelenin gözenekli yapıda olması, içinden hücrelerin geçebilmesini ve besin-oksijen alışverişinin sağlanmasını kolaylaştırır (Sugiaman vd., 2023). Hücrelerin tutunması ve çoğalması, iskelenin yüzey yapısıyla da yakından ilişkilidir. Bu yüzden yüzeyin kimyasal bileşimi ve fiziksel özellikleri, hücresel yanıtı doğrudan etkileyebilir (Gathani & Raghavendra, 2016).

Mekanik olarak ise, doku iskelelerinin bulunduğu bölgeyi desteklemesi, şeklinin korunmasına yardımcı olması gerekir. Kök kanalı gibi dar ve sınırlı

alanlarda kullanılan iskelelerin, bu anatomik bölgeye uyum sağlayabilecek esneklikte ama aynı zamanda dayanıklılıkta olması önemlidir (Gathani & Raghavendra, 2016; Lesko vd., 2025; Sugiaman vd., 2023). Bazı doku iskeleleri sadece fiziksel bir taşıyıcı görevi görmekten ötesinde, biyolojik olarak da aktif bileşenler taşıyabilir. Örneğin büyüme faktörleri, antimikrobiyal maddeler ya da belirli proteinler ile zenginleştirilen iskeleler, rejeneratif süreçleri daha etkili biçimde destekleyebilir. Bu nedenle “akıllı iskele” olarak adlandırılan bu tür yapılar, günümüzde biyomühendislik alanında önemli bir araştırma konusudur (Ahadian & Khademhosseini, 2018; Yuan vd., 2024).

Klinikte iskele seçimi yapılırken, uygulanacak tedavinin hedefi, kullanılacak hücre tipi ve anatomik yapı göz önünde bulundurularak en uygun yapı belirlenmelidir. Bu bağlamda, hem biyolojik uyumluluk hem de fonksiyonel yeterlilik taşıyan iskeleler, rejeneratif tedavilerde başarılı sonuçlar elde edilmesini kolaylaştırır.

SCAP hücrelerinin canlılığını ve odontojenik farklılaşmasını desteklemek için kullanılacak ideal bir doku iskelesi, kök kanalının doğal fiziksel ve biyokimyasal mikroçevresini mümkün olduğunca taklit etmelidir. Ayrıca bu yapı, SCAP hücrelerinin tutunmasını ve migrasyonunu teşvik eden hücre dışı matriks komponentlerini içermeli ve böylelikle doku rejenerasyonu için biyolojik bir kılavuz görevi üstlenmelidir. TGF- β 1, Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi büyüme faktörleriyle güçlendirilmiş iskele sistemleri, odontojenik farklılaşmayı uyarak pulpal dokunun yeniden damarlandırılmasını sağlayabilir (Nivedhitha vd., 2020; Raddall vd., 2019).

SCAP hücrelerinin hayatta kalması ve çoğalması için uygun iskele seçiminde çeşitli kriterler göz önünde bulundurulmalıdır (B. Chang vd., 2017; Moussa & Aparicio, 2019):

Biyouyumluluk: Materyal, SCAP hücrelerinin canlılığını ve odontojenik farklılaşmasını teşvik ederken biyolojik olarak zararsız bir şekilde parçalanmalı, toksik veya inflamatuvar yanıt oluşturmamalıdır.

Kontrollü Gözeneklilik: Hücre migrasyonu, kan damarı oluşumu ve besinoksijen alışverişi gibi süreçlere imkân tanıyacak ölçüde yeterli ve kontrollü bir gözenek yapısına sahip olmalıdır.

Mekanik Uyumluluk: İskelenin, uygulama yapılacak dişin anatomik bölgesine ve fonksiyonuna uygun şekilde mekanik direnç göstermesi önemlidir.

Biyolojik Parçalanabilirlik : Doku yenilenmesi tamamlandığında iskeletin doğal yollarla tamamen parçalanarak vücuttan atılması ve herhangi bir zararlı artık bırakmaması gerekmektedir.

Rejenerasyonda kullanılan iskeleler, doğal ve sentetik (doğal olmayan) olarak sınıflandırılmaktadır. Kolajen, glikozaminoglikanlar, hyaluronik asit (HA), demineralize/doğal dentin matriksi, kan pıhtısı, plateletten zengin plazma (PRP) ve plateletten zengin fibrin (PRF); doğal doku iskelelerine örnek olarak verilebilir. Poli-L-laktik asit (PLLA), poliglikolik asit (PGA), polilaktik-koglikolik asit (PLGA), poliepsilon kaprolakton, hidroksiapatit/trikalsiyum fosfat, biyoseramikler ve hidrojeller ise sentetik doku iskelelerine örnek olarak verilebilir (Collins & Birkinshaw, 2013; Salighehrad vd., 2025).

2.3.2.1 Doğal Doku İskeleleri

2.3.2.1.1 Kan Pıhtısı

Kan pıhtısı, RET’de yaygın olarak kullanılan doğal bir doku iskelesidir (Galler, 2016; Murray vd., 2007). Özellikle immatür nekrotik dişlerin tedavisinde, kök kanalının apikal bölgesinden uyarılan kan pıhtısı, rejeneratif sürece destek vererek temel biyolojik altyapıyı oluşturur (Galler, 2016; X. Wei vd., 2022). Fibrin ağı, hücre göçü ve proliferasyonuna zemin hazırlar; plateletler TGF- β , VEGF, PDGF gibi büyüme faktörlerini salarak SCAP ve diğer kök hücre farklılaşmasını teşvik eder (Murray vd., 2007; X. Wei vd., 2022). Ayrıca bu yöntem minimal invaziv olması ve vücudun kendi dokusu olması nedeniyle avantaj sağlar (Dohan vd., 2006; S. R. J. Simon vd., 2014). Ancak, mekanik zayıflık ve zamanla küçülme gibi dezavantajlar da mevcuttur; bu nedenle, bazı klinik protokollerde kan pıhtısı diğer doğal ya da sentetik iskeleler ile kombine edilerek kullanılır (X. Wei vd., 2022).

Yapılan bir klinik çalışmada, rejeneratif endodontik prosedürlerde başarısızlığın önemli nedenlerinden birinin, kök kanalı içinde yeterli düzeyde kanamanın sağlanamamasına bağlı olarak kan pıhtısının oluşamaması olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, kök kanalında ideal düzeyde pıhtı oluşumu için, oluşturulan kanamanın mine-sement birleşiminin yaklaşık 3 mm altına kadar ulaşması gerektiği ifade edilmiştir. Bu durumun yanı sıra, etkin bir kan pıhtısı oluşumu için yaklaşık 15 dakikalık bekleme süresinin de kritik önem taşıdığı rapor edilmiştir. Aynı çalışma, kan pıhtısının oluşturulamadığı veya yetersiz olduğu vakalarda alternatif

olarak PRP (plateletten zengin plazma) kullanımının düşünölebileceğini önermektedir (Ding vd., 2009).

2.3.2.1.2 Plateletten Zengin Plazma (PRP)

PRP, yüksek konsantrasyonda büyüme faktörü içeren otolog bir materyaldir (Anitua vd., 2004; Ito vd., 2005; Ogino vd., 2006). Doku onarım mekanizmasında önemli bir rol oynamaktadır (Anitua vd., 2004; Xu vd., 2020). Zamanla bozunarak üç boyutlu bir fibrin matriks oluşturur (Albanese vd., 2013; Xu vd., 2020).

PRP hazırlığı için ilk olarak hastadan venöz kan alınır. Elde edilen kan, içerisinde antikoagölan (örneğin sitrat ya da EDTA) bulunan özel tüplere yerleştirilerek yaklaşık 800-1000 rpm (yaklaşık 200-300 g) hızda 10-15 dakika santrifüj edilir. Santrifüj işlemi sonrası kan, üstte plazma (trombositten zengin bölüm), ortada ince bir "buffy coat" (beyaz kan hücreleri) ve altta eritrositler olmak üzere üç tabakaya ayrılır. Üstteki trombositten zengin plazma dikkatlice aspire edilerek izole edilir. Daha yoğun ve konsantre bir PRP elde etmek amacıyla, bu plazma tekrar 1000-3000 rpm hızda 5-10 dakika süren ikinci bir santrifüjleme işlemine tabi tutulabilir. Son olarak elde edilen yoğun trombosit içeren alt tabaka steril koşullarda alınır ve klinik olarak kullanılmaya hazır hale getirilir (Anitua vd., 2004; Dohan vd., 2006; Marx, 2001).

Rejeneratif endodontik işlemlerde kullanıldığında, kök kanalında üç boyutlu bir iskele oluşturur (A. T. Ulusoy vd., 2019; Xu vd., 2020). Çalışmalar, PRP uygulanan immatür nekrotik dişlerde kök gelişiminde ve kök duvar kalınlığında anlamlı artışlar olduğunu; kök uzunluğu artışı gibi göstergelerde kan pıhtısı (BC) kullanılan kontrol gruplarına göre daha fazla güvenilirlik sunduğunu ortaya koymuştur (R. Huang vd., 2025; Q. Li vd., 2013). Bununla birlikte, bazı randomize kontrollü çalışmalar, PRP ile BC veya PRF arasında uzun vadeli sonuçlarda anlamlı farklılıklar bulamamıştır; bu nedenle seçim hastanın durumu ve kullanıma uygunlukla birlikte değerlendirilmelidir (Bezgin vd., 2015; Lv vd., 2018).

2.3.2.1.3 Plateletten Zengin Fibrin (PRF)

Plateletten zengin fibrin (PRF), hastanın kendi kanından antikoagölan kullanılmadan elde edilen, fibrin, platelet, büyüme faktörleri ve kök hücreler de dahil çeşitli hücre türlerinden oluşan ikinci nesil otolog biyomateryaldir (Arshad

vd., 2021; Pavlovic vd., 2021). PRF, doğal bir üç boyutlu fibrin matrisi oluşturarak kök kanalında hücre göçü ve tutunması için uygun bir mikroçevre sunar (Rebentish vd., 2016). İçerdiği trombositler ve lökositlerle birlikte büyüme faktörlerini yavaş ve dinamik bir şekilde serbest bırakarak kök hücre proliferasyonu, farklılaşması ve neovaskülarizasyonu destekler (Ghanaati vd., 2014; Narang vd., 2015).

Klinik araştırmalar ve sistematik incelemeler, PRF'nin özellikle immatür nekrotik dişlerde kan pıhtısı ya da PRP temelli yöntemler kadar etkili olduğunu göstermiştir (Narang vd., 2015; Sabeti vd., 2024). PRF'nin biyouyumlu, biyobozunabilir yapısı sayesinde kök kanalı içinde kalıcı toksik kalıntı bırakmaması, rejeneratif endodontik protokollerde tercih edilmesinin başlıca sebeplerindendir (Arshad vd., 2021; Miron vd., 2017; Priya Paul vd., 2020; Rebentish vd., 2016). PRF'nin lökosit bakımından zenginleştirilmiş tipi olan APRF ve enjekte edilebilir formu olan i-PRF geliştirilmiştir (Ghanaati vd., 2014; Liang vd., 2021; Pavlovic vd., 2021).

2.3.2.1.4 Demineralize Dentin Matrisi (DDM)

Demineralize dentin matrisi (DDM), insan veya hayvan kaynaklı dentin dokusunun asidik solüsyonlarla işlenerek inorganik bileşenlerinin uzaklaştırılmasıyla elde edilen, kolajen ve büyüme faktörlerinden zengin bir biyomateriyaldir (Grawish vd., 2022). Bu işlem sonrası elde edilen yapı, özellikle Kemik Morfogenetik Poteinler (BMP'ler), TGF- β , IGF gibi büyüme faktörlerini içerdiğinden osteoindüktif ve rejeneratif özelliklere sahiptir (Um vd., 2017; Yeomans & Urist, 1967). Otojen demineralize dentin matrisinin rejeneratif özelliklerini gösteren ilk kişiler Yeomans ve Urist'dir (Yeomans & Urist, 1967). DDM, doğal dentin yapısının korunmuş olması nedeniyle, rejeneratif endodontik prosedürlerde biyolojik iskele işlevi görerek hücre adezyonu, proliferasyonu ve farklılaşması için uygun bir mikroçevre sağlar. Ayrıca, dokuya benzer mekanik özellikler sunması ve antijenik yapısının düşük olması sayesinde biyouyumlu bir alternatiftir (Gao vd., 2019; Xiong vd., 2022).

2.3.2.1.5 Kolajen

Kolajen, vücutta doğal olarak bulunan ve ekstrasellüler matriksin (ECM) ana yapısal bileşenlerinden biri olan fibriler bir proteindir (L. Zhang vd., 2013). Bu biyomateriyal, biyouyumluluğu, biyobozunabilirliği ve hücresel etkileşimleri

destekleyici özellikleri nedeniyle RET’de sıklıkla tercih edilmektedir (Jiang vd., 2022). Özellikle tip I kolajen, doku mühendisliğinde hücre adezyonunu, göçünü ve farklılaşmasını teşvik eden ideal bir mikroçevre oluşturur (Gong vd., 2016). Kolajen temelli iskeleler, kök kanal boşluğunda üç boyutlu bir yapı sunarak kök hücrelerin tutunmasını ve büyüme faktörlerinin lokal salımını destekleyebilir (Sequeira vd., 2023). Ayrıca kolajen, doğal kaynaklı olması nedeniyle vücut tarafından tanınır ve minimum immün yanıt oluşturur. Rejeneratif endodontide, kolajen sünger, jel ya da membran formunda kök kanalına yerleştirilerek hücre taşıyıcısı veya destekleyici iskele olarak işlev görebilir (Sumita vd., 2006). Bu yönüyle kolajen, hem endojen kök hücrelerin kanal içine göçünü kolaylaştırır hem de rejeneratif iyileşme sürecini hızlandırabilir. Bunun yanında mekanik direnci düşüktür ve biyolojik bozunması düzensizdir (Kim vd., 2009; Sumita vd., 2006).

2.3.2.1.6 Kitosan

Kitosan, kabuklu deniz ürünlerinden elde edilen doğal bir polisakkarit olup, biyouyumluluk, biyobozunabilirlik ve antibakteriyel özellikleri sayesinde rejeneratif endodontik uygulamalarda ideal bir doku iskelesi olarak öne çıkar (Feng vd., 2014). Ayrıca kitosan, kök kanalına uygulandığında kök hücrelerinin adezyonunu, proliferasyonunu ve farklılaşmasını artırarak pulpal doku rejenerasyonunu destekler (A. N. Ahmad vd., 2023). Özellikle kitosan-hidrojel formasyonları, SCAP gibi apikal papilla kökenli kök hücrelerin büyümesini hızlandırıcı bir mikro ortam sağlar (Raddall vd., 2019). Sentetik polimerlerle kombine edildiğinde ise mekanik dayanımı artırılarak hem hücresel hem de yapısal performans geliştirilmiş olur (Sequeira vd., 2023). Bu biyomateryal, kontrollü salım özellikleri sayesinde antibiyotik ve büyüme faktörlerini de taşıyabilmekte, böylece enfeksiyon kontrolü ile dokusal iyileşmenin eş zamanlı yürütülmesini mümkün kılmaktadır (Mujawar vd., 2025). Ancak kristal yapısı sebebiyle jelleşme ve bozunması düzensizdir bu nedenle enjeksiyonu zordur (B. Chang vd., 2017; Souto vd., 2016).

2.3.2.1.7 Hyaluronik Asit (HA)

Hyaluronik asit (HA), ekstrasellüler matriksin doğal bir bileşeni olan, yüksek moleküler ağırlığa sahip ve su tutma kapasitesi yüksek bir

glikozaminoglikandır (Chircov vd., 2018; Gupta vd., 2019). Biyouyumluluğu, biyobozunabilirliği ve hücresel etkileşimleri teşvik etme kapasitesi sayesinde, RET’de dikkat çeken bir biyomalzeme olarak kullanılmaktadır (Collins & Birkinshaw, 2013). HA, özellikle hücre proliferasyonu, adezyonu ve migrasyonunu destekleyen bir mikroçevre oluşturarak kök hücrelerin aktivasyonunu kolaylaştırır (Dahiya & Kamal, 2013; Shaharudin & Aziz, 2016). Ayrıca, antiinflamatuvar etkileri ve yara iyileştirici özellikleri sayesinde kök kanalındaki iyileşme sürecini olumlu yönde etkiler (Eliezer vd., 2019). Hidrojel formunda uygulandığında, HA hem mekanik olarak destekleyici bir yapı sunar hem de büyüme faktörlerinin salınımını kontrol edebilir (Shaharudin & Aziz, 2016). Bu özellikleri sayesinde hyaluronik asit, rejeneratif endodonti uygulamalarında hem hücre taşıyıcısı hem de biyolojik sinyal iletici olarak işlev görmektedir (Chircov vd., 2018).

2.3.2.2 Sentetik (Doğal Olmayan) Doku İskeleleri

Sentetik doku iskeleleri, kimyasal olarak sentezlenen ve doğal kaynaklardan elde edilmeyen biyomalzemelerden üretilen üç boyutlu yapılardır. Bu iskeleler, doğal iskelelerin biyolojik çeşitliliğine sahip olmasalar da, üretim süreçlerinin kontrol edilebilirliği, fiziksel özelliklerin özelleştirilebilirliği ve yüksek yapısal bütünlükleri sayesinde doku mühendisliğinde önemli bir yer edinmişlerdir (Bohl vd., 1998). RET’de kullanılan sentetik iskeleler genellikle polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA), polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA) ve polikaprolakton (PCL) gibi biyobozunur polimerlerden oluşur (Wu vd., 2021). Bu polimerler, laktik asit ve glikolik asit monomerlerinin tek başına ya da belirli oranlarda birlikte polimerize edilmesiyle sentezlenmektedir.

Yapılan araştırmalar, PLA, PGA, PLGA ve PCL gibi biyobozunur polimerlerden elde edilen iskele yapıların; SHED, DPSC ve dental pulpa fibroblastları gibi dişe özgü kök hücre tiplerinin tutunması açısından uygun bir mikroçevre sunduğunu ortaya koymuştur (Tonomura vd., 2010). Bu sentetik iskeleler üzerinde kültürlenen kök hücrelerin, zamanla odontoblast benzeri hücre fenotipine geçtiği, ayrıca pulpa ve dentin dokusunu andıran yapıların oluşumuna katkıda bulunduğu gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra, hücrelerin endotelial karakter kazanarak vaskülarizasyonu destekleyen yapılara da farklılaşabildiği bildirilmiştir. Kemik rejenerasyonunda, bu iskeleler osteokondüktif seramiklerle birleştirilerek kırık iyileşmesini hızlandırır. Sinir onarımı, damar greftleri, trakea

rekonstrüksiyonu ve kronik yara iyileşmesi gibi birçok alanda da destekleyici yapı olarak görev yaparlar. Ayrıca laboratuvar ortamında hücre kültürü ve ilaç testlerinde üç boyutlu hücresel modellerin oluşturulmasında da etkin rol oynarlar (Bertsch vd., 2023; Castañeda-Rodríguez vd., 2023). Bu materyaller, kanal boşluğunda istenilen şekle göre hazırlanabilir, kontrollü gözenek yapısıyla hücre göçünü ve besin difüzyonunu destekler. Ayrıca biyolojik bozunma süreleri malzemenin türüne göre ayarlanabilir; bu da rejeneratif sürecin ihtiyaçlarına göre yapıların programlanabilmesini sağlar.

PLGA gibi kopolimerler, hem mekanik dayanım hem de kontrollü bozunma özellikleriyle öne çıkarken, PCL gibi polimerler uzun süreli stabilite sunarak hücre büyümesine daha uzun süre destek olabilir (Abdelaziz vd., 2023). PLGA iyi mekanik özelliklere, kontrollü bozunmaya sahiptir ve spesifik doku onarımını kolaylaştırmak için uyarlanabilir (Sheikh vd., 2015). Ayrıca, PLGA mükemmel biyoyumluluk ve işleme özelliklerine sahiptir. PLGA tabanlı iskeleleri hazırlamak için farklı yöntemler kullanılabilir (Haider vd., 2014).

Bu iskeleler; sinirler, kan damarları, cilt, kıkırdak ve kemikler gibi doku yenilenmesini daha etkili bir şekilde teşvik edebilen çok işlevli bir iskele oluşturmak için çeşitli biyoaktif faktörlerle yüklenebilir ve bu sayede tedavi etkinliği artırılabilir (Haider vd., 2014; Mouthuy vd., 2016). Bununla birlikte, sentetik materyallerin doğrudan kullanımı bazı biyoyumluluk sorunlarına yol açabileceğinden, yüzey modifikasyonları veya doğal polimerlerle kombinasyon stratejileri sıklıkla tercih edilir. Özellikle kolajen, hyaluronik asit veya fibrin gibi doğal bileşenlerle kaplanmış sentetik iskeleler, hem mekanik hem biyolojik açıdan daha avantajlı hibrit sistemler sunar (Liu vd., 2012). Bu yönleriyle sentetik doku iskeleleri, rejeneratif endodontide sadece yapısal destek değil, aynı zamanda biyolojik etkileşim sağlayan akıllı sistemler olarak değerlendirilmektedir.

2.3.3 Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri; hücre proliferasyonu, yaşamını sürdürebilme, farklı hücre tiplerine dönüşüm ve doku yenilenmesi gibi temel biyolojik süreçlerde önemli düzenleyici görevler üstlenen proteinlerdir (Gurtner vd., 2008; P. C. Smith vd., 2015). Özellikle rejeneratif tıp ve yara iyileşmesi gibi alanlarda büyüme faktörlerinin tedavi edici potansiyeli üzerine yapılan araştırmalar son yıllarda artış göstermiştir (Beheshtizadeh vd., 2023; Shan & Wu, 2024).

Diş gelişimi sürecinde, dental papillada yer alan nöral krest kökenli hücreler, farklılaşarak odontoblastlara dönüşür (Arana-Chavez & Massa, 2004). Bu hücreler farklılaşma sürecini tamamladıktan sonra salgı faaliyetlerine başlar ve dişin temel yapısal bileşeni olan dentini sentezlerler (Roberts-Clark & Smith, 2000). Tıpkı kemikte olduğu gibi, dentin dokusunun mineralizasyonu için hidroksiapatit kristalleriyle kaplanmış organik bir matrikse ihtiyaç vardır (Jing vd., 2021; Linde, 1995). Bu biyosentetik süreçte, odontoblastlar yalnızca demineralize predentin üretmekle kalmaz; aynı zamanda ekstrasellüler matrikse çeşitli biyoaktif moleküller salgılarlar (Nowwarote vd., 2022). Mineralizasyon sırasında bu biyoaktif ajanlar dentin matriksine entegre olur ve inaktif hale gelir (Goldberg & Smith, 2004). Bu proteinler ve büyüme faktörleri genellikle kısa yarı ömürlüdür; bu nedenle proteolitik yıkıma karşı korunmaları ve fonksiyon sürelerinin uzatılması için ekstrasellüler matriks bileşenlerine bağlanmaları önemlidir (Jing vd., 2021). Büyüme faktörlerini bağlayarak stabilize eden başlıca bileşikler arasında heparan sülfat içeren proteoglikanlar, spesifik bağlayıcı proteinler, glikoproteinler ve çeşitli kolajen türleri yer alır (Dreyfuss vd., 2009).

Diş çürüğü sürecinde, bakterilerin ürettiği laktik asit dentinin organik bileşenlerini açığa çıkararak, bağlı haldeki biyoaktif molekülleri serbest bırakabilir ve bu durum bağışıklık yanıtı ile hücresel süreçleri etkileyebilir (N. Takahashi & Nyvad, 2016). Literatürde, kalsiyum hidroksit (Ca(OH)_2), mineral trioksit agregat (MTA) ve self etching dental adezivlerin dentinden biyoaktif moleküllerin salınımını tetiklediği bildirilmiştir (Ferracane vd., 2013; Graham vd., 2006; Tomson vd., 2007). Ayrıca, organik asitler ile etilendiamintetraasetik asit (EDTA) gibi şelasyon ajanlarının dentin demineralizasyonunda etkili olduğu bilinmektedir (Hülsmann vd., 2003). Dentin matriksi, büyüme faktörlerine rezervuar görevi yapmaktadır (da Rosa vd., 2018; Roberts-Clark & Smith, 2000). Dental materyaller, şelasyon ajanları veya asitlerin dentin matriksine uygulanmasıyla dentin matriksinde demineralizasyon gerçekleşerek bu büyüme faktörleri tekrar aktif hale gelerek salınabilmektedir (Hülsmann vd., 2003; Tomson vd., 2007).

Demineralize dentin matriksinde insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), transforme edici büyüme faktörü-beta 1 ($\text{TGF-}\beta 1$), kemik morfogenetik proteini-2 (BMP-2), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), plasenta büyüme faktörü ve epidermal büyüme faktörü (EGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi çeşitli büyüme faktörleri salınmaktadır (Mumcu vd., 2024). Bu moleküller çok

düşük konsantrasyonlarda dahi immün yanıt, anjiyogenez, hücre göçü, çoğalması, farklılaşması ve mineralizasyon gibi önemli hücresel süreçleri uyarabilmektedir (Barrientos vd., 2008). RET protokolleri, temel olarak bu biyolojik olayları hedef alır ve bu moleküllerin oluşturduğu mikrosinyal ağlara dayanır.

2.3.3.1 Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (TGF- β)

TGF- β ailesi; hücre proliferasyonu, farklılaşması ve doku onarımında görev alan, 30'dan fazla üyeden oluşan bir grup büyüme faktörünü içermektedir (Niwa vd., 2018). Bu faktörler başlıca trombositler, makrofajlar ve kemik dokusu gibi hücreler tarafından sentezlenir ve proteolitik işlemle aktif hale gelerek çeşitli hücresel sinyal yollarını modüle eder (Niwa vd., 2018; Tie vd., 2022; Wahl, 1992). Memelilerde tanımlanmış üç temel TGF- β izoformu bulunmaktadır: TGF β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 (Massagué, 1992; Niwa vd., 2018). Bunlar arasında TGF β 1, insan dentininde en baskın olarak saptanan formdur (Cassidy vd., 1997; A. J. Smith vd., 1998). Finkelman ve ark., EDTA ile şartlandırılan dentin örneklerinde TGF- β ve diğer büyüme faktörlerinin varlığını göstermiş; ancak izoform düzeyinde bir ayırım yapamamıştır (Finkelman vd., 1990). Daha sonra Zhao ve ark., %17'lik EDTA ile muamele edilen dentinde TGF- β 1 izoformunu tanımlamış, buna karşın TGF- β 2 ve TGF- β 3 izoformlarını tespit edememiştir (Zhao vd., 2000). İzleyen araştırmalar, odontoblast farklılaşması sırasında TGF- β 1 ve TGF- β 3 seviyelerinin arttığını; TGF- β 2'nin ise preodontoblast evresinde yükseldiğini, ancak olgun odontoblastlarda bu düzeyin azaldığını göstermiştir (Sloan & Smith, 1999).

Polipeptid yapısındaki TGF- β ailesi üyeleri, hücre büyümesi, göçü, farklılaşması ve hücre dışı matriks (ECM) sentezini düzenleyerek rejeneratif süreçleri desteklemektedir (Morikawa vd., 2016). Bu grupta özellikle TGF- β 1'in, dental pulpa hücrelerinin odontoblast benzeri fenotipe dönüşümünü teşvik ettiği ve dentin matriks üretimini artırdığı bilinmektedir (Melin vd., 2000; Niwa vd., 2018).

Yapılan deneysel çalışmalarda, TGF- β 1'in pulpa hücreleri ile etkileşimi sonucunda mineralize doku oluşumunun hızlandığı ve dentin onarım sürecinin desteklendiği gösterilmiştir (H. He vd., 2008). Ayrıca bu faktörün, fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) gibi diğer büyüme faktörleri ile sinerjistik etkileşime girerek hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını artırdığı da bildirilmiştir (P. Martin, 1997). Hayvan modellerinde gerçekleştirilen araştırmalar, TGF- β 1'in pulpa dokusuna uygulanmasının odontoblast benzeri hücrelerin oluşumunu desteklediğini

ve dentin sentezini artırdığını ortaya koymuştur (Tziafas & Kodonas, 2010). Bununla birlikte, TGF- β 1'in dentinden salınımı; kullanılan irrigasyon solüsyonunun içeriği, uygulanan medikamentin özellikleri, kullanılan materyalin kimyasal yapısı ve dentin yüzeyinde mevcut olan biyofilmlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir (Ballal vd., 2022; Cameron vd., 2019; Wattanapakkavong & Srisuwan, 2019).

TGF- β 1'in ekspresyonu, diş gelişimi sürecinde diş germeleri, odontoblastlar, dental pulpa ve dentin matriksi gibi çeşitli dokularda gözlemlenmiştir (Nakashima vd., 1994). Mezenkimal kökenli kök hücrelerden biri olan SCAP'lerle yapılan çalışmalarda, TGF- β 1'in bu hücrelerin kolajen üretimini artırdığı ve hücre proliferasyonunu teşvik ettiği bildirilmiştir (H. H. Chang vd., 2015). Ayrıca, bu büyüme faktörünün odontoblastlardaki dentin sialofosfoprotein (DSPP) ve dentin matriks protein-1 (DMP-1) gibi non-kolajenöz proteinlerin salgılanmasında da önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Unterbrink vd., 2002). TGF- β 1; dentinogenez, kök gelişimi, odontoblast farklılaşması ve mineralizasyon süreçlerinde anahtar bir sinyal molekülü olarak değerlendirilmektedir (Y. Li vd., 2011).

Hayvan modellerinde yapılan bir çalışmada, makrofaj kaynaklı TGF- β 1'in kemik iyileşmesinin erken evrelerinde rol aldığı ve osteoprogenitör hücreleri aktive ederek doku onarımını desteklediği öne sürülmüştür (Horibe vd., 2021). İnsan sementoblast hücre hattıyla yapılan deneysel bir çalışmada ise, farklı konsantrasyonlarda TGF- β 1 uygulamasının hücre proliferasyonu üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı; ancak hücre farklılaşması ve mineralizasyon süreçlerini desteklediği bulunmuştur (Koba vd., 2021).

Endodontik tedavide kullanılan irrigasyon solüsyonlarının, smear tabakasını uzaklaştırma özellikleri sayesinde dentin matriksine gömülü büyüme faktörlerinin, özellikle TGF- β 1'in salınımına yol açtığı bilinmektedir (Galler vd., 2015). Zeng ve ark.'nın gerçekleştirdiği in vitro bir rejeneratif endodontik çalışmada, farklı irrigasyon solüsyonları kullanılarak dentin kaynaklı büyüme faktörlerinin salınımı ve DPSC'lerin migrasyonu incelenmiş; TGF- β 1'in en yüksek konsantrasyonda salınan büyüme faktörü olduğu ve hücre göçünü bu faktörlerin tetiklediği rapor edilmiştir (Zeng vd., 2016).

Chae ve ark.'nın yürüttüğü bir çalışmada ise, kök kanal segmentlerine uygulanan %10 sitrik asit ve %17 EDTA'nın TGF- β 1 salınımı üzerindeki etkisi

karşılaştırılmış; %10 sitrik asitin daha yüksek düzeyde TGF- β 1 salınımına neden olduğu ve her iki solüsyonun da SCAP'ler üzerinde benzer düzeyde sitotoksosite gösterdiği bildirilmiştir (Chae vd., 2018). Servikal kök dentininden büyüme faktörü salınımını değerlendiren başka bir çalışmada ise, TGF- β 1'in VEGF'e kıyasla daha yüksek oranlarda salındığı, en yüksek konsantrasyonun ise %2 CHX irrigasyonunu takiben uygulanan üçlü antibiyotik patı ve %10 EDTA ile elde edildiği belirtilmiştir (Ferreira vd., 2020).

2021 yılında yayımlanan bir çalışmada, EDTA solüsyonlarına benzalkonyum klorür eklenmesinin dentin disklerine DPSC tutunması, proliferasyonu ve TGF- β 1 salınımı üzerindeki etkileri araştırılmış; benzalkonyum klorür içeren tüm EDTA solüsyonlarının hücre tutunması ve çoğalmasını artırdığı ve TGF- β 1 salınımını teşvik ettiği gösterilmiştir (Kucukkaya Eren vd., 2021). Organotipik kök kanal modelinde yürütülen bir başka çalışmada ise, dentin yüzeyinde kalan biyofilmin TGF- β 1 salınımını inhibe ettiği, en yüksek TGF- β 1 seviyelerinin ise EDTA irrigasyonu yapılan ve medikament uygulanan steril kök segmentlerinde gözlemlendiği bildirilmiştir (Cameron vd., 2019).

Widbiller ve ark., irrigasyon solüsyonlarının aktivasyonunun TGF- β 1 salınımını anlamlı düzeyde artırdığını ortaya koymuştur. Bu bulgu, ilerleyen dönemlerde Aksel ve ark. ile Hancerliogulları ve ark. tarafından da desteklenmiştir (Aksel vd., 2020; Hancerliogullari vd., 2021; Widbiller vd., 2017).

2.3.3.2 İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)

İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF'ler), yapısal olarak proinsüline benzeyen, tek zincirli polipeptidlerden oluşan bir grup moleküldür ve "somatomedinler" olarak da adlandırılırlar (Al-Khafaji vd., 2018). IGF ailesi, iki ana üye olan IGF-1 ve IGF-2'yi içerir. IGF-1, büyüme hormonu bağımlı olarak sentezlenirken; IGF-2, bu hormondan bağımsız şekilde etki gösterir (Joseph vd., 1993). Hücre yüzeyinde IGF-1R ve IGF-2R adlı özgül reseptörleri ve IGFBP-1 ile IGFBP-6 arasında değişen yüksek afiniteli bağlayıcı proteinleri aracılığıyla biyolojik etkilerini gerçekleştirirler (Al-Khafaji vd., 2018). IGF-1, çoğunlukla parakrin ve otokrin yollarla işlev görür (Lewitt & Boyd, 2019).

IGF-1'in kemik, kas ve adipoz dokularda yoğun olarak bulunduğu, osteoblast ve osteoklastların farklılaşmasını ve apozisyon-rezorpsiyon dengesini düzenleyerek kemik dokusunun gelişimini desteklediği bilinmektedir (Chenu vd.,

1990; Muta & Krantz, 1993). Aynı zamanda bu büyüme faktörünün tükürükte de saptanabilir olduğu ve bu seviyelerin plazma büyüme hormonu düzeyleriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Joseph vd., 1993).

Diş gelişimi sürecinde IGF-1; amelogenin ve ameloblastin genlerini regüle ederek mine dokusunun mineralizasyonuna katkı sağlar (K. Takahashi vd., 1998). Ayrıca, IGF-1'in, dental pulpa hücrelerinde mitojenik ve antiapoptotik etkiler gösterdiği; bu etkilerinin hücre proliferasyonu, farklılaşma ve mineralizasyon gibi süreçleri kapsadığı belirtilmiştir (Caviedes-Bucheli vd., 2009; Leroith vd., 1993). IGF-1'in, köpek dişlerinden izole edilen pulpa hücrelerinde odontoblast benzeri fenotipe dönüşümü uyardığı ve mineralize doku üretimini teşvik ettiği çeşitli in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (Denholm vd., 1998; Finkelman vd., 1990; M vd., 2001).

IGF-1'in diş kök gelişimi ve dentinogenezdeki rolü üzerine yapılan hayvan deneylerinde, bu faktörün kök uzunluğunu ve tüberkül sayısını artırdığı, hem mezenkimal hem de epitel hücrelerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını teşvik ettiği rapor edilmiştir (Mitsiadis & Rahiotis, 2004; K. Takahashi vd., 1998). Ayrıca, IGF-1'in TGF- β , PDGF ve VEGF gibi diğer büyüme faktörleriyle birlikte çalışarak pulpa hücreleri üzerindeki etkilerini sinerjistik biçimde artırdığı gösterilmiştir (Denholm vd., 1998; A. J. Smith vd., 2008; Zeng vd., 2016).

Dikkat çekici bir bulgu da, IGF-1 seviyelerinin kök gelişimi tamamlanmış dişlerde, tamamlanmamışlara kıyasla daha yüksek olduğunun belirlenmesidir. Bu durum, gelişim sürecindeki hızlı reseptör bağlanması nedeniyle lokal IGF-1'in daha hızlı tüketilmesiyle açıklanabilir (Caviedes-Bucheli vd., 2009). Ek olarak, IGF-1'in nöronal hücre farklılaşmasını da uyardığı raporlanmış; bu da pulpadaki nörovasküler yapıların, enfeksiyon ve inflamasyon gibi patolojik süreçlerde IGF1'den etkilenebileceğini göstermektedir (Mitsiadis & Rahiotis, 2004).

Dentin matriksinde inaktif olarak bulunan IGF-1'in, çürük lezyonları veya endodontik tedavi gibi durumlar sonucu salınarak pulpa onarımını tetiklediği bilinmektedir (Finkelman vd., 1990; A. J. Smith vd., 2008). Hançerlioğulları ve arkadaşlarının irrigasyon teknikleri üzerine yaptıkları çalışmada; EDTA ve sitrik asit ile şartlandırılmış kök dentin segmentlerinden IGF-1 dâhil çeşitli büyüme faktörlerinin salındığı ve irrigasyon aktivasyonunun bu salınımı artırdığı ortaya konmuştur (Hancerliogullari vd., 2021).

Sonuç olarak, IGF-1, hem dental gelişim hem de rejeneratif endodonti uygulamalarında önemli biyolojik roller üstlenen bir büyüme faktörüdür.

Proliferasyon, farklılaşma, mineralizasyon ve anti-inflamatuar etkileri ile dental dokuların onarımı ve yeniden yapılanmasında potansiyel bir terapötik ajan olarak değerlendirilmektedir.

2.3.4 İrrigasyon Solüsyonları

2.3.4.1 Sodyum Hipoklorit (NaOCl)

Sodyum hipoklorit (NaOCl), endodontik tedavilerde en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonlarından biridir (Mohammadi, 2008). Bu tercih, geniş spektrumlu antimikrobiyal etkisinin yanı sıra organik dokuları çözme kapasitesi ve düşük yüzey gerilimi sayesinde dentin tübüllerine kolayca penetre olabilmesi gibi özelliklere dayanmaktadır (Zehnder, 2006). NaOCl'nin etkisi, kimyasal reaksiyonların ve biyolojik süreçlerin birleşimiyle ortaya çıkar (Estrela vd., 2002; Mohammadi, 2008). Suda çözüldüğünde Na^+ ve OCl^- iyonlarına ayrılan NaOCl, hipoklorik asit (HOCl) oluşumu ile denge sağlar; HOCl, antibakteriyel etkinlikte kilit rol oynayan bileşendir (Kandaswamy & Venkateshbabu, 2010). HOCl, proteinlerin amino gruplarını kloraminlere dönüştürerek hücre fonksiyonları geri dönüşümsüz biçimde inhibe eder ve bu mekanizma, hücre ölümüne yol açar (Estrela vd., 2002; Kandaswamy & Venkateshbabu, 2010). Bu sayede NaOCl, özellikle dirençli mikroorganizmalar ve biyofilm yapılarına karşı etkili bir ajandır (Pladisai vd., 2016).

NaOCl'nin organik doku çözme potansiyeli, özellikle nekrotik dokular üzerinde oldukça yüksektir (Naenni vd., 2004). Sabunlaşma ve amino asitlerle reaksiyon mekanizmaları sayesinde doku kalıntıları çözünürken, kloramin oluşumu protein yapıların parçalanmasına neden olur (Estrela vd., 2002). Bununla birlikte, yalnızca organik bileşenleri çözebildiğinden dolayı, hem organik hem de inorganik yapılar içeren smear tabakasını tamamen uzaklaştırmada yetersiz kalmaktadır (Violich & Chandler, 2010). Bu nedenle, smear tabakasının dentin tübüllerinden etkin biçimde uzaklaştırılabilmesi için NaOCl'nin şelasyon ajanları ile birlikte kullanılması önerilmektedir (Fortea vd., 2024).

NaOCl'nin etkinliği; kullanılan konsantrasyon düzeyi, uygulanan solüsyon hacmi, doku ile temas süresi, sıcaklık ve irrigasyon aktivasyon yöntemlerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Harrison & Hand, 1981; Klyn vd., 2010; Moorer & Wesselink, 1982; Siqueira vd., 2000; Sirtes vd., 2005). Literatürde genellikle

%0,5 ile %6 arasında farklı konsantrasyonlarda kullanıldığı belirtilmekle birlikte, ideal konsantrasyon hakkında fikir birliği bulunmamaktadır (Kandaswamy & Venkateshbabu, 2010). Daha yüksek konsantrasyonlar antimikrobiyal etkinliği ve doku çözme gücünü artırsa da sitotoksikite ve hücre ölümü riskini beraberinde getirmektedir. Düşük konsantrasyonlarda ise etkinlik azalmakla birlikte, irrigasyon hacmi artırılarak veya aktivasyon teknikleri uygulanarak bu etkinlik desteklenebilmektedir (Klyn vd., 2010; Siqueira vd., 2000).

NaOCl'nin etkinliğini etkileyen önemli faktörlerden biri de, birlikte kullanıldığı diğer irrigasyon solüsyonlarıyla olan etkileşimlerdir. Örneğin, klorheksidin (CHX) ile karıştırıldığında, toksik ve potansiyel olarak karsinojenik olduğu bildirilen para-kloranilin (PCA) adlı bileşiğin oluşmasına neden olabilir (Rossi-Fedele vd., 2012). PCA, dentin tübüllerini tıkayarak sızdırmazlık özelliğini olumsuz etkileyebilir ve renklenmeye yol açabilir (Basrani vd., 2007; Bui vd., 2008). Ayrıca, EDTA ile birlikte kullanıldığında pH zamanla düşmekte ve bu durum, solüsyondaki serbest klor oranını etkileyerek antimikrobiyal özelliklerin yanı sıra doku çözme kapasitesinde azalmaya neden olabilmektedir (Mohammadi vd., 2017).

Ayrıca, yüksek konsantrasyonlarda kullanılan NaOCl'nin, dentinin elastikiyet modülünü ve fleksural dayanıklılığını azaltabileceği; bu durumun ise kök kanal dolgu materyallerinin dentin yüzeyine bağlanma kuvvetini olumsuz etkileyebileceği bildirilmektedir (Mareending vd., 2007; Sim vd., 2001). NaOCl ile irrigasyon sırasında dentin yüzeyinde oluşan oksijen tabakasının, rezin bazlı materyallerin polimerizasyonunu engelleyerek adeziv bağlanmayı önemli ölçüde zorlaştırdığı da çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (Mareending vd., 2007; Perdigão vd., 2000).

Etkili antimikrobiyal özellikleri ve organik doku çözme kapasitesiyle NaOCl, endodontik uygulamalarda yaygın şekilde tercih edilen bir irriganttır (Mohammadi, 2011). Ancak bu etkinliğin optimal düzeyde sağlanabilmesi ve potansiyel toksik etkilerin sınırlandırılabilmesi için uygun konsantrasyon seçimi, uygulama süresi, irrigasyonun aktivasyonu ve şelatör ajanlarla birlikte kullanımı büyük önem taşımaktadır (*AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure*, 2021).

AAE, rejeneratif endodontik prosedürlerde, NaOCl'nin %1,5 oranında seyreltilmiş formunun, her kanal için 5 dakika süreyle toplam 20 ml hacminde uygulanmasını ve ardından %17 EDTA ile irrigasyon yapılmasını önermektedir

(AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure, 2021). Bu yaklaşım, sitotoksik etkilerin azaltılmasını ve kök hücre canlılığının korunmasını hedeflemektedir. Nitekim, düşük konsantrasyondaki NaOCl ile gerçekleştirilen irrigasyon protokollerinin, dentin içerisinden büyüme faktörlerinin salınımını desteklediği ve kök hücrelerin yaşamsal fonksiyonlarını koruduğu, çeşitli in vitro ve in vivo çalışmalarda ortaya konmuştur (Essner vd., 2011; Zeng vd., 2016).

2.3.4.2 Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA)

EDTA, kimyasal formülü $(HO_2CCH_2)_2NCH_2CH_2N(CH_2CO_2H)_2$ olan bir şelasyon ajanıdır. İlk olarak 1935 yılında Ferdinand Munz tarafından etilen diamin ile kloroasetik asidin bileşimiyle sentezlenmiş ve 1951 yılında diş sert dokularına karşı demineralizan etkisi tanımlanmıştır. Endodontideki kullanımı ise 1957’de Ostby tarafından önerilmiştir (Cagnasso vd., 2007; Hahn & Reygadas, 1951; Ostby, 1957).

Dentin dokusunun mineral içeriği büyük ölçüde çözünür kalsiyum ve fosfat iyonlarından oluşur. EDTA uygulandığında bu iyonlarla şelat oluşturarak dentin yüzeyinde demineralizasyona yol açar. Bu etkisi zamanla kendi kendini sınırlayan bir yapıya sahiptir (von der Fehr & Östby, 1963). Kısa süreli uygulamalarda dahi etkilidir; örneğin 5 dakikalık uygulamayla yaklaşık 20–30 µm derinliğe kadar dentin demineralizasyonu sağlandığı gösterilmiştir (von der Fehr & Östby, 1963). Bununla birlikte, tıpkı diğer şelasyon ajanlarında olduğu gibi, EDTA’nın da dentin mikrosertliğini azaltabileceği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Ari vd., 2004; Saha vd., 2017; Ö. I. A. Ulusoy & Görgül, 2013).

EDTA, genellikle pH 7’ye nötralize edilmiş %17’lik disodyum tuzu formunda kullanılsa da, daha düşük konsantrasyonlardaki (%1, %5, %10) formlarının da NaOCl sonrası uygulandığında smear tabakasını etkin şekilde uzaklaştırdığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, NaOCl ve EDTA’nın ardışık kullanımı, distile suya kıyasla smear tabakasının uzaklaştırılmasında çok daha etkili bulunmuştur (Ozbay & Erdemir, 2018). Ayrıca, smear tabakasının EDTA ile uzaklaştırılması, dentin tübüllerine nüfuz eden NaOCl’nin antibakteriyel etkisini artırmaktadır (Haapasalo & Ørstavik, 1987; Ørstavik & Haapasalo, 1990). EDTA, dış membranlarındaki katyonları şelatlayarak bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite de göstermektedir (Patterson, 1963).

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*)'e karşı etkinliği bakımından, EDTA'nın maleik asitle benzer düzeyde etkili olduğu rapor edilmiştir (Ballal vd., 2011). Ayrıca, %5 NaOCl ile kombine edildiğinde, tek başına NaOCl uygulamasına kıyasla daha yüksek antibakteriyel etki oluşturduğu gösterilmiştir (Bystrom & Sunqvist, 1985). Bununla birlikte, bazı çalışmalarda %17 EDTA ve %10 sitrik asit solüsyonlarının 5 dakikalık irrigasyonu sonrasında, %1 NaOCl'ye kıyasla biyofilm tabakası üzerinde sınırlı etki gösterdiği belirtilmiştir (Ordinola-Zapata vd., 2012).

EDTA'nın diğer irrigasyon solüsyonları ile doğrudan karıştırılması önerilmez. NaOCl ile karıştırıldığında, klor içeriği hızla azalarak NaOCl'nin aktivitesini kaybetmesine neden olur (Zehnder vd., 2005). CHX ile birleştiğinde ise, CHX bozulmasına bağlı olarak beyaz, potansiyel olarak zararlı bir çökelti oluşturduğu bildirilmiştir (Rasimick vd., 2008).

NaOCl ile irrigasyonun ardından uygulanan %17'lik EDTA'nın, smear tabakasının uzaklaştırılmasında etkili olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Yapılan araştırmalarda, 1 dakika süreyle 10 ml EDTA uygulanmasının smear tabakasını uzaklaştırmak için yeterli olduğu; ancak uygulama süresinin 10 dakikaya kadar uzaması durumunda peritübüler ve intratübüler dentin bölgelerinde erozyon gelişebileceği bildirilmiştir (Çalt & Serper, 2002). Bu tür dentin erozyonlarının özellikle EDTA'nın tek başına kullanımından ziyade, NaOCl ile kombine edildiği durumlarda daha belirgin olarak meydana geldiği ifade edilmiştir (Niu vd., 2002).

Rejeneratif endodontik alanda yapılan araştırmalarda, EDTA'nın kök hücre canlılığı ve büyüme faktörü salınımı üzerindeki etkileri öne çıkmaktadır. Bir çalışmada, %6'lık NaOCl'nin hücre canlılığını azalttığı, bu etkinin %1,5 NaOCl sonrası %17 EDTA uygulamasıyla ortadan kaldırılabilirdiği gösterilmiştir (D. E. Martin vd., 2014). Başka bir araştırmada, %5,25 NaOCl, %17 EDTA, MTAD, %2 CHX ve QMix'in periapikal ve periodontal dokular üzerindeki sitotoksik etkileri incelenmiş; en düşük toksisite MTAD ile, en yüksek ise EDTA ile gözlemlenmiştir (Karkehabadi vd., 2018).

Hashimoto ve ark.'nın yaptığı çalışmada, sığır dentin disklerine kültüre edilen fare diş papilla hücreleri, farklı NaOCl (%0, %1,5, %6) ve EDTA (%0, %3, %17) konsantrasyonlarıyla muamele edilmiştir. %1,5 NaOCl'nin hücre sayısını azalttığı, ancak ardından uygulanan %3 ve %17 EDTA'nın hücre canlılığı ve farklılaşmasını anlamlı şekilde artırdığı görülmüştür. Aynı çalışmada, EDTA uygulanmış yüzeylerde kolajen liflerine hücre tutunması ve mineralizasyonla ilişkili

belirteçlerde (alkalen fosfataz, DMP-1, DSPP) mRNA düzeyinde anlamlı artış rapor edilmiştir (Hashimoto vd., 2018).

Yakın tarihli bir çalışmada ise, %12 EDTA'nın dental pulpa kök hücrelerinde alkalin fosfataz aktivitesini artırdığı, mineralize nodül oluşumunu ve mineralizasyonla ilişkili gen/protein ekspresyonlarını desteklediği gösterilmiştir (Bracks vd., 2019). Benzer şekilde, fare dişlerinde uygulanan rejeneratif prosedürlerde, %17 EDTA irrigasyonunun, TGF- β ve IGF-1 mRNA düzeylerinde anlamlı artış sağladığı ve bu etkinin immün-inflamatuar yanıtı modüle ettiği raporlanmıştır (Bracks vd., 2019).

EDTA'nın dentin yüzeyinden büyüme faktörlerini serbest bırakma kapasitesi ve kök hücre adezyonunu kolaylaştırıcı etkileri de literatürde yer almaktadır (D. E. Martin vd., 2014). Özellikle %10 EDTA'nın TGF- β 1 salınımını yüksek düzeyde indüklediği, buna karşın VEGF ve FGF-2 salınım düzeylerinin daha düşük olduğu bildirilmiştir (Galler vd., 2015). Ayrıca, %17 EDTA ve %10 sitrik asitin 60 saniyelik irrigasyon sürelerinin karşılaştırıldığı çalışmada, EDTA'nın TGF- β 1 salınımı açısından daha üstün olduğu belirlenmiştir (Zhao vd., 2000).

Rejeneratif endodontide büyüme faktörlerinin salınımı için şelasyon ajanı olarak EDTA sıklıkla kullanılmaktadır. Bununla birlikte EDTA'ya alternatif olarak etidronik asit, borik asit, sitrik asit, fitik asit ve fosforik asit gibi farklı asitlerin kullanılması yönünde çalışmalar yapılmaktadır (Fortea vd., 2024).

2.3.4.3 İrrigasyon Aktivasyonu

Endodontik tedavinin başarısı; kök kanal sistemindeki mikroorganizmaların, mikrobiyal ürünlerin ve vital ya da nekrotik pulpa dokusu kalıntılarının etkin şekilde uzaklaştırılmasına bağlıdır. Ancak kök kanal anatomisinin oldukça karmaşık yapısı nedeniyle, en iyi biyomekanik preparasyon teknikleri kullanılsa dahi kanalın tüm yüzeylerinin tamamen temizlenmesi ve şekillendirilmesi çoğu zaman mümkün olamamaktadır (Vertucci, 1984). Bu temizlenemeyen alanlarda kalan debris, mikroorganizmalar ve toksik ürünler; kök kanal dolgusunun başarısını olumsuz etkileyerek sekonder ya da dirençli enfeksiyonların gelişimine neden olabilir. Ayrıca, konvansiyonel preparasyon işlemleri sırasında el eğeleri veya döner eğelerle oluşturulan smear tabakasının dentin tübüllerine penetre olması, hem irrigasyon solüsyonlarının dezenfeksiyon etkinliğini azaltmakta hem de dolgu materyallerinin penetrasyonunu engelleyerek tedavi başarısını olumsuz yönde etkilemektedir

(Walsh & George, 2017). Bu nedenle, etkili bir kimyasal dezenfeksiyon sağlanabilmesi için irrigasyon solüsyonlarının dentin tübülleri, isthmus bölgeleri ve kökün apikal üçlüsüne kadar ulaşması gerekmektedir.

NaOCl ve EDTA gibi yaygın irrigasyon solüsyonları, geleneksel uygulama yöntemleriyle koronal ve orta üçlüde smear tabakasının ve debrisin uzaklaştırılmasında genellikle etkili olurken, apikal bölgelerde bu etkinlik önemli ölçüde azalmaktadır (Kiran vd., 2016). Bu durumun nedenlerinden biri, irrigasyon iğnesinin ucundan solüsyonun yalnızca yaklaşık 1 mm ilerleyebilmesiyle sınırlı kalmasıdır. Ayrıca, apikal bölgede hava kabarcıklarının oluşması ve bu bölgede gelişen "vapor lock" (buhar kilidi) etkisi, irrigasyon solüsyonunun akışını kısıtlayarak dezenfeksiyon etkinliğini daha da azaltmaktadır (Siqueira & Rôças, 2011). Bu kısıtlamalar nedeniyle, geleneksel irrigasyon yöntemleri ile tüm kök kanal sisteminde yeterli düzeyde dezenfeksiyon sağlanması mümkün olamamaktadır.

Bu sorunların üstesinden gelmek amacıyla, son yıllarda irrigasyon solüsyonlarının etkinliğini artırmak üzere çeşitli aktivasyon yöntemleri geliştirilmiştir. Manuel aktivasyon teknikleri (örneğin gutta-perka konları veya kanal eğeleri), negatif basınç sistemleri (EndoVac®, RinsEndo®), sonik ve ultrasonik sistemler ile lazer temelli aktivasyon yöntemleri, irrigasyonun derin dentin yapısına ve apikal bölgelere ulaşmasını kolaylaştırmak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Gu vd., 2009).

2.3.4.3.1 Ultrasonik Aktivasyon Sistemleri

Ultrasonik cihazların endodontideki ilk kullanımı 1957 yılında Richman tarafından, kök kanal tedavisi ve kök rezeksiyonu sırasında gerçekleştirilmiştir (Koli vd., 2014). 1950'li yıllardan itibaren bu cihazlar; giriş kavitesinin hazırlanması, pulpa taşlarının temizlenmesi, kanal orifislerinin bulunması, kalsifiye kanalların açılması ve kırık enstrümanların çıkarılması gibi çeşitli amaçlarla kullanılmaya başlanmıştır (Park, 2013). Martin ise 1976 yılında, kök kanal irrigasyonunun etkinliğini artırmak amacıyla ultrasonik cihazların kullanılabileceğini gündeme getirmiştir (H. Martin, 1976).

Ultrasonik aktivasyon, irrigasyon solüsyonlarının etkisini artırmak amacıyla yüksek frekansta titreşim oluşturan bir cihaz ve uç yardımıyla uygulanan bir yöntemdir (Căpută vd., 2019; Nagendrababu vd., 2018). Bu teknikte, cihaz

tarafından üretilen ultrasonik dalgalar irrigant içinde negatif basınç oluşturarak mikroskopik kabarcıkların ortaya çıkmasına yol açar; bu süreç “kavitasyon” olarak adlandırılır (Van Der Sluis vd., 2007; Walmsley vd., 2013). Sürekli titreşim ile büyüyen bu kabarcıklar kararsız hale gelip yüksek enerjili bir çökme ile patlar ve böylece güçlü şok dalgaları ortaya çıkar (Roy vd., 1994; Van Der Sluis vd., 2007). Bu dalgaların sıvı içerisindeki hareketi "akustik akış" adı verilen girdap benzeri bir sıvı hareketine neden olur (M. Ahmad vd., 1988; Verhaagen vd., 2014). Akustik akış, irrigantın kanal sisteminin daha derin bölgelerine taşınmasına katkı sağlar ve mekanik temizlik etkinliğini artırır (Retsas vd., 2022). Ayrıca ultrasonik aktivasyon sırasında oluşan kinetik enerjinin bir kısmı ısıya dönüşerek NaOCl gibi irrigantların kimyasal reaktivitesini artırarak sinerjik bir etki oluşturur (Retsas vd., 2022; Sirtes vd., 2005). Bu şekilde, hem kimyasal hem de mekanik etkinlik artarak karmaşık kök kanal anatomisinde daha başarılı dezenfeksiyon sağlanabilir (Van Der Sluis vd., 2007).

Ultrasonik aktivasyon; kanal şekillendirmesiyle eş zamanlı uygulanan ultrasonik enstrümantasyon (UI) ve şekillendirme sonrasında uygulanan pasif ultrasonik irrigasyon (PUI) olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır (Van Der Sluis vd., 2007). UI, kesici bir uçla kanal duvarlarına temas ederek çalıştığı için doku kaybına ve şekil bozukluklarına neden olabilir; özellikle eğimli kanallarda basamak oluşumu, apikal zip veya perforasyon riski taşır (Lumley vd., 1988; Weller vd., 1980). Buna karşılık, PUI yöntemi Weller ve ark. tarafından 1980 yılında tanımlanmış ve şekillendirme işlemi tamamlandıktan sonra, kesici olmayan bir metal uçla uygulanmaya başlanmıştır (Weller vd., 1980). Bu uç kanal merkezine yerleştirilerek titreştirilir ve enerjisini irrigasyon solüsyonuna aktarır (Căpută vd., 2019; Van Der Sluis vd., 2007). Kesici olmaması sayesinde kanal duvarlarına zarar verme olasılığı minimuma indirilmiş olur.

PUI yöntemi, irrigasyon solüsyonunun iki farklı şekilde uygulanmasına imkân tanır: aralıklı ve sürekli ultrasonik irrigasyon. Aralıklı teknikte irrigant enjektörle aralıklarla verilerek aktive edilirken, sürekli sistemde irrigant kesintisiz şekilde kanal içine iletilir ve eş zamanlı olarak ultrasonik enerjiyle aktive edilir (Gomes vd., 2023). Sürekli sistemler, ek irrigant takviyesi olmadan sürekli temizlik ve aktivasyon sağlar (Gomes vd., 2023).

Tüm avantajlarına rağmen, PUI sisteminin sınırlamaları da mevcuttur. Metal uçlar eğimli kanallarda etkinliğini kaybedebilir ve dentinle teması smear

tabakasının yeniden oluşmasına neden olabilir (Park, 2013; Van Der Sluis vd., 2007). Ayrıca, yüksek frekanslı titreşimlerin dentinde mikroçatlaklara yol açabileceği rapor edilmiştir (Layton vd., 1996; Rainwater vd., 2000).

Literatürde, ultrasonik aktivasyonun kök kanal duvarlarını etkin şekilde temizleyerek kök hücre adezyonunu ve büyüme faktörü salınımını artırabileceği ifade edilmiştir. Widbiller ve ark.'nın 2017 yılında gerçekleştirdiği bir çalışmada, %10 EDTA ve PBS kullanılarak, ultrasonik aktivasyonlu ve aktivasyonsuz irrigasyon protokolleri karşılaştırılmıştır. Sonuçlara göre, PBS ile yapılan irrigasyonda TGF- β 1 salınımı gözlenmezken; EDTA'nın bu salınımı tetiklediği ve ultrasonik aktivasyonla bu etkinin daha da artırıldığı belirlenmiştir (Widbiller vd., 2017). Aksel ve ark.'nın 2020'de yaptığı çalışmada ise PUI ile aktive edilen EDTA'nın TGF- β 1 salınımını, kök hücre canlılığını ve migrasyonunu artırdığı rapor edilmiştir (Aksel vd., 2020). Hançerlioğulları ve ark.'nın 2021 tarihli çalışmasında ise, %17 EDTA ve %10 sitrik asit ile hem ultrasonik hem de Er:YAG lazer aktivasyon teknikleri uygulanarak TGF- β 1, IGF-1, BMP-7 ve VEGF-A gibi büyüme faktörlerinin dentinden salınımı karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, her iki yöntemin büyüme faktörü salınımını desteklediğini ancak Er:YAG lazer aktivasyonunun daha yüksek düzeyde salınım sağladığını göstermiştir (Hancerliogullari vd., 2021).

Tüm bu bulgular, endodontik tedavilerde irrigasyon solüsyonunun yanı sıra uygun aktivasyon yönteminin seçilmesinin, kök kanal sisteminde etkili temizlik sağlamanın yanı sıra biyolojik yanıtı da optimize ederek rejeneratif potansiyeli artırabileceğini göstermektedir.

2.4 Ozon

Ozon (triatomik oksijen ya da trioksijen), üç oksijen atomunun birleşmesiyle oluşan doğal bir gazdır (Boztaş & Ömürlü, 2015). Stratosfer tabakasında genellikle 1–10 ppm arasında değişen konsantrasyonlarda gaz formunda bulunur (Mauersberger, 1981). Molekül ağırlığı 47,98 g/mol olan ozon, endotermik ve termodinamik açıdan oldukça kararsız bir bileşiktir (Galiè vd., 2019). Kısa yarı ömrü nedeniyle çevresel faktörler, özellikle sıcaklık ve basınç gibi değişkenler, ozonun moleküler oksijene (O_2) ve atomik oksijene (O) ayrışmasına neden olur (V. A. Bocci, 2006).

Doğal ozon oluşumu, güneşin ultraviyole ışınları veya yıldırım esnasında havadaki oksijenin ayrışmasıyla gerçekleşir. Ozon, çevresine karşı yüksek reaktivite gösteren güçlü bir oksidandır (C. Wei vd., 2017). Oluşumundan kısa bir süre sonra yapısındaki bir oksijen atomu ayrılarak molekül, tekrar oksijen (O_2) formuna dönüşür. Ayrılan bu serbest oksijen atomu ise çevredeki hava veya su ortamıyla etkileşime girer. Ozon kararsız yapısı nedeniyle depolanamaz; yalnızca ihtiyaç anında, yerinde üretilerek kullanılmalıdır (D'Ambrosio vd., 2023; Remondino & Valdenassi, 2018).

Ozon molekülleri sürekli olarak oksijen formuna dönüşürken aynı zamanda yeniden sentezlenir (Suh vd., 2019). Bu dinamik süreç, güneşten gelen yüksek frekanslı ultraviyole (UV) ışınlar tarafından katalize edilir. Bu döngü, stratosferde yer alan ozonun hem atmosferin termal dengesinin korunmasında hem de zararlı UV-B ve UV-C radyasyonlarının filtrelenmesinde kritik bir rol oynamasını sağlar (Jain, 2020). Böylece, ozon tabakası yalnızca stratosferin yapısını değil, yeryüzündeki canlı yaşamını da koruyucu bir işleve sahiptir (Azarpazhooh & Limeback, 2008).

Kimyasal özellikleri açısından ozon, radikal yapıda olmamakla birlikte, bilinen en güçlü üçüncü oksidan ajandır (V. A. Bocci, 2006). Enerji düzeyi atmosferik oksijene göre daha yüksektir. Ayrıca ozon, suda oksijene kıyasla yaklaşık 1,6 kat daha yoğun ve 10 kat daha fazla çözünürlük gösterir (Lynch, 2004).

2.4.1 Ozonun Medikal Kullanımı ve Etki Mekanizmaları

Doğal ozon oluşumu, yüksek enerjili elektrik akımına ihtiyaç duyan bir süreçtir. Bu nedenle, medikal amaçlar için ozon genellikle sentetik olarak üretilir (Remondino & Valdenassi, 2018). Bu amaçla kullanılan medikal ozon jeneratörleri, mikrogram düzeyinde ozon elde edilmesini sağlar (V. A. Bocci, 2006). Medikal ozon, belirli oranlarda saf oksijen ile (%99,95–%95 O_2) ozonun (%0,05–%5 O_3) karıştırılmasıyla hazırlanır ve bu karışım çeşitli yöntemlerle hastaya uygulanır.

Güçlü oksidasyon kapasitesi nedeniyle “aktif oksijen” olarak da adlandırılan medikal ozon, oksijene kıyasla çok daha reaktif olup, mitokondriyal solunum sırasında oluşan radikal oksijen türlerini benzer şekilde meydana getirebilir (V. A. Bocci, 2006; Madej vd., 2007; Nogales vd., 2008). Uygun dozlarda kullanıldığında kan dolaşımını destekler, eritrositler, lökositler ve trombositler gibi kan hücreleri ile etkileşime girer. Ayrıca nitrik oksit (NO) ve karbon monoksit (CO) üzerinden, ya da

eritrositlerdeki 2,3-difosfogliserat (2,3-DPG) düzeyini artırarak hemoglobinin oksijen taşıma kapasitesini düzenler; böylece iskemik dokulara oksijen taşınmasını kolaylaştırır, metabolik dengeyi destekler ve bağışıklık sistemini aktive ederek büyüme faktörü salınımını uyarır. Bunun yanında, antioksidan enzimlerin üretimini artırarak serbest radikal düzeylerini düşürür ve nöroendokrin sistemin uyarılması yoluyla kişinin genel iyilik halini destekler. Topikal uygulamalarda etkili bir dezenfektan olup, akut veya geç dönem yan etkiler göstermediği bildirilmiştir (V. Bocci, 2006; Nogales vd., 2008).

Hücre kültürü çalışmalarında, ozonun farklı konsantrasyonlarda hücre proliferasyonu, metabolik aktivite, hareketlilik ve radikal oksijen türlerinin sentezi gibi süreçleri başlatabildiği, ancak yüksek düzeylerde hücre ölümüne de neden olabileceği belirtilmiştir (Anitua vd., 2015). Ozon vücutta plazma, lenf sıvısı veya serum içerisindeki biyomoleküller ile hızla reaksiyona girerek moleküler oksijen ve reaktif oksijen atomlarına dönüşür. Toksisitesi doğrudan ozon molekülünden değil, onun etkisiyle oluşan reaktif oksijen türlerinden kaynaklanır. Vücutta özellikle çoklu doymamış yağ asitleri ile kısa sürede reaksiyona girerek hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumuna yol açar (Valacchi vd., 2005). H_2O_2 serbest radikal olmamakla birlikte biyolojik zarları geçebilme özelliği ve daha reaktif oksijen türlerinin oluşumundaki rolü nedeniyle önemlidir. Aynı zamanda hücre içi sinyal molekülü olarak görev yapar ve sitokin üretimini artırabilen önemli faktörlerden biridir (V. Bocci, 2007).

Medikal ozon tedavisinin inflamatuvar süreçlerde ve bağışıklık sistemi modülasyonunda önemli etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Klinik çalışmalarda, yara iyileşmesi ile iskemik ve enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde olumlu sonuçlar elde edildiği rapor edilmiştir (Stübinger vd., 2006). Ayrıca uygulamadan 72–96 saat sonra insan kanında interferon- γ (IFN- γ) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) düzeylerinde artış olduğu ve hücre mitogenezinin uyarıldığı bildirilmiştir (V. Bocci & Paulesu, 1990; Paulesu vd., 1991).

Yapılan bir çalışmada, diyabetik ayak ülserine sahip hastalarda ozon tedavisi uygulanmış, ozon tedavisi ile yara yüzeyleri daha hızlı iyileşmiş, daha fazla kolajen lif açığa çıkmış ve salınan VEGF, TGF- β ve PDGF düzeyleri ozon tedavisi uygulanan grupta daha yüksek bulunmuştur (J. Zhang vd., 2014).

Ozon, hem tıp hem de diş hekimliği alanında geniş bir kullanım yelpazesine sahiptir. Sahip olduğu biyolojik etkiler arasında antimikrobiyal, antiinflamatuvar,

immün sistemi uyarıcı (immunostimülan), antihipoksik, metabolizma ve biyosentez hızını artırıcı, analjezik ve detoksifikasyon özellikleri yer almaktadır (Bhateja, 2012).

Antimikrobiyal Etki: Ozon, hücre membranındaki hidrokarbon zincirlerinde bulunan çift bağlarla reaksiyona girerek hücre zarında yapısal bozulmalara yol açar (Elvis & Ekta, 2011). Bu süreç, sekonder oksidan etkilerle desteklenerek antimikrobiyal aktiviteyi artırır. Ozonun antibiyotiğe dirençli mikroorganizmalar üzerinde de etkili olduğu bilinmektedir. Özellikle asidik pH ve sıvı ortamlarda antimikrobiyal etkinliği artış gösterir. Viral enfeksiyonlarda ise, enfekte hücrelerin peroksit duyarlılığını ve reverse-transkriptaz enzim aktivitesini değiştirerek etki mekanizmasını sürdürür. Ozon, mantarlarda hücre büyümesini inhibe eder (Elvis & Ekta, 2011; Seidler vd., 2008).

Antiinflamatuvar Etki: Ozon, inflamasyonun baskılanmasında rol alan interlökin, lökotrien ve prostaglandin gibi biyolojik olarak aktif moleküllerin sentezini destekler. Enflamasyon alanlarının asidik özellikte olması ve ozonun alkali yük taşıması, ozonun bu bölgelere yönelmesini kolaylaştırır (P. Bansal, 2014).

İmmunostimülan Etki: Ozon, hem hücresel hem de hümmoral bağışıklık yanıtını etkileyerek immün sistemi aktive eder. Bağışıklık hücrelerinin proliferasyonunu uyarır, makrofajların fagositoz yeteneğini artırır ve sitokin üretimini teşvik eder. Bu özellikleri, bağışıklık sistemi zayıf olan bireylerde ozon uygulamasının yararlı olabileceğini göstermektedir (Celiberti & Lussi, 2005).

Antihipoksik Etki: Ozon, dokuların parsiyel oksijen basıncını yükseltir ve oksijen taşınmasını kolaylaştırır. Hücre metabolizmasında meydana gelen değişiklikler sonucunda oksijenli solunum, glikoliz, krebs döngüsü ve yağ asitlerinin β -oksidasyonu gibi enerji üretim yolları uyarılır. Ayrıca eritrositlerin çökmesini önleyerek oksijen taşınmasında görevli yüzey alanını artırır. Bu etkiler, özellikle dolaşım bozukluğu olan hastalarda kan akışının iyileştirilmesi ve organ fonksiyonlarının desteklenmesi açısından önemlidir (Bhateja, 2012).

Metabolizma ve Biyosentez Üzerine Etkileri: Ozon, mitokondri ve ribozomların aktivitesini artırarak hücre içi protein sentezini hızlandırır. Bu durum, hücresel fonksiyonların güçlenmesini ve doku ile organların rejenerasyonunu destekler (Bhateja, 2012).

Analjezik ve Detoksifikasyon Etkisi: Ozon, nitrik oksit (NO) gibi vazodilatör maddelerin salınımını teşvik ederek arteriyol ve venüllerde genişlemeye

neden olur; bu da ağrı kontrolü ve toksin eliminasyonuna katkı sağlar (Bhateja, 2012).

Ozon uygulaması sırasında, tedavi teknikleri ve kullanım amaçlarının iyi bilinmesi önemlidir. Ozon terapisi; ozon gazı, ozonlu su ve ozonlaştırılmış yağ olmak üzere üç farklı formda uygulanabilir (Nogales vd., 2008). Tedavi ile hedeflenen temel amaçlar şunlardır (Bhateja, 2012):

Patojen mikroorganizmaların elimine edilmesi

Oksijen metabolizmasının düzenlenmesi

Kan dolaşımının artırılması

Bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi

Vücudun antioksidan savunma mekanizmasının desteklenmesi

Ozon uygulamaları için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (Pattanaik vd., 2011):

Ozon Gazı: Ozon jeneratörleri aracılığıyla saf oksijen ozona dönüştürülür ve bu gaz, silikon başlıklı el parçaları kullanılarak hedef bölgeye iletilir. Farklı diş ve anatomik bölgeler için çeşitli boyut ve şekillerde silikon başlıklar mevcuttur.

Ozonlu Su: Ozon jeneratörleri tarafından üretilen ozon gazının suya belirli konsantrasyonlarda verilmesiyle hazırlanır. Uygulama, suyun içerdiği maddelerin arıtılma gereksinimine bağlı olarak ham suya veya sedimantasyon işleminden geçirilmiş suya yapılabilir.

Ozon Yağı: Saf bitkisel ekstraktların, saf oksijen ve ozon gazı ile reaksiyona sokulmasıyla elde edilir. Bu reaksiyon sonucunda viskoz kıvamda yağ formu oluşur; bazı durumlarda jel kıvamı da görülebilir. Vücut dışında topikal olarak kullanıldığında bilinen bir zararlı etkisi bulunmamaktadır.

2.4.2 Ozonun Diş Hekimliği Alanında Kullanımı

Ozonun sahip olduğu antimikrobiyal, dezenfektan ve doku iyileştirici özellikler, diş hekimliğinde kullanımını cazip hale getirmiştir. Tıp alanında profilaktik ve tedavi edici etkileri kanıtlanmış olan ozon tedavisi, mevcut yöntemlere alternatif veya destekleyici bir seçenek olarak önerilmektedir (Bezirtzoglou vd., 2008). Diş hekimliğinde ozonun başlıca kullanım alanları arasında; diş çürüklerinin önlenmesi, pit-fissür, kök ve düz yüzey çürüklerinin remineralizasyonu, kavitasyon dezenfeksiyonu, antibiyotik tedavisine yardımcı uygulamalar, diş beyazlatma, endodontik kanal dezenfeksiyonu, dentin hassasiyetinin giderilmesi, yumuşak doku patolojilerinin iyileştirilmesi, avülse

dişlerin replantasyonu öncesinde yıkama, zor iyileşen enfekte yaraların tedavisi ve herpetik lezyonların dezenfeksiyonu yer almaktadır (Azarpazhooh & Limeback, 2008; Nogales vd., 2008).

2.4.2.1 Çürük Profilaksisinde Ozon

Yüksek çürük riskine sahip bireylerde yapılan çalışmalarda ozon uygulamasının çürük ilerlemesini belirgin şekilde azalttığı ve remineralizasyonu teşvik ettiği bildirilmiştir (Almaz & Sönmez, 2015). Ozon tedavisi sonrası oral mikrobiyal floranın dengelendiği, kalsiyum, fosfat ve flor iyonlarının çürük lezyonuna difüzyonunun arttığı ve buna bağlı olarak lezyonun remineralize olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca ozon uygulamasının fissür çürüklerinin sıklığını azalttığı gözlemlenmiştir (Knežević vd., 2007). Kavitasyon göstermeyen oklüzal çürüklerde, enfekte dentindeki canlı bakteri sayısının ozon gazı uygulaması ile azaldığı da bildirilmiştir (Baysan & Beighton, 2007).

2.4.2.2 Dentin Hipersensitivitesinde Ozon

Ozon tedavisi ile smear tabakasının uzaklaştırılması dentin tübüllerini açarak iyon geçişini kolaylaştırır. Böylece kalsiyum ve fosfat iyonlarının tübüllere difüzyonu artar, tübüller tıkanır ve sıvı hareketleri engellenir. Bu mekanizma, kök yüzeyi hassasiyetinde uzun süreli ve etkili bir azalma sağlamaktadır (Deery vd., 2005).

2.4.2.3 Plak Biyofilmi Üzerinde Antibakteriyel Etki

Ozonlu suyun periodontal patojen olan gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere ile *Candida albicans*'a karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Diğer antimikrobiyal ajanlara kıyasla daha düşük sitotoksositeye sahip olması, oral uygulamalarda biyoyumlu bir alternatif olmasını sağlamaktadır (Kshitish & Laxman, 2010). Bu nedenle periodontal tedavilere destek olarak kullanılması önerilmektedir.

2.4.2.4 Beyazlatmada Ozon

Ozonun güçlü oksidasyon özelliği, dişlerdeki renklenmelerin giderilmesine olanak tanır. Beyazlatıcı ajan uygulaması sonrasında kaviteye 3–4 dakika ozon gazı verilmesi, beyazlatma etkinliğini artırmaktadır (Nogales vd., 2008). Çalışmalar,

ozonun hızlı, etkili ve mine yüzeyinde zararlı etki bırakmayan bir beyazlatma yöntemi olduğunu ortaya koymuştur (Abd Elhamid & Mosallam, 2010).

2.4.2.5 Pedodontide Ozon

Primer diş çürüklerinin tedavisinde ozon/oksijen karışımı uygulamasının diş dokusunun remineralizasyonunu desteklediği bildirilmiştir (Lynch, 2004).

2.4.2.6 Protetik Tedavide Ozon

Protez yüzeylerinde özellikle *Candida albicans* birikimi gözlenir. Ozonlu su uygulaması bu mikroorganizma yükünü azaltabilir (Arita vd., 2005). Ayrıca parsiyel protezlerde metal iskelet yüzey temizliği için de kullanılabilir (Suzuki vd., 1999). Protez dezenfeksiyonunda 10 dakikalık ozon uygulamasının yeterli olabileceği belirtilmiştir (Murakami vd., 2002).

2.4.2.7 Cerrahi Uygulamalarda Ozon

Akut apikal apseli diş çekimlerinde, cerrahi işlem öncesinde ve esnasında ozonlu su ile yıkama önerilmektedir (Maslennikov vd., 2008). Ozonun radyoterapi sonrası oral yara iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir (Stübinger vd., 2006). Ayrıca üçüncü molar çekimi sonrası postoperatif ağrı, ödem ve trismusun azaltılmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Kazancioglu vd., 2014).

2.4.2.8 Periodontolojide Ozon

Ozonun antimikrobiyal etkinliği ve direnç geliştirmemesi, onu oral antiseptiklere alternatif kılmaktadır (Paraskeva & Graham, 2002). Ozonlu su uygulamasının gingivitis ve periodontitis semptomlarını azalttığı, plak ve kanama indeksinde iyileşme sağladığı bildirilmiştir (Brauner, 1991; Dhingra & Vandana, 2011).

2.4.2.9 Endodontide Ozon

Ozon endodontide; dezenfeksiyon amacıyla, irrigasyon solüsyonu olarak (ozonlanmış su) ve kanal içi medikament olarak kullanılabilir. Aynı zamanda post-operatif ağrıyı azalttığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Solüsyon, gaz ve yağ olmak üzere 3 formu da endodontide kullanılabilir. Ozon, smear tabakasını ortadan kaldırarak dentin tübüllerinin açılmasına ve çaplarının artmasına katkıda bulunmaktadır (Sanjeevi & Kumar, 2019).

Kök kanallarında persistan mikroorganizmalar tedavi başarısını olumsuz etkileyebilir. Çalışmalarda gaz formundaki ozonun antimikrobiyal özellik gösterdiği rapor edilmiştir. Yaklaşık 0,5–1 L/dk akış hızında, 5 g/ml hacminde ve 2-3 dakika süreyle uygulanan gaz sirkülasyonunun, patojen mikroorganizma sayısında belirgin bir azalma sağladığı bildirilmiştir (R. Reddy vd., 2013).

Bazı çalışmalarda, ozon gazının antibakteriyel etkinliğinin Potasyum Titanil Fosfat Lazer (KTP) ve Erbiyum Katkılı İtiryum-Alüminyum-Garnet (Er:YAG) lazerlere kıyasla daha yüksek, ancak NaOCl'ye göre daha düşük olduğu belirtilmiştir. Kök kanal tedavisi sürecinde, ozonun irrigasyon ajanlarıyla birlikte uygulanmasının, tek başına kullanımına oranla dezenfeksiyon etkinliğini artırdığı rapor edilmiştir (Case vd., 2012; Kuştarci vd., 2009; Stoll vd., 2008). Ayrıca, NaOCl kullanımının kontrendike olduğu durumlarda ozon gazının güvenle tercih edilebileceği ifade edilmiştir (Stoll vd., 2008). Ozonun, düşük miktarda organik debris varlığında en yüksek etkinliği göstermesi nedeniyle irrigasyon ve preparasyon aşamalarının tamamlanmasının ardından, bitirme öncesinde uygulanması önerilmektedir (Huth vd., 2009).

Ozon çözeltisi, irrigasyon ajanı olarak kullanıldığında doku yenilenmesini ve kemik iyileşmesini desteklemektedir (A vd., 2013). Yapılan bir çalışmada farklı dozlarda ozonlu su uygulanarak pulpa hücreleri üzerine sitotoksosite değerlendirmesi yapılmış ve sonucunda ozonlu suyun pulpa hücrelerinin proliferasyonunu artırdığı bildirilmiştir (Küçük vd., 2021).

Ozonlu suyun antimikrobiyal etkinliğinin %2,5'lik NaOCl ile benzer olduğu, ancak sitotoksosite açısından daha avantajlı olabileceği belirtilmiştir (Nagayoshi vd., 2004). 2023 yılında yayınlanmış bir çalışmada; oval kanallarda %2,5 NaOCl ve 8 µg/mL ozonlu suyun antimikrobiyal etkinliği karşılaştırılmış, ozonlu suyun tek başına kullanıldığında %2,5 NaOCl kadar etkili olmadığı ancak PUI ya da PUI+Endoaktivatör(EA) ile etkinliğinin anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir (Merçon vd., 2023).

Ozonun *E. faecalis*, *C. albicans*, *P. micros* ve *P. aeruginosa* gibi patojenlere karşı etkili olduğu ve kronik enfekte kanallarda kötü kokuyu ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (Huth vd., 2009; A. Kumar, Bhagawati, vd., 2014).

Estrela ve ark.; ozonlu su, ozon gazı, %2,5 NaOCl ve %2 klorheksidinin enfekte insan dişi kök kanallarındaki antimikrobiyal etkinliğini karşılaştırdıkları

çalışmalarında, 20 dakikalık temas süresinde hiçbir ajanın *E. faecalis* üzerinde etkili olmadığını bildirmiştir (Estrela vd., 2007).

Kaptan ve ark., *E. Faecalis* üzerinde %2 NaOCl ile ozon gazının birlikte uygulandığı grup ile %5,25 NaOCl ve Ca(OH)₂ kullanılan, ancak ozon gazı uygulanmayan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit etmemiştir. Bununla birlikte, %2 NaOCl, Ca(OH)₂ ve ozon gazının kombine edildiği grupta *E. faecalis* biyofilminin tamamen elimine edildiği gözlenmiştir. Çalışmanın bir diğer bulgusu ise, tekrarlayan ozon gazı uygulamalarının daha düşük konsantrasyonda NaOCl kullanımına imkân tanıyarak sitotoksik etkilerin azaltılmasına katkı sağlayabileceğidir (Kaptan vd., 2014).

Rossi-Fedele ve ark., NaOCl ve ozon gazının pulpa dokusunun çözünme sürecine etkisini araştırmışlardır. Bulgular, yalnızca NaOCl uygulanan gruplarda pulpa dokusunun çözüldüğünü, NaOCl ile ozon gazının birlikte kullanıldığı grupta ise bu çözünmenin yalnızca NaOCl uygulamasına kıyasla yaklaşık iki kat daha hızlı gerçekleştiğini ortaya koymuştur (Rossi-Fedele vd., 2013).

Reddy ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada ozonlanmış susam yağının kanal içi medikament olarak kullanımında, *C. albicans*'a karşı Ca(OH)₂'ye kıyasla daha yüksek antimikrobiyal etki gösterdiğini rapor etmiştir. Ancak her iki ajan birlikte uygulandığında, antimikrobiyal etkinliğin en düşük seviyede olduğu belirlenmiştir (K. S. Reddy vd., 2015). Bir başka çalışmada, ozonlanmış yağ ile yapılan direkt pulpa kaplamasında kalsiyum hidroksite kıyasla daha az irritasyon olduğu rapor edilmiştir (Herawati vd., 2020).

Ozonun endodontik tedavilere bir diğer katkısının, kök kanal patlarının kesme-bağlanma dayanımını artırma potansiyeline ilişkin güncel çalışmalarla desteklendiği bildirilmektedir. Bir araştırmada, ozon uygulamasının dentine adezyonu güçlendirdiği; AH Plus ve EZ-Fill kök kanal patlarının her ikisinin de bağlanma kuvvetini olumlu yönde etkilediği, ancak bu etkinin AH Plus patında daha belirgin olduğu ifade edilmiştir (Bojar vd., 2009).

Kök kanal tedavisinin çeşitli aşamalarında, doku irritasyonuna bağlı olarak postoperatif ağrı gelişebilmektedir. Ozon uygulamasının, ağrıya yol açan mediyatörlerin düzeyini azaltması ve lokal kan dolaşımını artırması yoluyla postoperatif ağrının hafiflemesine katkı sağlayabileceği de araştırılmaktadır (Meire vd., 2023; Sinha vd., 2021).

3. MATERİYAL ve METOD

3.1 Etik Kurul Onayı

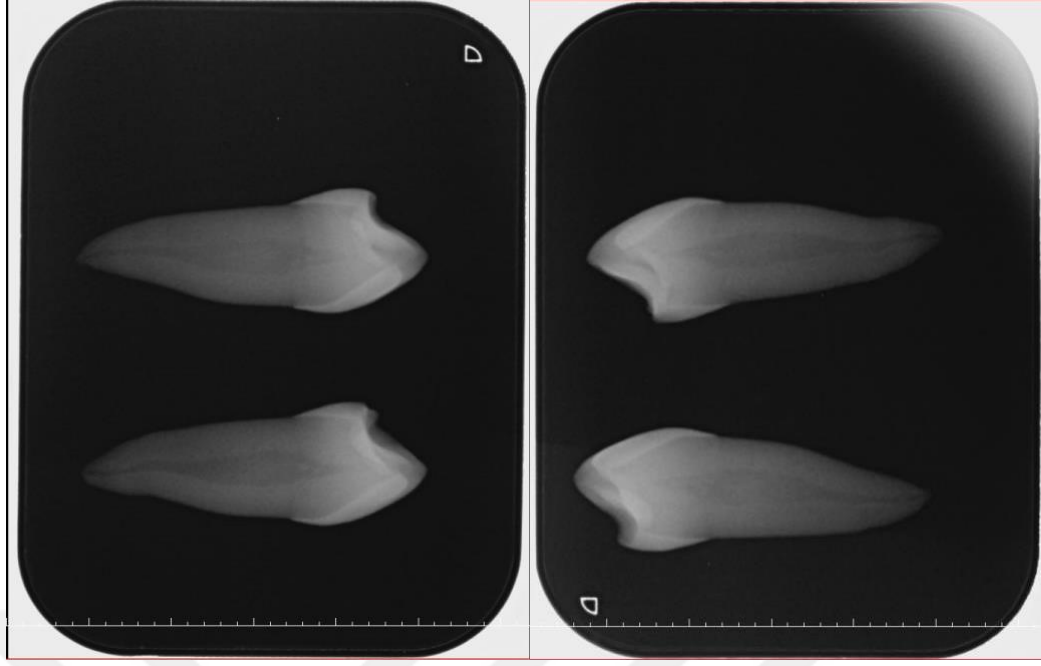
Araştırma için gerekli olan etik kurul onayı Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 17.07.2024 tarihinde 2024/186 numaralı kararıyla alınmıştır.

3.2 Örneklem Sayısının Belirlenmesi

Çalışma için G*power v3.1.9.7 programı (Heinrich Heine Üniversitesi, Düsseldorf, Almanya) ile benzer tasarıma sahip bir çalışmanın etki büyüklüğü kullanılarak örneklem büyüklüğü hesaplanmıştır (Hancerliogullari vd., 2021). %95 güven ($1-\alpha$), %95 test gücü ($1-\beta$), $f=0,60$ etki büyüklüğü, tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) power analizi sonucuna göre her bir grupta TGF- $\beta 1$ için minimum 16 örnek olmak üzere alınması gereken toplamda minimum örnek sayısı 48 olarak elde edilmiştir. %95 güven ($1-\alpha$), %95 test gücü ($1-\beta$), $f=0,763$ etki büyüklüğü, tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) power analizi sonucuna göre her bir grupta IGF-1 için minimum 10 örnek olmak üzere alınması gereken toplamda minimum örnek sayısı 30 olarak elde edilmiştir. Yapılan power analizi baz alınarak çalışmada her grup için 16 diş ve negatif kontrol grubu için 16 diş kullanılacak olup toplam diş sayısı 64 adet olarak belirlenmiştir.

3.3 Dişlerin Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

Bu çalışmada kullanılacak olan dişler; çürük, çatlak, kırık, anatomik malformasyon bulunmayan, periodontal nedenlerle taze çekilmiş mandibular premolar dişler olarak standardize edilmiştir. Dişlerde kalsifikasyon, rezorbsiyon, birden fazla kanal olmadığını belirlemek amacıyla tüm dişlerden bukko-palatinal ve meziyo-distal yönde periapikal radyografi görüntüleri alınmıştır (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Dişlerden alınan periapikal radyografi

3.4 Kök Segmentlerinin Hazırlanması

Dişler, kullanılacak irrigasyon solüsyonuna göre 16 diş içerecek şekilde randomize olarak dört gruba ayrılmıştır.

Dişler çekimin hemen ardından fosfat tamponlu salin solüsyonu (Gündüz Kimya, İstanbul, PBS) ile yıkanıp kretuar yardımıyla periodontal dokular kök yüzeyinden temizlenerek kullanılabilecek kadar %0.5 Chloramine T (BMV Kimya, İstanbul) solüsyonunda muhafaza edilmiştir (Şekil 3.5). Dişlerin çekildikten sonra çalışmaya kadar muhafaza edileceği kavanozlar steril edilerek kullanılmıştır. Çalışmaya başlanmadan önce çalışma yapılacak ortam dezenfekte edilmiş ve havalandırılmıştır.



Şekil 3.2. PBS solüsyonu



Şekil 3.3. Chloramine T solüsyonu hazırlanarak cam şişede muhafaza edilmesi

Dişlerin kök boylarının standart hale getirilebilmesi için, önce dekorone edilerek apeksten itibaren 10 mm olacak şekilde su soğutması altında steril frezler yardımıyla hazırlanmıştır. Geniş açık apeksi simüle etmek için kök segmentleri

Gates Glidden #1-4 frezleri (VDW, Munich, Almanya) kullanılarak enstrümante edilmiştir (Erdogan vd., 2025). Frezler arasında %0.9 saline (Sodium chloride solution, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany) ile irrigasyon yapılmıştır. ELISA testinde negatif kontrol grubu olması amacıyla 16 diş içi dentin yüzeyleri de dahil olmak üzere tırnak cilası ile kaplanmış ve bu dişlere herhangi bir işlem uygulanmamıştır. Geriye kalan 48 adet kök segmenti sadece kanal içi dentin yüzeyleri açıkta kalacak şekilde apikal ve koronal yüzeyler de dahil olmak üzere tırnak cilası ile kaplanmıştır.

3.5 İrrigasyon Protokolünün Tamamlanması

Genişletme sonrasında bütün dişlerde; klinik protokole benzetmek için kök ucundan yaklaşık 1 mm uzaklıkta konumlandırılan 30 gauge'luk tek kullanımlık endodontik irrigasyon iğnesi (Medic, Galaxy Dental Medikal San., İstanbul) ile 20 mL %1.5 NaOCl (Coltene Whaledent , Europe) ve 20 mL saline ile irrigasyon yapılmıştır.

Kök segmentleri periodontal ligamenti simüle etmesi amacıyla silikon esaslı ölçü malzemesi (Zetaplus L Intro Kıt, Zhermack S.P.A. Italy) kullanılarak eppendorf tüplerine yerleştirilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışma Grupları

GRUPLAR	
Grup A	İlk grupta 20 mL %17 EDTA (Saver, Prime Dental, Maharashtra, Hindistan) solüsyonu ile irrigasyon yapılmıştır.
Grup B	İkinci grupta Ozonette Ozon Jeneratörü (SEDECAL, Illinois, ABD) ile akış hızı 30 L/h, konsantrasyonu 80 ug/mL, 5 dakika ozonlanan distile su her diş için taze olarak hazırlanmıştır. 20 mL % 17 EDTA ile irrigasyon sonrasında 20 mL ozonlanmış su ile irrigasyon yapılmıştır. Ardından aynı cihazın insüflasyon yapan ucuyla kanal içerisine akış hızı 50 L/h, konsantrasyonu 80 ug/mL ve 800 mbar basınçla 60 saniye süre ile ozon gazı uygulanmıştır (Şekil 3.3).
Grup C	Üçüncü grupta Ozonette Ozon Jeneratörü (SEDECAL, Illinois, ABD) cihazı ile akış hızı 30 L/h, konsantrasyonu 80 ug/mL, 5 dakika ozonlanan %17 EDTA solüsyonu her diş için taze olarak hazırlanmıştır (Şekil 3.2). 20 mL ozonlanmış EDTA solüsyonu ile irrigasyon yapılmış ve ardından aynı cihazın insüflasyon yapan ucuyla kanal içerisine akış hızı 50 L/h, konsantrasyonu 80 ug/L ve 800 mbar basınçla 60 saniye süre ile ozon gazı uygulanmıştır.
Negatif Kontrol Grubu	16 diş, iç dentin yüzeyleri de dahil olmak üzere tırnak cilası ile kaplanmış ve bu dişlere herhangi bir işlem uygulanmamıştır.



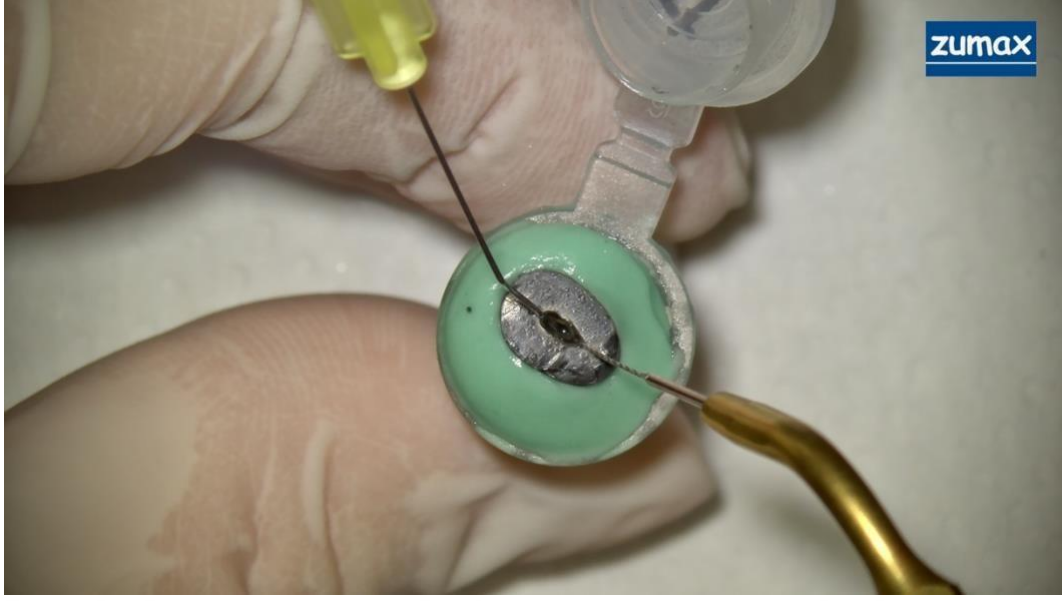
Şekil 3.4 Ozon cihazı ile EDTA'nın ozonlanması



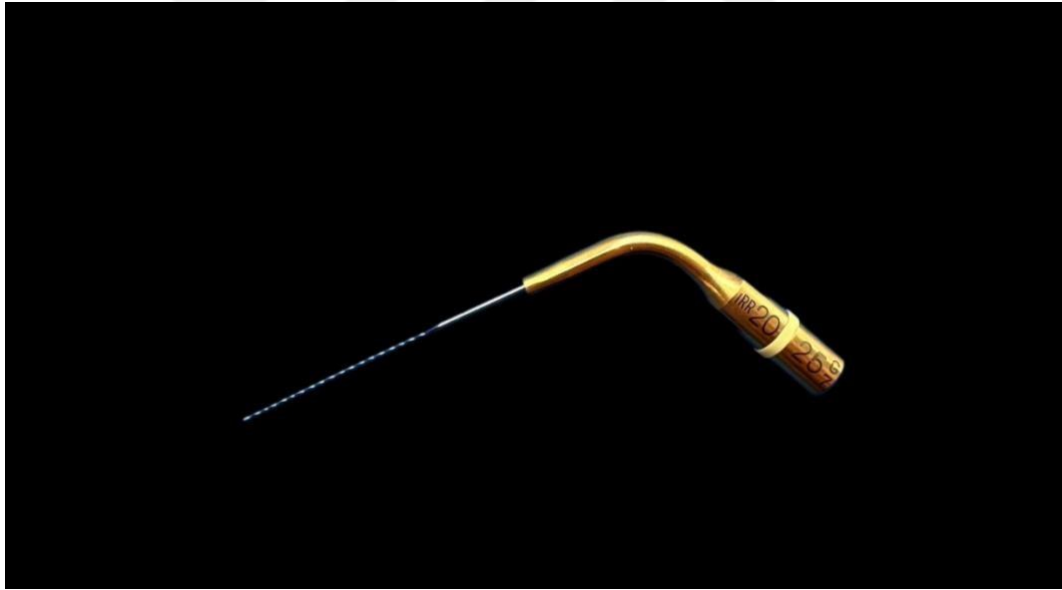
Şekil 3.5 Ozon cihazının insüflasyon ucu

İrrigasyon işlemi sırasında ultrasonik cihazı (P5 Newtron XS, Satelec Acteon, Merignac, Fransa) ve ultrasonik aktivasyon ucu (IF43808, IRR 20/25, Satelec, Acteon, Merignac Celdex-Fransa) kullanılmıştır (Şekil 3.7). Kök kanalına 30 gauge'lık tek kullanımlık endodontik irrigasyon iğnesi ile irrigasyon yapılırken ultrasonik uç yardımıyla 4-5 mm boyunca aşağı yukarı hareketlerle devamlı ultrasonik irrigasyon aktivasyonu yapılmıştır (Şekil 3.6).

Tüm kök segmentleri steril kağıt konlarla (Meta Dental Co., Ltd., Kore) kurutulmuştur. Her bir kök segmenti negatif kontrol grubu da dahil olmak üzere steril eppendorf tüplerine 1 mL PBS solüsyonu eklenerek yerleştirilmiştir (Şekil 3.4). Kök segmentleri steril eppendorf tüpleri içinde ağzı kapalı olarak 37°C'de inkübatöre yerleştirilmiştir. İrrigasyon işleminin yapıldığı saatten itibaren 24. saat ve 7. Günlerde 400'er mL PBS örnekleri otomatik pipet yardımı ile toplanmış ve boş olan steril eppendorf tüplerine aktarılmıştır (Şekil 3.8). Ardından ELISA testi ile değerlendirilmek üzere -80°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.6. İrrigasyon aktivasyon işlemi



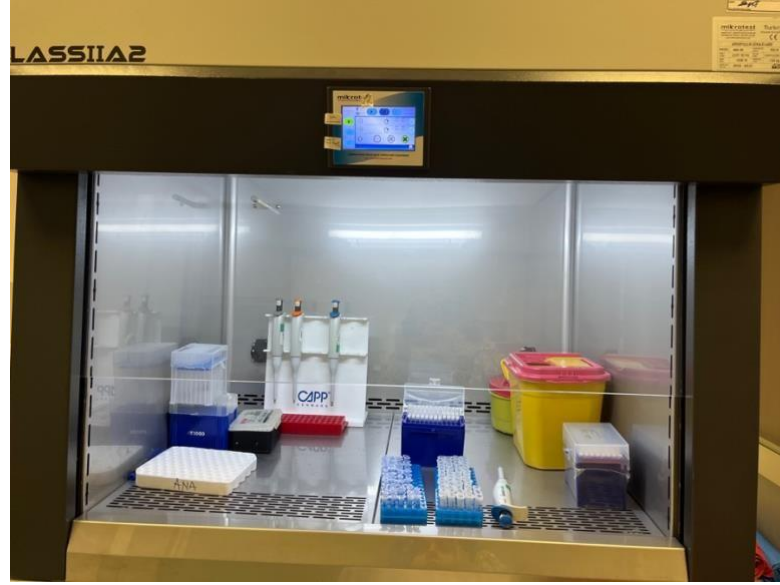
Şekil 3.7. İrrigasyon aktivasyon ucu



Şekil 3.8 Mikropipet yardımı ile örnek alma işlemi



Şekil 3.9 Örnek toplama işlemi için kullanılan mikropipet



Şekil 3.10 Örnek toplama işleminin yapıldığı ortam

3.6 ELISA Ölçümlerinin Yapılması

Toplanan örnekler Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda değerlendirilmiştir.

Büyüme faktörleri; TGF- β 1 ve IGF-1'in ölçümü için ticari kitler (Elabscience Biotechnology; Houston, TX, ABD), TGF- β 1 (ref: E-EL-0162, Hassasiyet: 0.1 ng/mL, Tespit Aralığı: 0.16–10 ng/mL), IGF-1 (ref E-EL-H0086, Hassasiyet: 0.94 ng/mL, Tespit Aralığı: 1.56–100 ng/mL) üreticinin talimatlarına göre kullanılmıştır (Şekil 3.11).

İlk olarak ELISA plaklarındaki kuyucuğa IGF-1ölçümü için toplanan örneklerden 100 mL örnek eklenmiştir. 37°C'de 90 dakika inkübe edilmiştir (Şekil 3.12). Ardından kuyucuktaki tüm sıvı uzaklaştırılmış ve her bir kuyuya hızlıca 100 ml Biyotinikli Tespit Antikoru eklenmiştir. 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. Ardından plaka 3 kez ELISA otomatik yıkayıcısında aspirasyon ve yıkama işlemi ile temizlenmiştir (Şekil 3.13). Her bir kuyuya 100 mL HRP konjugat çalışma solüsyonu eklenmiştir. 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Ardından plaka 5 kez ELISA otomatik yıkayıcısında aspirasyon ve yıkama işlemi ile temizlenmiştir. Her kuyucuğa 90 mL Substrat reaktifi eklenmiştir. 37°C'de 15 dakika inkübe edilmiştir. Her bir kuyuya 50 mL durdurma solüsyonu eklenmiştir. Plaka hızlıca 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda okutulmuştur (Şekil 3.14). Ölçüm sonrası elde edilen data lar kaydedilmiştir.

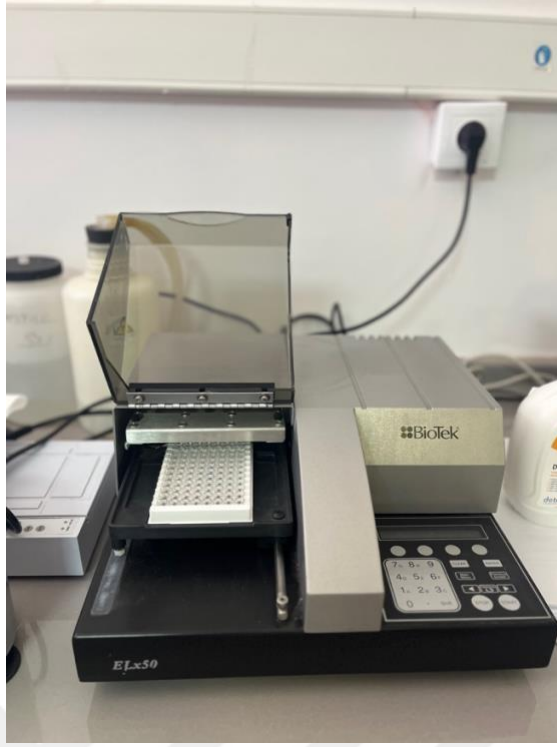
Biyolojik numunelerde bulunan TGF- β 1 inaktif formda bulunduğundan öncelikle aktive etmek amacıyla kit protokolüne uyularak aktivasyon işlemi yapılmıştır, bu işlemin sonucunda numune 10 kat seyreltilmiştir. Daha sonra IGF1 için de uygulanan adımlar aynı şekilde takip edilmiştir. Plaka hızlıca 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda okutulmuştur. Ölçüm sonrası elde edilen dataalar kaydedilmiştir.



Şekil 3.11 Çalışmada kullanılan ELISA kiti



Şekil 3.12 İnkübasyon için kullanılan etüv



Şekil 3.13 ELISA BioTek Elx50 otomatik yıkama cihazı



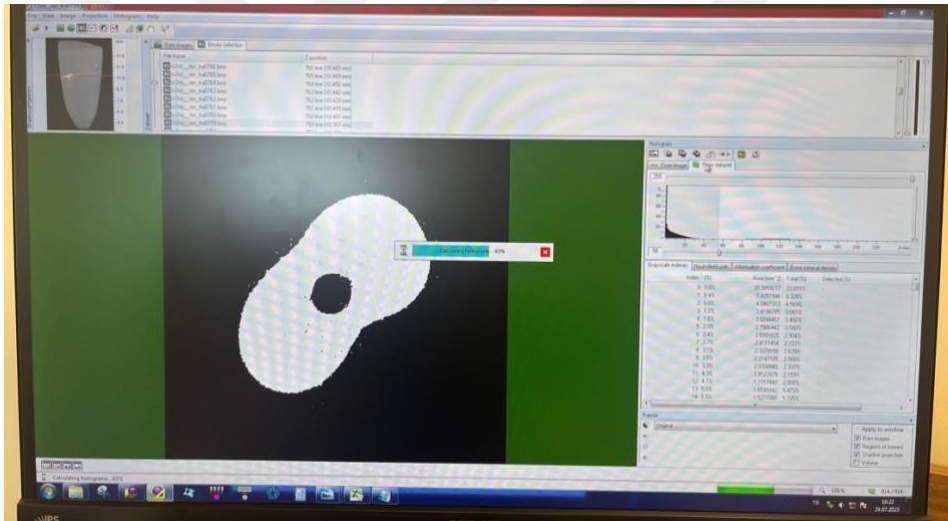
Şekil 3.14 ELISA otomatik okuyucu

3.7 Mikro-bilgisayarlı Tomografi ile Dentin Yüzey Alanı Hesaplaması

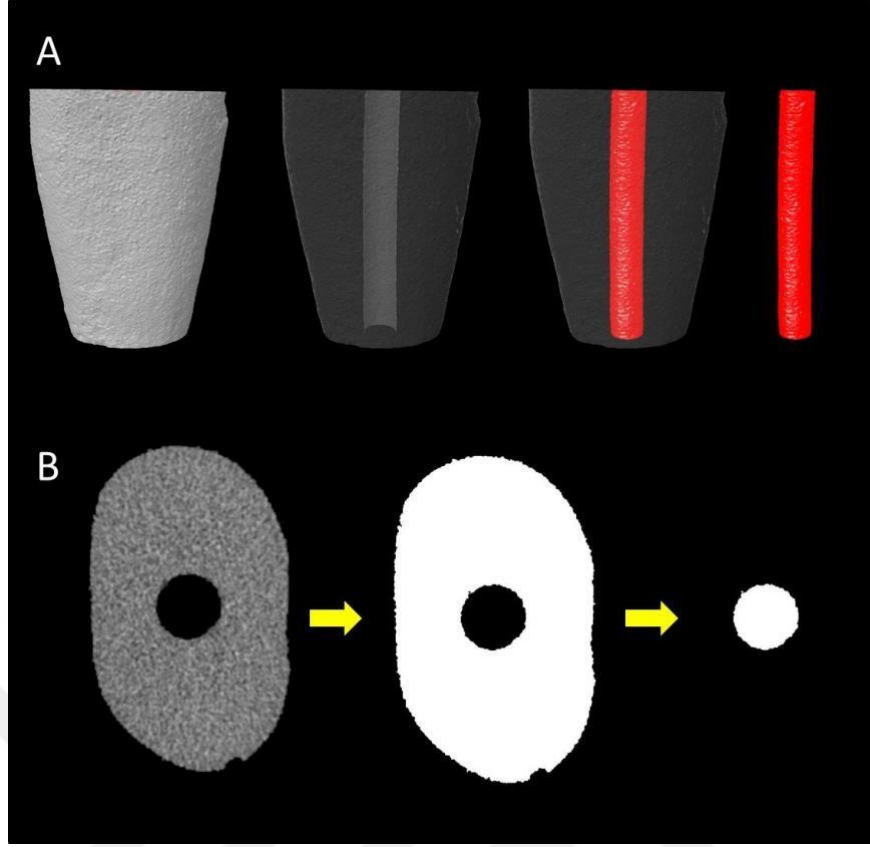
Örnekler İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde taranmıştır. Örnekler tarama için 85 kV güç ve 118 μ A akım ile çalıştırılan SkyScan 1172 (Bruker-microBT, Kontich, Belçika) mikro-BT cihazına yerleştirilmiştir. 11

MP kamera yardımıyla, her bir örnekten 13.68 μm piksel boyutuna sahip kesitler elde edilmiştir. Taramalar dikey ekseninde 193° dönme açısı, 0,6° dönme aralığı ve alüminyum-bakır alaşımlı bir filtre kullanarak 2450 ms kamera ekspozür zamanı ile gerçekleştirilmiştir.

Mikro-BT analizleri, CTAn (Bruker mikro-BT, Kontich, Belçika) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kanal boşluğu ve dentin yüzeyi, uygun eşik değerleri (threshold) belirlenerek segment edilmiştir. Ardından, her kesit görüntüsünde ROI (region of interest) seçimi yapılmış ve gri değer dağılımları histogramlar aracılığıyla değerlendirilmiştir. Yazılımın sağladığı morfometrik parametrelerden hacim (mm^3) ve yüzey alanı (mm^2) hesaplanmıştır. Bu ölçümler, dentin yüzeyinden salınan büyüme faktörlerinin normalize edilmesi amacıyla kullanılmıştır.



Şekil 3.15. CtAn programında hacim ve yüzey alanı hesaplaması



Şekil 3.16. mikro-BT ile kök kanalı görüntüsünün elde edilmesi işlemi

Şekil 3.16’da mikro-BT analiz sürecinin örnek bir şeması mevcuttur. Mikro-BT analiz süreci iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada, tarama verilerinden elde edilen üç boyutlu rekonstrüksiyonlar kullanılarak kök kanal boşluğu belirlenmiş ve segmentasyon işlemi uygulanmıştır. Segmentasyon sonucunda kanal hacmi kırmızı renkle işaretlenerek dentinden ayrıştırılmıştır (Şekil 3.16-A). İkinci aşamada ise kesit görüntülerine eşik değerleri (thresholding) uygulanmıştır. Bu sayede dentin yüzeyi ile kanal boşluğu net bir şekilde ayrılmış ve yalnızca ilgili bölge (ROI) izole edilmiştir (Şekil 3.16-B)

Besiyerinde ölçülen büyüme faktörü konsantrasyonlarının, kök kanalı yüzeyinden salınan büyüme faktörlerini yansıtmaması nedeniyle, deneyde kullanılan kök segmentlerinde açıkta kalan dentin yüzey alanı önemli bir değişken olarak kabul edilmektedir. Bu etkinin sonuçlar üzerindeki olası etkisini en aza indirmek amacıyla, daha önceki bir çalışmada kök kanalı hacmi, konik ışınli bilgisayarlı tomografi (KIBT) ile ölçülerek hesaplama yapılmıştır (Hançerlioğulları ve ark., 2021). Ancak, salınımın doğrudan dentin yüzeyinden gerçekleşmesi nedeniyle, yüzey alanının esas alınarak hesaplama yapılmasının daha uygun olacağı

düşünülmektedir. Bu nedenle, her örneğin iç dentin yüzey alanı (mm^2) mikro-BT analizinden elde edilmiştir ve ELISA sonuçlarının alan başına normalizasyonunda kullanılmıştır.

ELISA ile ölçülen büyüme faktörü konsantrasyonları (ng/mL), toplanan örnek hacmi ile çarpılarak toplam salınan büyüme faktörü miktarı (ng) hesaplanmıştır. Ardından elde edilen yüzey alanı değerlerine (mm^2) bölünerek bir birim yüzey alanından salınan büyüme faktörü miktarları ng/mm^2 cinsinden belirlenmiştir.

3.8 İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada verilerin tanımlayıcı istatistikleri (ortalama, standart sapma, medyan, %25 ve %75 çeyreklikler) verilmiştir. Normal dağılım varsayımı Shapiro Wilk testi ile kontrol edilmiştir. Normallik varsayımının karşılanmadığı durumlarda bağımlı iki grubun karşılaştırılmasında Wilcoxon İşaret Sıra testi uygulanmıştır. Normal dağılıma sahip olmayan bağımsız üç ve daha fazla grubun karşılaştırılması için Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Farkı yaratan grup ya da grupların ortaya çıkartılması için Post Hoc Düzeltilmiş Bonferroni testleri yapılmıştır. Normal dağılıma uygun olmayan sürekli ölçümler arası ilişkileri incelenmesinde Spearman korelasyonları yapılmıştır. Analizler IBM SPSS 27 programında gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel alfa anlamlılık seviyesi $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

İç dentin yüzeyi de dahil olmak üzere tüm yüzeyleri tırnak cilası ile kaplanan, ELISA'da negatif kontrol grubu olarak kullanılan örneklerde; büyüme faktörlerinde 1. ve 7. günlerde herhangi bir salınım meydana gelmemiştir.

Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarına göre IGF-1 ve TGF- β 1 ölçümlerinin dağılımları Tablo 4.1.'de ve Tablo 4.2'de verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testleri; zamana göre değişimlerin incelenmesinde Wilcoxon İşaret Sıra testleri kullanılmıştır.

Standart irrigasyon protokolü uygulanan A grubunda 24. saat ve 7. gün ölçümlerinin zamana bağlı değişimi incelendiğinde TGF- β 1 miktarının 7. günde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği görülmüştür ($p<0,05$).

EDTA ve ardından ozonlu su ve ozon gazı uygulanan B grubunda 24. saat ve 7. gün ölçümlerinin zamana bağlı değişimi incelendiğinde TGF- β 1 miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir ($p>0,05$).

Ozonlu EDTA ve ozon gazı uygulanan C grubunda 24. saat ve 7. gün ölçümlerinin zamana bağlı değişimi incelendiğinde TGF- β 1 miktarının 7. günde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği görülmüştür ($p<0,05$).

24. saat ve 7.gün IGF-1 salınım düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak incelendiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($p>0,05$).

Tablo 4.1. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarına göre IGF-1 ölçümlerinin dağılımları ve karşılaştırılması

IGF-1	24. Saat(ng/mm ²)		7. Gün(ng/mm ²)		Zamanlar Arası		Etki Büyüklüğü
	Ort.±S.S.	M.(%25-%75Ç.)	Ort.±S.S.	M.(%25-%75Ç.)	Test istatistiği	p	
A	0,06±0,04	0,06(0,04-0,07)	0,08±0,03	0,07(0,05-0,10)	-0,982	0,326	-
B	0,08±0,07	0,06(0,05-0,09)	0,07±0,04	0,06(0,04-0,08)	-0,414	0,679	-
C	0,09±0,11	0,06(0,04-0,09)	0,07±0,02	0,07(0,05-0,08)	-0,529	0,796	-
Test istatistiği	0,840	0,657	1,263	0,532			
Toplam	0,08±0,08	0,06(0,04-0,09)	0,07±0,03	0,06(0,05-0,09)	-0,585	0,559	-

Tablo 4.2. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarına göre TGF- β 1 ölçümlerinin dağılımları ve karşılaştırılması

TGF- β 1	24. Saat(ng/mm ²)		7. Gün(ng/mm ²)		Zamanlar arası		
	Ort. $\pm$ S.S.	M.(%25- %75Ç.)	Ort. $\pm$ S.S.	M.(%25- %75Ç.)	Test İstatistiği	p	Etki Büyüklüğü
A	0,02 $\pm$ 0,02	0(0-0,05)	0,06 $\pm$ 0,04	0,05(0,03- 0,10)	-2,275	0,023*	0,680
B	0,04 $\pm$ 0,06	0(0-0,07)	0,03 $\pm$ 0,03	0,02(0,01- 0,06)	-0,207	0,836	-
C	0,03 $\pm$ 0,04	0,01(0- 0,05)	0,09 $\pm$ 0,07	0,07(0,05- 0,12)	-2,947	0,003*	0,879
Test İstatistiği/p	0,305	0,859	7,608	0,022*			
Etki Büyüklüğü	-		0,171				
Toplam	0,03 $\pm$ 0,05	0(0-0,05)	0,06 $\pm$ 0,05	0,05(0,02- 0,08)	-3,244	0,001*	0,472

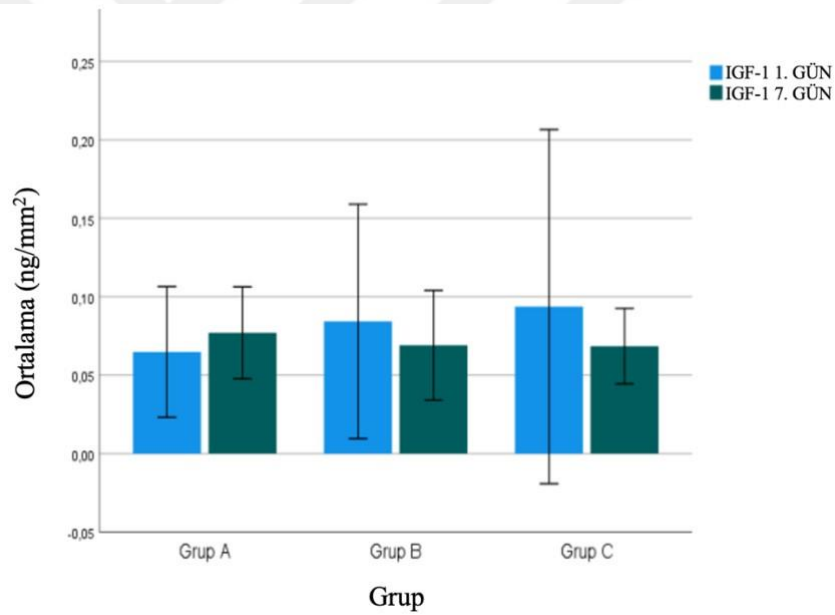
p<0,05*

Çalışma grupları için yapılan analizler sonucunda çalışma gruplarına göre 7.gün TGF- β 1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (p<0,05). Bonferroni testlerine göre Grup B ile Grup C arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir (p=0,018). Ozonlu EDTA ve ozon gazı uygulanan C grubunda; EDTA, ozonlu su ve ozon gazı uygulanan B grubuna kıyasla 7. Günde salınan TGF- β 1 miktarı anlamlı olarak daha yüksektir (p=0,018). Çalışma gruplarına göre 1.gün ve 7.gün IGF-1 ve 1.gün TGF- β 1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar elde edilmemiştir (p>0,05).

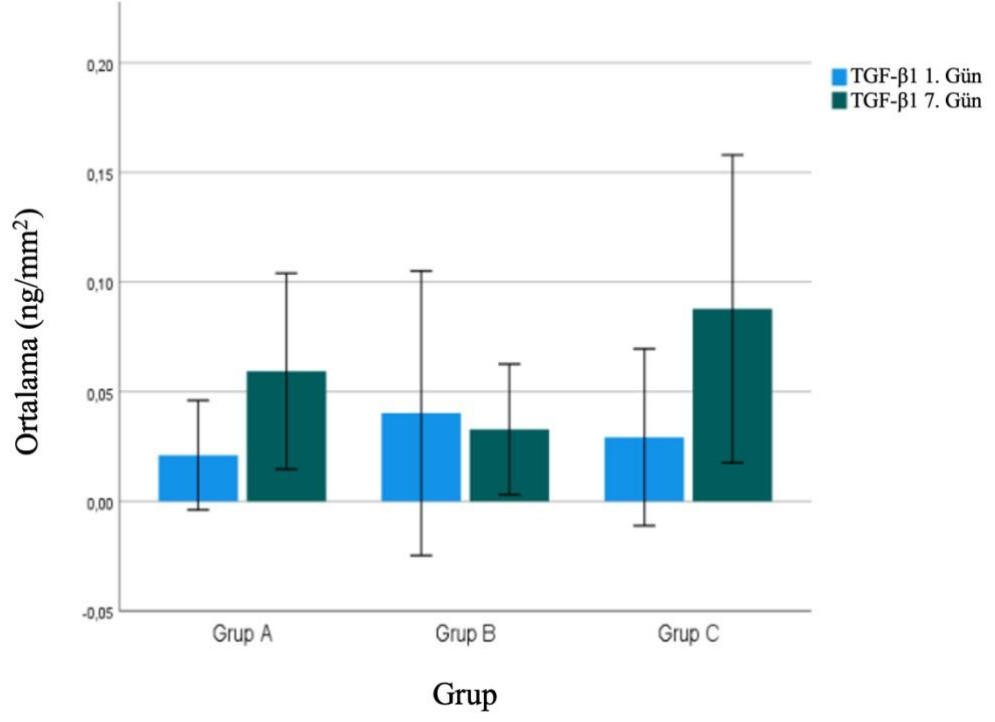
IGF-1 düzeyleri, 1. gün ölçümlerinde Grup A'da 0,06 $\pm$ 0,04, Grup B'de 0,08 $\pm$ 0,07 ve Grup C'de 0,09 $\pm$ 0,11 olarak belirlenmiştir. Ortalama değerler arasında sayısal farklılıklar olmasına rağmen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,657). Yedinci gün ölçümlerinde ise Grup A için 0,08 $\pm$ 0,03, Grup B için 0,07 $\pm$ 0,04 ve Grup C için 0,07 $\pm$ 0,02 değerleri elde edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık Kruskal–Wallis testi ile değerlendirildiğinde anlamlı bulunmamıştır (p=0,532). Buna göre uygulanan irrigasyon protokollerinin IGF-1

salınımı üzerinde hem 1. gün hem de 7. günde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

TGF- β 1 düzeyleri incelendiğinde, 1. gün ölçümlerinde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Zaman içi değerlendirmelerde Grup A'da ($p=0,023$) ve Grup C'de ($p=0,003$) 7. gün ölçümlerinin 1. güne kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Grup B'de ise zamanlar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). Gruplar arası karşılaştırmalarda 7. gün değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuş ($p=0,022$) ve Post Hoc analizinde Grup C'nin TGF- β 1 düzeylerinin Grup B'den anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p=0,018$). Bu sonuçlar, özellikle ozonlanmış EDTA kullanılan Grup C'de TGF- β 1 salınımının belirgin şekilde arttığını ortaya koymaktadır.



Şekil 4.1. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarına göre IGF-1 ölçümlerinin dağılımı



Şekil 4.2. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarına göre TGF-β1 ölçümlerinin dağılımı

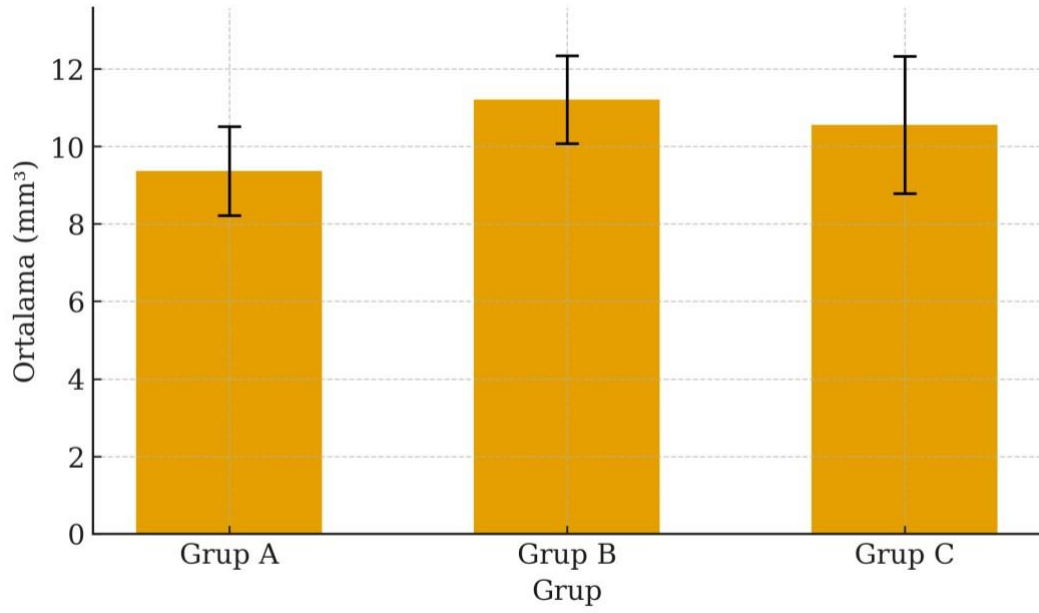
Tablo 4.3. Çalışma gruplarına göre hacim ve yüzey alanı dağılımları ve karşılaştırılması

Gruplar	Hacim(mm ³)		Yüzey Alanı(mm ²)	
	Ort.±S.S.	M.(%25–%75Ç.)	Ort.±S.S.	M.(%25–%75Ç.)
A	9,36±1,15	9,37(8,54-10,19)	41,97±5,55	42,08(37,75-45,52)
B	11,21±1,13	10,99(10,57-12,13)	52,62±9,35	52,58(46,99-54,56)
C	10,56±1,77	10,13(9,93-10,80)	50,91±14,71	46,81(43,44-53,52)
Test İstatistiği (K–W H) / p / ε ²	14,650 / <0,001* / 0,28		14,036 / <0,001* / 0,27	

*p<0,05

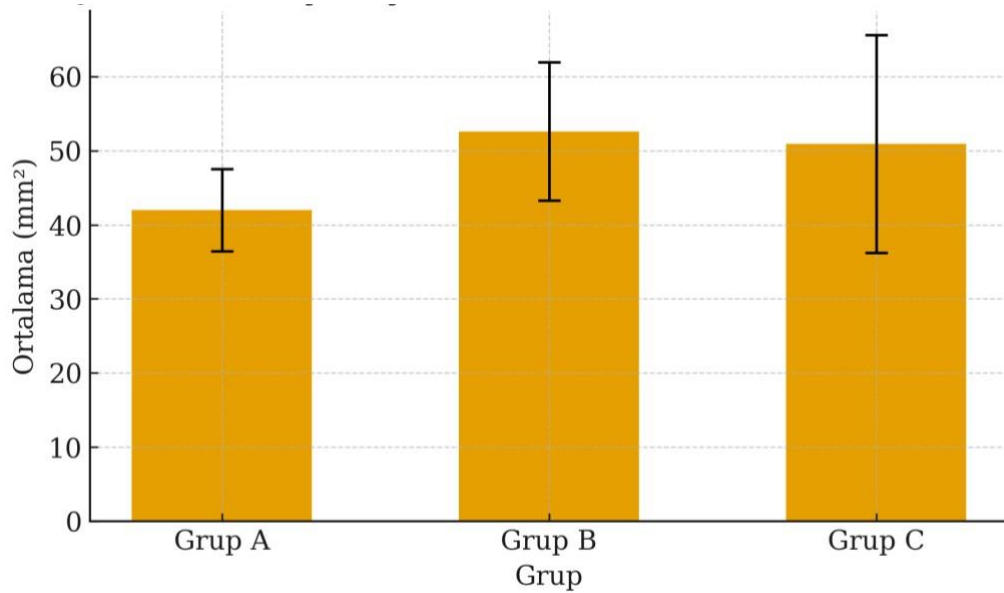
Çalışma gruplarının mikro-BT ile ölçülen iç kök dentin hacmi (mm³) ve iç yüzey alanı (mm²) değerleri Tablo 4.7’de özetlenmiştir. Karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testleri yapılmıştır. Analizler sonucunda çalışma gruplarına göre hacim ve yüzey alanı ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur (p<0,05).

Çalışma gruplarına göre hacim dağılım grafiği Şekil 4.3.’de gösterilmiştir. Hacim için yapılan Bonferroni testlerine göre grup A ile grup B arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0,001). B grubunun hacmi, A grubunun hacminden anlamlı olarak daha yüksektir.



Şekil 4.3. Çalışma Gruplarına Göre Hacim Dağılımları

Çalışma gruplarına göre yüzey alanı dağılım grafiği Şekil 4.4.'de verilmiştir. Yüzey alanı için yapılan Bonferroni testlerine göre Grup A ile grup B arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0,001$). B grubunun yüzey alanı, A grubunun yüzey alanından anlamlı olarak daha yüksektir.



Şekil 4.4. Çalışma Gruplarına Göre Yüzey Alanı Dağılımları

5. TARTIŞMA

Kök gelişimi, mine ve dentin dokularının mine-sement sınırına ulaşmasıyla başlamaktadır (Bhaskar & Orban, 1986; Goldberg, 2022). Dişin sürmesi ve oklüzyona katılmasından sonra da kök ucundaki gelişim devam eder ve daimi dişler apikal oluşumlarını tamamlayıncaya kadar yaklaşık 2-3 yıl boyunca açık apeksli durumda kalabilirler (D'Arcangelo & D'Amario, 2007; Nagaveni vd., 2010; Rafter, 2005). Diş gelişiminin normal seyri, pulpanın canlılığını koruduğu sürece devam eder. Ancak pulpanın enfeksiyon ya da travma nedeniyle erken kaybı, kök gelişiminin durmasına ve açık apeksli, ince dentin duvarlı dişlerin ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Banerjee & Watson, 2011; Chueh vd., 2009; Nagaveni vd., 2010). Bu klinik tablo, endodontik tedavi açısından önemli bir zorluk oluşturmaktadır çünkü kök kanallarının yeterli mekanik dirençten yoksun olması, konvansiyonel tedavi prosedürlerini hem teknik açıdan zorlaştırmakta hem de uzun dönem prognozu olumsuz etkilemektedir.

Bu tür olgularda tarihsel olarak apeksifikasyon ve apeksogenezis yöntemleri uygulanmıştır. Apeksifikasyon, genellikle kalsiyum hidroksit veya MTA gibi materyallerle apikal bariyer oluşturulmasına dayalıdır; ancak bu yöntem kök duvarlarının inceliğini ve kırılma riskini ortadan kaldırmaz (Gill vd., 2024; T.-J. Huang, 2009; Patel, 2016). Apeksogenezis ise pulpanın vitalitesini koruyarak kök gelişiminin doğal seyrine devam etmesini amaçlar, ancak pulpanın vital kalması her zaman mümkün olmadığından her olguda uygulanabilir değildir (Gill vd., 2024; J. Y. Nagata vd., 2014; Patel, 2016). Bu nedenle son yıllarda RET kavramı ön plana çıkmıştır.

RET, immatür dişlerde kök gelişiminin devamına olanak sağlayarak geleneksel apeksifikasyon yöntemlerine alternatif oluşturan modern bir yaklaşımdır. Bu yöntem, yalnızca periapikal iyileşmeyi sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda canlı pulpa benzeri bir dokunun oluşumunu ve dentin-kök yapısının güçlenmesini hedeflemektedir (Kai Ong vd., 2020; Youssef vd., 2022). Hücrelerin, büyüme faktörlerinin ve uygun bir iskele yapısının etkileşimi üzerine kurulu olan rejeneratif tedavi konsepti, doku mühendisliği prensiplerini klinik endodontiye entegre etmiştir (Sugiaman vd., 2022; Xie vd., 2021). Bu açıdan rejeneratif endodonti, yeniden fonksiyonel biyolojik bir yapı kazandırmayı amaçlaması nedeniyle geleceğin tedavi yaklaşımı olarak görülmektedir. Son yıllarda yapılan

alışmalar, rejeneratif prosedürlerin kök uzunluğunun artışı, duvar kalınlığının gelişmesi ve apikal kapanma gibi olumlu sonuçlar doğurabileceğini ortaya koymuştur (dos Reis-Prado vd., 2022; X. Wei vd., 2022). Dolayısıyla, bu tedavi seçeneğı özellikle genç ve immatür dişlerde prognozu iyileştiren, klinik başarıyı artıran ve biyolojik iyileşmeyi hedefleyen yenilikçi bir yöntem olarak dikkat çekmektedir.

RET'nin başarısında büyüme faktörleri merkezi bir role sahiptir (S. G. Kim vd., 2012). Dentin matriksi, diş gelişimi sırasında depo edilen çok sayıda biyoaktif molekül için doğal bir rezervuar görevi görmektedir (Zeng vd., 2016). TGF-β1, odontoblastların farklılaşma sürecinde temel bir düzenleyici olup, bu hücrelerde non-kolajenöz matriks proteinlerinden dentin sialofosfoprotein (DSPP) ve dentin matriks proteini-1 (DMP-1) salınımını uyarmaktadır (Fernandes vd., 2025; Unterbrink vd., 2002; Zeng vd., 2016). Bu mekanizma, dentinogenez sürecinde dentin matriksinin olgunlaşması ve mineralizasyonu açısından kritik öneme sahiptir.

IGF-1, alkalen fosfataz aktivitesini artırarak hücre farklılaşması ve mineralize doku oluşumunda etkili bir rol üstlenmektedir (Wang vd., 2012; Yan vd., 2017). Dolayısıyla, her iki büyüme faktörü de dentin-pulpa kompleksinin yeniden yapılanmasında ve fonksiyonel doku rejenerasyonunda kilit biyomoleküller olarak değerlendirilmektedir. Bu bağlamda çalışmamızda, TGF-β1 ve IGF-1'in ozon uygulanmadan ve ozon uygulanarak 24. saat ve 7. günde salınım düzeyleri ölçülmüş; iki zaman noktasındaki değerler karşılaştırılmıştır.

Bu biyolojik arka plan göz önüne alındığında, RET protokollerinde dentin kaynaklı büyüme faktörlerinin serbestleştirilmesi klinik başarı için kritik bir aşamadır. Bu nedenle, kullanılan irrigasyon ajanlarının yalnızca antimikrobiyal etkinlikleri değil, aynı zamanda dentin matriksinde depo edilen büyüme faktörleri üzerindeki etkileri de dikkate alınmalıdır.

Enflamasyon sonucu ortaya çıkan asidik mikroçevrenin dentin matriksinde depolanan biyoaktif moleküllerin serbestleşmesini artırdığı bildirilmektedir (A. J. Smith vd., 2016). Benzer şekilde, klinikte sık başvuru alan irrigasyon ajanları, dezenfektan ve medikamentler, dentinden büyüme faktörü serbestleşmesi üzerinde belirleyici olabilir (Galler vd., 2015; A. J. Smith vd., 2016; Zhao vd., 2000).

Rejeneratif endodontik araştırmalarda, dentin dezenfeksiyonu amacıyla genellikle %1,5, %2,5 ve %5,25 oranlarında NaOCl ile %0,12 ve %2

konsantrasyonlarında CHX kullanıldığı bildirilmiştir (Atesci vd., 2020; Ferreira vd., 2020; Galler vd., 2015; Zeng vd., 2016). NaOCl'nin organik dokuları çözme özelliği, dentin kolajeninde dejenerasyona yol açmakta ve dentine adezyon kuvvetini olumsuz yönde etkilemektedir (Frankenberger vd., 2000). Ayrıca yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında periapikal dokular ve kök hücreler üzerinde toksik etkiler oluşturabileceği de bilinmektedir (Essner vd., 2011). Yapılan bir çalışmada, %6 NaOCl'nin kök hücrelerin canlılığını azalttığı, ancak bu etkinin %1,5 NaOCl uygulamasının ardından %17 EDTA kullanımı ile önlenebildiği rapor edilmiştir (D. E. Martin vd., 2014).

%0,12 ve %2 CHX ile yürütülen çalışmalarda, artan derişim ve maruziyet süresinin kök hücreler üzerinde doza-bağımlı sitotoksik etki oluşturduğu ve dentine adezyonu azalttığı bildirilmiştir (Ring vd., 2008; Trevino vd., 2011). Buna karşılık, EDTA gibi şelatörlerin dentin matriksindeki biyoaktif moleküllerin serbest kalmasını kolaylaştırdığı; bu moleküllerin de kök hücre farklılaşmasını uyararak dentin duvarlarına migrasyon ve adezyonu desteklediği belirtilmektedir (Galler, 2016).

Bizim çalışmamızda ise, klinik uygulamaya benzetilebilmesi amacıyla AAE'nin önerileri doğrultusunda, kök segmentlerine 20 mL %1,5 NaOCl beş dakika süreyle uygulanmış, ardından NaOCl'nin uzaklaştırılabilmesi için 20 mL salin solüsyonu ile irrigasyon yapılmıştır (AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure, 2021).

Organik asitler veya şelasyon ajanları, smear tabakasının uzaklaştırılması ve dentin yüzeyinde demineralizasyon sağlamak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Verdelis vd., 1999). Şelasyon ajanlarının rejeneratif endodontide dentin matriksinden büyüme faktörlerinin salınımına etkisini araştıran çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda irrigasyon solüsyonu olarak %10 ve %17 EDTA, %10 sitrik asit, %9 hidroksi-etiliden bifosfonat, %1 fitik asit, %37 fosforik asit, distile su, serum fizyolojik ve PBS kullanılmıştır (Atesci vd., 2020; Chae vd., 2018; Deniz Sungur vd., 2019; Ferreira vd., 2020; Widbiller vd., 2017).

EDTA, endodontide %3, %5, %10, %15 ve %17 gibi farklı konsantrasyonlarda uygulanmakla birlikte en yaygın kullanılan formu %17'lik konsantrasyondur (Bosaid vd., 2020; Galler vd., 2016; Kabil vd., 2021; Ordinola Zapata vd., 2012; Tartari vd., 2018). Rejeneratif endodontiyle ilgili çalışmalarda da çoğunlukla %10 ve %17 konsantrasyonlarda EDTA tercih edilmiştir (Atesci vd.,

2020; Deniz Sungur vd., 2019; Galler vd., 2015; Hancerliogullari vd., 2021; Kucukkaya Eren vd., 2021). Özellikle %17 EDTA uygulamasının dentin yüzeyinde hücre adezyonunu ve proliferasyonunu artırdığı ve dental papilla hücrelerinde anlamlı bir artışa yol açtığı gösterilmiştir (Hashimoto vd., 2018; Kucukkaya Eren vd., 2021). Ayrıca, %17 EDTA irrigasyonunun ardından kök kanallarına kan pıhtısı uygulanmasının TGF- β mRNA ve IGF mRNA ekspresyonunu belirgin şekilde yükselttiği bildirilmiştir (Bracks vd., 2019).

AAE rejeneratif endodontik prosedürlerde standart yaklaşım olarak %17 EDTA'nın 5 dakika süreyle kullanılmasını tavsiye etmektedir (AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure, 2021). Tüm bu nedenlerle, bu çalışmada endodontide altın standart olarak kabul edilen %17 EDTA solüsyonu tercih edilmiştir. Sonuç olarak, literatür ışığında EDTA'nın büyüme faktörlerini serbestleştirmedeki etkinliği, NaOCl ve CHX'in olası sitotoksik etkileri ve TGF β 1/IGF-1'in rejenerasyondaki merkezi rolleri dikkate alınarak, çalışmamızda irrigasyon protokolü AAE'nin önerileri doğrultusunda tasarlanmıştır. Bu sayede elde edilen bulguların klinik gerçekliğe daha yakın ve literatürle uyumlu olması amaçlanmıştır.

Mevcut çalışmalar çoğunlukla ozonun antimikrobiyal etkinliği, smear tabakasının uzaklaştırılması, dentin tübüllerinin açılması, postoperatif ağrının azaltılması ve kanal içi medikament olarak kullanımı, NaOCl ile kombinasyonu ve sitotoksitesisi üzerine odaklanmıştır (Erdoğan & Erdemir, 2019; Estrela vd., 2007; Küçük vd., 2021; Merçon vd., 2023a; Pasalkar vd., 2024; Sinha vd., 2021; C. Wei vd., 2017). Literatürde ozonun EDTA ile kombinasyonunu inceleyen ya da dentin matriksinden büyüme faktörü salınımına etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bağlamda, çalışmamızın dentin kaynaklı TGF- β 1 ve IGF-1 salınımına odaklanması, ozonun rejeneratif endodontideki biyostimülatör potansiyelini değerlendiren ilk yaklaşımlardan biri olması açısından önem taşımaktadır.

Tıp ve oral doku mühendisliği alanındaki çalışmalarda ozonun yara iyileşmesi ve rejeneratif süreçlerde büyüme faktörlerini modüle edebileceği gösterilmiştir. Topikal ozon uygulamalarının diyabetik ülserlerde VEGF, TGF- β ve PDGF düzeylerini erken dönemde artırdığı; ozonlanmış yağın fibroblast migrasyonunu ve iyileşme sinyallerini aktive ettiği bildirilmiştir (Xiao vd., 2017; J. Zhang vd., 2014a). Oral yumuşak dokularda da ozonun VEGF ekspresyonunu

artırdığı rapor edilmiştir (Eroglu vd., 2018). Ayrıca ozonla muamele edilen dental pulpa kök hücrelerinin sekresyon ürünlerinin anjiyogenezi belirgin şekilde artırdığı gösterilmiştir (Pasalkar vd., 2024). Bu bulgular, ozonun yalnızca antimikrobiyal değil aynı zamanda biyolojik yanıtları modüle eden bir ajan olabileceğini desteklemektedir.

Literatürde ozon terapisi ile ilgili birçok çalışmada konsantrasyon, uygulama süresi ve akış hızına ilişkin verilerin eksik olduğu ya da üretici beyanlarına dayalı olarak raporlandığı belirtilmiştir (Sabbah vd., 2018). Bu çalışmada ise hem ozonlu su hem de ozonlanmış EDTA uygulamalarında kullanılan konsantrasyon, uygulama süresi ve hazırlama parametreleri açıkça belirtilmiştir. Literatürdeki standartlaşma eksikliği göz önünde bulundurularak, çalışmamızda biyolojik etkinin değerlendirilebilmesi amacıyla maksimum etki potansiyeline sahip, ancak güvenli kabul edilen parametreler tercih edilmiştir. Bu yaklaşım, ozonun dentin matriksinden büyüme faktörü salınımını uyarıp uyarmadığını ortaya koymayı hedeflemiştir. Kullanılan doz ve uygulama biçiminin açıkça tanımlanmış olması, metodolojik açıdan çalışmaya güç kazandırmış ve cihazlar arası farklılıklardan kaynaklanabilecek değişkenliklerin azaltılmasına katkı sağlamıştır. Bununla birlikte, ilerleyen çalışmalarda daha düşük konsantrasyonlar, farklı uygulama süreleri ve alternatif akış hızları kullanılarak doz-cevap ilişkisinin ayrıntılı olarak değerlendirilmesi mümkündür.

Dentin matriksinden büyüme faktörlerinin salınımı, yalnızca kullanılan irrigasyon solüsyonuna değil, aynı zamanda irrigasyonun aktivasyon yöntemine de bağlıdır. PUA, irrigasyon solüsyonlarının dentin tübüllerine penetrasyonunu arttırması, smear tabakasını uzaklaştırması ve dentin yüzeyiyle temasını artırması sayesinde biyolojik ajanların etkinliğini artırabilmektedir.

Büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin değerlendirildiği çalışmalarda; PUA ile büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (Hancerliogullari vd., 2021; Widbiller vd., 2017).

Merçon ve ark.'nın yaptığı çalışmada da PUA ile birlikte ozonlu suyun antimikrobiyal etkisinin arttığı bildirilmiştir (Merçon vd., 2023).

Çalışmamızda da irrigasyon protokollerinde PUA kullanılmıştır. Bu durum, solüsyonların dentin yüzeyiyle temasını artırarak hem EDTA'nın şelasyon etkisini hem de ozonun olası biyostimülan etkilerini güçlendirmiş olabilir

Şelasyon ajanlarının dentinden büyüme faktörlerinin salınımına etkisini inceleyen çalışmalarda farklı dişler kullanılmıştır: üçüncü molarlar, mandibular premolarlar ve tek köklü dişler (Atesci vd., 2020; Chae vd., 2018; Ferreira vd., 2020; Hancerliogullari vd., 2021; Kucukkaya Eren vd., 2021; Taweewattanapaisan vd., 2019; Zeng vd., 2016). Üçüncü molarlar çoğunlukla dentin diski hazırlamak için tercih edilirken, kök segmenti temelli deneyler için tek köklü dişler kullanılmıştır. Kök segmentleri üzerinden büyüme faktörlerinin araştırıldığı çalışmaların klinik uygulamayı daha yakından yansıttığı dikkate alınarak, bu çalışmada mandibular premolar dişler tercih edilmiştir.

Literatürde dentin; standart çaplı koronal dentin diskleri, salınım potansiyelini maksimize eden dentin tozu, 10 mm konik kök segmentleri veya 8 mm silindirik kök segmentleri şeklinde kullanılmıştır (Chae vd., 2018; Deniz Sungur vd., 2019; Finkelman vd., 1990; Galler vd., 2015; Hancerliogullari vd., 2021; Roberts-Clark & Smith, 2000; Widbiller vd., 2017; Zeng vd., 2016). Klinik pratikte büyüme faktörlerinin salınımı esasen kök dentinin iç yüzeyinden gerçekleştiğinden dentin tozu ve dentin diskleri endodontinin klinik koşullarını sınırlı ölçüde yansıtır. Buna karşılık konik ve standart silindirik kök segmentleri klinik gerçekliğe daha yakındır. Konik segmentlerle yürütülen çalışmalarda örneklerin genellikle 12 mm hazırlandığı bildirilmiştir (Hancerliogullari vd., 2021; Khan vd., 2021; Zeng vd., 2016). Öte yandan, rejeneratif endodontiye uygun olguların çoğunlukla kök uzunluğunun 1/2, 2/3'ünün olduğu gelişim döneminde yer aldığı belirtilmiştir (S. G. Kim vd., 2018). Gelişmekte olan kök boyunu taklit edebilmek ve klinik uyumu artırmak amacıyla bu çalışmada 10 mm uzunluğunda konik kök segmentleri kullanılmıştır. Rejeneratif endodontiye ilişkin in vitro çalışmalarda kanal preparasyonu için el eğeleri, Gates-Glidden frezler ve döner sistemler rapor edilmiştir (Chae vd., 2018; Hancerliogullari vd., 2021; Widbiller vd., 2017; Zeng vd., 2016). Kök gelişimi durmuş açık apeksli dişlerde kanal morfolojisi, klasik daralan koniden farklı olarak apikalde daha geniş ve görece paralel bir form sergilediğinden, bu çalışmada klinik senaryoya daha iyi uyum sağlamak üzere paralel duvarlar oluşturacak şekilde gates-glidden frezler tercih edilmiştir.

Rejeneratif endodontik uygulamalarda osteoblastlar, sementoblastlar, periodontal ligament hücreleri ve endotel hücreleri apikal foramenden kanal boşluğuna göç ederek sırasıyla kemik, sement, periodontal ligament ve vasküler yapıların gelişimine katkı sağlayabilir (S. G. Kim vd., 2018). Klinik verilere göre,

apikal çapın 1 mm'den kk olduğu olgularda dahi rejeneratif prosedürlerle bağarı elde edilebildiği bildirilmiğtir (Andreasen vd., 1990). Bununla birlikte, bir transplantasyon alığması, apikal foramen çapı 1 mm'nin altında olduğunda pulpal dokuların revasklarizasyonunun ngrlemez olabileceğini ortaya koymuğtur (Andreasen vd., 1990). Ayrıca, preoperatif apikal çapı >1 mm olan immatür daimi diğlerde daha belirgin kök geliğimi gözlendiğini bildiren klinik veriler mevcuttur (Estefan vd., 2016). Bu bulgular, apikal açıklığın rejeneratif tedavi bağarısında kritik bir morfolojik parametre olduğunu dğndrmektedir.

İn vitro ortamda büyüme faktörlerinin incelendiği kök segmenti alığmalarında apikal açıklık farklı araç ve protokollerle standardize edilmiğtir: el eğeleriyle ~1 mm, gates-glidden frezleriyle ~1,3 mm veya döner aletlerle ~0,5 mm (Chae vd., 2018; Hancerliogullari vd., 2021; Khan vd., 2021; Widbiller vd., 2017; Zeng vd., 2016). Klinik gerçekliğe daha yakın bir model oluğturmak ve hücresel geiğe elveriğli bir açıklık sağlamak amacıyla bu alığmada apikal açıklık gates-glidden #1–4 frezleri kullanılarak 1,1 mm çapına geniğletilmiğtir.

Preparasyon sırasında her frez kullanımının ardından distile su ile irrigasyon yapılarak debris uzaklağtırılmığtır. Bu yöntem, literatürde bildirilen değerlerin ortalamasına denk gelen, kliniğe benzer bir apikal açıklık oluğturmanın yanı sıra, büyüme faktörü salınım ölçümlerinin standart ve karėılaėtırılabilir ŗekilde yapılmasına imkan tanımığtır. Böylece hem hücresel geiğ için uygun bir açıklık sağlanmış hem de ölçümlerin güvenilirliği artırılmığtır. Dolayısıyla kullanılan kök segmenti uzunluğu ve apikal açıklık standardizasyonu, alığmamızda gözlenen büyüme faktörü salınımlarının hem literatürle karėılaėtırılabilir olmasını hem de klinik koğulları yansıtmasını sağlamaktadır.

ėelasyon ajanlarının kök dentininden büyüme faktörü salınımına etkisini inceleyen bazı alığmalarda dentin tozu ve dentin diskleri kullanılmığtır (Deniz Sungur vd., 2019; Finkelman vd., 1990; Galler vd., 2015; Roberts-Clark & Smith, 2000; Widbiller vd., 2017). Ancak bu yaklağımlar, dentinin tüm yüzeylerinden salınımına izin verdiği için klinik prosedürü tam olarak yansıtmayabilir. Bu sınırlılığı azaltmak amacıyla, literatürde kök kanal dentini hariç diğin tüm yüzeylerinin tırnak cilasıyla kapatıldığı protokoller bildirilmiğtir (Chae vd., 2018; Hancerliogullari vd., 2021; Khan vd., 2021; Zeng vd., 2016). Bizim alığmamızda da benzer biçimde, yalnızca kanal i yüzeyinden salınımın değerlendirilmesini sağlamak için kök

segmentlerinin apikal ve koronal yüzeyler dâhil tüm sement yüzeyi tırnak cilası ile izole edilmiştir.

Literatürde irrigasyon solüsyonlarının uygulanmasının ardından dentin matrisinden büyüme faktörlerinin salınımını değerlendirebilmek amacıyla örneklerin farklı solüsyonlarda inkübe edildiği bildirilmektedir. Bu amaçla EDTA, sitrik asit, α -MEM (Minimum Essential Medium α), PBS ve distile su gibi çeşitli ortamlar kullanılmıştır (Chae vd., 2018b; Galler vd., 2015; Khan vd., 2021; Roberts-Clark & Smith, 2000). Büyüme faktörlerinin protein yapılarının bozulmadan korunabilmesi için ise nötr pH'a sahip solüsyonların tercih edilmesi önerilmektedir. Bu doğrultuda çalışmamızda, pH değeri yaklaşık 7,4 olan PBS tercih edilmiştir ("Common buffers, media, and stock solutions", 2001). Bu seçim, büyüme faktörlerinin yapısal bütünlüğünün korunmasına ve salınım miktarlarının daha güvenilir şekilde ölçülmesine katkı sağlamıştır. Bu nedenle çalışmamızda elde edilen TGF- β 1 ve IGF-1 düzeylerinin güvenilirliği artmıştır.

Dentinden salınan büyüme faktörlerinin düzeyleri literatürde farklı zaman dilimlerinde incelenmiştir. Şelasyon ajanlarında bekletildikten hemen sonra ya da irrigasyonu takiben 4. saat, 1, 3, 5, 7, 14 ve 28. günlerde ölçümler yapılmıştır (Deniz Sungur vd., 2019; Galler vd., 2015; Hancerliogullari vd., 2021; Zeng vd., 2016). Klinik açıdan değerlendirildiğinde, irrigasyon solüsyonları kanaldan uzaklaştırıldıktan sonra apikal kanamanın indüklenmesi beklendiğinden, büyüme faktörlerinin esas olarak irrigasyon "sırasında" değil, "sonrasında" salınan düzeylerinin doku rejenerasyonu için daha kritik olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda; dentinden kısa süreli salınımı gözlemleyebilmek amacıyla 1. gün örnekleri değerlendirilmiş, ayrıca rejenerasyon sırasında kök hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu ve adezyonu için büyüme faktörlerinin uzun süreli ve optimal düzeylerde salınımının önem taşıması nedeniyle 7. gün örnekleri de alınarak büyüme faktörü düzeyleri analiz edilmiştir. Nitekim bizim çalışmamızda 7. gün TGF- β 1 artışı, literatürde tanımlanan geç dönem salınım ihtiyacı ile uyumludur.

Bugüne kadar büyüme faktörlerinin tespiti amacıyla elektrokimyasal yöntemler, floresan tabanlı teknikler, kolorimetrik analizler ve yüzey plazmon rezonansı gibi çeşitli yöntemler kullanılmıştır (Chen vd., 2014; Fu vd., 2016; J. Li vd., 2017; D. Wu vd., 2016). Ancak bu yöntemlerden elektrokimya ve yüzey plazmon rezonansı genellikle karmaşık ve zaman alıcı ön hazırlık gerektirmektedir.

Floresan yönteminde özel ışık kaynaklarına ihtiyaç duyulmakta, ayrıca bu ışığın oluşturabileceği parazitler ölçümlerde dezavantaj oluşturmaktadır. Kolorimetrik yöntemler ise immünoassaylerde en yaygın kullanılan yöntemler arasında yer almaktadır. Nitekim, sağlıklı bireyler ile akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş olguların karşılaştırıldığı klinik bir araştırmada, çeşitli mediyatör düzeylerinin belirlenmesinde ELISA yönteminin kullanıldığı rapor edilmiştir (Dong vd., 2020). Bu çalışmada da, pratik uygulanabilirliği, basitliği ve doğrudan okuma kolaylığı gibi avantajları nedeniyle büyüme faktörlerinin ölçümünde geleneksel kolorimetrik yöntem olan ELISA tercih edilmiştir (Dong vd., 2020). ELISA'nın yaygın kullanımına paralel olarak, bizim çalışmamızda da bu yöntem tercih edilmiş ve elde edilen veriler literatürdeki diğer araştırmalarla doğrudan karşılaştırılabilir hale gelmiştir.

Literatürde, ELISA ölçümlerinde negatif kontrol oluşturmak amacıyla tüm yüzeyleri tırnak cılasıyla izole edilen diş örneklerinin kullanıldığı bildirilmiştir (Chae vd., 2018). Çalışmamızda da negatif kontrol grubu için 16 diş ayrılmış; iç dentin yüzeyi dâhil tüm yüzeyleri tırnak cılasıyla tamamen kapatılmış ve bu örneklerle herhangi bir işlem uygulanmamıştır. Bu düzenek, besiyerine büyüme faktörü geçişini engelleyerek arka plan sinyali/olası kontaminasyonu kontrol etmeyi ve ölçümlerin güvenilirliğini artırmayı amaçlamıştır. Çalışmamızda da bu yaklaşım sayesinde elde edilen ölçümlerin dentine özgü olduğunu doğrulamak mümkün olmuştur.

Literatürde, büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri hesaplanırken genellikle farklı hacimsel parametreler dikkate alınmıştır. Bazı çalışmalarda, ELISA analizi için toplanan solüsyon hacmi standart olarak en az 100 µl ($100 \mu\text{l} = 0,1 \text{ mL} = 100 \text{ mm}^3$) olacak şekilde kullanılmıştır (Deniz Sungur vd., 2019; Ferreira vd., 2020; Finkelman vd., 1990; Galler vd., 2015; Widbiller vd., 2017). Ancak başka bir çalışmada kök kanal boşluğunun gerçek hacminin bu değerden çok daha küçük olduğu ortaya konmuştur (Zeng vd., 2016). Kök pulpasının iç hacminin büyüme faktörü salınımını doğrudan etkilediği düşünülerek, bazı araştırmalarda kök segmentlerinin KIBT ile koronal çap, apikal çap ve uzunlukları belirlenmiş; ardından kesik koni formülü yardımıyla her kök kanal boşluğu ayrı ayrı hesaplanarak birim hacme düşen büyüme faktörü miktarları değerlendirilmiştir (Hancerliogullari vd., 2021; Zeng vd., 2016).

Çalışmamızda da benzer şekilde eşit boyda ve apikal çapta silindirik kök segmentleri hazırlanmış, ancak koronal çap farklılıklarının ölçümleri etkileme olasılığı göz önünde bulundurulmuştur. Bu nedenle hacimsel hesaplama yerine, kök kanal yüzeyinden gerçekleşen büyüme faktörü salınımını daha doğru yansıtabilmek için her bir kök segmentinin yüzey alanı mikro-BT kullanılarak hesaplanmıştır. Böylece birim yüzey alanından salınan büyüme faktörü miktarı belirlenmiştir. Bu yöntem sayesinde IGF-1 ve TGF- β 1 için gruplar arası farklılıklar, morfolojiye bağlı yanlılıktan arındırılmış biçimde, gerçek salınım yoğunluğu temelinde analiz edilmiştir.

Literatürde, %17 EDTA ile irrigasyon yapılarak dentinden salınan büyüme faktörlerinin 7. günde 24. saate kıyasla anlamlı derecede arttığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Erdogan vd., 2025; Hancerliogullari vd., 2021). Çalışmamızda Grup A'da (standart rejenerasyon prosedürü, ozon uygulanmadan) dentin kaynaklı büyüme faktörleri incelendiğinde, TGF- β 1 düzeyinde 24. saat ile 7. gün karşılaştırıldığında 7. Günde anlamlı düzeyde artış gözlenmiştir. Bu bulgu, literatürde bildirilen sonuçlarla uyumludur. Çalışmamızda TGF- β 1 seviyesinde gözlenen artış, söz konusu çalışmaları desteklemektedir nitelikte olup, standart rejenerasyon protokolünün dentin matriksinden büyüme faktörlerinin salınımı üzerinde biyolojik bir uyarıcı etki oluşturduğunu göstermektedir. Klinik açıdan değerlendirildiğinde, bu artış kök hücrelerin farklılaşması ve dentinogenez için daha elverişli bir mikroçevre oluşmasına katkıda bulunarak rejeneratif tedavilerin başarısını artırabilecek potansiyel bir mekanizmaya işaret etmektedir.

Grup A'da (standart rejenerasyon, ozonsuz) IGF-1 düzeyleri 7. günde 24. saate kıyasla sayısal olarak daha yüksek olmakla birlikte, fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Literatürde EDTA ile kombine pasif ultrasonik ve Er:YAG aktivasyonu altında IGF-1 düzeylerinin 7. günde 24. saate kıyasla anlamlı seviyede arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Hancerliogullari vd., 2021). Bizim çalışmamızda ise EDTA ile kombine pasif ultrasonik aktivasyon sonucunda IGF-1 düzeylerinde 24. saat ve 7. gün değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu farklılığın, Hançerlioğulları ve ark. tarafından yapılan çalışmada salınımların kanal hacmine normalize edilmesine karşın bizim çalışmamızda birim yüzey alanına normalize edilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Normalizasyon paydasındaki bu farklılığın, istatistiksel gücü ve görünen etki büyüklüğünü etkilemiş olabileceği düşünülmektedir (Hancerliogullari vd., 2021).

Ozonlanmış EDTA ve ozon gazı uygulanan C grubunda, TGF- β 1'in 7. gün salınımlarının 1. gün salınımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu artış ozon ve EDTA'nın sinerjistik etkisi ile uyumlu görünmektedir. TGF- β 'daki bu artış bir yandan EDTA'nın dentin matriksinden latent büyüme faktörlerini serbest bırakması, diğer yandan ise ozonun reaktif oksijen türleri oluşturarak latent TGF- β komplekslerini aktive etmesiyle açıklanabilir. Literatürde, EDTA'nın dentin matriksinden TGF- β 1 salınımını artırdığı ve ozonun da fibroblast aktivasyonu, kolajen sentezi ve TGF- β ekspresyonunu desteklediği rapor edilmiştir (Azarpazhooh & Limeback, 2008; Chae vd., 2018; Eroglu vd., 2018; Esra ERSÖZ, 2013; Hancerliogullari vd., 2021; S. He vd., 2020; J. Zhang vd., 2014). Dolayısıyla, çalışmamızda ozonlanmış EDTA grubunda gözlenen TGF- β artışı, literatürdeki bu biyolojik mekanizmalarla uyumludur.

Ozonun biyolojik etkileri büyük ölçüde reaktif oksijen türleri (ROS) aracılığıyla ortaya çıkmaktadır ve özellikle TGF- β 1'in latent formdan aktive edilmesinde ROS'un önemli bir rol aldığı çeşitli biyolojik sistemlerde gösterilmiştir. Latent TGF- β 1, latent ilişkili peptitlere bağlı inaktif formda bulunur ve aktivasyon için bu yapının oksidatif olarak bozulması gereklidir. Jobling ve ark., ROS'un latent ilişkili peptitler üzerindeki metiyonin-253 kalıntısını okside ederek latent TGF- β 1'in serbest kalmasını sağladığını göstermiştir (Jobling vd., 2006). Benzer şekilde Pociask ve ark., asbest kaynaklı ROS'un latent ilişkili peptitleri okside ederek TGF- β 1'i aktive ettiğini, bu etkinin antioksidanlarla ortadan kaldırılabildiğini ortaya koymuştur (Pociask vd., 2004). Krstić ve ark. ise ROS'un hem latent TGF- β 1 aktivasyonunu hem de TGF- β sinyal yollarını düzenlediğini vurgulamış, yüksek ROS maruziyetinin reseptör ekspresyonunu azaltarak negatif geri besleme yaratabileceğini bildirmiştir (Krstić vd., 2015).

Bu çalışmalar farklı dokularda gerçekleştirilmiş olmakla birlikte, latent TGF- β 1 komplekslerinin ROS aracılı aktivasyonu biyokimyasal düzeyde dokuya özgü olmayan bir mekanizma olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, çalışmamızda ozonlanmış EDTA uygulanan grupta TGF- β 1 düzeylerinde gözlenen artışın, ozon kaynaklı ROS'un dentin matriksindeki latent TGF- β 1'i aktive etmesine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

IGF-1 açısından değerlendirildiğinde, bu büyüme faktörünün çoğunlukla IGF-bağlayıcı proteinlere (IGFBP) bağlı formda bulunduğu ve ROS ile doğrudan

latent formdan aktive edildiğine dair bir mekanizma tanımlanmadığı bilinmektedir. Ayrıca bazı çalışmalarda ROS'un IGF-1 reseptör sinyal iletimini baskılayabildiği, oksidatif stresin IGF-1 biyoyararlanımı ve sinyalizasyonu üzerinde düzenleyici veya inhibe edici etkiler gösterebildiği bildirilmiştir (ör. Singh vd., 2014; Krstić vd., 2015). Bu nedenle çalışmamızda ozonlanmış EDTA ve ozon gazı uygulanan C grubunda, TGF- β 1 düzeylerinde artış gözlenirken IGF-1'de anlamlı bir değişiklik olmamış olması biyolojik olarak tutarlıdır ve ozonun faktör spesifik etkilerini destekleyen bir bulgu olarak değerlendirilebilir.

EDTA sonrası ozonlu su uygulanan B grubunda büyüme faktörü salınımında anlamlı bir artış olmamasının, esas olarak uygulama sırasındaki kimyasal etkileşimlerin yetersiz senkronizasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. EDTA dentin matriksini demineralize ederek büyüme faktörlerini içeren organik komponentleri açığa çıkarsa da, ardından uygulanan ozonlu suyun kısa yarı ömrü ve sınırlı oksidatif kapasitesi nedeniyle latent büyüme faktörlerinin aktivasyonu için gerekli biyokimyasal dönüşüm yeterli düzeyde gerçekleşmemiş olabilir. Ozonlanmış EDTA uygulamasında ise şelasyon ve oksidatif aktivasyonun aynı çözeltide eşzamanlı olarak meydana gelmesi, reaktif oksijen türlerinin dentin yüzeyiyle doğrudan etkileşimine imkân tanımış ve bu durum TGF- β 1 salınımındaki artışı açıklayan temel biyolojik mekanizmalardan biri olarak değerlendirilmiştir.

Buna ek olarak, EDTA sonrası ozonlu su uygulamasında ozonun dentin yüzeyiyle temas ettiği anda konsantrasyonunun azalmış olması veya EDTA artıklarının ozonu nötralize etmesi, büyüme faktörlerinin salınımını sınırlayan diğer bir etken olabilir. Oksidasyon ve şelasyonun ardışık şekilde uygulanması, dentin matriksindeki latent TGF- β komplekslerinin parçalanması için gereken sinerjistik etkinin oluşmasını engellemiş görünmektedir. Dolayısıyla, ozonlanmış EDTA'nın dentin kaynaklı büyüme faktörlerini aktive etme potansiyeli, EDTA sonrası ozonlu su uygulamasına kıyasla daha yüksek biyokimyasal etkinlik göstermiştir.

Çalışmada ozonlanmış EDTA hazırlanırken solüsyon renginde bir miktar sararma gözlemlenmiştir. Bu durum, ozonun güçlü oksidatif kapasitesi nedeniyle EDTA molekülünde tam bir yapısal dönüşüm olmasa da kısmi oksidatif modifikasyonların meydana gelmiş olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde ozonun organik yapıli moleküllerle reaksiyona girerek renk değişimine yol açabileceği ve çözeltinin oksidatif yükünü artırabileceği bildirilmektedir (Von Gunten, 2003). Bu tür kimyasal değişiklikler, EDTA'nın şelasyon kapasitesini, pH

dengeğini veya dentin matriksi ile etkileşim biçimini değiştirmiş olabilir. Bu bağlamda, ozonlanmış EDTA çözeltisinin yalnızca klasik şelasyon mekanizmasıyla değil, aynı zamanda oksidatif aktivasyon yoluyla da büyüme faktörü salınımını etkilediği düşünölebilir. Çalışmamızda ozonlanmış EDTA uygulanan grupta TGFβ1 salınımının anlamlı düzeyde artmış olması, bu kimyasal değişimin biyolojik yansımasına işaret ediyor olabilir. Bununla birlikte, bu gözlem ölçümsel bir analizle desteklenmediğinden, ozonlanmış EDTA'nın pH, oksidatif kapasite, viskozite veya moleküler stabilitesine yönelik ileri çalışmaların yapılması yararlı olacaktır.

Çalışmamızdan elde edilen bulgular, ozonun özellikle EDTA ile kombinasyonunda TGF-β1 salınımını artırarak rejeneratif süreçlerde onarıcı yanıtı destekleyebileceğini; buna karşın IGF-1 düzeyleri üzerinde benzer bir etki göstermediğini ortaya koymuştur. Bu durum, ozonun rejeneratif tedavi protokollerinde büyüme faktörü spesifik ve uygulama şekline duyarlı biyolojik yanıtlar oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Klinik açıdan değerlendirildiğinde, dentin matriksinden TGF-β1 salınımının artışı erken faz onarım ve doku iyileşmesi açısından avantaj sağlayabilir. Bu bağlamda ozon, yalnızca antimikrobiyal bir dezenfektan değil, aynı zamanda biyolojik modölatör özellik gösterebilen destekleyici bir ajan olarak da değerlendirilebilir. Bununla birlikte, IGF-1 düzeylerinde anlamlı bir artış kaydedilmemiş olması, proliferatif ve mineralizasyon süreçlerinde ozonun tek başına yeterli olmadığını düşündürmektedir. Bu nedenle ozonun erken dönem TGFβ aracılı iyileşmeyi destekleyici bir ajan olarak kullanılması; ancak IGF-1'i hedefleyen Ca(OH)₂ veya büyüme faktörü taşıyıcı materyaller gibi ek biyolojik ajanlarla kombine edilmesi daha rasyonel bir yaklaşım olarak değerlendirilebilir.

Bu çalışmanın bulguları, literatürde yaygın olan hacim temelli (KIBT ile belirlenen kanal hacmine göre) normalizasyon yaklaşımından metodolojik olarak ayrılmaktadır. Büyüme faktörlerinin dentin matriksinden salınımı, başlıca irrigant–dentin temas yüzeyi ve yüzeydeki şelasyon/çözünme süreçleri ile ilişkilidir. Bu nedenle, mikro-BT'nin daha yüksek uzaysal çözünürlüğünden yararlanılarak toplam yüzey alanının nicelenmesi ve salınımın birim yüzeye göre ifadesi, özellikle yüzeye bağımlı difüzyon ve salınım süreçlerini daha doğrudan yansıtır.

Dolayısıyla, hacim temelli ve yüzey temelli normalizasyonların aynı biyolojik olgunun farklı yönlerini yakalayabileceği; iki yaklaşım arasındaki yöntemsel farkın, çalışmadan çalışmaya bildirilen etki büyüklükleri ve istatistiksel

duyarlılık üzerinde belirleyici olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu bağlamda, yüzey-temelli raporlama, irrigasyon protokolündeki değişikliklerin dentinle etkileşim alanına yansıyan etkilerini daha ince bir çözünürlükte ortaya koymayı amaçlamaktadır.

Çalışmamızın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle, araştırma in vitro koşullarda gerçekleştirilmiş olup, elde edilen bulguların doğrudan klinik ortama yansıtılması sınırlıdır. Ayrıca yalnızca iki büyüme faktörü (IGF-1 ve TGFβ1) değerlendirilmiş, dentin matriksinden salınabilen diğer biyolojik mediyatörler bu çalışmaya dahil edilmemiştir. Ozon uygulamasında ise tek doz ve süre protokolü kullanılmış, farklı kombinasyonların etkisi araştırılmamıştır. Çalışmada yüzey alanına göre normalizasyon tercih edilmiş olup bu yaklaşım irrigant–dentin etkileşimini daha gerçekçi yansıtsa da, hacim-temelli çalışmalarla doğrudan karşılaştırmayı sınırlayabilmektedir. Ayrıca yalnızca çekilmiş mandibular premolar dişler kullanıldığından, farklı diş tipleri veya morfolojiler için sonuçların genellenebilirliği kısıtlıdır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu in vitro çalışmanın bulguları doğrultusunda;

EDTA'nın, tüm protokollerde dentin kaynaklı büyüme faktörlerinin salınımını başlatmada etkili bir şelasyon ajanı olduğu ve IGF-1 açısından zaman faktörünün belirgin bir değişime yol açmadığı,

EDTA'ya ozonun farklı şekillerde entegre edilmesinin (önceden ozonlama veya EDTA sonrası ozonlu su kullanımı) IGF-1 salınımı üzerinde anlamlı bir fark oluşturmadığı,

TGF- β 1 salınımında, yalnız EDTA kullanılan protokol ile ozonlanmış EDTA uygulanan protokolda 1. günden 7. güne anlamlı bir artış gözleendiği,

EDTA uygulamasını takiben ozonlu su kullanımının TGF- β 1 salınımında zamanla artış sağlamadığı ve bu yaklaşımın ozonlanmış EDTA'ya kıyasla daha düşük düzeylerle seyrettiği,

Ozonlanmış EDTA uygulamasının, EDTA'ya kıyasla istatistiksel üstünlük göstermemekle birlikte, EDTA sonrası ozonlu su uygulamasına göre daha yüksek TGF- β 1 salınımı ile sonuçlandığı belirlenmiştir.

Gelecek çalışmalarda, ozonun farklı konsantrasyon ve uygulama sürelerinin dentin kaynaklı büyüme faktörleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi gerekmektedir. Bununla birlikte yalnızca TGF- β 1 ve IGF-1 değil, diğer büyüme faktörleri de değerlendirilmelidir. Hücresel düzeyde gerçekleştirilecek in vitro çalışmalar, ozonun kök hücrelerin adezyon, proliferasyon ve farklılaşma gibi biyolojik davranışları üzerindeki etkisini ortaya koyacaktır. Ayrıca klinik araştırmalara geçilerek, ozonun hem dezenfeksiyon sağlayıcı hem de biyolojik modülatör özelliklerinin tedavi protokollerine entegrasyonu değerlendirilmeli; uzun dönemli takip çalışmaları ile RET'de güvenilirliği ve kalıcı etkileri desteklenmelidir.

7.KAYNAKLAR

- A, S. R., Reddy, N., Dinapadu, S., Reddy, M., & Pasari, S. (2013). Role of Ozone Therapy in Minimal Intervention Dentistry and Endodontics - A Review. *Journal of International Oral Health :JIOH*, 5(3), 102. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3769872/>
- AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure. (2021). <https://doi.org/10.2334/josnurd.57.213>
- Abd Elhamid, M. A., & Mosallam, R. (2010). Effect of bleaching versus repolishing on colour and surface topography of stained resin composite. *Australian dental journal*, 55(4), 390-398. <https://doi.org/10.1111/J.1834-7819.2010.01259.X>
- Abdelaziz, A. G., Nageh, H., Abdo, S. M., Abdalla, M. S., Amer, A. A., Abdal-hay, A., & Barhoum, A. (2023). A Review of 3D Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering: Principles, Fabrication Techniques, Immunomodulatory Roles, and Challenges. *Bioengineering*, 10(2), 204. <https://doi.org/10.3390/BIOENGINEERING10020204>
- Ahadian, S., & Khademhosseini, A. (2018). Smart scaffolds in tissue regeneration. *Regenerative biomaterials*, 5(3), 125-128. <https://doi.org/10.1093/RB/RBY007>
- Ahmad, A. N., Ichrom Nahzi, M. Y., & Purwaningayu, J. H. (2023). THE EFFECTIVENESS OF CHITOSAN NATURAL SOURCES ON PULP TISSUE REGENERATION. *Dentino : Jurnal Kedokteran Gigi*, 8(2), 114. <https://doi.org/10.20527/DENTINO.V8I2.17517>
- Ahmad, M., Pitt Ford, T. R., Crum, L. A., & Walton, A. J. (1988). Ultrasonic debridement of root canals: acoustic cavitation and its relevance. *Journal of endodontics*, 14(10), 486-493. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(88\)80105-5](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(88)80105-5)
- Aksel, H., Albanyan, H., Bosaid, F., & Azim, A. A. (2020). Dentin Conditioning Protocol for Regenerative Endodontic Procedures. *Journal of endodontics*, 46(8), 1099-1104. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2020.05.010>
- Albanese, A., Licata, M. E., Polizzi, B., & Campisi, G. (2013). Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immunity & Ageing : I & A*, 10(1), 23. <https://doi.org/10.1186/1742-4933-10-23>
- Albuquerque, M. T. P., Valera, M. C., Nakashima, M., Nör, J. E., & Bottino, M. C. (2014). Tissue-engineering-based Strategies for Regenerative Endodontics. *Journal of Dental Research*, 93(12), 1222. <https://doi.org/10.1177/0022034514549809>
- Alghamdi, F. T., & Alqurashi, A. E. (2020). Regenerative Endodontic Therapy in the Management of Immature Necrotic Permanent Dentition: A Systematic Review. *TheScientificWorldJournal*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/7954357>
- Al-Khafaji, H., Noer, P. R., Alkharobi, H., Alhodhodi, A., Meade, J., El-Gendy, R., Oxvig, C., & Beattie, J. (2018). A characteristic signature of insulin-like growth factor (IGF) axis expression during osteogenic differentiation of human dental pulp cells (hDPCs): Potential co-ordinated regulation of IGF action. *Growth hormone & IGF research : official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society*, 42-43, 14-21. <https://doi.org/10.1016/J.GHIR.2018.07.003>
- Almaz, M. E., & Sönmez, I. Ş. (2015). Ozone therapy in the management and prevention of caries. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi*, 114(1), 3-11. <https://doi.org/10.1016/J.JFMA.2013.06.020>
- Andreasen, J. O., Farik, B., & Munksgaard, E. C. (2002). Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dental traumatology : official publication of*

International Association for Dental Traumatology, 18(3), 134-137.
<https://doi.org/10.1034/J.1600-9657.2002.00097.X>

Andreasen, J. O., Paulsen, H. U., Yu, Z., Bayer, T., & Schwartz, O. (1990). A longterm study of 370 autotransplanted premolars. Part II. Tooth survival and pulp healing subsequent to transplantation. *European journal of orthodontics*, 12(1), 14-24.
<https://doi.org/10.1093/EJO/12.1.14>

Anitua, E., Andia, I., Ardanza, B., Nurden, P., & Nurden, A. T. (2004). Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and haemostasis*, 91(1), 4-15. <https://doi.org/10.1160/TH03-07-0440>

Anitua, E., Zalduendo, M. M., Troya, M., & Orive, G. (2015). Ozone dosing alters the biological potential and therapeutic outcomes of plasma rich in growth factors. *Journal of periodontal research*, 50(2), 240-247. <https://doi.org/10.1111/JRE.12201>

Arana-Chavez, V. E., & Massa, L. F. (2004). Odontoblasts: the cells forming and maintaining dentine. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36(8), 1367-1373.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOCEL.2004.01.006>

Ari, H., Erdemir, A., & Belli, S. (2004). Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. *Journal of endodontics*, 30(11), 792-795. <https://doi.org/10.1097/01.DON.0000128747.89857.59>

Arita, M., Nagayoshi, M., Fukuizumi, T., Okinaga, T., Masumi, S., Morikawa, M., Kakinoki, Y., & Nishihara, T. (2005). Microbicidal efficacy of ozonated water against *Candida albicans* adhering to acrylic denture plates. *Oral microbiology and immunology*, 20(4), 206-210.
<https://doi.org/10.1111/J.1399-302X.2005.00213.X>

Arshad, S., Tehreem, F., Rehab Khan, M., Ahmed, F., Marya, A., & Karobari, M. I. (2021). Platelet-Rich Fibrin Used in Regenerative Endodontics and Dentistry: Current Uses, Limitations, and Future Recommendations for Application. *International journal of dentistry*, 2021.
<https://doi.org/10.1155/2021/4514598>

Atesci, A. A., Avci, C. B., Tuglu, M. I., Ozates Ay, N. P., & Eronat, A. C. (2020). Effect of Different Dentin Conditioning Agents on Growth Factor Release, Mesenchymal Stem Cell Attachment and Morphology. *Journal of endodontics*, 46(2), 200-208.
<https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2019.10.033>

Azarpazhooh, A., & Limeback, H. (2008). The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *Journal of dentistry*, 36(2), 104-116.
<https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2007.11.008>

Ballal, N. V., Narkedamalli, R., Ruparel, N. B., Shenoy, P. A., Bhat, V. R., & Belle, V. S. (2022). Effect of Maleic Acid Root Conditioning on Release of Transforming Growth Factor Beta 1 from Infected Root Canal Dentin. *Journal of endodontics*, 48(5), 620-624.
<https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2022.02.007>

Ballal, N. V., Yegneswaran, P. P., Mala, K., & Bhat, K. S. (2011). In vitro antimicrobial activity of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on endodontic pathogens. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 112(5), 696-700.
<https://doi.org/10.1016/J.TRIPLEO.2011.05.023>

Banchs, F., & Trope, M. (2004). Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *Journal of endodontics*, 30(4), 196-200.
<https://doi.org/10.1097/00004770-200404000-00003>

Banerjee, Avijit., & Watson, T. F. . (2011). *Pickard's manual of operative dentistry*. 157.
https://books.google.com/books/about/Pickard_s_Manual_of_Operative_Dentistry.html?hl=tr&id=v8cgpRJ3QrAC

- Bansal, R., & Jain, A. (2015). Current overview on dental stem cells applications in regenerative dentistry. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine*, 6(1), 29. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.149074>
- Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., & Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 16(5), 585-601. <https://doi.org/10.1111/J.1524-475X.2008.00410.X>
- Basrani, B. R., Manek, S., Sodhi, R. N. S., Fillery, E., & Manzur, A. (2007). Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *Journal of endodontics*, 33(8), 966-969. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2007.04.001>
- Baysan, A., & Beighton, D. (2007). Assessment of the Ozone-Mediated Killing of Bacteria in Infected Dentine Associated with Non-Cavitated Occlusal Carious Lesions. *Caries Research*, 41(5), 337. <https://doi.org/10.1159/000104790>
- Beheshtizadeh, N., Gharibshahian, M., Bayati, M., Maleki, R., Strachan, H., Doughty, S., & Tayebi, L. (2023). Vascular endothelial growth factor (VEGF) delivery approaches in regenerative medicine. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 166. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2023.115301>
- Bertsch, C., Maréchal, H., Gribova, V., Lévy, B., Debry, C., Laval, P., & Fath, L. (2023). Biomimetic Bilayered Scaffolds for Tissue Engineering: From Current Design Strategies to Medical Applications. *Advanced Healthcare Materials*, 12(17), 2203115. <https://doi.org/10.1002/ADHM.202203115>
- Bezgin, T., Yilmaz, A. D., Celik, B. N., Kolsuz, M. E., & Sonmez, H. (2015). Efficacy of platelet-rich plasma as a scaffold in regenerative endodontic treatment. *Journal of Endodontics*, 41(1), 36-44. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.10.004>
- Bezirtzoglou, E., Cretoiu, S. M., Moldoveanu, M., Alexopoulos, A., Lazar, V., & Nakou, M. (2008). A quantitative approach to the effectiveness of ozone against microbiota organisms colonizing toothbrushes. *Journal of dentistry*, 36(8), 600-605. <https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2008.04.007>
- Bhaskar, S. N. ., & Orban, B. J. . (1986). *Orban's oral histology and embryology*. 477.
- Bhateja, S. (2012). The miraculous healing therapy – “Ozone therapy” in dentistry. *Indian Journal of Dentistry*, 3(3), 150-155. <https://doi.org/10.1016/J.IJD.2012.04.004>
- Bocci, V. (2006). Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. *Toxicology and applied pharmacology*, 216(3), 493-504. <https://doi.org/10.1016/J.TAAP.2006.06.009>
- Bocci, V. (2007). The case for oxygen-ozonotherapy. *British journal of biomedical science*, 64(1), 44-49. <https://doi.org/10.1080/09674845.2007.11732755>
- Bocci, V. A. (2006). Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Archives of medical research*, 37(4), 93-104. <https://doi.org/10.1016/J.ARCMED.2005.08.006>
- Bocci, V., & Paulesu, L. (1990). Studies on the biological effects of ozone 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes. *Haematologica*, 75(6), 510-515.
- Bohl, K. S., Shon, J., Rutherford, B., & Mooney, D. J. (1998). Role of synthetic extracellular matrix in development of engineered dental pulp. *Journal of biomaterials science. Polymer edition*, 9(7), 749-764. <https://doi.org/10.1163/156856298X00127>
- Bojar, W., Czarnecka, B., Pryliński, M., & Walory, J. (2009a). Shear bond strength of epoxy resin-based endodontic sealers to bovine dentin after ozone application. *Acta of bioengineering and biomechanics*, 11(3), 41-45.

- Bosaid, F., Aksel, H., Makowka, S., & Azim, A. A. (2020). Surface and structural changes in root dentine by various chelating solutions used in regenerative endodontics. *International endodontic journal*, 53(10), 1438-1445. <https://doi.org/10.1111/IEJ.13354>
- Boztaş, G., & Ömürlü, H. (2015). RESTORATİF DİŞ HEKİMLİĞİNDE OZON TEDAVİLERİ. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 24(3), 158-168. <https://doi.org/10.17567/DFD.37551>
- Bracks, I. V., Espaladori, M. C., Barros, P., de Brito, L. C. N., Vieira, L. Q., & Ribeiro Sobrinho, A. P. (2019a). Effect of ethylenediaminetetraacetic acid irrigation on immune-inflammatory response in teeth submitted to regenerative endodontic therapy. *International endodontic journal*, 52(10), 1457-1465. <https://doi.org/10.1111/IEJ.13136>
- Brauner, A. (1991). [Clinical studies of therapeutic results from ozonized water for gingivitis and periodontitis]. *Zahnärztliche Praxis*, 42(2), 48-50.
- Bui, T. B., Baumgartner, J. C., & Mitchell, J. C. (2008). Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. *Journal of endodontics*, 34(2), 181-185. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2007.11.006>
- Bystrom, A., & Sunqvist, G. (1985). The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *International endodontic journal*, 18(1), 35-40. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.1985.TB00416.X>
- Cable, J., Fuchs, E., Weissman, I., Jasper, H., Glass, D., Rando, T. A., Blau, H., Debnath, S., Oliva, A., Park, S., Passequé, E., Kim, C., & Krasnow, M. A. (2020). Adult stem cells and regenerative medicine—a symposium report. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1462(1), 27-36. <https://doi.org/10.1111/NYAS.14243>
- Cagnasso, C. E., López, L. B., Rodríguez, V. G., & Valencia, M. E. (2007). Development and validation of a method for the determination of EDTA in non-alcoholic drinks by HPLC. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3-4), 248-251. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2006.05.008>
- Cameron, R., Claudia, E., Ping, W., Erin, S., & Ruparel, N. B. (2019). Effect of a Residual Biofilm on Release of Transforming Growth Factor β 1 from Dentin. *Journal of endodontics*, 45(9), 1119-1125. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2019.05.004>
- Căpută, P. E., Retsas, A., Kuijk, L., Chávez de Paz, L. E., & Boutsoukis, C. (2019). Ultrasonic Irrigant Activation during Root Canal Treatment: A Systematic Review. *Journal of endodontics*, 45(1), 31-44.e13. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2018.09.010>
- Case, P. D., Bird, P. S., Kahler, W. A., George, R., & Walsh, L. J. (2012). Treatment of root canal biofilms of *Enterococcus faecalis* with ozone gas and passive ultrasound activation. *Journal of endodontics*, 38(4), 523-526. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2011.12.020>
- Cassidy, N., Fahey, M., Prime, S. S., & Smith, A. J. (1997). Comparative analysis of transforming growth factor-beta isoforms 1-3 in human and rabbit dentine matrices. *Archives of oral biology*, 42(3), 219-223. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(96\)00115-X](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(96)00115-X)
- Castañeda-Rodríguez, S., González-Torres, M., Ribas-Aparicio, R. M., Del Prado-Audelo, M. L., Leyva-Gómez, G., Güreş, E. S., & Sharifi-Rad, J. (2023). Recent advances in modified poly (lactic acid) as tissue engineering materials. *Journal of Biological Engineering* 2023 17:1, 17(1), 1-20. <https://doi.org/10.1186/S13036-023-00338-8>
- Caviedes-Bucheli, J., Canales-Sánchez, P., Castrillón-Sarria, N., Jovel-García, J., Álvarez-Vásquez, J., Rivero, C., Azuero-Holguín, M. M., Díaz, E., & Muñoz, H. R. (2009). Expression of insulin-like growth factor-1 and proliferating cell nuclear antigen in human pulp cells of teeth with complete and incomplete root development. *International endodontic journal*, 42(8), 686-693. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2009.01568.X>

- Celiberti, P., & Lussi, A. (2005). Use of a self-etching adhesive on previously etched intact enamel and its effect on sealant microleakage and tag formation. *Journal of Dentistry*, 33(2), 163-171. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2004.08.010>
- Chae, Y., Yang, M., & Kim, J. (2018a). Release of TGF- β 1 into root canals with various final irrigants in regenerative endodontics: an in vitro analysis. *International endodontic journal*, 51(12), 1389-1397. <https://doi.org/10.1111/IEJ.12951>
- Chang, B., Ahuja, N., Ma, C., & Liu, X. (2017). Injectable scaffolds: Preparation and application in dental and craniofacial regeneration. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 111, 1-26. <https://doi.org/10.1016/J.MSER.2016.11.001>
- Chang, H. H., Chang, M. C., Wu, I. H., Huang, G. F., Huang, W. L., Wang, Y. L., Lee, S. Y., Yeh, C. Y., Guo, M. K., Chan, C. P., Hsien, H. C., & Jeng, J. H. (2015). Role of ALK5/Smad2/3 and MEK1/ERK Signaling in Transforming Growth Factor Beta 1-modulated Growth, Collagen Turnover, and Differentiation of Stem Cells from Apical Papilla of Human Tooth. *Journal of endodontics*, 41(8), 1272-1280. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2015.03.022>
- Chen, H., Hou, Y., Qi, F., Zhang, J., Koh, K., Shen, Z., & Li, G. (2014). Detection of vascular endothelial growth factor based on rolling circle amplification as a means of signal enhancement in surface plasmon resonance. *Biosensors & bioelectronics*, 61, 83-87. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2014.05.005>
- Chenu, C., Valentin-Opran, A., Chavassieux, P., Saez, S., Meunier, P. J., & Delmas, P. D. (1990). Insulin like growth factor I hormonal regulation by growth hormone and by 1,25(OH)2D3 and activity on human osteoblast-like cells in short-term cultures. *Bone*, 11(2), 81-86. [https://doi.org/10.1016/8756-3282\(90\)90054-3](https://doi.org/10.1016/8756-3282(90)90054-3)
- Chircov, C., Mihai Grumezescu, A., & Everard Bejenaru, L. (2018). R RE EV VI IE EW W Hyaluronic acid-based scaffolds for tissue engineering. *Rom J Morphol Embryol*, 59(1), 71-76. <http://www.rjme.ro/>
- Chueh, L. H., Ho, Y. C., Kuo, T. C., Lai, W. H., Chen, Y. H. M., & Chiang, C. P. (2009). Regenerative endodontic treatment for necrotic immature permanent teeth. *Journal of endodontics*, 35(2), 160-164. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2008.10.019>
- Collins, M. N., & Birkinshaw, C. (2013a). Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering—A review. *Carbohydrate Polymers*, 92(2), 1262-1279. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2012.10.028>
- Common buffers, media, and stock solutions. (2001). *Current protocols in human genetics*, Appendix 2(1). <https://doi.org/10.1002/0471142905.HGA02DS26>
- Çalt, S., & Serper, A. (2002). Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *Journal of endodontics*, 28(1), 17-19. <https://doi.org/10.1097/00004770-200201000-00004>
- da Rosa, W. L. O., Piva, E., & da Silva, A. F. (2018). Disclosing the physiology of pulp tissue for vital pulp therapy. *International Endodontic Journal*, 51(8), 829-846. <https://doi.org/10.1111/IEJ.12906>
- Dahiya, P., & Kamal, R. (2013). Hyaluronic Acid: a boon in periodontal therapy. *North American journal of medical sciences*, 5(5), 309-315. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.112473>
- D'Ambrosio, F., Caggiano, M., Acerra, A., Pisano, M., & Giordano, F. (2023). Is Ozone a Valid Adjuvant Therapy for Periodontitis and Peri-Implantitis? A Systematic Review. *Journal of Personalized Medicine* 2023, Vol. 13, Page 646, 13(4), 646. <https://doi.org/10.3390/JPM13040646>

- D'Arcangelo, C., & D'Amario, M. (2007). Use of MTA for orthograde obturation of nonvital teeth with open apices: report of two cases. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 104(4). <https://doi.org/10.1016/J.TRIPLEO.2007.05.021>
- Dean, J., Avery, D., & McDonald, R. (2011). *McDonald and Avery Dentistry for the Child and Adolescent*. İçinde McDonald and Avery Dentistry for the Child and Adolescent. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-48382-X>
- Deery, C., Hosey, M.-T., & Waterhouse, P. (2005). Ozone: The revolution in dentistry. *British Dental Journal* 2005 199:5, 199(5), 307-307. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4812728>
- Denholm, I. A., Moule, A. J., & Bartold, P. M. (1998). The behaviour and proliferation of human dental pulp cell strains in vitro, and their response to the application of platelet-derived growth factor-BB and insulin-like growth factor-1. *International endodontic journal*, 31(4), 251-258. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2591.1998.00161.X>
- Deniz Sungur, D., Aksel, H., Ozturk, S., Yilmaz, Z., & Ulubayram, K. (2019). Effect of dentine conditioning with phytic acid or etidronic acid on growth factor release, dental pulp stem cell migration and viability. *International endodontic journal*, 52(6), 838-846. <https://doi.org/10.1111/IEJ.13066>
- Dhingra, K., & Vandana, K. L. (2011). Management of gingival inflammation in orthodontic patients with ozonated water irrigation--a pilot study. *International journal of dental hygiene*, 9(4), 296-302. <https://doi.org/10.1111/J.1601-5037.2011.00506.X>
- Ding, R. Y., Cheung, G. S. pan, Chen, J., Yin, X. Z., Wang, Q. Q., & Zhang, C. F. (2009). Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study. *Journal of endodontics*, 35(5), 745-749. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2009.02.009>
- Diogenes, A., Ruparel, N. B., Shiloah, Y., & Hargreaves, K. M. (2016). Regenerative endodontics: A way forward. *Journal of the American Dental Association* (1939), 147(5), 372-380. <https://doi.org/10.1016/J.ADAJ.2016.01.009>
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101(3). <https://doi.org/10.1016/J.TRIPLEO.2005.07.008>
- Dong, J., He, L., Wang, Y., Yu, F., Yu, S., Liu, L., Wang, J., Tian, Y., Qu, L., Han, R., Wang, Z., & Wu, Y. (2020). A highly sensitive colorimetric aptasensor for the detection of the vascular endothelial growth factor in human serum. *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*, 226. <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2019.117622>
- dos Reis-Prado, A. H., de Castro Oliveira, S., de Arantes, L. C., Goto, J., & Benetti, F. (2022). Regenerative endodontics. *Conservative Treatment of Pulp Tissue: Indications, Materials and Techniques*, 127-160. <https://doi.org/10.21474/IJAR01/14209>
- Doyon, G. E., Dumsha, T., & Von Fraunhofer, J. A. (2005). Fracture resistance of human root dentin exposed to intracanal calcium hydroxide. *Journal of endodontics*, 31(12), 895-897. <https://doi.org/10.1097/01.DON.0000194542.02521.AF>
- Dreyfuss, J. L., Regatieri, C. V., Jarrouge, T. R., Cavalheiro, R. P., Sampaio, L. O., & Nader, H. B. (2009). Heparan sulfate proteoglycans: structure, protein interactions and cell signaling. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 81(3), 409-429. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652009000300007>
- Duailibi, S. E., Duailibi, M. T., Vacanti, J. P., & Yelick, P. C. (2006). Prospects for tooth regeneration. *Periodontology 2000*, 41(1), 177-187. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0757.2006.00165.X>
- Duraivel, D., Fayeez, A., Poorni, S., Diana, D., & Srinivasan, M. R. (2017). Management of Non Vital Teeth with Open Apex Using Endosequence Root Repair Material, Mineral Trioxide

- El Meligy, O. A. S., & Avery, D. R. (2006). Comparison of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide as pulpotomy agents in young permanent teeth (apexogenesis). *Pediatric Dentistry*, 28(5), 399-404. [https://doi.org/10.1016/s0084-3717\(08\)70476-8](https://doi.org/10.1016/s0084-3717(08)70476-8)
- Eliezer, M., Imber, J. C., Sculean, A., Pandis, N., & Teich, S. (2019). Hyaluronic acid as adjunctive to non-surgical and surgical periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis. *Clinical oral investigations*, 23(9), 3423-3435. <https://doi.org/10.1007/S00784-019-03012-W>
- Elvis, A. M., & Ekta, J. S. (2011). Ozone therapy: A clinical review. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 2(1), 66-70. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.82319>
- Erdogan, D., Erdemir, A., & Tekin, E. (2025). The Effect of Different Chelating Agents in Different Application Times on the Release of Growth Factors from Dentin. *Journal of Endodontics*. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2025.05.006>
- Erdoğan, D., & Erdemir, A. (2019). Endodontide ozonun kullanımı. <https://doi.org/10.15311/selcukdentj.441069>
- Eroglu, Z. T., Kurtis, B., Altug, H. A., Sahin, S., Tuter, G., & Baris, E. (2018). Effect of topical ozonotherapy on gingival wound healing in pigs: histological and immuno-histochemical analysis. *Journal of applied oral science : revista FOB*, 27. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2018-0015>
- Esra ERSÖZ. (2013). Gingival Fibroblastlarda Bifosfonat Uygulamasına Bağlı Oluşan Yaranın İyileşmesinde Ozonun Etkilerinin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi.
- Essner, M. D., Javed, A., & Eleazer, P. D. (2011). Effect of sodium hypochlorite on human pulp cells: an in vitro study. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 112(5), 662-666. <https://doi.org/10.1016/J.TRIPLEO.2011.04.030>
- Estefan, B. S., El Batouty, K. M., Nagy, M. M., & Diogenes, A. (2016). Influence of Age and Apical Diameter on the Success of Endodontic Regeneration Procedures. *Journal of endodontics*, 42(11), 1620-1625. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2016.06.020>
- Estrela, C., Estrela, C. R. A., Barbin, E. L., Spanó, J. C. E., Marchesan, M. A., & Pécora, J. D. (2002). Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Brazilian dental journal*, 13(2), 113-117. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402002000200007>
- Estrela, C., Estrela, C. R. A., Decurcio, D. A., Hollanda, A. C. B., & Silva, J. A. (2007). Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. *International endodontic journal*, 40(2), 85-93. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2006.01185.X>
- Farges, J. C., Alliot-Licht, B., Renard, E., Ducret, M., Gaudin, A., Smith, A. J., & Cooper, P. R. (2015). Dental Pulp Defence and Repair Mechanisms in Dental Caries. *Mediators of Inflammation*, 2015(1), 230251. <https://doi.org/10.1155/2015/230251>
- Feng, X., Lu, X., Huang, D., Xing, J., Feng, G., Jin, G., Yi, X., Li, L., Lu, Y., Nie, D., Chen, X., Zhang, L., Gu, Z., & Zhang, X. (2014). 3D porous chitosan scaffolds suit survival and neural differentiation of dental pulp stem cells. *Cellular and molecular neurobiology*, 34(6), 859-870. <https://doi.org/10.1007/S10571-014-0063-8>
- Fernandes, A. P., Araújo, L. B., Colombo, F. A., Ambrosio, E. C. P., da Silveira, A. B. V., Bergamo, M. T. O. P., Jorge, P. K., Machado, M. A. A. M., Oliveira, T. M., & Sakai, V. T. (2025). TGF-β1 induces the proliferation, migration and differentiation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Brazilian Journal of Oral Sciences*, 24, e254024. <https://doi.org/10.20396/BJOS.V24I00.8674024>

- Ferracane, J. L., Cooper, P. R., & Smith, A. J. (2013). Dentin matrix component solubilization by solutions of pH relevant to self-etching dental adhesives. *The journal of adhesive dentistry*, 15(5). <https://doi.org/10.3290/J.JAD.A29536>
- Ferreira, L. N., Puppini-Rontani, R. M., & Pascon, F. M. (2020a). Effect of Intracanal Medicaments and Irrigants on the Release of Transforming Growth Factor Beta 1 and Vascular Endothelial Growth Factor from Cervical Root Dentin. *Journal of endodontics*, 46(11), 1616-1622. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2020.07.034>
- Finkelmann, R. D., Mohan, S., Jennings, J. C., Taylor, A. K., Jepsen, S., & Baylink, D. J. (1990). Quantitation of growth factors IGF-I, SGF/IGF-II, and TGF-beta in human dentin. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 5(7), 717-723. <https://doi.org/10.1002/JBMR.5650050708>
- Fisher, J. P., Mikos, A. G., & Bronzino, J. D. (1993). *Tissue Engineering*. Science, 1-583. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.8493529>
- Fortea, L., Sanz-Serrano, D., Luz, L. B., Bardini, G., & Mercade, M. (2024). Update on chelating agents in endodontic treatment: A systematic review. *Journal of clinical and experimental dentistry*, 16(4), e516-e538. <https://doi.org/10.4317/JCED.60989>
- Frank, A. L. (1966). Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. *Journal of the American Dental Association* (1939), 72(1), 87-93. <https://doi.org/10.14219/JADA.ARCHIVE.1966.0017>
- Fu, X. M., Liu, Z. J., Cai, S. X., Zhao, Y. P., Wu, D. Z., Li, C. Y., & Chen, J. H. (2016). Electrochemical aptasensor for the detection of vascular endothelial growth factor (VEGF) based on DNA-templated Ag/Pt bimetallic nanoclusters. *Chinese Chemical Letters*, 27(6), 920-926. <https://doi.org/10.1016/J.CCLET.2016.04.014>
- Fuks, A. B., & Eidelman, E. (1991). Pulp therapy in the primary dentition. *Current opinion in dentistry*, 1(5), 556-563.
- Galiè, M., Covi, V., Tabaracci, G., & Malatesta, M. (2019). The Role of Nrf2 in the Antioxidant Cellular Response to Medical Ozone Exposure. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(16). <https://doi.org/10.3390/IJMS20164009>
- Galler, K. M. (2016). Clinical procedures for revitalization: current knowledge and considerations. *International endodontic journal*, 49(10), 926-936. <https://doi.org/10.1111/IEJ.12606>
- Galler, K. M., Buchalla, W., Hiller, K. A., Federlin, M., Eidt, A., Schiefersteiner, M., & Schmalz, G. (2015). Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *Journal of endodontics*, 41(3), 363-368. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2014.11.021>
- Galler, K. M., D'Souza, R. N., Hartgerink, J. D., & Schmalz, G. (2011). Scaffolds for dental pulp tissue engineering. *Advances in dental research*, 23(3), 333-339. <https://doi.org/10.1177/0022034511405326>
- Galler, K. M., Widbiller, M., Buchalla, W., Eidt, A., Hiller, K. A., Hoffer, P. C., & Schmalz, G. (2016). EDTA conditioning of dentine promotes adhesion, migration and differentiation of dental pulp stem cells. *International endodontic journal*, 49(6), 581-590. <https://doi.org/10.1111/IEJ.12492>
- Gao, X., Qin, W., Wang, P., Wang, L., Weir, M. D., Reynolds, M. A., Zhao, L., Lin, Z., & Xu, H. H. K. (2019). Nano-Structured Demineralized Human Dentin Matrix to Enhance Bone and Dental Repair and Regeneration. *Applied Sciences* 2019, Vol. 9, Page 1013, 9(5), 1013. <https://doi.org/10.3390/APP9051013>

- Garcia-Godoy, F., & Murray, P. E. (2012). Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. *Dental traumatology: official publication of International Association for Dental Traumatology*, 28(1), 33-41. <https://doi.org/10.1111/J.1600-9657.2011.01044.X>
- Gathani, K. M., & Raghavendra, S. S. (2016). Scaffolds in regenerative endodontics: A review. *Dental Research Journal*, 13(5), 379. <https://doi.org/10.4103/1735-3327.192266>
- Gerecht-Nir, S., & Itskovitz-Eldor, J. (2004). Human embryonic stem cells: A potential source for cellular therapy. *American Journal of Transplantation*, 4(SUPPL. 6), 51-57. <https://doi.org/10.1111/J.1600-6135.2004.0345.X>
- Ghanaati, S., Booms, P., Orlowska, A., Kubesch, A., Lorenz, J., Rutkowski, J., Les, C., Sader, R., Kirkpatrick, C. J., & Choukroun, J. (2014). Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *The Journal of oral implantology*, 40(6), 679-689. <https://doi.org/10.1563/AAID-JOI-D-14-00138>
- Ghoddusi, J., Forghani, M., & Parisay, I. (2013). New Approaches in Vital Pulp Therapy in Permanent Teeth. *Iranian Endodontic Journal*, 9(1), 15. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3881297/>
- Ghosh Dastidar, A., Clarke, S. A., Larrañeta, E., Buchanan, F., & Manda, K. (2023). In Vitro Degradation of 3D-Printed Poly(L-lactide-Co-Glycolic Acid) Scaffolds for Tissue Engineering Applications. *Polymers*, 15(18), 3714. <https://doi.org/10.3390/POLYM15183714/S1>
- Gill, I., Mittal, S., Kumar, T., & Keshav, V. (2024). Open Apex and its Management: Review Article. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 16, S31-S34. https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS_615_23
- Goldberg, M. (2022). JDHOR-3(3)-067 | Review Article Citation: Goldberg M. Tooth Root Formation. Review Article *Journal of Dental Health and Oral Research* Goldberg M |, 3(3), 1-10. <https://doi.org/10.46889/JDHOR.2022.3305>
- Goldberg, M., & Smith, A. J. (2004). Cells and Extracellular Matrices of Dentin and Pulp: A Biological Basis for Repair and Tissue Engineering. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 15(1), 13-27. <https://doi.org/10.1177/154411130401500103>
- Gomes, B. P. F. A., Aveiro, E., & Kishen, A. (2023). Irrigants and irrigation activation systems in Endodontics. *Brazilian dental journal*, 34(4), 1-33. <https://doi.org/10.1590/0103-6440202305577>
- Gong, T., Heng, B. C., Lo, E. C. M., & Zhang, C. (2016). Current Advance and Future Prospects of Tissue Engineering Approach to Dentin/Pulp Regenerative Therapy. *Stem cells international*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9204574>
- Goodis, H. E., Kinaia, B. M., Kinaia, A. M., & Chogle, S. M. A. (2012). Regenerative Endodontics and Tissue Engineering: What the Future Holds? *Dental Clinics of North America*, 56(3), 677-689. <https://doi.org/10.1016/J.CDEN.2012.05.007>
- Graham, L., Cooper, P. R., Cassidy, N., Nor, J. E., Sloan, A. J., & Smith, A. J. (2006). The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. *Biomaterials*, 27(14), 2865-2873. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2005.12.020>
- Grawish, M. E., Grawish, L. M., Grawish, H. M., Grawish, M. M., Holiel, A. A., Sultan, N., & El-Negoly, S. A. (2022). Demineralized Dentin Matrix for Dental and Alveolar Bone Tissues Regeneration: An Innovative Scope Review. *Tissue engineering and regenerative medicine*, 19(4), 687-701. <https://doi.org/10.1007/S13770-022-00438-4>

- 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 of the United States of America*, 97(25), 13625-13630. <https://doi.org/10.1073/PNAS.240309797>
- Gu, L. sha, Kim, J. R., Ling, J., Choi, K. K., Pashley, D. H., & Tay, F. R. (2009). Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. *Journal of endodontics*, 35(6), 791-804. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2009.03.010>
- Guo, R., & Yu, J. (2022). Multipotency and Immunomodulatory Benefits of Stem Cells From Human Exfoliated Deciduous Teeth. *Frontiers in Dental Medicine*, 3. <https://doi.org/10.3389/FDMED.2022.805875/FULL>
- Gupta, R. C., Lall, R., Srivastava, A., & Sinha, A. (2019). Hyaluronic Acid: Molecular Mechanisms and Therapeutic Trajectory. *Frontiers in Veterinary Science*, 6(JUN), 192. <https://doi.org/10.3389/FVETS.2019.00192>
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314-321. <https://doi.org/10.1038/NATURE07039>
- Haapasalo, M., & Ørstavik, D. (1987). In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *Journal of dental research*, 66(8), 1375-1379. <https://doi.org/10.1177/00220345870660081801>
- Habib, N. A., Gordon, M. Y., Levičar, N., Jiao, L., & Thomas-Black, G. (2005). Stem cell repair and regeneration. *Stem Cell Repair and Regeneration*, 1-249. <https://doi.org/10.1142/P389/ASSET/18EE84CD5118E84C8511EE84CD85118E/P389.COVER.JPG>
- Hahn, F. L., & Reygadas, F. (1951). Demineralization of hard tissues. *Science (New York, N.Y.)*, 114(2966), 462-463. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.114.2966.462>
- Haider, A., Gupta, K. C., & Kang, I. K. (2014). Morphological effects of HA on the cell compatibility of electrospun HA/PLGA composite nanofiber scaffolds. *BioMed research international*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/308306>
- Hancerliogullari, D., Erdemir, A., & Kisa, U. (2021). The effect of different irrigation solutions and activation techniques on the expression of growth factors from dentine of extracted premolar teeth. *International endodontic journal*, 54(10), 1915-1924. <https://doi.org/10.1111/IEJ.13589>
- Hargreaves, K. M., Diogenes, A., & Teixeira, F. B. (2013). Treatment Options: Biological Basis of Regenerative Endodontic Procedures. *Journal of endodontics*, 39(3 Suppl), S30. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2012.11.025>
- Hargreaves, K. M., Giesler, T., Henry, M., & Wang, Y. (2008). Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold? *Journal of endodontics*, 34(7 Suppl). <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2008.02.032>
- Harris, E. F. (2015). Odontogenesis. *A Companion to Dental Anthropology*, 142-158. <https://doi.org/10.1002/9781118845486.CH11>
- Harrison, J. W., & Hand, R. E. (1981). The effect of dilution and organic matter on the anti-bacterial property of 5.25% sodium hypochlorite. *Journal of endodontics*, 7(3), 128-132. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(81\)80127-6](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(81)80127-6)
- Hashimoto, K., Kawashima, N., Ichinose, S., Nara, K., Noda, S., & Okiji, T. (2018a). EDTA Treatment for Sodium Hypochlorite-treated Dentin Recovers Disturbed Attachment and Induces Differentiation of Mouse Dental Papilla Cells. *Journal of endodontics*, 44(2), 256-262. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2017.11.003>
- He, H., Yu, J., Liu, Y., Lu, S., Liu, H., Shi, J., & Jin, Y. (2008). Effects of FGF2 and TGFβ1 on the differentiation of human dental pulp stem cells in vitro. *Cell biology international*, 32(7), 827-834. <https://doi.org/10.1016/J.CELLBI.2008.03.013>

- He, P., Zheng, L., & Zhou, X. (2022). IGFs in Dentin Formation and Regeneration: Progress and Remaining Challenges. *Stem Cells International*, 2022(1), 3737346. <https://doi.org/10.1155/2022/3737346>
- He, S., Chen, W., Xia, J., Lai, Z., Yu, D., Yao, J., & Cai, S. (2020). Effects of ozone autohemotherapy on blood VEGF, TGF- β and PDGF levels after finger replantation. *Annals of palliative medicine*, 9(5), 3332-3339. <https://doi.org/10.21037/APM-20-1467>
- Heithersay, G. S. (1970). Stimulation of root formation in incompletely developed pulpless teeth. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*, 29(4), 620-630. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(70\)90474-3](https://doi.org/10.1016/0030-4220(70)90474-3)
- Hentze, H., Soong, P. L., Wang, S. T., Phillips, B. W., Putti, T. C., & Dunn, N. R. (2009). Teratoma formation by human embryonic stem cells: evaluation of essential parameters for future safety studies. *Stem cell research*, 2(3), 198-210. <https://doi.org/10.1016/J.SCR.2009.02.002>
- Herawati, D., Anggraeni, D., & Damayanti, A. R. (2020). Effect of Ozonated Olive Oil in Topical Application towards Osteoblast Number and Angiogenesis of Alveolar Bone in Periodontitis Healing Process (in vivo study in Sprague dawley Rats). *Majalah Obat Tradisional*, 25(1), 59-66. <https://doi.org/10.22146/MOT.55176>
- Hermann, B. W. (1952). [On the reaction of the dental pulp to vital amputation and calxyl capping]. *Deutsche zahnärztliche Zeitschrift*, 7(24), 1446-1447.
- Horibe, K., Hara, M., & Nakamura, H. (2021). M2-like macrophage infiltration and transforming growth factor- β secretion during socket healing process in mice. *Archives of oral biology*, 123. <https://doi.org/10.1016/J.ARCHORALBIO.2021.105042>
- Huang, G. T. J. (2009). Apexification: the beginning of its end. *International endodontic journal*, 42(10), 855-866. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2009.01577.X>
- Huang, G. T. J., Gronthos, S., & Shi, S. (2009). Critical reviews in oral biology & medicine: Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: Their biology and role in Regenerative Medicine. *Journal of Dental Research*, 88(9), 792-806. <https://doi.org/10.1177/0022034509340867>
- Huang, G. T. J., & Lin, L. M. (2008). Letter to the editor: comments on the use of the term "revascularization" to describe root regeneration. *Journal of endodontics*, 34(5), 511. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2008.02.009>
- Huang, R., Chen, W., Fang, M., Peters, O. A., & Hosseinpour, S. (2025). Clinical and Radiographic Outcomes of Autologous Platelet-Rich Products in Regenerative Endodontics: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dentistry Journal* 2025, Vol. 13, Page 236, 13(6), 236. <https://doi.org/10.3390/DJ13060236>
- Huang, T.-J. (2009). Apexification: the beginning of its end. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2009.01577.x>
- Huth, K. C., Quirling, M., Maier, S., Kamereck, K., Alkhayer, M., Paschos, E., Welsch, U., Miethke, T., Brand, K., & Hickel, R. (2009). Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. *International endodontic journal*, 42(1), 3-13. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2008.01460.X>
- Hülsmann, M., Heckendorff, M., & Lennon, Á. (2003). Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *International Endodontic Journal*, 36(12), 810-830. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2003.00754.X>
- In Cohen S, B. R. (1998). *Camp J: Pediatric endodontic treatment (Pathways of the pulp, Ed.; 7. bs)*. Mosby.

- Ito, K., Yamada, Y., Nagasaka, T., Baba, S., & Ueda, M. (2005). Osteogenic potential of injectable tissue-engineered bone: a comparison among autogenous bone, bone substitute (Bio-oss), platelet-rich plasma, and tissueengineered bone with respect to their mechanical properties and histological findings. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 73(1), 63-72. <https://doi.org/10.1002/JBM.A.30248>
- Iwaya, S. I., Ikawa, M., & Kubota, M. (2001). Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dental traumatology: official publication of International Association for Dental Traumatology*, 17(4), 185-187. <https://doi.org/10.1034/J.1600-9657.2001.017004185.X>
- Jain, N. (2020). A LITERATURE REVIEW ON OZONE LAYER EFFECTS. 6. www.ijariie.com
- Jeeruphan, T., Jantararat, J., Yanpiset, K., Suwannapan, L., Khewsawai, P., & Hargreaves, K. M. (2012). Mahidol study 1: comparison of radiographic and survival outcomes of immature teeth treated with either regenerative endodontic or apexification methods: a retrospective study. *Journal of endodontics*, 38(10), 1330-1336. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2012.06.028>
- Jiang, X., Liu, H., & Peng, C. (2022). Continued root development of immature permanent teeth after regenerative endodontics with or without a collagen membrane: A randomized, controlled clinical trial. *International journal of paediatric dentistry*, 32(2), 284-293. <https://doi.org/10.1111/IPD.12853>
- Jing, Y., Li, C., & Feng, J. Q. (2021). Odontoblast Processes: New Insights into Its Role in Dentin Mineralization. *Biology of Extracellular Matrix*, 10, 109-123. https://doi.org/10.1007/978-3-030-76283-4_5
- Jobling, M. F., Mott, J. D., Finnegan, M. T., Jurukovski, V., Erickson, A. C., Walian, P. J., Taylor, S. E., Ledbetter, S., Lawrence, C. M., Rifkin, D. B., & Barcellos-Hoff, M. H. (2006). Isoform-specific activation of latent transforming growth factor beta (LTGF-beta) by reactive oxygen species. *Radiation research*, 166(6), 839-848. <https://doi.org/10.1667/RR0695.1>
- Joseph, B. K., Savage, N. W., Young, W. G., Gupta, G. S., Breier, B. H., & Waters, M. J. (1993). Expression and regulation of insulin-like growth factor-I in the rat incisor. *Growth factors (Chur, Switzerland)*, 8(4), 267-275. <https://doi.org/10.3109/08977199308991572>
- Kabil, E., Katić, M., Anić, I., & Bago, I. (2021). Micro-computed Evaluation of Canal Transportation and Centering Ability of 5 Rotary and Reciprocating Systems with Different Metallurgical Properties and Surface Treatments in Curved Root Canals. *Journal of endodontics*, 47(3), 477-484. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2020.11.003>
- Kai Ong, T., Seong Lim, G., Singh, M., Fial, A., Kai, T., & Seong, G. (2020). Quantitative Assessment of Root Development after Regenerative Quantitative Assessment of Root Development after Regenerative Endodontic Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis Endodontic Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis Recommended Citation Recommended Citation. https://epublications.marquette.edu/lib_fac
- Kandaswamy, D., & Venkateshbabu, N. (2010). Root canal irrigants. *Journal of conservative dentistry: JCD*, 13(4), 256. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.73378>
- Kaptan, F., Güven, E. P., Topcuoğlu, N., Yazici, M., & Külekçi, G. (2014). In vitro assessment of the recurrent doses of topical gaseous ozone in the removal of *Enterococcus faecalis* biofilms in root canals. *Nigerian journal of clinical practice*, 17(5), 573-578. <https://doi.org/10.4103/1119-3077.141421>
- Karkehabadi, H., Yousefifakhr, H., & Zadsirjan, S. (2018). Cytotoxicity of Endodontic Irrigants on Human Periodontal Ligament Cells. *Iranian endodontic journal*, 13(3), 390-394. <https://doi.org/10.22037/IEJ.V13I3.20438>

- Kazancioglu, H. O., Kurklu, E., & Ezirganli, S. (2014). Effects of ozone therapy on pain, swelling, and trismus following third molar surgery. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 43(5), 644-648. <https://doi.org/10.1016/J.IJOM.2013.11.006>
- Khan, J. A., Hasan, A., Dossa, S., & Ali, B. (2021). Effect of Natural and Artificial Dentin Conditioners on the Release of Vascular Endothelial Growth Factor. *Journal of endodontics*, 47(5), 800-805. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2021.02.001>
- Kim, N. R., Lee, D. H., Chung, P. H., & Yang, H. C. (2009). Distinct differentiation properties of human dental pulp cells on collagen, gelatin, and chitosan scaffolds. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 108(5). <https://doi.org/10.1016/J.TRIPLEO.2009.07.031>
- Kim, S. G., Malek, M., Sigurdsson, A., Lin, L. M., & Kahler, B. (2018a). Regenerative endodontics: a comprehensive review. *International Endodontic Journal*, 51(12), 1367-1388. <https://doi.org/10.1111/IEJ.12954>
- Kim, S. G., Zhou, J., Solomon, C., Zheng, Y., Suzuki, T., Chen, M., Song, S., Jiang, N., Cho, S., & Mao, J. J. (2012). Effects of Growth Factors on Dental Stem/Progenitor Cells. *Dental clinics of North America*, 56(3), 563. <https://doi.org/10.1016/J.CDEN.2012.05.001>
- Kiran, S., Prakash, S., Siddharth, P. R., Saha, S., Geojan, N. E., & Ramachandran, M. (2016). Comparative evaluation of smear layer and debris on the canal walls prepared with a combination of hand and rotary proTaper technique using scanning electron microscope. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 17(7), 574-581. <https://doi.org/10.5005/JP-JOURNALS-10024-1892>
- Klyn, S. L., Kirkpatrick, T. C., & Rutledge, R. E. (2010). In vitro comparisons of debris removal of the EndoActivator system, the F file, ultrasonic irrigation, and NaOCl irrigation alone after hand-rotary instrumentation in human mandibular molars. *Journal of endodontics*, 36(8), 1367-1371. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2010.03.022>
- Knežević, A., Tarle, Z., Negovetić Mandić, V., Prskalo, K., Pandurić, V., & Janković, B. (2007). Primary Fissure Carious Lesion Reversal Using Ozone. *Acta stomatologica Croatica: International journal of oral sciences and dental medicine*, 41(1), 31-38. www.ascro.net
- Koba, T., Watanabe, K., Goda, S., Kitagawa, M., Mutoh, N., Hamada, N., & Tani Ishii, N. (2021). The Effect of Transforming Growth Factor Beta 1 on the Mineralization of Human Cementoblasts. *Journal of endodontics*, 47(4), 606-611. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2020.12.019>
- Koli, P., Pujar, M., Yalgi, V., Uppin, V., Vagarali, H., & Hosmani, N. (2014). Ultrasonic Management of Calcified Canal: A Case Report. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Radiology*, 2(2), 11-13. <https://doi.org/10.12691/ORAL-2-2-1>
- Kolios, G., & Moodley, Y. (2013). Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration; international review of thoracic diseases*, 85(1), 3-10. <https://doi.org/10.1159/000345615>
- Körbling, M., & Estrov, Z. (2003). Adult Stem Cells for Tissue Repair — A New Therapeutic Concept? *New England Journal of Medicine*, 349(6), 570-582. <https://doi.org/10.1056/NEJMRA022361>
- Krstić, J., Trivanović, D., Mojsilović, S., & Santibanez, J. F. (2015). Transforming Growth Factor-Beta and Oxidative Stress Interplay: Implications in Tumorigenesis and Cancer Progression. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015, 654594. <https://doi.org/10.1155/2015/654594>
- Kshitish, D., & Laxman, V. K. (2010). The use of ozonated water and 0.2% chlorhexidine in the treatment of periodontitis patients: a clinical and microbiologic study. *Indian journal of dental research: official publication of Indian Society for Dental Research*, 21(3), 341-348. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.70796>

- Kucukkaya Eren, S., Bahador Zırh, E., Zeybek, N. D., Askerbeyli Örs, S., Aksel, H., & Parashos, P. (2021a). Effect of benzalkonium chloride addition to EDTA on attachment and proliferation of dental pulp stem cells on dentin and on transforming growth factor- β 1 release. *Odontology*, 109(2), 313-320. <https://doi.org/10.1007/S10266-020-00545-5>
- Kumar, A., Bhagawati, S., Tyagi, P., & Kumar, P. (2014). Current interpretations and scientific rationale of the ozone usage in dentistry: A systematic review of literature. *European Journal of General Dentistry*, 3(03), 175-180. <https://doi.org/10.4103/2278-9626.141658>
- Kumar, A., Yadav, A., & Shetty, N. (2014). One-step apexification using platelet rich fibrin matrix and mineral trioxide aggregate apical barrier. *Indian journal of dental research: official publication of Indian Society for Dental Research*, 25(6), 809-812. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.152210>
- Kumar, G. S. ., & Bhaskar, S. N. . (2019). *Orban's oral histology and embryology*. 358.
- Kuştarci, A., Sümer, Z., Altunbaş, D., & Koşum, S. (2009). Bactericidal effect of KTP laser irradiation against *Enterococcus faecalis* compared with gaseous ozone: an ex vivo study. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 107(5). <https://doi.org/10.1016/J.TRIPLEO.2009.01.048>
- Küçük, F., Yıldırım, S., & Çetiner, S. (2021). Cytotoxicity assessment of different doses of ozonated water on dental pulp cells. *BMC Oral Health*, 21(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/S12903-021-01392-8/TABLES/2>
- Law, A. S. (2013). Considerations for regeneration procedures. *Journal of endodontics*, 39(3 Suppl). <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2012.11.019>
- Layton, C. A., Marshall, J. G., Morgan, L. A., & Baumgartner, J. C. (1996). Evaluation of cracks associated with ultrasonic root-end preparation. *Journal of endodontics*, 22(4), 157-160. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(96\)80091-4](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(96)80091-4)
- LeROITH, D., WERNER, H., FARIA, T. N., KATO, H., ADAMO, M., & ROBERTS, C. T. (1993). Insulin-like growth factor receptors. Implications for nervous system function. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 692(1), 22-32. <https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.1993.TB26202.X>
- Lesko, L., Jungova, P., Culenova, M., Thurzo, A., & Danisovic, L. (2025). Polymer-Based Scaffolds as an Implantable Material in Regenerative Dentistry: A Review. *Journal of Functional Biomaterials* 2025, Vol. 16, Page 80, 16(3), 80. <https://doi.org/10.3390/JFB16030080>
- Lewitt, M. S., & Boyd, G. W. (2019). The Role of Insulin-Like Growth Factors and Insulin-Like Growth Factor–Binding Proteins in the Nervous System. *Biochemistry Insights*, 12. <https://doi.org/10.1177/1178626419842176>
- Li, J., Sun, K., Chen, Z., Shi, J., Zhou, D., & Xie, G. (2017). A fluorescence biosensor for VEGF detection based on DNA assembly structure switching and isothermal amplification. *Biosensors & bioelectronics*, 89(Pt 2), 964-969. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2016.09.078>
- Li, Q., Pan, S., Dangaria, S. J., Gopinathan, G., Kolokythas, A., Chu, S., Geng, Y., Zhou, Y., & Luan, X. (2013). Platelet-rich fibrin promotes periodontal regeneration and enhances alveolar bone augmentation. *BioMed research international*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/638043>
- Li, Y., Lü, X., Sun, X., Bai, S., Li, S., & Shi, J. (2011). Odontoblast-like cell differentiation and dentin formation induced with TGF- β 1. *Archives of oral biology*, 56(11), 1221-1229. <https://doi.org/10.1016/J.ARCHORALBIO.2011.05.002>
- Liang, Y., Ma, R., Chen, L., Dai, X., Zuo, S., Jiang, W., Hu, N., Deng, Z., & Zhao, W. (2021). Efficacy of i-PRF in regenerative endodontics therapy for mature permanent teeth with pulp

- necrosis: study protocol for a multicentre randomised controlled trial. *Trials*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/S13063-021-05401-7>
- Linde, A. (1995). Dentin Mineralization and the Role of Odontoblasts in Calcium Transport. *Connective Tissue Research*, 33(1-3), 163-170. <https://doi.org/10.3109/03008209509016997>
- Liu, X., Holzwarth, J. M., & Ma, P. X. (2012). Functionalized synthetic biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering. *Macromolecular bioscience*, 12(7), 911-919. <https://doi.org/10.1002/MABI.201100466>
- Lumley, P. J., Walmsley, A. D., & Laird, W. R. E. (1988). An investigation into cavitation activity occurring in endosonic instrumentation. *Journal of dentistry*, 16(3), 120-122. [https://doi.org/10.1016/0300-5712\(88\)90003-6](https://doi.org/10.1016/0300-5712(88)90003-6)
- Lv, H., Chen, Y., Cai, Z., Lei, L., Zhang, M., Zhou, R., & Huang, X. (2018). The efficacy of platelet-rich fibrin as a scaffold in regenerative endodontic treatment: a retrospective controlled cohort study. *BMC oral health*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/S12903-018-0598-Z>
- Lymperi, S., Ligoudistianou, C., Taraslia, V., Kontakiotis, E., & Anastasiadou, E. (2013). Dental Stem Cells and their Applications in Dental Tissue Engineering. *The Open Dentistry Journal*, 7(1), 76. <https://doi.org/10.2174/1874210601307010076>
- Lynch, Edward. (2004). *Ozone : the revolution in dentistry*. Quintessence.
- M, K., B, K., & S, Y. (2001). Effect on the healing of periapical perforations in dogs of the addition of growth factors to calcium hydroxide. *Journal of endodontics*, 27(12), 734-737. <https://doi.org/10.1097/00004770-200112000-00005>
- Madej, P., Plewka, A., Madej, J. A., Nowak, M., Plewka, D., Franik, G., & Golka, D. (2007). Ozonotherapy in an induced septic shock. I. Effect of ozonotherapy on rat organs in evaluation of free radical reactions and selected enzymatic systems. *Inflammation*, 30(1-2), 52-58. <https://doi.org/10.1007/S10753-007-9021-7>
- Malhotra, N., Kundabala, M., & Acharya, S. (2009). Current strategies and applications of tissue engineering in dentistry--a review part 1. *Dental update*, 36(9). <https://doi.org/10.12968/DENU.2009.36.9.577>
- Marending, M., Luder, H. U., Brunner, T. J., Knecht, S., Stark, W. J., & Zehnder, M. (2007). Effect of sodium hypochlorite on human root dentine--mechanical, chemical and structural evaluation. *International endodontic journal*, 40(10), 786-793. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2007.01287.X>
- Martin, D. E., De Almeida, J. F. A., Henry, M. A., Khaing, Z. Z., Schmidt, C. E., Teixeira, F. B., & Diogenes, A. (2014). Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *Journal of endodontics*, 40(1), 51-55. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2013.07.026>
- Martin, G., Ricucci, D., Gibbs, J. L., & Lin, L. M. (2013). Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma. *Journal of endodontics*, 39(1), 138-144. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2012.09.015>
- Martin, H. (1976). Ultrasonic disinfection of the root canal. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*, 42(1), 92-99. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(76\)90035-9](https://doi.org/10.1016/0030-4220(76)90035-9)
- Martin, P. (1997). Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science (New York, N.Y.)*, 276(5309), 75-81. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.276.5309.75>
- Marx, R. E. (2001). Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? *Implant Dentistry*, 10(4), 225-228. <https://doi.org/10.1097/00008505200110000-00002>

- Maslennikov, O. V, Kontorshchikova, C. N., Gribkova, I. A., & Novgorod, N. (2008). O 3 MINISTRY OF HEALTH SERVICE OF THE RUSSIAN FEDERATION THE STATE MEDICAL ACADEMY OF NIZHNY NOVGOROD OZONE THERAPY IN PRACTICE HEALTH MANUAL.
- Massagué, J. (1992). Receptors for the TGF-beta family. *Cell*, 69(7), 1067-1070. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90627-O](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90627-O)
- Matsuo, T., Nakanishi, T., Shimizu, H., & Ebisu, S. (1996). A clinical study of direct pulp capping applied to carious-exposed pulps. *Journal of endodontics*, 22(10), 551-556. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(96\)80017-3](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(96)80017-3)
- Mauersberger, K. (1981). Measurement of heavy ozone in the stratosphere. *Geophysical Research Letters*, 8(8), 935-937. <https://doi.org/10.1029/GL008I008P00935>
- McCulloch, E. A., & Till, J. E. (2005). Perspectives on the properties of stem cells. *Nature Medicine* 2005 11:10, 11(10), 1026-1028. <https://doi.org/10.1038/nm1005-1026>
- Meire, M. A., Bronzato, J. D., Bomfim, R. A., & Gomes, B. P. F. A. (2023). Effectiveness of adjunct therapy for the treatment of apical periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *International endodontic journal*, 56 Suppl 3(S3), 455-474. <https://doi.org/10.1111/IEJ.13838>
- Melin, M., Joffre-Romeas, A., Farges, J. C., Couble, M. L., Magloire, H., & Bleicher, F. (2000). Effects of TGFbeta1 on dental pulp cells in cultured human tooth slices. *Journal of dental research*, 79(9), 1689-1696. <https://doi.org/10.1177/00220345000790090901>
- Merçon, I. R., De Campos, F. U. F., Fontana, C. E., Pelegrine, R. A., De Martin, A. S., & Da Silveira Bueno, C. E. (2023b). Analysis of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite and ozonated water against biofilm in oval canals. *Brazilian dental journal*, 34(3), 33-41. <https://doi.org/10.1590/0103-6440202305318>
- Miron, R. J., Zucchelli, G., Pikos, M. A., Salama, M., Lee, S., Guillemette, V., Fujioka-Kobayashi, M., Bishara, M., Zhang, Y., Wang, H. L., Chandad, F., Nacopoulos, C., Simonpieri, A., Aalam, A. A., Felice, P., Sammartino, G., Ghanaati, S., Hernandez, M. A., & Choukroun, J. (2017). Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clinical Oral Investigations*, 21(6), 1913-1927. <https://doi.org/10.1007/S00784-017-2133-Z/METRICS>
- Mishra, A., Natanasabapathy, V., & Suresh, N. (2022). The influence of sodium hypochlorite concentration on the fibrin structure of human blood clots and transforming growth factor-beta 1 release: an ex vivo study. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 47(4). <https://doi.org/10.5395/RDE.2022.47.E42>
- Mitsiadis, T. A., & Rahiotis, C. (2004). Parallels between tooth development and repair: conserved molecular mechanisms following carious and dental injury. *Journal of dental research*, 83(12), 896-902. <https://doi.org/10.1177/154405910408301202>
- Mohammadi, Z. (2008). Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *International dental journal*, 58(6), 329-341. <https://doi.org/10.1111/J.1875-595X.2008.TB00354.X>
- Mohammadi, Z. (2011). Strategies to manage permanent non-vital teeth with open apices: a clinical update. *International dental journal*, 61(1), 25-30. <https://doi.org/10.1111/J.1875-595X.2011.00005.X>
- Mohammadi, Z., & Dummer, P. M. H. (2011). Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. *International endodontic journal*, 44(8), 697-730. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2011.01886.X>
- Mohammadi, Z., Shalavi, S., Moeintaghavi, A., & Jafarzadeh, H. (2017). A Review Over Benefits and Drawbacks of Combining Sodium Hypochlorite with Other Endodontic Materials. *The Open Dentistry Journal*, 11(1), 661. <https://doi.org/10.2174/1874210601711010661>

- Moorer, W. R., & Wesselink, P. R. (1982). Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *International endodontic journal*, 15(4), 187-196. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.1982.TB01277.X>
- Moraes, M. M., Coelho, M. S., Nascimento, W. M., Nogales, C. G., de Campos, F. U. F., de Jesus Soares, A., & Frozoni, M. (2021). The antimicrobial effect of different ozone protocols applied in severe curved canals contaminated with *Enterococcus faecalis*: ex vivo study. *Odontology*, 109(3), 696-700. <https://doi.org/10.1007/S10266-021-00592-6/TABLES/1>
- Morikawa, M., Derynck, R., & Miyazono, K. (2016). TGF- β and the TGF- β Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 8(5). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A021873>
- 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. <https://doi.org/10.1007/S00784-007-0170-8>
- Moussa, D. G., & Aparicio, C. (2019). Present and future of tissue engineering scaffolds for dentin-pulp complex regeneration. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 13(1), 58-75. <https://doi.org/10.1002/TERM.2769>
- Mouthuy, P. A., El-Sherbini, Y., Cui, Z., & Ye, H. (2016). Layering PLGA-based electrospun membranes and cell sheets for engineering cartilage-bone transition. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 10(4), E263-E274. <https://doi.org/10.1002/TERM.1765>
- Mujawar, A., Pandit, V., Shaikh, S., & Shaikh, B. (2025). The role of chitosan in Regenerative Endodontics: A Review of Current Advances and Future Directions. *IJIRT 173745 INTERNATIONAL JOURNAL OF INNOVATIVE RESEARCH*.
- Mumcu, A. K., Kurnaz, S., Kiraz, G., & Gündüz, M. K. (2024). Comparative effects of 17% ethylenediaminetetraacetic acid and 9% etidronic acid applied with different irrigant activation techniques on the release of growth factors from dentin: in vitro study. *BMC oral health*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/S12903-024-04336-0>
- Murakami, H., Mizuguchi, M., Hattori, M., Ito, Y., Kawai, T., & Hasegawa, J. (2002). Effect of denture cleaner using ozone against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *E. coli* T1 phage. *Dental materials journal*, 21(1), 53-60. <https://doi.org/10.4012/DMJ.21.53>
- Murray, P. E., Garcia-Godoy, F., & Hargreaves, K. M. (2007a). Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for Action. *Journal of Endodontics*, 33(4), 377-390. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2006.09.013>
- Muta, K., & Krantz, S. B. (1993). Apoptosis of human erythroid colony-forming cells is decreased by stem cell factor and insulin-like growth factor I as well as erythropoietin. *Journal of cellular physiology*, 156(2), 264-271. <https://doi.org/10.1002/JCP.1041560207>
- Nada, O. A., & El Backly, R. M. (2018). Stem Cells From the Apical Papilla (SCAP) as a Tool for Endogenous Tissue Regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 6, 103. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2018.00103>
- Naenni, N., Thoma, K., & Zehnder, M. (2004). Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *Journal of endodontics*, 30(11), 785-787. <https://doi.org/10.1097/00004770-200411000-00009>
- Nagata, J. Y., Soares, A. J., Souza-Filho, F. J., Zaia, A. A., Ferraz, C. C. R., Almeida, J. F. A., & Gomes, B. P. F. A. (2014). Microbial evaluation of traumatized teeth treated with triple antibiotic paste or calcium hydroxide with 2% chlorhexidine gel in pulp revascularization. *Journal of endodontics*, 40(6), 778-783. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2014.01.038>

- Nagata, M., Ono, N., & Ono, W. (2020). Unveiling diversity of stem cells in dental pulp and apical papilla using mouse genetic models: a literature review. *Cell and Tissue Research* 383:2, 383(2), 603-616. <https://doi.org/10.1007/S00441-020-03271-0>
- Nagaveni, N. B., Umashankara, K. V., Radhika, N. B., & Manjunath, S. (2010). Successful closure of the root apex in non-vital permanent incisors with wide open apices using single calcium hydroxide (caoh) dressing- report of 2 cases. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 2(1). <https://doi.org/10.4317/JCED.2.E26>
- Nagayoshi, M., Kitamura, C., Fukuizumi, T., Nishihara, T., & Terashita, M. (2004). Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *Journal of endodontics*, 30(11), 778-781. <https://doi.org/10.1097/00004770-200411000-00007>
- Nagendrababu, V., Jayaraman, J., Suresh, A., Kalyanasundaram, S., & Neelakantan, P. (2018). Effectiveness of ultrasonically activated irrigation on root canal disinfection: a systematic review of in vitro studies. *Clinical oral investigations*, 22(2), 655-670. <https://doi.org/10.1007/S00784-018-2345-X>
- Nakashima, M., & Akamine, A. (2005). The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *Journal of endodontics*, 31(10), 711-718. <https://doi.org/10.1097/01.DON.0000164138.49923.E5>
- Nakashima, M., Nagasawa, H., Yamada, Y., & Reddi, A. H. (1994). Regulatory role of transforming growth factor-beta, bone morphogenetic protein-2, and protein-4 on gene expression of extracellular matrix proteins and differentiation of dental pulp cells. *Developmental biology*, 162(1), 18-28. <https://doi.org/10.1006/DBIO.1994.1063>
- Narang, I., Mittal, N., & Mishra, N. (2015). A comparative evaluation of the blood clot, platelet-rich plasma, and platelet-rich fibrin in regeneration of necrotic immature permanent teeth: A clinical study. *Contemporary Clinical Dentistry*, 6(1), 63. <https://doi.org/10.4103/0976-237X.149294>
- Nichols, J., & Smith, A. (2011). The origin and identity of embryonic stem cells. *Development* (Cambridge, England), 138(1), 3-8. <https://doi.org/10.1242/DEV.050831>
- Niu, W., Yoshioka, T., Kobayashi, C., & Suda, H. (2002). A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *International endodontic journal*, 35(11), 934-939. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2591.2002.00594.X>
- Nivedhitha, M. S., Deepak, S., Jacob, B., & Siddique, R. (2020). Scaffolds in Regenerative Endodontics: A Review. *Journal of Operative Dentistry & Endodontics*, 5(2), 88-98. <https://doi.org/10.5005/JP-JOURNALS-10047-0098>
- Niwa, T., Yamakoshi, Y., Yamazaki, H., Karakida, T., Chiba, R., Hu, J. C. C., Nagano, T., Yamamoto, R., Simmer, J. P., Margolis, H. C., & Gomi, K. (2018). The dynamics of TGF- β in dental pulp, odontoblasts and dentin. *Scientific reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-018-22823-7>
- Nogales, C. G., Ferrari, P. H., Kantorovich, E. O., & Lage-Marques, J. L. (2008). Ozone therapy in medicine and dentistry. *The journal of contemporary dental practice*, 9(4), 75-84.
- Noohi, P., Abdekhodaie, M. J., Nekoofar, M. H., Galler, K. M., & Dummer, P. M. H. (2022). Advances in scaffolds used for pulp-dentine complex tissue engineering: A narrative review. *International endodontic journal*, 55(12), 1277-1316. <https://doi.org/10.1111/IEJ.13826>
- Nowicka, A., Miller-Burchacka, M., Lichota, D., Metlerska, J., & Gońda-Domin, M. (2021). Tissue engineering application in regenerative endodontics. *Pomeranian J Life Sci*, 67(2), 10-17. <https://doi.org/10.21164/pomjlifesci.718>
- Nowwarote, N., Petit, S., Ferre, F. C., Dingli, F., Laigle, V., Loew, D., Osathanon, T., & Fournier, B. P. J. (2022). Extracellular Matrix Derived From Dental Pulp Stem Cells Promotes

- Mineralization. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2021.740712>
- Nygaard-Ostby, B., & Hjortdal, O. (1971). Tissue formation in the root canal following pulp removal. *Scandinavian journal of dental research*, 79(5), 333-349. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0722.1971.TB02019.X>
- Ogino, Y., Ayukawa, Y., Kukita, T., & Koyano, K. (2006). The contribution of platelet-derived growth factor, transforming growth factor-beta1, and insulinlike growth factor-I in platelet-rich plasma to the proliferation of osteoblastlike cells. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101(6), 724-729. <https://doi.org/10.1016/J.TRIPLEO.2005.08.016>
- Op Heij, D. G., Opdebeeck, H., Van Steenberghe, D., & Quirynen, M. (2003). Age as compromising factor for implant insertion. *Periodontology* 2000, 33, 172-184. <https://doi.org/10.1046/J.0906-6713.2003.03314.X>
- Ordinola-Zapata, R., Bramante, C. M., Cavenago, B., Graeff, M. S. Z., Gomes de Moraes, I., Marciano, M., & Duarte, M. A. H. (2012). Antimicrobial effect of endodontic solutions used as final irrigants on a dentine biofilm model. *International endodontic journal*, 45(2), 162-168. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2011.01959.X>
- Ørstavik, D., & Haapasalo, M. (1990). Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endodontics & dental traumatology*, 6(4), 142-149. <https://doi.org/10.1111/J.1600-9657.1990.TB00409.X>
- Ostby, B. N. (1961). The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. *Acta odontologica Scandinavica*, 19, 324-353. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14482575>
- Ostby, N. (1957) Chelation in root canal therapy. *Odontologisk Tidskrift*, 65, 3-11. - References - Scientific Research Publishing. (t.y.). Geliş tarihi 12 Ağustos 2025, gönderen <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=456960>
- Ozbay, Y., & Erdemir, A. (2018). Effect of several laser systems on removal of smear layer with a variety of irrigation solutions. *Microscopy research and technique*, 81(10), 1214-1222. <https://doi.org/10.1002/JEMT.23122>
- Paraskeva, P., & Graham, N. J. D. (2002). Ozonation of municipal wastewater effluents. *Water environment research : a research publication of the Water Environment Federation*, 74(6), 569-581. <https://doi.org/10.2175/106143002X140387>
- Park, E. (2013). Ultrasonics in endodontics. *Endodontic Topics*, 29(1), 125-159. <https://doi.org/10.1111/ETP.12044>
- Pasalkar, L., Mishra, S. S., & Channe, P. (2024). Gaseous Ozone-Treated Human Dental Pulp Stem Cells Secretome Enhances Angiogenesis in a Chick Embryo Model. *Journal Bulletin of Stomatology and Maxillofacial Surgery*, 20(2), 5-14. <https://doi.org/10.58240/1829006X-2024.2-5>
- Patel, B. (2016). Apexogenesis, Apexification, Revascularization and Endodontic Regeneration. *Endodontic Treatment, Retreatment, and Surgery: Mastering Clinical Practice*, 205-223. https://doi.org/10.1007/978-3-319-19476-9_9
- Pattanaik, B., Jetwa, D., Pattanaik, S., Manglekar, S., Naitam, D., & Dani, A. (2011). Ozone therapy in dentistry: A literature review. *Journal of Interdisciplinary Dentistry*, 1(2), 87. <https://doi.org/10.4103/2229-5194.85024>
- Patterson, S. S. (1963). In vivo and in vitro studies of the effect of the disodium slat of ethylenediamine tetra-acetate on human dentine and its endodontic implications. *Oral surgery*,

- oral medicine, and oral pathology, 16(1), 83-103. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(63\)90367-0](https://doi.org/10.1016/0030-4220(63)90367-0)
- Paulesu, L., Luzzi, E., & Bocci, V. (1991). Studies on the biological effects of ozone: 2. Induction of tumor necrosis factor (TNF-alpha) on human leucocytes. Lymphokine and cytokine research, 10(5), 409-412.
- Pavlovic, V., Ciric, M., Jovanovic, V., Trandafilovic, M., & Stojanovic, P. (2021). Platelet-rich fibrin: Basics of biological actions and protocol modifications. Open Medicine, 16(1), 446. <https://doi.org/10.1515/MED-2021-0259>
- Perdigão, J., Lopes, M., Geraldeli, S., Lopes, G. C., & García-Godoy, F. (2000). Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. Dental Materials, 16(5), 311-323. [https://doi.org/10.1016/S0109-5641\(00\)00021-X](https://doi.org/10.1016/S0109-5641(00)00021-X)
- Pociask, D., Sime, P. & Brody, A. Asbestos-derived reactive oxygen species Activate TGF-β1. Lab Invest 84, 1013–1023 (2004).
- Pladisai, P., Ampornaramveth, R. S., & Chivatxaranukul, P. (2016). Effectiveness of Different Disinfection Protocols on the Reduction of Bacteria in Enterococcus faecalis Biofilm in Teeth with Large Root Canals. Journal of endodontics, 42(3), 460-464. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2015.12.016>
- Prentice, D. A. (2019a). Adult Stem Cells. Circulation research, 124(6), 837-839. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313664>
- Priya Paul, M., Amin, S., Mayya, A., & Naik, R. (2020). Platelet rich fibrin in regenerative endodontics: An update. ~ 25 ~ International Journal of Applied Dental Sciences, 6(2), 25-29. www.oraljournal.com
- Raddall, G., Mello, I., & Leung, B. M. (2019a). Biomaterials and Scaffold Design Strategies for Regenerative Endodontic Therapy. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 7, 317. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2019.00317>
- Rafter, M. (2005). Apexification: A review. Dental Traumatology, 21(1), 1-8. <https://doi.org/10.1111/J.1600-9657.2004.00284.X>
- Rainwater, A., Jeansonne, B. G., & Sarkar, N. (2000). Effects of ultrasonic rootend preparation on microcrack formation and leakage. Journal of endodontics, 26(2), 72-75. <https://doi.org/10.1097/00004770-200002000-00003>
- Rasimick, B. J., Nekich, M., Hladek, M. M., Musikant, B. L., & Deutsch, A. S. (2008). Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA. Journal of endodontics, 34(12), 1521-1523. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2008.08.039>
- Rebentish, P. D., Umashetty, G., Kaur, H., Doizode, T., Kaslekar, M., & Chowdhury, S. (2016). Platelet-rich fibrin: a boon in regenerative endodontics. Minerva stomatologica, 65(6), 385-392. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27711028/>
- Reddy, K. S., Datta Prasad, S., Durga Sirisha, P., & Prashanth, V. (2015). Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Ozonated Sesame Oil, Calcium Hydroxide and their Combination as Intracanal Medicament against Candida Albicans: An in-vitro study. Human Biology Research Article Adv Hum Biol, 5(2), 78-87. www.aihbonline.com
- Reddy, R., Amara, S., Tatapudi, R., Koppolu, P., Nimma, V., & Reddy, R. (2013). Awareness and attitude towards maintenance of oral health during pregnancy among patients and clinicians attending obstetrics and gynecology ward. Journal of Dr. NTR University of Health Sciences, 2(2), 102. <https://doi.org/10.4103/2277-8632.112334>
- Redondo, P. A., Pavlou, M., Loizidou, M., & Cheema, U. (2017). Elements of the niche for adult stem cell expansion. Journal of Tissue Engineering, 8.

https://doi.org/10.1177/2041731417725464/ASSET/49BB5AA0-E5E4-4C7E-866C-478EF2B111A0/ASSETS/IMAGES/LARGE/10.1177_2041731417725464-FIG1.JPG

- Remondino, M., & Valdenassi, L. (2018). Different Uses of Ozone: Environmental and Corporate Sustainability. Literature Review and Case Study. *Sustainability* 2018, Vol. 10, Page 4783, 10(12), 4783. <https://doi.org/10.3390/SU10124783>
- Retsas, A., Dijkstra, R. J. B., van der Sluis, L., & Boutsoukis, C. (2022). The Effect of the Ultrasonic Irrigant Activation Protocol on the Removal of a Dualspecies Biofilm from Artificial Lateral Canals. *Journal of endodontics*, 48(6), 775-780. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2022.03.005>
- Rezaeianjam, M., Khabazian, A., Khabazian, T., Ghorbani, F., Abbasi, T., Asghari, S., Heidari, F., Shiri, A., & Naderi, M. (2025). Efficacy of ozone therapy in dentistry with approach of healing, pain management, and therapeutic outcomes: a systematic review of clinical trials. *BMC oral health*, 25(1). <https://doi.org/10.1186/S12903-025-05790-0>
- Ring, K. C., Murray, P. E., Namerow, K. N., Kuttler, S., & Garcia-Godoy, F. (2008). The comparison of the effect of endodontic irrigation on cell adherence to root canal dentin. *Journal of endodontics*, 34(12), 1474-1479. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2008.09.001>
- Rippon, H. J., & Bishop, A. E. (2004). Embryonic stem cells. *Cell Proliferation*, 37(1), 23-34. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2184.2004.00298.X>
- Roberts-Clark, D. J., & Smith, A. J. (2000a). Angiogenic growth factors in human dentine matrix. *Archives of oral biology*, 45(11), 1013-1016. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(00\)00075-3](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(00)00075-3)
- Rossi-Fedele, G., Steier, L., Dogramaci, E. J., Canullo, L., Steier, G., & de Figueiredo, J. A. P. (2013). Bovine pulp tissue dissolution ability of HealOzone®, Aquatane Alpha Electrolyte® and sodium hypochlorite. *Australian endodontic journal : the journal of the Australian Society of Endontology Inc*, 39(2), 5761. <https://doi.org/10.1111/J.17474477.2010.00287.X>
- Roy, R. A., Ahmad, M., & Crum, L. A. (1994). Physical mechanisms governing the hydrodynamic response of an oscillating ultrasonic file. *International endodontic journal*, 27(4), 197-207. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.1994.TB00254.X>
- Rule, D., & Winter, G. B. (1966). Root growth and apical repair subsequent to pulpal necrosis in children. *British Dental Journal*.
- Sabeti, M., Ghobrial, D., Zanjir, M., da Costa, B. R., Young, Y., & Azarpazhooh, A. (2024). Treatment outcomes of regenerative endodontic therapy in immature permanent teeth with pulpal necrosis: A systematic review and network meta-analysis. *International endodontic journal*, 57(3), 238-255. <https://doi.org/10.1111/IEJ.13999>
- Saha, S. G., Sharma, V., Bharadwaj, A., Shrivastava, P., Saha, M. K., Dubey, S., Kala, S., & Gupta, S. (2017). Effectiveness of Various Endodontic Irrigants on the Micro-Hardness of the Root Canal Dentin: An in vitro Study. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 11(4), ZC01-ZC04. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/24018.9472>
- Salighehrad, M., Kiani, K., Fazlyab, M., & Monem Moharrer, S. (2025). Scaffolds in Regenerative Endodontic Procedures: A Comprehensive Review. <https://doi.org/10.20944/PREPRINTS202506.0223.V1>
- Sanjeevi, J., & Kumar, M. P. S. (2019). Ozone therapy in dentistry. *Drug Invention Today*, 12(1), 154-157. <https://openurl.ebsco.com/contentitem/asn:134240967?sid=ebsco:plink:crawler&id=ebsco:asn:134240967&crl=c>
- Seidler, V., Linetskiy, I., Hubáľková, H., Stanková, H., Smucler, R., & Mazánek, J. (2008). Ozone and its usage in general medicine and dentistry. A review article. *Prague medical report*, 109(1), 5-13.

- Sequeira, D. B., Diogo, P., Gomes, B. P. F. A., Peça, J., & Santos, J. M. M. (2023a). Scaffolds for Dentin–Pulp Complex Regeneration. *Medicina*, 60(1), 7. <https://doi.org/10.3390/MEDICINA60010007>
- Shabahang, S. (2013). Treatment options: apexogenesis and apexification. *Journal of endodontics*, 39(3 Suppl). <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2012.11.046>
- Shaharudin, A., & Aziz, Z. (2016). Effectiveness of hyaluronic acid and its derivatives on chronic wounds: a systematic review. *Journal of wound care*, 25(10), 585-592. <https://doi.org/10.12968/JOWC.2016.25.10.585>
- Shan, B. H., & Wu, F. G. (2024). Hydrogel-Based Growth Factor Delivery Platforms: Strategies and Recent Advances. *Advanced materials* (Deerfield Beach, Fla.), 36(5). <https://doi.org/10.1002/ADMA.202210707>
- Sheehy, E. C., & Roberts, G. J. (1997). Use of calcium hydroxide for apical barrier formation and healing in non-vital immature permanent teeth: a review. *British dental journal*, 183(7), 241-246. <https://doi.org/10.1038/SJ.BDJ.4809477>
- Sheikh, Z., Najeeb, S., Khurshid, Z., Verma, V., Rashid, H., & Glogauer, M. (2015). Biodegradable Materials for Bone Repair and Tissue Engineering Applications. *Materials* (Basel,Switzerland), 8(9), 5744-5794. <https://doi.org/10.3390/MA8095273>
- Shukla, V., Vaissière, T., & Herceg, Z. (2008). Histone acetylation and chromatin signature in stem cell identity and cancer. *Mutation research*, 637(1-2), 1-15. <https://doi.org/10.1016/J.MRFMMM.2007.07.012>
- Sim, T. P. C., Knowles, J. C., Ng, Y. L., Shelton, J., & Gulabivala, K. (2001). Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *International endodontic journal*, 34(2), 120-132. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2591.2001.00357.X>
- Simon, S. R. J., Tomson, P. L., & Berdal, A. (2014). Regenerative endodontics: regeneration or repair? *Journal of endodontics*, 40(4 Suppl). <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2014.01.024>
- Simon, S., Rilliard, F., Berdal, A., & Machtou, P. (2007). The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. *International endodontic journal*, 40(3), 186-197. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2007.01214.X>
- Sinha, N., Asthana, G., Parmar, G., Langaliya, A., Shah, J., Kumbhar, A., & Singh, B. (2021). Evaluation of Ozone Therapy in Endodontic Treatment of Teeth with Necrotic Pulp and Apical Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. *Journal of Endodontics*, 47(12), 1820-1828. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2021.09.006>
- Siqueira, J. F., & Rôças, I. N. (2011). Optimising single-visit disinfection with supplementary approaches: a quest for predictability. *Australian endodontic journal: the journal of the Australian Society of Endodontology Inc*, 37(3), 92-98. <https://doi.org/10.1111/J.1747-4477.2011.00334.X>
- Siqueira, J. F., Rôças, I. N., Favieri, A., & Lima, K. C. (2000). Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *Journal of endodontics*, 26(6), 331-334. <https://doi.org/10.1097/00004770-200006000-00006>
- Sirtes, G., Waltimo, T., Schaetzle, M., & Zehnder, M. (2005). The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy. *Journal of endodontics*, 31(9), 669-671. <https://doi.org/10.1097/01.DON.0000153846.62144.D2>
- Sloan, A. J., & Smith, A. J. (1999). Stimulation of the dentine-pulp complex of rat incisor teeth by transforming growth factor- β isoforms 1-3 in vitro. *Archives of Oral Biology*, 44(2), 149-156. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(98\)00106-X](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(98)00106-X)

- Smith, A. J., Duncan, H. F., Diogenes, A., Simon, S., & Cooper, P. R. (2016). Exploiting the Bioactive Properties of the Dentin-Pulp Complex in Regenerative Endodontics. *Journal of endodontics*, 42(1), 47-56. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2015.10.019>
- Smith, A. J., Lumley, P. J., Tomson, P. L., & Cooper, P. R. (2008). Dental regeneration and materials: a partnership. *Clinical oral investigations*, 12(2), 103-108. <https://doi.org/10.1007/S00784-008-0189-5>
- Smith, A. J., Matthews, J. B., & Hall, R. C. (1998). Transforming growth factorbeta1 (TGF-beta1) in dentine matrix. Ligand activation and receptor expression. *European journal of oral sciences*, 106 Suppl 1(1 SUPPL.), 179-184. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0722.1998.TB02173.X>
- Smith, P. C., Martínez, C., Cáceres, M., & Martínez, J. (2015). Research on growth factors in periodontology. *Periodontology 2000*, 67(1), 234-250. <https://doi.org/10.1111/PRD.12068>
- Solis-Castro, O. O., Rivolta, M. N., & Boissonade, F. M. (2022). Neural CrestDerived Stem Cells (NCSCs) Obtained from Dental-Related Stem Cells (DRSCs): A Literature Review on Current Knowledge and Directions toward Translational Applications. *International Journal of Molecular Sciences* 2022, Vol. 23, Page 2714, 23(5), 2714. <https://doi.org/10.3390/IJMS23052714>
- Sonoyama, W., Liu, Y., Fang, D., Yamaza, T., Seo, B. M., Zhang, C., Liu, H., Gronthos, S., Wang, C. Y., Shi, S., & Wang, S. (2006). Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in Swine. *PLoS ONE*, 1(1). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0000079>
- Sonoyama, W., Liu, Y., Yamaza, T., Tuan, R. S., Wang, S., Shi, S., & Huang, G. T. J. (2008a). Characterization of the Apical Papilla and Its Residing Stem Cells from Human Immature Permanent Teeth: A Pilot Study. *Journal of Endodontics*, 34(2), 166-171. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2007.11.021>
- Soudi, A., Yazdani, M., Ranjbar, R., Tebyanian, H., Yazdani, A., Tahmasebi, E., Keshvad, A., & Seifalian, A. (2021). Role and application of stem cells in dental regeneration: A comprehensive overview. *EXCLI Journal*, 20, 454. <https://doi.org/10.17179/EXCLI2021-3335>
- Souto, G. D., Farhane, Z., Casey, A., Efeoglu, E., McIntyre, J., & Byrne, H. J. (2016). Evaluation of cytotoxicity profile and intracellular localisation of doxorubicin-loaded chitosan nanoparticles. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 408(20), 5443-5455. <https://doi.org/10.1007/S00216-016-9641-6>
- Stefańska, K., Volponi, A. A., Kulus, M., Waśko, J., Farzaneh, M., Grzelak, J., Azizidoost, S., Mozdziak, P., Bukowska, D., Antosik, P., Zabel, M., Podhorska-Okolów, M., Dzięgiel, P., Szcześniak, M., Woszczyk, M., & Kempisty, B. (2024a). Dental pulp stem cells – A basic research and future application in regenerative medicine. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 178, 116990. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2024.116990>
- Stoll, R., Venne, L., Jablonski-Momeni, A., Mutters, R., & Stachniss, V. (2008). The disinfecting effect of ozonized oxygen in an infected root canal: an in vitro study. *Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)*, 39(3), 231-236.
- Stübinger, S., Sader, R., & Filippi, A. (2006). The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review. *Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)*, 37(5), 353-359.
- Sugiaman, V. K., Djuanda, R., Pranata, N., Naliani, S., Demolsky, W. L., & Jeffrey. (2022). Tissue Engineering with Stem Cell from Human Exfoliated Deciduous
- Teeth (SHED) and Collagen Matrix, Regulated by Growth Factor in Regenerating the Dental Pulp. *Polymers*, 14(18). <https://doi.org/10.3390/POLYM14183712>

- Sugiaman, V. K., Jeffrey, Naliani, S., Pranata, N., Djuanda, R., & Saputri, R. I. (2023). Polymeric Scaffolds Used in Dental Pulp Regeneration by Tissue Engineering Approach. *Polymers* 2023, Vol. 15, Page 1082, 15(5), 1082. <https://doi.org/10.3390/POLYM15051082>
- Suh, Y., Patel, S., Kaitlyn, R., Gandhi, J., Joshi, G., Smith, N., & Khan, S. (2019). Clinical utility of ozone therapy in dental and oral medicine. *Medical gas research*, 9(3), 163-167. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.266997>
- Sui, B., Wu, D., Xiang, L., Fu, Y., Kou, X., & Shi, S. (2020). Dental Pulp Stem Cells: From Discovery to Clinical Application. *Journal of Endodontics*, 46(9), S46-S55. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2020.06.027>
- Sukarawan, W., Osathanon, T., Sukarawan, W., & Osathanon, T. (2017). Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth: Biology and Therapeutic Potential. *Mesenchymal Stem Cells - Isolation, Characterization and Applications*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.68173>
- Sumita, Y., Honda, M. J., Ohara, T., Tsuchiya, S., Sagara, H., Kagami, H., & Ueda, M. (2006). Performance of collagen sponge as a 3-D scaffold for tooth-tissue engineering. *Biomaterials*, 27(17), 3238-3248. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2006.01.055>
- Suzuki, T., Oizumi, M., Furuya, J., Okamoto, Y., & Rosenstiel, S. F. (1999). Influence of ozone on oxidation of dental alloys. *The International journal of prosthodontics*, 12(2), 179-183.
- Şahin, F., Saydam, G., Omay, B., Üniversitesi, E., Fakültesi, T., & Dal, H. B. (2005). STEM CELL PLASTICITY AND STEM CELL TREATMENT IN CLINICAL PRACTICE. *International Journal of Hematology and Oncology*, 35(1), 048-056. http://uhod.org/summary_en.php3?id=9
- Takahashi, K., Yamane, A., Bringas, P., Caton, J., Slavkin, H. C., & ZeichnerDavid, M. (1998). Induction of amelogenin and ameloblastin by insulin and insulin-like growth factors (IGF-I and IGF-II) during embryonic mouse tooth development in vitro. *Connective tissue research*, 38(1-4), 269-278. <https://doi.org/10.3109/03008209809017047>
- Takahashi, N., & Nyvad, B. (2016). Ecological Hypothesis of Dentin and Root Caries. *Caries Research*, 50(4), 422-431. <https://doi.org/10.1159/000447309>
- Tartari, T., Bachmann, L., Zancan, R. F., Vivan, R. R., Duarte, M. A. H., & Bramante, C. M. (2018). Analysis of the effects of several decalcifying agents alone and in combination with sodium hypochlorite on the chemical composition of dentine. *International endodontic journal*, 51 Suppl 1, e42e54. <https://doi.org/10.1111/IEJ.12764>
- Taweewattanapaisan, P., Jantararat, J., Ounjai, P., & Janebodin, K. (2019). The Effects of EDTA on Blood Clot in Regenerative Endodontic Procedures. *Journal of endodontics*, 45(3), 281-286. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2018.10.010>
- Thesleff, I., & Åberg, T. (1997). Tooth Morphogenesis and the Differentiation of Ameloblasts. *CIBA Foundation Symposia*, 205, 3-17. <https://doi.org/10.1002/9780470515303.CH2>
- Thesleff, I., & Sharpe, P. (1997). Signalling networks regulating dental development. *Mechanisms of Development*, 67(2), 111-123. [https://doi.org/10.1016/S0925-4773\(97\)00115-9](https://doi.org/10.1016/S0925-4773(97)00115-9)
- Tian, Z., Yu, T., Liu, J., Wang, T., & Higuchi, A. (2023). Introduction to stem cells. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 199, 3-32. <https://doi.org/10.1016/BS.PMBTS.2023.02.012>
- Tie, Y., Tang, F., Peng, D., Zhang, Y., & Shi, H. (2022). TGF-beta signal transduction: biology, function and therapy for diseases. <https://doi.org/10.1186/s43556-022-00109-9>
- Tomson, P. L., Grover, L. M., Lumley, P. J., Sloan, A. J., Smith, A. J., & Cooper, P. R. (2007). Dissolution of bio-active dentine matrix components by mineral trioxide aggregate. *Journal of dentistry*, 35(8), 636-642. <https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2007.04.008>

- Tonomura, A., Mizuno, D., Hisada, A., Kuno, N., Ando, Y., Sumita, Y., Honda, M. J., Satomura, K., Sakurai, H., Ueda, M., & Kagami, H. (2010). Differential effect of scaffold shape on dentin regeneration. *Annals of biomedical engineering*, 38(4), 1664-1671. <https://doi.org/10.1007/S10439-010-9910-Z>
- Torabinejad, M., Watson, T. F., & Pitt Ford, T. R. (1993). Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *Journal of endodontics*, 19(12), 591-595. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80271-2](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80271-2)
- Trevino, E. G., Patwardhan, A. N., Henry, M. A., Perry, G., Dybdal-Hargreaves, N., Hargreaves, K. M., & Diogenes, A. (2011). Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. *Journal of endodontics*, 37(8), 1109-1115. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2011.05.013>
- Tsutsui, T. W. (2020). <p>Dental Pulp Stem Cells: Advances to Applications</p>. *Stem Cells and Cloning: Advances and Applications*, 13, 33-42. <https://doi.org/10.2147/SCCAA.S166759>
- Tziafas, D., & Kodonas, K. (2010). Differentiation potential of dental papilla, dental pulp, and apical papilla progenitor cells. *Journal of endodontics*, 36(5), 781-789. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2010.02.006>
- Ulusoy, A. T., Turedi, I., Cimen, M., & Cehreli, Z. C. (2019). Evaluation of Blood Clot, Platelet-rich Plasma, Platelet-rich Fibrin, and Platelet Pellet as Scaffolds in Regenerative Endodontic Treatment: A Prospective Randomized Trial. *Journal of Endodontics*, 45(5), 560-566. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2019.02.002>
- Ulusoy, Ö. I. A., & Görgül, G. (2013). Effects of different irrigation solutions on root dentine microhardness, smear layer removal and erosion. *Australian endodontic journal : the journal of the Australian Society of Endodontology Inc*, 39(2), 66-72. <https://doi.org/10.1111/J.1747-4477.2010.00291.X>
- Um, I. W., Kim, Y. K., & Mitsugi, M. (2017). Demineralized dentin matrix scaffolds for alveolar bone engineering. *The Journal of the Indian Prosthodontic Society*, 17(2), 120. https://doi.org/10.4103/JIPS.JIPS_62_17
- Unterbrink, A., O'Sullivan, M., Chen, S., & MacDougall, M. (2002). TGF beta-1 downregulates DMP-1 and DSPP in odontoblasts. *Connective tissue research*, 43(2-3), 354-358. <https://doi.org/10.1080/03008200290000565>
- Valacchi, G., Fortino, V., & Bocci, V. (2005). The dual action of ozone on the skin. *The British journal of dermatology*, 153(6), 1096-1100. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2133.2005.06939.X>
- Van Der Sluis, L. W. M., Versluis, M., Wu, M. K., & Wesselink, P. R. (2007). Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. *International endodontic journal*, 40(6), 415-426. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2007.01243.X>
- Verdelis, K., Eliades, G., Oviir, T., & Margelos, J. (1999). Effect of chelating agents on the molecular composition and extent of decalcification at cervical, middle and apical root dentin locations. *Endodontics & dental traumatology*, 15(4), 164-170. <https://doi.org/10.1111/J.1600-9657.1999.TB00795.X>
- Verfaillie, C. M., Pera, M. F., & Lansdorp, P. M. (2002). Stem cells: hype and reality. *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 369-391. <https://doi.org/10.1182/ASHEDUCATION-2002.1.369>
- Verhaagen, B., Boutsoukis, C., van der Sluis, L. W. M., & Versluis, M. (2014). Acoustic streaming induced by an ultrasonically oscillating endodontic file. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 135(4), 1717-1730. <https://doi.org/10.1121/1.4868397>

- Vertucci, F. J. (1984). Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*, 58(5), 589-599. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(84\)90085-9](https://doi.org/10.1016/0030-4220(84)90085-9)
- Violich, D. R., & Chandler, N. P. (2010). The smear layer in endodontics - a review. *International endodontic journal*, 43(1), 2-15. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2009.01627.X>
- Volponi, A. A., Pang, Y., & Sharpe, P. T. (2010). Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. *Trends in cell biology*, 20(12), 715-722. <https://doi.org/10.1016/J.TCB.2010.09.012>
- von der Fehr, F. R., & Östby, B. N. (1963). Effect of edtac and sulfuric acid on root canal dentine. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 16(2), 199-205. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(63\)90033-1](https://doi.org/10.1016/0030-4220(63)90033-1)
- von Gunten U. (2003). Ozonation of drinking water: part I. Oxidation kinetics and productformation. *Waterresearch*, 37(7), 1443-1467. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00457-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00457-8)
- Wagers, A. J., & Weissman, I. L. (2004). Plasticity of Adult Stem Cells. *Cell*, 116(5), 639-648. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00208-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00208-9)
- Wahl, S. M. (1992). Transforming growth factor beta (TGF-beta) in inflammation: a cause and a cure. *Journal of clinical immunology*, 12(2), 61-74. <https://doi.org/10.1007/BF00918135>
- Walmsley, A. D., Lea, S. C., Felver, B., King, D. C., & Price, G. J. (2013). Mapping cavitation activity around dental ultrasonic tips. *Clinical oral investigations*, 17(4), 1227-1234. <https://doi.org/10.1007/S00784-012-0802-5>
- Walsh, L. J., & George, R. (2017). Activation of Alkaline Irrigation Fluids in Endodontics. *Materials (Basel, Switzerland)*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/MA10101214>
- Wang, S., Mu, J., Fan, Z., Yu, Y., Yan, M., Lei, G., Tang, C., Wang, Z., Zheng, Y., Yu, J., & Zhang, G. (2012). Insulin-like growth factor 1 can promote the osteogenic differentiation and osteogenesis of stem cells from apical papilla. *Stem Cell Research*, 8(3), 346-356. <https://doi.org/10.1016/J.SCR.2011.12.005>
- Waterhouse PJ, W. J. C. J. F.A. (2011). *Pediatric endodontics: endodontic treatment for the primary and young permanent dentition (Pathways of the pulp, Ed.; 10.)*. Mosby Elsevier.
- Wattanapakkavong, K., & Srisuwan, T. (2019). Release of Transforming Growth Factor Beta 1 from Human Tooth Dentin after Application of Either ProRoot MTA or Biodentine as a Coronal Barrier. *Journal of endodontics*, 45(6), 701-705. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2019.03.011>
- Wei, C., Zhang, F., Hu, Y., Feng, C., & Wu, H. (2017). Ozonation in water treatment: the generation, basic properties of ozone and its practical application. *Reviews in Chemical Engineering*, 33(1), 49-89. <https://doi.org/10.1515/REVCE-2016-0008>
- Wei, X., Yang, M., Yue, L., Huang, D., Zhou, X., Wang, X., Zhang, Q., Qiu, L., Huang, Z., Wang, H., Meng, L., Li, H., Chen, W., Zou, X., & Ling, J. (2022a). Expert consensus on regenerative endodontic procedures. *International Journal of Oral Science* 2023 14:1, 14(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41368-022-00206-z>
- Weissman, I. L. (2000). Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell*, 100(1), 157-168. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81692-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81692-X)
- Weller, R. N., Brady, J. M., & Bernier, W. E. (1980). Efficacy of ultrasonic cleaning. *Journal of endodontics*, 6(9), 740-743. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(80\)80185-3](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(80)80185-3)
- Widbiller, M., Eidt, A., Hiller, K. A., Buchalla, W., Schmalz, G., & Galler, K. M. (2017). Ultrasonic activation of irrigants increases growth factor release from human dentine. *Clinical oral investigations*, 21(3), 879-888. <https://doi.org/10.1007/S00784-016-1824-1>

- Wigler, R., Kaufman, A. Y., Lin, S., Steinbock, N., Hazan-Molina, H., & Torneck, C. D. (2013). Revascularization: a treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development. *Journal of endodontics*, 39(3), 319-326. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2012.11.014>
- Wikström, A., Brundin, M., Lopes, M. F., El Sayed, M., & Tsilingaridis, G. (2021). What is the best long-term treatment modality for immature permanent teeth with pulp necrosis and apical periodontitis? *European archives of paediatric dentistry : official journal of the European Academy of Paediatric Dentistry*, 22(3), 311-340. <https://doi.org/10.1007/S40368-020-00575-1>
- Witherspoon, D. E., & Ham, K. (2001). One-visit apexification: technique for inducing root-end barrier formation in apical closures. *Practical Procedures & Aesthetic Dentistry : PPAD*, 13(6), 455-460; quiz 462. <https://europepmc.org/article/med/11544818>
- Worku, M. G. (2021). <p>Pluripotent and Multipotent Stem Cells and Current Therapeutic Applications: Review</p>. *Stem Cells and Cloning: Advances and Applications*, 14, 3-7. <https://doi.org/10.2147/SCCAA.S304887>
- Wu, D., Gao, T., Lei, L., Yang, D., Mao, X., & Li, G. (2016). Colorimetric detection of proteins based on target-induced activation of aptazyme. *Analytica chimica acta*, 942, 68-73. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2016.09.010>
- Wu, D. T., Munguia-Lopez, J. G., Cho, Y. W., Ma, X., Song, V., Zhu, Z., & Tran, S. D. (2021). Polymeric Scaffolds for Dental, Oral, and Craniofacial Regenerative Medicine. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(22). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26227043>
- Xie, Z., Shen, Z., Zhan, P., Yang, J., Huang, Q., Huang, S., Chen, L., & Lin, Z. (2021a). Functional Dental Pulp Regeneration: Basic Research and Clinical Translation. *International journal of molecular sciences*, 22(16). <https://doi.org/10.3390/IJMS22168991>
- Xiong, Y., Shen, T., & Xie, X. (2022). Effects of different methods of demineralized dentin matrix preservation on the proliferation and differentiation of human periodontal ligament stem cells. *Journal of Dental Sciences*, 17(3), 1135-1143. <https://doi.org/10.1016/J.JDS.2022.01.007>
- Xu, J., Gou, L., Zhang, P., Li, H., & Qiu, S. (2020). Platelet-rich plasma and regenerative dentistry. *Australian dental journal*, 65(2), 131-142. <https://doi.org/10.1111/ADJ.12754>
- Yan, L., Sun, S., & Qu, L. (2017). Insulin-like growth factor-1 promotes the proliferation and odontoblastic differentiation of human dental pulp cells under high glucose conditions. *International journal of molecular medicine*, 40(4), 1253-1260. <https://doi.org/10.3892/IJMM.2017.3117>
- Yeomans, J. D., & Urist, M. R. (1967). Bone induction by decalcified dentine implanted into oral, osseous and muscle tissues. *Archives of oral biology*, 12(8). [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(67\)90095-7](https://doi.org/10.1016/0003-9969(67)90095-7)
- Yeşilsoy, C. (1990). Article in Quintessence International. <https://www.researchgate.net/publication/21060891>
- Youssef, A., Ali, M., ElBolok, A., & Hassan, R. (2022). Regenerative endodontic procedures for the treatment of necrotic mature teeth: A preliminary randomized clinical trial. *International Endodontic Journal*, 55(4), 334-346. <https://doi.org/10.1111/IEJ.13681>
- Yu, S., Li, J., Zhao, Y., Li, X., & Ge, L. (2020). Comparative Secretome Analysis of Mesenchymal Stem Cells From Dental Apical Papilla and Bone Marrow During Early Odonto/Osteogenic Differentiation: Potential Role of Transforming Growth Factor-β2. *Frontiers in Physiology*, 11, 513720. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2020.00041/BIBTEX>

- Yu, T., & Klein, O. D. (2020). Molecular and cellular mechanisms of tooth development, homeostasis and repair. *Development* (Cambridge, England), 147(2), dev184754. <https://doi.org/10.1242/DEV.184754>
- Yuan, X., Zhu, W., Yang, Z., He, N., Chen, F., Han, X., & Zhou, K. (2024). Recent Advances in 3D Printing of Smart Scaffolds for Bone Tissue Engineering and Regeneration. *Advanced materials* (Deerfield Beach, Fla.), 36(34). <https://doi.org/10.1002/ADMA.202403641>
- Zehnder, M. (2006). Root canal irrigants. *Journal of endodontics*, 32(5), 389-398. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2005.09.014>
- Zeng, Q., Nguyen, S., Zhang, H., Chebrolu, H. P., Alzebedeh, D., Badi, M. A., Kim, J. R., Ling, J., & Yang, M. (2016a). Release of Growth Factors into Root Canal by Irrigations in Regenerative Endodontics. *Journal of endodontics*, 42(12), 1760-1766. <https://doi.org/10.1016/J.JOEN.2016.04.029>
- Zhang, J., Guan, M., Xie, C., Luo, X., Zhang, Q., & Xue, Y. (2014a). Increased Growth Factors Play a Role in Wound Healing Promoted by Noninvasive Oxygen-Ozone Therapy in Diabetic Patients with Foot Ulcers. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/273475>
- Zhang, L., Morsi, Y., Wang, Y., Li, Y., & Ramakrishna, S. (2013). Review scaffold design and stem cells for tooth regeneration. *Japanese Dental Science Review*, 49(1), 14-26. <https://doi.org/10.1016/J.JDSR.2012.09.001>
- Zhang, N., Chen, B., Wang, W., Chen, C., Kang, J., Deng, S. Q., Zhang, B., Liu, S., & Han, F. (2016a). Isolation, characterization and multi-lineage differentiation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Molecular Medicine Reports*, 14(1), 95-102. <https://doi.org/10.3892/MMR.2016.5214/HTML>
- Zhao, S., Sloan, A. J., Murray, P. E., Lumley, P. J., & Smith, A. J. (2000). Ultrastructural localisation of TGF-beta exposure in dentine by chemical treatment. *The Histochemical journal*, 32(8), 489-494. <https://doi.org/10.1023/A:1004100518245>

