



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

**REJENERATİF ENDODONTİK TEDAVİYE BAĞLI KORONAL
RENK DEĞİŞİKLİĞİNİN ÖNLENMESİNDE FARKLI TEDAVİ
YAKLAŞIMLARININ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Melis Oya ATEŞ

**ENDODONTİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**Şubat 2021
BOLU**



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

**REJENERATİF ENDODONTİK TEDAVİYE BAĞLI KORONAL
RENK DEĞİŞİKLİĞİNİN ÖNLENMESİNDE FARKLI TEDAVİ
YAKLAŞIMLARININ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Melis Oya ATEŞ

**ENDODONTİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. Zeliha UĞUR AYDIN

**Şubat 2021
BOLU**

ÖZET

REJENERATİF ENDODONTİK TEDAVİYE BAĞLI KORONAL RENK DEĞİŞİKLİĞİNİN ÖNLENMESİNDE FARKLI TEDAVİ YAKLAŞIMLARININ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada farklı mekanizmalarla dentin tübüllerini tıkayan Teethmate hipersensitivite ajanı, dentin bonding ajanı (DBA), Nd:YAG lazer ve Er:YAG lazerin rejeneratif endodontik tedaviye bağlı olarak oluşan renklenmeyi önlemedeki etkinliği araştırıldı.

Çalışmaya tek kök ve tek kanala sahip 105 adet üst keser diş dahil edildi. Tüm dişlerin kök boyları mine sement sınırından itibaren 10 ± 1 mm olacak şekilde elmas separe ile uzaklaştırılarak standartize edildi. Kök kanalları X1, X2, X3, X4 ve X5 ProTaper Next (Dentsply Maillefer, Ballaigues, İsviçre) eğeleri kullanılarak 50/0,06 boyutuna kadar prepare edildi. İmmatür kök apeksini simüle etmek amacıyla Gates Glidden (#2–4) frezleri ile kök kanalları apikal çapları $1,1\pm 0,1$ mm olacak şekilde standardize edildi. Dişler rastgele biçimde DBA grubu, Teethmate grubu, Nd:YAG grubu, Er:YAG grubu, Biodentin grubu, Kan grubu, Negatif kontrol grubu olmak üzere 7 gruba ayrıldı (n=15). DBA, Teethmate, Nd:YAG, Er:YAG gruplarına ilgili dentin tübül tıkama yöntemleri uygulandı. Kök kanallarının mine sement sınırından 4 mm kalacak şekilde kan ile doldurulmasının ardından kan pıhtısının üzerine spongostan (Cutanplast, Milano, İtalya) yerleştirildi. 3 mm kalınlığındaki Biodentin (Septodont, Saint-Maur-des-Fosses, Fransa) mine sement sınırında konumlanacak biçimde yerleştirildi. Kompozitle restore edilmesinin ardından dişler 37°C'de % 100 nemde inkübatörde saklandı. Renk ölçümü işlem öncesi, işlemden hemen sonra, 7, 30, ve 90. günlerde spektrofotometre Vita Easyshade Advance (VITA Zahnfabrik, Bad Sackingen, Almanya) ile değerlendirildi. Veriler, Commission International de l'Eclairage'in $L^* a^* b$ (CIELab) renk değerlerine dönüştürüldü ve ΔE değerleri hesaplandı. Renk değişiminin klinik olarak algılanabilirlik eşiği 3,3 birim olarak kabul edildi. Elde edilen veriler iki yönlü varyans analizi ve post-hoc Tukey testi ($p=0,05$) kullanılarak analiz edildi.

Negatif kontrol grubu dışında tüm gruplarda klinik olarak algılabılır renk değişimi gözlemlendi ($\Delta E > 3,3$). Ancak renk değişimini önlenmede dentin tübül tıkama yöntemleri arasında anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$). Hiçbir dentin tübül tıkama yönteminin rejeneratif endodontik tedaviye bağlı renklenmeyi %100 önleyemediği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Dentin bonding ajan, Diş renklenmesi, Nd:YAG lazer, Rejeneratif endontik tedavi, Teethmate.



ABSTRACT

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF DIFFERENT TREATMENT APPROACHES IN PREVENTING CORONAL DISCOLORATION CAUSED BY REGENERATIVE ENDODONTIC TREATMENT

In this study, the effectiveness of Teethmate hypersensitivity agent, dentin bonding agent (DBA), Nd:YAG laser and Er:YAG laser in preventing discoloration caused by regenerative endodontic treatment were investigated.

105 upper incisors with a single root and single canal were included in the study. The apical portion of each specimen was resected to obtain a standardized root length of 10 ± 1 mm below the cemento-enamel junction. Root canals were prepared by ProTaper Next (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) X1, X2, X3, X4 and X5 using instruments up to a size of 50/0,06. In order to simulate the immature root apex, the root canals were standardized with Gates Glidden (# 2–4) drills with apical diameters of $1.1 \pm 0,1$ mm. Teeth were randomly divided into 7 groups as DBA, Teethmate, Nd:YAG laser, Er:YAG laser, Biodentin, Blood, Negative control groups ($n=15$). Relevant dentinal tubule occlusion methods were applied to the DBA, Teethmate, Nd: YAG, Er: YAG groups. Spongostan (Cutanplast, Milano, Italy) was placed on the blood clot after the root canals were filled with blood 4 mm from the cemento-enamel junction. 3 mm thickness of Biodentin (Septodont, Saint-Maur-des-Fosses, France) was placed so that it was positioned at cemento-enamel junction. After restoration with composite, the teeth were stored in an incubator at 37°C and 100% humidity. Color measurement was evaluated with the spectrophotometer Vita Easyshade Advance (VITA Zahnfabrik, Bad Sackingen, Germany) before the treatment, immediately after the treatment, on the 7th, 30th, and 90th days. The data were converted to color values of Commission International de l'Eclairage $L^* a^* b^*$ (CIELab) and ΔE values were calculated. The clinical detectability threshold of the

color change was accepted as 3,3 units. The data obtained were analyzed using two-way analysis of variance and Tukey post-hoc test ($p=0,05$).

Clinically perceptible color change was observed in all groups except the negative control group ($\Delta E > 3,3$). However, there was no significant difference between dentinal tubule occlusion methods in preventing discoloration ($p > 0,05$). It was found that any dentinal tubule occlusion method could prevent 100% discoloration caused by regenerative endodontic treatment.

Keywords: Dentin bonding agent, Tooth discoloration, Nd:YAG laser, Regenerative endodontic treatment, Teethmate.



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitim sürem boyunca klinik, akademik ve hayata dair her zaman desteğini hissettiğim, öğrencisi olmaktan büyük mutluluk ve gurur duyduğum üzerimde çok emeği olan, değerli hocam Doç. Dr. Zeliha UĞUR AYDIN’a,

Uzmanlık eğitim sürecimde ve tez döneminde hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen, dostlarım İrem Cansu KARA, Tülin DOĞAN, Sevim KOŞUMCU, ve Gamze ER KARAOĞLU’na,

Her zaman desteklerini hissettiğim, bugünlere gelmemi sağlayan biricik ailem; annem Sevim ATEŞ’e, babam Yaşar ATEŞ’e ve kardeşim Yiğit Can ATEŞ’e,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

• ÖZET	iv
• ABSTRACT	vi
• TEŞEKKÜR	viii
• İÇİNDEKİLER	ix
• TABLOLAR	xii
• ŞEKİLLER	xiii
• SİMGELER ve KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Rejeneratif Diş Hekimliğinin Tarihçesi	5
2.2. Rejeneratif Endodontinin Tarihçesi	6
2.3. İmmatür Dişlerde Endodontik Tedavi Gerektiren Durumlar	8
2.4. İmmatür Dişlerde Endodontik Tedavi Yöntemleri	10
2.4.1. Apeksogenezis	11
2.4.2. Apeksifikasyon	11
2.4.2.1. Ca(OH) ₂ ile Apeksifikasyon	12
2.4.2.2. MTA ile Apeksifikasyon	12
2.4.3. Rejeneratif Endodontik Tedavi	14
2.4.3.1. Klinik Rejeneratif Endodontik Prosedürlere Genel Bakış	16
2.5. Güncel Rejeneratif Endodonti Tedavi Protokolü (AAE 2018)	18
2.5.1. Vaka Seçimi	18
2.5.2. Hasta Bilgilendirilmesi	19
2.5.3. Birinci Randevu	19
2.5.4. İkinci Randevu	20
2.5.5. Takip	21
2.6. Rejeneratif Endodontik Tedavi Yöntemleri	22
2.6.1. Kök Kanalı Revaskülarizasyonu	22
2.6.2. Post Natal Kök Hücre Tedavisi	23
2.6.3. Pulpa İmplantasyonu	23
2.6.4. İskele İmplantasyonu	23
2.6.5. Enjekte Edilebilir Doku İskelesi	23

2.6.6. Üç Boyutlu Hücre Yazılımı	24
2.6.7. Gen Tedavisi	24
2.7. Doku Mühendisliği	24
2.7.1. Kök Hücreler	25
2.7.2. Büyüme Faktörleri	26
2.7.3. Doku İskelesi/Çatısı (Scaffolds)	27
2.8. Rejeneratif Endodontik Tedavinin Avantajları	28
2.9. Rejeneratif Endodontik Tedavinin Dezavantajları	29
2.9.1. Rejenatif Endodontik Tedaviye Bağlı Diş Renklenmeleri	29
2.10. Diş Renklenmeleri ve Etyolojisi	32
2.10.1. Sistemik İntrensek Nedenler	34
2.10.1.1. Genetik Hastalıklar	34
2.10.1.2. Hastalıkla Bağlantılı Nedenler	34
2.10.1.3. Metabolik Nedenler	34
2.10.1.4. İlaçla İlgili Nedenler	34
2.10.2. Lokal İntrensek Renklenme Nedenleri	35
2.10.2.1. Pulpal Kanama	35
2.10.2.2. Pulpa Nekrozu	35
2.10.2.3. Pulpa Kalıntıları	36
2.10.2.4. Restoratif Materyaller	36
2.10.2.5. Kanal İçi İlaçlar ve Kök Dolgu Malzemeleri	36
2.10.2.6. Diş Çürüğü	37
2.10.2.7. Kalsifik Metamorfoz/Distrofik Kalsifikasyon	37
2.10.2.8. Kök Rezorpsiyonu	37
2.10.2.9. Yaşlanma	38
2.10.3. Ekstrensek Renklenme Nedenleri	38
2.11. Diş Renginin Algılanması ve Ölçülmesi	38
2.11.1. Munsell Renk Sistemi	39
2.11.2. CIE L*a*b* Renk Sistemi	39
2.12. Diş Hekimliğinde Kullanılan Renk Ölçüm Yöntemleri	40
2.12.1. Görsel Renk Ölçümü	40
2.12.2. Cihaz Kullanılarak Renk Ölçümü	41

2.12.2.1. Kolorimetre	41
2.12.2.2. Spektoradyometre	41
2.12.2.3. Spektrofotometre	41
2.12.2.4. Görüntü Sistemleri ve Dijital Kameralar	42
3. GEREÇ ve YÖNTEM	43
3.1. Örneklem Büyüklüğünün Hesaplanması	43
3.2. Dişlerin Seçimi	43
3.3. Dişlerin Preparasyonu	44
3.4. Örneklerin Çalışma Gruplarına Ayrılması ve Materyallerin Uygulanması	47
3.5. Renk Ölçümü	55
3.6. İstatistiksel Analiz	57
4. BULGULAR	59
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	77
7. KAYNAKLAR	78

TABLÖLAR

Tablo	Sayfa
2.1. Rejeneratif endodontik prosedürleri geliştirmek için gerekli temel araştırma alanları (34)	25
2.2. İntreksek ve Ekstresek Renk Sınıflandırması (137)	33
3.1. Deney gruplarının adlandırılması	47
3.2. Dişlerin test edilecek gruplara göre ayrılması ve gruplara uygulanacak olan materyaller	54
4.1. Tüm grupların zaman aralıklarına bağlı hesaplanan ΔE (Ortalama $\pm$ Standart Sapma) değerleri	59

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Revaskülerizasyon prosedürünün şematize edilmesi (77).	20
2.2. CIELAB Renk Sistemi (25).	40
3.1. Çalışmaya dahil edilen tüm dişlerin apikal bölümü uzaklaştırılarak kök ucu kapanmamış dişler simüle edilmesi ve kök boyunun 10 ± 1 mm uzunluğunda standardize edildi.	44
3.2. Çalışmaya dahil edilen bütün dişlerin apikal bölümü uzaklaştırıldı.	45
3.3. a) Spektrofotometrenin ölçüm yapan uç kısım ölçüsünün silikonla alınması	46
b) Alınan ölçü.	46
c) Akrilik modelle diş etrafında sabit çerçeve oluşturulması.	46
3.4. DBA grubundaki dişlere bond uygulanması.	49
3.5. Teethmate grubundaki dişlerden birine ajanın uygulanması.	49
3.6. Çalışmada kullanılan lazer cihazı (Fotona AT, Fidelis III, Ljubljana, Slovenya).	50
3.7. Dişlere uygulanan Nd:YAG parametreleri.	50
3.8. Nd:YAG fiber optik uç yardımıyla pulpa odasının dentin yüzeyine lazer uygulanması.	51
3.9. Cihazda Er:YAG modu seçilerek uygulanan parametreler.	51
3.10. R02 başlık ve non kontakt uçla Er:YAG lazerin dentin duvarlarına uygulanması.	52
3.11. a) Çalışmada kullanılan amalgamatör (Linea Tac).	53
b) Kapsülün amalgamatöre yerleştirilmesi.	53
3.12. a) Amalgamatörde 30 s karıştırılıp Biodentin elde edilmesi.	53
b) El pluggeri ile Biodentinin dişe yerleştirilmesi.	53
3.13. Çalışmada kullanılan K2-EDTA'lı tüpe alınan kan örneklerinden biri.	54
3.14. Örneklerle uygulanan spongostan (Cutanplast) ve dilimler halinde kesilmesi.	54
3.15. Deney prosedürlerinin şematize edilmesi (166).	55
3.16. a) Kompozit çerçeve yapılmış diş örneği	56

b) Spektrofotometrenin çerçeveye yerleştirilerek ölçüm yapılması	56
c) VITA Easyshade spektrofotometre ekranında görülen ölçüm değerleri	56
4.1. Tüm gruplardan seçilmiş birer dişin T0, T1, T7, T30 ve T90 zaman aralıklarında fotoğraflandırılması.	60
4.2. Grupların tüm ölçüm aralıklarına ait ortalama ΔE değerlerinin grafiklerle karşılaştırılması.	61



SİMGELER ve KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
ΔE	Renk Değişimi
μm	Mikrometre
AAE	Amerikan Endodonti Derneği
ark.	Arkadaşları
$Ca(OH)_2$	Kalsiyum Hidroksit
CIE	Commission Internationale de l'Eclairage
DAP	İkili Antibiyotik Pat
DBA	Dentin Bonding Ajan
Dk	Dakika
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
Er:YAG	Erbium Doped Yttrium Aluminium Garnet
ESE	Avrupa Endodontoloji Derneği
HERS	Hertwig'in epitelyal kök kılıfı
Hz	Hertz
IRM	Intermediate Restoratif Materyal
ISO	Uluslararası Standardizasyon Teşkilatı
mg	Miligram
mL	Mililitre
MTA	Mineral Trioksit Agregat
N	Numune sayısı
NaOCl	Sodyum hipoklorit
Nd: YAG	Neodymium doped yttrium aluminium garnet

PRF	Trombosit açısından zengin fibrin
PRP	Trombosit açısından zengin plazma
Rpm	Dakikadaki tur sayısı
Sn	Saniye
SCAP	Apikal Papilla Kök Hücresi
TAP	Üçlü Antibiyotik Patı
W	Watt
WMTA	Beyaz Mineral Trioksit Agregat



1. GİRİŞ

Rejeneratif endodonti, dentin ve diğer kök yapıları dahil olmak üzere hasarlı pulpanın rejenerasyonu ve ayrıca yeniden pulpa-dentin dokularının oluşturulması için biyolojik temelli prosedürlerin potansiyelini araştıran bir alandır (1). Bu güncel tedavi yöntemi, apikal periodontitisin iyileşmesine ek olarak, pulpanın fizyolojik fonksiyonlarının devamlılığını sağlamayı amaçlayan alternatif bir tedavi yaklaşımı olarak ortaya çıkmıştır. Bu fonksiyonlar, literatürdeki bazı vakalarda görüldüğü gibi, sürekli kök gelişimi, bağışıklık yetkinliği ve normal nosisepsiyonu içermektedir (2).

Rejeneratif endodontik tedavi yaklaşımıyla temel olarak dentin duvarlarının kalınlaşması ve kök uzunluğunun artması sağlanarak dişin vitalitesini geri kazandırmak hedeflenmektedir (3). Rejeneratif endodontik prosedürlerin temelinde kök kanal boşluğunda kan pıhtısı varlığı esastır ve bu yöntemle apikal papillanın, periodontal doku hücrelerinin ve dental pulpa dokusunun yenilenmesi için doğal bir iskele oluşturulur (4, 5). Bununla birlikte, rejeneratif endodontik tedavi diş renklenmesi gibi olumsuz sonuçlara da yol açabilir (6). Dişlerin görünümü diş tedavisi isteyen çok sayıda insan için endişe vericidir ve dişlerin rengi özellikle kozmetik öneme sahiptir. Bu nedenle rejeneratif endodontik tedavinin neden olabileceği renklenmeyi önlemek amacıyla farklı tedavi yaklaşımları arayışı günümüzde devam etmektedir (7).

Endodontik tedavi görmüş tek bir dişin dahi estetik görünümünün kötü olması hastanın yaşam kalitesini önemli ölçüde etkiler. Endodontik prosedürlerde kullanılan birçok materyal dişte renk değişikliğine ve estetik olmayan bir sonuca yol açabilir. Bu nedenle rejeneratif endodontik tedavilerde sadece biyolojik ve fonksiyonel yönleri değil, aynı zamanda tedavinin olası estetik yönleri de dikkate alınmaktadır (8, 9). Literatürde endodontik materyaller ve prosedürlerin yanısıra nekrotik pulpa dokusunun parçalanması ve pulpa odasındaki kanama gibi biyolojik faktörlerin de dişlerdeki istenmeyen renk değişikliği ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (10).

Rejeneratif endodontide şu ana kadar her ne kadar özellikle minosiklin içeren antibiyotik bileşikler, renk değişiminin ana nedeni olarak belirtilmiş olsa da, indüklenmiş kanamanın kök kanalına girmesi ve Mineral Trioksit Agregat

(MTA)'nın kan pıhtısının örtmesi için mine sement sınırının altına yerleştirilmesi de kron renklenmesinin diğer sebepleri olarak kabul edilmektedir (11).

Rejeneratif endodontik tedavi sonrası dişlerdeki koronal renk değişikliğinin ana sebeplerinden biri, şu anda da önerilen standart tedavi protokollerinin bir parçası olan intrakanal kanamadır. Vital pulpa tedavisi uygulamasında kan varlığının, tüm silikat simanların kromatik etkisini değiştirdiği gösterilmiştir; ancak materyaller ve kan pıhtısı, uygulanmış bir rejeneratif endodontik tedavi modelinde olduğu gibi mine sement sınırının altına yerleştirildiğinde, kron renginin etkileyip etkilemeyeceği konusunda çok az veri mevcuttur (12). Travma sonrasında sıklıkla görüldüğü gibi, dentin tübüllerinde bulunduğu kanın koronal renk değişikliğine neden olabildiği bildirilmiştir (13). Bununla birlikte, kan ideal olarak literatürde bildirilen protokollerin çoğunda önerildiği gibi mine sement sınırının altına değil, mümkün olduğunca koronal olarak pulpa odasına akmaya teşvik edilmelidir. MTA veya Biodentin gibi biyoaktif bir materyalin tam olarak mine sement sınırına yerleştirilmesi, bu bölgedeki kök gelişimini önler ve dişin servikal bölümünden kırılma olasılığını artırır (14, 15). Fakat bu durum renklenmeyi artıracak için biyoaktif materyaller çalışmalarda mine sement sınırında sonlanacak şekilde yerleştirilmektedir. Dentin bonding ajanının (DBA) pulpa odasının dentin tübüllerine uygulanması, kanın neden olduğu renk değişikliği şansını en aza indirirken, kanın mine sement sınırı üzerine yerleştirilmesine izin verir (16-19).

Kan pıhtısının yol açtığı bu renk değişikliğinin, dentin tübüllerine nüfuz eden hemoglobin, hematin ve eritrositler gibi kan ürünlerinin dağılımından kaynaklandığını savunan çalışmalar da vardır (1). Bu nedenle tip renklenmeyi önlemek için dentin tübüllerinin tedavi öncesi tıkanması yönünde farklı tedavi yöntemlerinin uygulanması önerilmektedir (11, 20).

Dentin tübül oklüzyonu için alternatif bir tedavi olarak sunulan Neodymium-doped yttrium aluminium garnet (Nd:YAG) lazer uygulaması olumlu sonuçlarla bildirilmiştir. Lazer uygulamasının “erime ve yeniden katılaştırma” adı verilen bir prosedür sayesinde dentin tübüllerini tıkadığı gösterilmiştir (20). Erbium-doped yttrium aluminium garnet (Er:YAG) lazer ise dentinin kristalleşmesi ya da eritilmesi yoluyla dentin tübüllerini tıkadığından çalışmamızda rejeneratif endodontik tedavi sonrası renklenmeyi ne kadar önleyebileceği incelenecektir.

Şu ana kadar rejeneratif endodontik tedavilerde renklenme sebeplerini araştıran çalışmalar incelendiğinde kullanılan kanal içi medikamanlardan ikili ve üçlü antibiyotikli patların (TAP) ve MTA'nın koronal renklenme üzerine etkisi araştırmacılar tarafından günümüzde yoğun bir şekilde incelenmektedir. Sadece kan varlığındaki renklenme hakkında bazı çalışmalar olsa da kalsiyum silikat bazlı materyallerin gösterdiği renk değişikliği için kesin mekanizma henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak çeşitli çalışmalarda beyaz, gri ProRoot MTA ve Portland'ın kan kontaminasyonundan sonra daha fazla renk değişikliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (21, 22). Birçok çalışma, MTA'nın beyaz formu kullanıldığında bile, istenmeyen postoperatif diş renk değişikliği olduğunu bildirilmiştir (16-19). MTA'da bulunan demir, alüminyum ve magnezyum oksitler gibi diğer metal oksitler renk değişiminin kaynağı olarak gösterilmiştir. Buna ek olarak, hidrasyonu sırasında MTA'nın kanla etkileşimi sonrası renk değişikliğine neden olduğu gösterilmiştir (21, 23).

Rejeneratif endodontik tedavi sonrası renk değişikliğini en aza indirmek için çeşitli yaklaşımlar önerilmiştir. Minosiklin içermeyen antibiyotik pat veya kalsiyum hidroksit ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) kullanımı, mine sement sınırının altına intrakanal ilaç uygulaması, pulpa odasına DBA uygulanması bu öneriler arasında yer alır. Amerikan Endodonti Derneği (AAE)'nin MTA'ya alternatif olarak kan pıhtısının Biodentin gibi kalsiyum silikat bazlı malzemelerle örtülmesini önermesi bu yaklaşımlar arasındadır (20, 24).

Biodentin'in biyoaktif ve biyouyumlu özelliklere sahip olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bununla birlikte, Biodentin'in renk değişikliği etkileri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Bu sınırlı miktarda veride, Biodentin'in dişlerde anlamlı renk değişikliklerine neden olmadığı gösterilmiştir (25). Çeşitli çalışmalarda Biodentin ile restore edilen dişler renk stabilitesini korurken, MTA ile tedavi edilenlerin renk değişikliği gösterdiği tespit edilmiştir (9).

Biz de çalışmamızda daha önce literatürde fazla incelenmemiş yöntemleri değerlendirmeyi hedefleyerek çalışma gruplarımızda DBA, Teethmate, Nd:YAG, Er:YAG lazer yardımıyla dentin tübüllerini tıkayarak çeşitli çalışmalarda MTA'ya oranla daha az renk değişimine sebep olduğu gösterilen Biodentin materyalini kullanarak kan pıhtısının yol açtığı olası bir koronal renk değişikliği azalmasını

değerlendirdik ve karşılaştırdık. Bu in vitro çalışmanın amacı, klinik ortamın simüle edildiği bir rejeneratif endodontik tedavide kanla temas halinde olan Biodentin'in neden olduğu renk değişikliğinin derecesini ve ayrıca çeşitli dentin tübülü tıkama yöntemleriyle bu renklenmenin ne kadar önlenilebileceğini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Rejeneratif Diş Hekimliğinin Tarihçesi

Rejeneratif diş hekimliği tarihinde, 1687 yılında Charles Allen (26) tarafından gerçekleştirilen diş transplantasyonu girişimleri ve 1756 yılında Pfaff ve ark. (27) tarafından gerçekleştirilen pulpa kuafajı uygulamaları önemli bir rol oynamıştır.

Tarihsel olarak, deneysel pulpa kaplama protokolleri bu biyolojik yaklaşımların temelini sağlamıştır. Diş pulpasının sağlık ve hastalık durumundaki biyolojik davranışına ilişkin anlayışın derinleşmesi, endodontide biyolojik temelli tedavilerle heyecan verici gelişmeler için bir platform sağlamıştır. Bu gelişmeler, diş pulpasındaki mevcut biyolojik aktivitelerin basit bir şekilde kullanılmasından hem doku hem de tüm diş seviyelerinde iddialı doku mühendisliği yaklaşımlarına kadar geniş bir tedavi yaklaşımını kapsamaktadır (28). Kalsiyum hidroksitin piyasaya sürülmesi, son zamanlarda MTA'nın ve kalsiyum trisilikat içerikli materyallerin yaygın kullanımı endodontide biyolojik temelli tedavilerin önemli rolünü vurgulamıştır (29-31).

Rejeneratif diş hekimliğinin amacı, diş dokularının ve destekleyici diğer biyolojik yapıların yenilenmesini sağlamaktır. Rejeneratif diş hekimliği potansiyeli büyük ölçüde, eksik bir dokunun fonksiyonel rejenerasyonunu sağlamak için kök hücre, büyüme faktörleri ve iskelelerin birleşimi ile doku mühendisliği prensiplerini uygulayan biyolojik tedavilerdeki ilerlemelerden oluşmaktadır. Diş hekimliğinde doku mühendisliği uygulamaları yeni bir alan olmasına rağmen, gelişen rejeneratif tedavileri teşvik eden önemli bir araştırma alanı sağlamakta, klinisyenlerin hastaları tedavi etme şeklini de temelden değiştirmektedir (32).

Rejeneratif diş hekimliği alanında prosedürlerin kapsamı ve klinik uygulaması, rehberli doku veya kemik rejenerasyon prosedürleri ve distraksiyon osteogenezini, kemik büyütme için trombosit açısından zengin plazmanın uygulanmasını (PRP), periodontal dokuların ve pulpanın rejenerasyonu için emdogaini, rekombinantı kapsayacak şekilde ilerlemiştir. Kemiğin augmentasyonu için insan kemiği morfojenik proteini ve periodontal doku rejenerasyonu için fibroblast büyüme faktörü 2'nin kullanımı üzerine klinik çalışmalar da mevcuttur (33).

2.2. Rejeneratif Endodontinin Tarihçesi

Karma dişlenme döneminde travma, çürükler ve dens evaginatus gibi gelişimsel diş anomalileri nedeniyle pulpa nekroz riski altındadır. Bu dönemdeki kalıcı diş kaybı fonksiyon kaybına, maloklüzyona ve yetersiz maksillofasial gelişime yol açabilir. Bu dişlerde geleneksel kök kanal tedavisinde yaşanan yetersizliklerin kalsiyum hidroksit apeksifikasyonu veya MTA ile tek seans apeksifikasyon teknikleriyle üstesinden gelinebilmiş olsa da bu tedavi yöntemlerinin sonucunda zayıf kron kök oranı meydana gelmesi gibi dezavantajlar klinisyenleri pulpa revaskülarizasyonunu, dentin gelişimini ve kök gelişimini sağlayan yeni bir tedavi prosedürü aramaya itmiştir (33).

Rejeneratif endodontik prosedürler; dentin, kök yapıları ve pulpa-dentin kompleksinin hücreleri dahil olmak üzere hasarlı yapıların yerini almak için tasarlanmış biyolojik tabanlı prosedürler olarak tanımlanabilir (34). Dr. B.W.Hermann, 1952 yılında yayınladığı bir vaka raporunda Ca(OH)_2 ile vital pulpa amputasyonu uygulamasını bildirmiştir (34). Pulpa rejenerasyonuna öncülük eden ilk yaklaşımlardan biri de, 1960'lı yılların başında Nygaard Ostby (35) tarafından apikal periodontitis ve pulpa onarımında kan pıhtısının rolünü değerlendiren ve nekrotik pulpalı dişlerin kök kanallarının apikal üçlüsünde yeni vaskülarize dokunun indüklenebileceğini gösteren bir klinik çalışmaya dayanmaktadır. Bu çalışmada hastalar üzerinde toplamda 17 kök kanalının dezenfekte edilerek, apikal foramenin genişletilmesi ve kanal içine kalsiyum hidroksit konularak kanamanın indüklenmesi ile kan pıhtısının koronale kloraperka obturasyonu yapılarak endodontik tedavi gerçekleştirilmiştir. 17 gün ile 3,5 yıl arasında takibin ardından tedavi edilen dişler histolojik inceleme için çekilmiştir. İncelemenin sonucunda foraminal genişleme ve aşırı preparasyon sebebiyle oluşan enflamasyonun 17 gün gibi kısa bir sürede düzeldiği gözlemlenmiştir, nekrotik dişler için ise herhangi bir patoloji gözlemlenmemiştir. Bazı dişlerde apikal açıklığın kapanması radyografik olarak gözlenmiştir. Histolojik inceleme, kanal boşluğuna giren dokunun bağ dokusu olduğunu ortaya koymuştur. Diş pulpası, zengin fibroblast kaynağı olan bir bağ dokusu türü olduğu için, bu genel bulgu oldukça umut vericiydi. Bununla birlikte, sementoblastlar gibi istenmeyen hücre tiplerinin saptanması ve odontoblastlar gibi istenen hücre tiplerine rastlanmaması, bu protokolün diş pulpasının tam histolojik

rejenerasyonuna yol açmadığını göstermektedir. Eksiklerine rağmen bu öncü çalışma endodontik rejenerasyon literatürünün temelini oluşturmaktadır (36, 37).

Ostby ve Hjortdal tarafından (38) 1971 yılında yapılan bir diğer çalışmada ise, 35'i vital pulpalı, 12'sinde nekrotik pulpalı toplam 47 dişin kök kanalı prepare edilmiştir. Dişlerin periapikal dokularından kanal boşluğuna kanama indüklenmiş ve kanallar kısmen doldurulmuştur. Bazı dişlerde kanama yoktu ve bunlar, kök kanalındaki bir kan pıhtısının onarım için önemli bir durum olup olmadığına veya en azından onarım süreçlerini artıracağına karar vermek için gerekli olan kontrol materyalini içermiştir. 9 gün ila 3 yıl arasında değişen süreler sonrası çekilen ya da apikal bölgesi rezeke edilen dişlerin histolojik incelemesi, vital pulpa içeren dişlerin apikal kanal boşluğunda fibröz bağ dokusu ve hücresel sementumun oluştuğunu ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte, nekroz dişlerde kanal apikalinde hiçbir onarım dokusu oluşmadığı tespit edilmiştir. 50-60 yıl önce mevcut olan materyaller ve aletlerin yetersiz olmasının bu çalışmaların çoğunlukla başarısız olmasında etkili olduğu bildirilmektedir. Günümüzde ise mevcut teknolojilerle, enfekte olmuş bir pulpayı etkili bir şekilde dezenfekte etmek, yapay olarak bir iskele yerleştirmek ve daha sonra oluşabilecek bir enfeksiyona direnmek için giriş kavitesini etkili bir şekilde kapatmak mümkün olabilmektedir (39).

Skoglund ve ark. (40), 1978'de, bir avülsiyon yaralanmasından sonra geride kalan nekrozlu pulpanın revaskülarizasyonla kan damarlarının yavaşça apeksten pulpa boynuzuna doğru ilerlediğini bildirmiştir. Avülsiyon olgu raporlarında ve çeşitli kontrollü hayvan çalışmalarında immatür kalıcı dişlerin replantasyondan sonra başarılı bir şekilde revaskülarizasyonu; devam eden kök gelişimi ve kök kanalında devam eden sert doku birikimiyle beraber radyografik ve histolojik kanıtlarla gösterilmiştir (41). Bu durumda, enfekte olmamış pulpa periapikal alandan yeni dokunun büyümesi için bir iskele görevi görür. Kök maturasyonunun derecesinin ve dişin ağız dışında kaldığı sürenin bu işlemin klinik başarısını etkileyen önemli faktörler olduğu bilinmektedir. Apikal foramen genişledikçe, kanlanma ve yeni doku oluşumu ihtimalinde bir artış meydana geldiği açıktır. Ayrıca dişin ağız dışında kaldığı süre azaldıkça, enfeksiyon riski azalmakta ve dolayısıyla hücrelerin canlılıklarını sürdürme şansı da artmaktadır. Damar desteğini kaybetmiş pulpa, yeni

kan damarlarının ve dokunun içinde büyüyebileceği bir matriks gibi davranmaktadır (42).

Tronstad ve Skoglund (43) köpeklerde ototransplantasyon ve replantasyon yapılmış immatür apeksli dişlerin kök kanallarındaki değişiklikleri inceledikten sonra ve ilk 6 aylık süreçte bütün kök kanalı içerisinde vaskülarize, hücreden zengin bağ dokusunun geliştiğini gözlemlemiştir. 6 aydan sonraki süreçte dişlerin çoğunda hücrelerin ve kan damarlarının sayısında bariz bir azalma oluşmuş ve yeni bir atübüler sert doku meydana gelmiştir. Bazı dişlerde fonksiyonel odontoblast tabakasıyla beraber pulpanın da mevcut olduğu rapor edilmiştir.

Rejeneratif endodontik tedavide 2000'li yılların başında 2 önemli vaka raporunun yayınlanmasıyla önemli gelişme kaydedilmiştir. 2001 yılında Iwaya ve ark. (44) tarafından, çürüksüz intraoral sinüs yoluna sahip enfekte olmuş bir nekrotik immatür premolar dişte 'revaskülarizasyon' adı verilen bir prosedür kullanılmıştır. Kök kanal duvarlarının mineralize doku ile devam eden kök gelişimini ve kalınlaşmasını gösteren bu vaka rejeneratif endodonti tarihinde önemli rol oynayan vakalardan biridir. Rejeneratif endodontiye önemli katkılar sağlayan bu çalışmalarda avülse immatür dişlerin yeniden vitalite testlerine pozitif cevap vermesi ve semptomlarının bulunmaması hedeflenmiştir (37). Travmatik yaralanmalarda nekrotik diş pulpasının iyileşme sürecinde, sağlıklı pulpa fonksiyonunun tekrar elde edilmesi önemli bir hedeftir. Revaskülarizasyon terimi, farklı uygulama ve hedeflere rağmen dental travmatolojideki bu gözlemlerden ortaya çıkmıştır (2).

2.3. İmmatür Dişlerde Endodontik Tedavi Gerektiren Durumlar

Kök gelişiminin tamamlanması ve apeksin kapanması, dişin erüpsiyonundan sonraki 3 yıl içerisinde gerçekleşmektedir. Diş gelişimi sırasında, iç ve dış diş epitelleri birleşir ve servikal halkayı oluşturur. Bu bölgeden, Hertwig'in epitelyal kök kılıfı (HERS) olarak bilinen çift bir hücre tabakası oluşturan iki kaynaşmış epitel yapısının apikalde çoğalmasıyla kök oluşumu başlar (45). Kılıf iç mine epiteline benzer ve odontoblastların farklılaşması ve kök dentinin oluşumu için uyarıcı ve şablon görevi görür. Hücreleri pulpayı kaplar ve apikal foramenlerin kök uzunluğunun ve kapanışının arttırılmasından sorumludur. HERS köklerin sayısını,

boyutunu, şeklini belirler ve gelecekte oluşacak mine sement sınırının yerini belirler. 6 ile 14 yaş arasındaki yüz yaralanmaları kök gelişimini, değiştirme veya durdurma potansiyeline sahiptir (46). Genel olarak, dişlere gelen travma ya odontoblast fonksiyonunun tamamen durmasına neden olabilir veya aktivitelerini hızlandırabilir, bu da pulpa kalsifikasyonu gibi istenmeyen bir duruma neden olur (45).

Kök gelişimi devam eden daimi dişlerde travma, çürük, dens evaginatus, dens injavinatus gibi diş anomalileri sebebiyle dentin pulpa kompleksinin zarar görmesi sonucunda pulpada nekroz gelişebilir ve kök gelişimi sekteye uğrayabilir (47). Bu durumun sonucunda apikal daralım gelişmeyeceği için bu dişler immatür apekse sahip olur. Pulpal nekroz ve immatür kök gelişimi tanısı alan kalıcı dişlerde endodontik tedavi zorludur (48).

İmmatür nekrotik dişlerde etyoloji sebeplerinden biri olan çürük, bakterileri ve yan ürünlerini içeren, pulpaya nüfuz edebilen, pulpa dokusunun iltihaplanmasına ve fibrozuna neden olan çok faktörlü bir hastalıktır. Kanal içindeki bakteriler elimine edilmezse, kronik iltihabi bir durum gelişebilir ve pulpa dokusunun bir kısmı canlılığını yitirebilir. Uzun süreli iltihaplanma kronik hale gelirse pulpanın kendini onarma yeteneği azalır ve sonunda nekroz tüm kanala yayılır (49). Dental travma ise, daimi dişlerde % 33 görülme sıklığı ile yaygın görülen bir başka etiyolojik faktördür (50). Travma geçirmiş dişin çevresindeki kan damarlarının yer değiştirmesi veya ezilmesi yoluyla apikal kan beslemesini, tamamen veya kısmen kesebilir. Apikal kan kaynağı yeniden sağlanamazsa veya yetersizse, pulpa nekrozu ortaya çıkar (51). Gelişmekte olan dişe gelen orta şiddetli travma, mezenkimal kök hücrelerin uyumlu proliferasyonunu ve farklılaşmasını yönlendirerek köklerin oluşumu ve olgunlaşması için çok önemli olduğu bilinen HERS'e potansiyel olarak zarar verebilir (52).

Rejeneratif endodontik prosedürlerle tedavi edilen travmatize olmuş dişleri değerlendiren bir çalışmada, çoğu dişte apikal periodontitisin yeterli iyileşmesi, semptomların çözülmesi ve apikal kapanma gösterilmesine rağmen, öngörülemeyen kök gelişimi olduğu bildirilmiştir (53). Bu durumun travmanın çeşitli şiddette (örn. intrüzyon ve lüksasyon) ve HERS'e zarar verme potansiyeline sahip bir etyoloji olmasından kaynaklanıyor olabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte rejeneratif endodontik tedavileri takiben kök gelişiminin devamı ile ilgili prognostik faktörleri değerlendirmek için daha fazla örnek sayısına sahip çalışmalara ihtiyaç vardır (52).

Dens invajinatus ve dens evajinatus gibi dental anomaliler de daimi dişlerin nekroz olmasında etkili olan etyolojik faktörlerdendir. Diogenes ve ark. (2) dens evaginatus ve dens invaginatusun immatür dişlerde en sık görülen ikinci pulpa nekrozu etiyolojisi olduğunu bulmuştur. Dens invajinatus, diş dokularının kalsifikasyonundan önce, gelecekteki pulpa odasında küçük bir diş benzeri yapı üreten, aksesuar mine organının dental papillaya invajinasyonu ile gelişen bir gelişimsel anomalidir (54). Dens evaginatus, tipik olarak bir mandibular premoların okluzal tablasında veya maksiller ön dişlerin vestibül veya palatinal yüzeylerinden olmak üzere çıkıntı yapan ek bir tüberkül olarak kendini gösterir. Bu diş anomalisinin insidansı nispeten nadir olmakla birlikte, varlığı genellikle mine-dentin tüberkülünün kırılması veya aşınması ile ilişkilidir, bu da pulpanın ağız ortamına doğrudan maruz kalmasına ve immatür dişlerde pulpal nekrozun hızla gelişmesine yol açmaktadır (55).

2.4. İmmatür Dişlerde Endodontik Tedavi Yöntemleri

İmmatür daimi dişlerde travma veya çürüklerin neden olduğu pulpal tutulum, pulpal canlılık kaybını tetikleyebilir ve kök gelişimini doğrudan etkileyebilir, bu durum çok ince duvarlara sahip kısa köklerde daha büyük bir kırılma riski oluşturur (56). Ayrıca açık apeksli immatür dişlerde, geleneksel endodonti tedavi teknik ve materyalleri ile tam dezenfeksiyon ve obturasyon yapılmasının mümkün olmadığı bildirilmiştir (57).

Diş hasarı tipi, kırık tipi, nekroz veya enfeksiyon varlığı, periodontal durum, periapikal lezyonların varlığı, diş gelişimi aşaması, canlılık durumu, hasta yaşı ve hasta sağlığı gibi çeşitli faktörler rejeneratif ve konvansiyonel prosedürlerin seçiminde gözden geçirilmelidir. Pulpanın canlılık durumu değerlendirildiğinde dişin bir kısmı veya tamamı vitalse apeksogenesis tercih edilir (58). Diş eğer nekroz olmuşsa apeksifikasyon, revaskülarizasyon, rejeneratif endodonti tedavi seçenekleri değerlendirilmelidir (44, 59-61). Bu vakaların yönetiminde mevcut tedavide apeksifikasyondan rejeneratif endodontik prosedürlere doğru bir paradigma değişimi olmaktadır (51).

Daha fazla destekleyici kanıtlarla, rejeneratif endodontik prosedürler enfekte immatür kalıcı dişler için altın standart tedavi haline gelebilir. Sürekli kök gelişimini

destekleyen, gelecekteki kök kırığı riskini azaltan ve tedavi edilen dişin kron / kök oranını iyileştiren tek tedavi seçeneğidir. Rejeneratif endodontik prosedürün semptomları hafifletmede etkili olmaması gibi kötü bir olasılık düşünülürse, kalsiyum hidroksit veya MTA ile apeksifikasyon tedavisine başlanabilme seçeneği mevcuttur (51).

2.4.1. Apeksogenezis

Apeksogenezis, immatür vital dişlerde kök apeksinin oluşumunun tamamlanabilmesi için kök kanalının apikal kısmındaki vital pulpa dokusunun canlılığını korumak için tasarlanmış bir tedavidir. Klinik prosedür esasen derin pulpa iltihabı olan immatür dişlerde pulpanın gelişim kapasitesini korumak için yapılan derin bir pulpotomidir. Uygulanabilecek tedavi yaklaşımları arasında indirekt pulpa kuafajı, direkt pulpa kaplaması, çürüğe veya travmaya bağlı ekspoz olmuş pulpanın parsiyel pulpotomi ile tedavi edilmesi gibi vital pulpa tedavileri yer almaktadır (62, 63).

Bu prosedürün gerçekleştirildiği derinlik nedeniyle, genellikle MTA yerine kalsiyum hidroksit kullanımı tercih edilmiştir, çünkü bu seçim başarısızlık durumunda, apeksifikasyon veya pulpa rejenerasyonu gerçekleştirmek için kök kanalına yeniden girişi kolaylaştırabilmektedir. Ayrıca, apeksogenezis başarılı olursa ve kök ucu oluşumu tamamlanırsa, geleneksel kök kanal tedavisine de başlanabilir. Bu endişelerin mikroskopi ve çağdaş mikro enstrümantasyon çağında geçerli olup olmadığı belirsizdir (64).

2.4.2. Apeksifikasyon

Çürük veya travma sonucu immatür bir dişin pulpa nekrozu, kökün gelişmesini durdurabilir ve dişi ince kök kanal duvarları ve blunderbuss apeks ile bırakabilir. Apikal bir daralımın olmaması, geleneksel obturasyon yöntemleriyle bir dolum elde etmenin zorluğu nedeniyle kök kanal tedavisini zorlu hale getirir. İnce kök kanal duvarları dişi kırılmaya duyarlı hale getirir (65). Devital ve kök gelişimi tamamlanmamış dişlerde apeksin mineralize bir doku ile tıkanmasının sağlandığı apikal sızıntıyı önleyecek yapay ya da doğal bir apikal bariyer oluşturulması esasına dayanan bu tedavi yöntemi “apeksifikasyon” olarak tanımlanmaktadır (63, 66). Her ne kadar açık apeks kalsifik bir bariyer tarafından kapansa da, apeksifikasyon kökün

sürekli gelişimini desteklemez. Nekrotik pulpalı ve apikal periodontitisli immatür kalıcı dişler, apikal sert doku bariyeri oluşumunu indüklemek için kalsiyum hidroksit kullanılarak veya kök kanalının dolumundan önce apikal MTA plug yapılarak geleneksel apeksifikasyon prosedürleriyle tedavi edilmektedir (67).

2.4.2.1. Kalsiyum Hidroksit ile Apeksifikasyon

Apeksifikasyon tedavisinde geleneksel olarak en sık kullanılan materyallerden biri kalsiyum hidroksit olmuştur (68). Birçok çalışma, apeksin başarılı bir şekilde kapatılması için gereken süreyi ve genel olarak bu prosedürün genel sonucunu belirlemek için $\text{Ca}(\text{OH})_2$ kullanarak geleneksel apeksifikasyonu değerlendirmiştir. Heithersay (69), 21 hastada kalsiyum hidroksitin kök ucu kapanmasındaki etkinliğini değerlendirmiştir. 14-75 aylık takibin ardından apikal bölgede iyi tanımlanmış bir apikal bariyer yerine radyografik olarak ince bir kanal boşluğunun görülebildiğini göstermiştir.

Cvek (70), 55 devital daimi keser dişi apeksifikasyon yöntemiyle tedavi etmiş ve tedavi sonrası 14-21 aylık zaman diliminde 50 adet keser dişte iyileşme ve apikal kapanma olduğunu ancak kök gelişiminin devam etmediğini bildirmiştir. İyileşme oranının periapikal lezyonun çapı ve apikal foramenin genişliği ile ilişkili olduğunu belirtmiştir. Uzun dönemde apikal kapanma ve periapikal iyileşmenin büyük oranda elde edilebilir olduğu sonucuna varmıştır. Bununla birlikte kalsiyum hidroksit ile apeksifikasyonun uzun bir süre boyunca (6-24 ay; ortalama, 1 yıl 7 ay) birden fazla ziyaret gerektirmesi ve dentinin kalsiyum hidroksite uzun süre maruz kalması nedeniyle mekanik direncinin azalması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu dezavantajlar, kalsifik bariyer oluşumuna gerek kalmadan kök ucunu kapatmak için MTA tercih edilmesine yol açmıştır (71).

2.4.2.2. MTA ile Apeksifikasyon

Apeksifikasyonu gerçekleştirmek için kalsiyum hidroksit kullanımı yerine günümüzde tek adımlı bir teknik olan MTA ile apikal tıkaç oluşturma işlemi daha popüler bir tedavi yaklaşımı haline gelmektedir (59). Kalsiyum hidroksit kullanılarak yapılan geleneksel apeksifikasyon tedavisinin 6-18 ay sürmesi, hastanın tedaviyi yarım bırakma ihtimalinin artması, apikal tıkaç oluşturmada uzun bir süre boyunca

daimi kanal dolumu yapılamaması sebebiyle diş kırığı riskinin artması gibi nedenlerle, kalsiyum hidroksit yerini MTA kullanılarak dişin apeksinde yapay bir tıkaç oluşturulmasına bırakmıştır (72).

MTA; yüksek pH nedeniyle antibakteriyel etki, biyouyumluluk, sert doku oluşumu sağlaması gibi avantajlara sahiptir ve MTA dentinden biraz daha fazla opaktır (65). Kalsiyum hidroksit ile karşılaştırıldığında, apeksifikasyon için MTA kullanılmasıyla kök kanal sisteminin uygun kemomekanik preparasyonu ve ardından MTA ile apikal tıkama sağlanmasının ardından, daimi restorasyonun tek seansta tamamlanabilmesi immatür dişlerin olası kırıklarını önleyebilmekteydi (65). Kalsiyum hidroksitin aksine, MTA pulpa hücre proliferasyonunu indükleyebilir ve pulpa dokusu ile biyouyumluluk gösterir. Ek olarak, MTA uzun süre boyunca yüksek bir pH sürdürür ve olağanüstü marjinal adaptasyona sahiptir (73). MTA ile tek seans apeksifikasyon, tüm bu avantajları ve kısa tedavi süresi nedeniyle klinisyenler tarafından sıklıkla tercih edilen bir yöntem olmakla beraber, dezavantajı bu tekniğin de kök gelişiminin devamını sağlayamamasıdır (51).

Jeeruphan ve ark. (74) kalsiyum hidroksit apeksifikasyonu, tek seansta MTA apeksifikasyonu veya revaskülarizasyon prosedürüyle tedavi edilen 61 tane immatür dişin tedavi sonuçlarını radyografik ve klinik açıdan değerlendirmiş ve kök genişliği ve uzunluğundaki değişim yüzdesinin sırasıyla MTA apeksifikasyonu grubuna (%0,0 ve %6,1) ve kalsiyum hidroksit apeksifikasyonu grubuna (%1,5 ve %0,4) kıyasla en fazla revaskülarizasyon grubunda (%28,2 ve %14,9) olduğunu bulmuştur. Ek olarak, revaskülarizasyon grubundaki (%100) ve MTA apeksifikasyonu grubundaki (%95,5) dişlerin sağkalım oranı kalsiyum hidroksit apeksifikasyonu grubundakilerden (%77,2) daha yüksektir. Enfekte immatür daimi dişlerin tedavisinde enfeksiyonun giderilmesinde ve kök gelişimini teşvik etmede revaskülarizasyon protokolünün istenen cevaplar verdiği sonucuna varmışlardır. Bununla birlikte, bu apeksifikasyon yaklaşımları sadece apikal kapanmayı teşvik ederken, kök gelişimine izin vermemektedir (75). Bu nedenle açık apeksli nekrotik olgunlaşmamış dişlerde rejeneratif endodontik prosedürler, kalsiyum hidroksit ve MTA apeksifikasyonu ile karşılaştırıldığında kök gelişimini ve apikal kapanmayı sağlama gibi büyük bir avantaja sahiptir (76).

Günümüzde immatür açık apeksli nekrotik ve enfekte pulpalı daimi dişleri tedavi etmeye yönelik tedavi yöntemleri, kalsiyum hidroksit ile apeksifikasyon prosedüründen veya MTA apikal tıkaç tekniğinden rejeneratif endodontik prosedürlere doğru değişmektedir. Rejeneratif prosedürler kök gelişiminin devam etmesine izin verirken, apeksifikasyonda bu sonucun elde edilememesi bu değişimin başlıca nedenlerindendir. Enfekte olmuş, immatür bir kalıcı dişte yetersiz kök uzunluğu ve genişliği gözlemlendiğinde, devam eden kök gelişimini desteklemek için rejeneratif endodontik prosedürlere başlamak avantajlı olacaktır. Hasta, sürekli kök gelişiminin meydana gelemeyebileceği konusunda uyarılmalıdır, bu durumda, apeksifikasyon tedavisine, tercihen kalsiyum hidroksit yerine MTA kullanılarak başlanmalıdır (51). Tüm bu avantajları da göz önünde bulundurulduğunda immatür kök apeksine sahip daimi dişlerin fonksiyonda tutulabilmesi için rejeneratif endodontik prosedürler günümüzde en ideal yaklaşımlarından biri olarak kabul edilmektedir (77).

2.4.3. Rejeneratif Endodontik Tedavi

Rejeneratif endodonti, dentin ve kök yapıları dahil olmak üzere hasarlı yapıların yanı sıra pulpa-dentin kompleksinin hücrelerinin yerini almak için tasarlanmış biyolojik temelli prosedürler olarak tanımlanmıştır (34). Doku rejenerasyonunun amacı (örneğin, Orijinal dokunun hem anatomisini hem de fonksiyonunu yeniden üreten yeni dokunun oluşumu) doku onarımından farklıdır (örn, fonksiyonun restorasyonu olmadan skar dokusu gibi bir yedek dokunun geliştirilmesi) (78). Rejeneratif endodontik tedavi, genellikle kök kanalının dezenfekte edilmesini ve ardından MTA gibi biyoaktif bir malzeme ile kapatılmış bir kan pıhtısı veya trombosit açısından zengin plazma / platelet açısından zengin fibrin verilmesini içerir (79). Rejeneratif endodontik prosedürler çok çeşitlidir ve direkt pulpa kaplaması, revaskülarizasyon, apeksogenez, apeksifikasyon ve hatta kök hücre tedavisi ve doku mühendisliğini içerebilir (59).

Revaskülarizasyon terimi, kısmen veya tamamen pulpa vaskülaritesinin yeniden kazanıldığı ve kök gelişiminin devam etmesini sağlayan dental travma literatüründen alınmıştır. Revaskülarizasyon, doku mühendisliği kavramlarını kesin olarak içermez ve iskelelerin ve büyüme faktörlerinin intrakanal dokuların

rejenerasyonu sürecinde kullanılmasını önemsizleştirir. Pulpa revaskülarizasyonu, endodontik tedavi edilen kök kanalında anjiyogenez indüksiyonunu tanımlarken, pulpa rejenerasyonu; pulpa vaskülarizasyonunun yanısıra fonksiyonel odontoblastların ve sinir liflerinin restorasyonu olarak tanımlanmaktadır (80). Revitalizasyon terimi ise, doğasından bağımsız olarak bu canlı dokuların tekrar kanallara ulaşması olarak tanımlanmaktadır (81).

Maturogenез terimi, sürekli kök gelişimi ve olgunlaşmasının uyarılmasına odaklanmıştır. Bununla birlikte, bu terim bu prosedürleri, vital pulpanın korunduğu, kök gelişimi ve olgunlaşmasına izin veren normal fizyolojik kök gelişimi veya apeksogenez prosedürlerinden ayırt etmez. Rejeneratif endodontik prosedür terimi revaskülarizasyonu, revitalizasyon ve maturogenезi kapsar. Doku mühendisliği kavramlarının kullanımını belirler ve bu tür prosedürlerin temel amacını, yani doku yapısına bakılmaksızın hasarlı diş yapısının yenilenmesini en iyi şekilde tanımlar (78, 82). Bu tip prosedürler tarihsel olarak revaskülarizasyon, revitalizasyon veya rejeneratif endodonti olarak adlandırılrsa da, bu terimler rejeneratif endodonti alanı geliştikçe ortaya çıkan yeni tedavi yöntemlerini de kapsayarak pulpanın organize bir onarımını elde etmeyi amaçlayan tüm prosedürleri içerdiğinden, tek tek bu terimleri kullanmak yerine rejeneratif endodontinin daha kapsayıcı olduğu düşünülmektedir (2).

Apikal periodontitisin iyileşmesi, kök duvarlarının kalınlaşması ve / veya uzaması ve son olarak, pulpa duyarlılık testlerine olumlu bir yanıt verilmesi, rejeneratif endodontik tedavinin başarılı bir sonucu ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (76). Apikal kanal açıklığının küçük olduğu dişlerde revaskülarizasyon zor olabilir (<1 mm). Çünkü apikal açıklığın boyutu, kan damarlarının pulpa dokusuna girmesini etkileyecektir. Açıklık büyüdükçe, anjiyogenezin meydana gelme olasılığı artar. Açık apeksli immatür dişler bu nedenle pulpa dokusu rejenerasyonu için en iyi adaylardır (83).

AAE'nin 2018'deki son açıklamasına göre (84) rejeneratif endodontik prosedürlerin başarı derecesi, birincil, ikincil ve üçüncül hedeflere ulaşmanın mümkün olduğu ölçüde ölçülmektedir:

-Birincil hedef: Semptomların ortadan kaldırılması ve kemik iyileşmesinin kanıtı.

-İkincil hedef: Artan kök duvar kalınlığı ve / veya artan kök uzunluğu (arzu edilir, ancak belki de gerekli değildir)

-Üçüncül hedef: Canlılık testine olumlu yanıt (eğer başarılırsa, daha organize bir hayati pulpa dokusunu gösterebilir).

Devital immatür kalıcı dişlerin rejenerasyonunun / revaskülarizasyonunun kök gelişimini ve apikal kapanmayı sağlamak için etkili bir tedavi seçeneği olabileceğini gösteren artan sayıda vaka raporu bulunmaktadır ancak bu tedavinin oluşum mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Klinik olarak, revaskülarize edilen dişin matürasyonunu teşvik etmek için pulpa dokusunun kanalda yeniden üretildiği düşünülmüştür. Bununla birlikte, bazı hayvan ve insan çalışmaları kanallarda oluşan dokuların, periodontal ligament, sement veya kemik benzeri doku ve fibröz bağ dokusu olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmalar doku mühendisliğinin, genç hastaların nekrotik pulpalı immatür kalıcı dişlerini tedavi etmek ve fonksiyonel dentin-pulpa kompleksini yeniden oluşturmak için daha umut verici olduğunu savunmuştur (85, 86).

2.4.3.1. Klinik Rejeneratif Endodontik Prosedürlere Genel Bakış

Bugüne kadar, rejeneratif endodontik prosedürler ile ilgili yayınlanmış klinik çalışmaların çoğu vaka raporları ve vaka serilerinden oluşmaktadır; bunlardan sadece biri retrospektif kohort çalışması ve rejeneratif endodonti tedavisi üzerine bir prospektif randomize klinik çalışmadır; randomize kontrollü klinik çalışma yayınlanmamıştır. Olgu serileri, belirli bir tedavi yöntemini desteklemek için kesin kanıt sağlamasa da, gerçek hastalar üzerinde yapılma avantajına sahiptir ve bu nedenle klinik öncesi çalışmalardan daha yüksek düzeyde kanıt sağlarlar (87). Rejeneratif endodonti teknikleri yayınlanmış olgu sunumlarında ve olgu serilerinde değişiklik gösterse de, dikkat çekmeye değer bazı tutarlı özellikler vardır. Bildirilen hemen hemen tüm vakalar, matür dişlerde gerçekleştirilen iki yayınlanmış vaka hariç, 8 ila 18 yaş arası hastaları ve immatür apeksli dişleri içermektedir (88). Bu nedenle, bazı yaşlarda vaka seçiminde hasta yaşı önemli bir faktör gibi

görülmektedir. Çünkü genç hastaların iyileşme kapasitesi ya da kök hücre rejeneratif potansiyeli daha yüksektir. Yaşla ilgili bir diğer önemli faktör, kök gelişiminin evresidir, çünkü immatür apeksin geniş çapı, dokunun kök kanal boşluğuna doğru büyümesini teşvik edebilir ve apikal papilladaki mezenkimal kök hücrelerin zengin kaynağını oluşturabilir. Bu dokular uyarılmış kanama basamağı sırasında muhtemelen yırtılır ve kök kanal boşluğuna verilen mezenkimal kök hücrelerin olası bir kaynağını oluşturur (87).

Rejeneratif prosedürün temel amacı klinik semptomların giderilmesi ve apikal periodontitisin iyileşmesidir. Kanal duvarlarının kalınlaşması ve / veya sürekli kök olgunlaşması ikincil hedeftir. Bu nedenle rejeneratif endodontik prosedürlerin ve geleneksel cerrahi müdahale içermeyen kök kanal tedavisinin birincil amacının benzer olduğu söylenebilir. Rejeneratif endodontik tedavi ile kök kanal tedavisi arasındaki fark, önceki tedavide dezenfekte edilen kök kanal boşluğunun dışın kendi canlı dokusu ile doldurulması ve ikinci seansta kanal boşluğunun biyouyumlu maddelerle doldurulmasıdır (89).

Rejeneratif endodontik prosedürlerle ilgili çalışmalarda klinik protokollerde çok çeşitli farklılıklar görülmektedir. AAE tarafından kurulan “Rejeneratif Endodonti Komitesi” tarafından, 2018 yılında rejeneratif tedavi prosedürü için bazı hususlar önerilmiştir. Ayrıca, Avrupa Endodonti Derneği (ESE) 2016 yılında rejeneratif endodontik prosedürlere ilişkin bir durum değerlendirmesi yapmıştır (11). Rejeneratif endodontik tedavide en popüler kanal içi medikamentin siprofloksasin, metronidazol ve minosiklin içeren üçlü antibiyotik pat (TAP) olduğu gösterilmiştir. ESE tarafından intrakanal bir ilaç olarak renksiz bir kalsiyum hidroksitin önerilmesine rağmen, AAE tarafından ise klinik kaygılar nedeniyle TAP önerilmektedir (11).

Geleneksel kök kanal tedavisinde, enfeksiyonun ortadan kaldırılması mekanik ve kimyasal araçların bir araya getirilmesiyle başarılmıştır. İmmatür nekrotik kalıcı dişlerin rejeneratif tedavisinde, zaten ince ve kırılğan kök dentin duvarlarının daha da zayıflamasını önlemek için mekanik preparasyondan kaçınılmaktadır (75). Ancak mekanik enstrümantasyon uygulanmadığında kök kanal sisteminde biyofilm yapısı kalabilir ve kanal duvarlarının sınırlı preparasyonu sebebiyle antibakteriyel ajanlara

karşı daha dirençli hale gelebilir. Bu amaçla kanal içi bakteriyal yükü azaltmak için çeşitli antibiyotik kombinasyonları önerilmiştir, ancak en yaygın olarak kullanılan siprofloksasin, metronidazol ve minosiklinden oluşan üçlü bir antibiyotik pattr (90). Bu olumlu özelliklere rağmen, birkaç olgu raporu minosiklinin görünür kron renklenmesine neden olduğunu göstermiştir. Son zamanlarda, amoksisilin, sefaklor ve doksisisiklin dahil olmak üzere siprofloksasin ve metronidazol ile kombinasyon halinde minosiklin kullanılmadan antibiyotik alternatifleri önerilmiştir (91). Kalsiyum hidroksit, kök olgunlaşması için gerekli canlı pulpa hücrelerini veya kök hücrelerini öldürme olasılığı ve pulpa kanalı kalsifikasyonuna neden olma potansiyeli nedeniyle önerilmemektedir (51).

Kanalın son irrigasyon prosedürü olarak % 17 Etilen diamin tetra asetikasit (EDTA) ile irriye edilmesi, dentin tübüllerini açar ve intrakanal medikamentin daha fazla antimikrobiyal etkisine izin verir. EDTA aynı zamanda dentinde endojen biyoaktif sinyal moleküllerinin salınmasına katkıda bulunarak rejenerasyonu teşvik edebilmektedir (92).

2.5. Rejeneratif Endodontik Tedavi Protokolü

Rejeneratif endodontik prosedürlerde en güncel yaklaşım 4/1/2018 tarihinde AAE tarafından yayınlanmıştır. Rejeneratif endodontik tedavi için tavsiye edilen yaklaşım bu olmakla birlikte, hızlı gelişmeler gözlenen bir alan olduğundan, klinisyenler bu alanda yeni bulgular elde ederse tedavi protokolü aktif olarak gözden geçirilmesi gerektiği bildirilmiştir (84).

2.5.1. Vaka Seçimi

- Nekrotik pulpa ve immatür apekse sahip dişler,
- Post / core, pulpa odasından destek alarak final restorasyon gerekmeyecek dişler,
- Uyumlu hasta / ebeveyn,
- Prosedürü tamamlamak için gerekli ilaçlara ve antibiyotiklere alerjisi olmayan hastalar (ASA 1 veya 2) uygun görülmüştür.

2.5.2. Hasta Bilgilendirmesi

- İki (veya daha fazla) randevu verilebileceği,
- Antimikrobiyallerin tedavide kullanılabileceği,
- Kök/ kron renklenmesi olabileceği, tedaviye yanıt alınamayabileceği, ağrı ve enfeksiyon oluşabileceği gibi olası yan etkiler hakkında bilgi verilmelidir.
- MTA apeksifikasyonu, tedavi yapılmaması, çekim gibi tedavi alternatifleri hakkında bilgi verilmelidir (84).

2.5.3. İlk Randevu

- Lokal anestezi, rubber dam izolasyonu ve giriş kavitesi açılması.
- Periapikal alana irrigasyon solüsyonlarının ekstrüzyonunu en aza indiren bir irrigasyon sistemi kullanarak 20 ml NaOCl ile bol, nazıkçe irrigasyon yapılmalıdır (örn; Kapalı uçlu ve yandan açılan enjektör veya EndoVac ile). Daha düşük NaOCl konsantrasyonları tavsiye edilir (% 1.5 NaOCl (20 mL / kanal, 5 dakika) ve daha sonra apikal dokulardaki kök hücrelere sitotoksiteyi en aza indirmek için kök ucundan yaklaşık 1 mm geride konumlandırılmış irrigasyon iğnesi ile salın veya EDTA (20 mL / kanal, 5 dakika) ile irrig edilir. Paper point ile kanallar kurutulur. Kök kanallarına kalsiyum hidroksit veya düşük konsantrasyonda TAP yerleştirilir. TAP kullanılıyorsa:

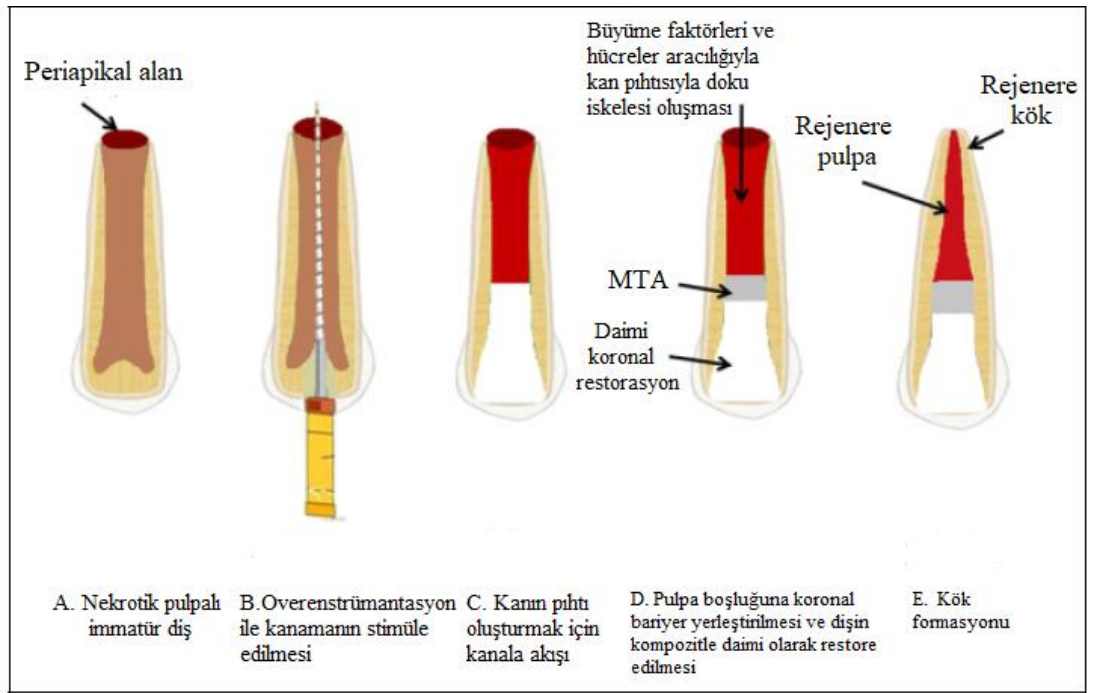
1) Pulpa odasına renklenme riskini en aza indirmek için bir DBA uygulanmalıdır.

2) 1: 1: 1 konsantrasyonda siprofloksasin: metronidazol: minosiklini 1-5 mg / ml miktarda kanala uygulanır. TAP dış renklenmesiyle ilişkilendirilmiştir. Minosiklin olmayan ikili antibiyotik pat (DAP) veya minosiklin yerine diğer antibiyotikleri kullanmak (örn; klindamisin, amoksisilin, sefaklor) bir başka olası alternatiftir.

Klinisyenler, çalışmaların daha yüksek konsantrasyonlarda TAP / DAP kullanılarak yapıldığının farkında olmalıdır, ancak sınırlı çalışmalar nedeniyle şu anda daha yüksek konsantrasyon önerisi yapılamamaktadır.

- TAP kullanılıyorsa, mine sement sınırının altında kaldığından emin olunmalıdır.

- 3-4 mm cavit, intermediate restoratif materyal, cam iyonomer veya başka geçici bir restoratif materyal ile kapatılmalıdır. Hasta 1-4 hafta sonra çağırılmalıdır (84).



Şekil 2.1. Revaskülarizasyon prosedürünün şematize edilmesi (77)

2.5.4. İkinci Randevu

- Dişin ilk seanstaki tedaviye yanıtı değerlendirilmelidir. Kalıcı enfeksiyon semptomları varsa, antimikrobiyal veya alternatif antimikrobiyal ile ek tedavi süresini düşünülmelidir.

- Vazokonstriktörsüz % 3 mepivakain ile anestezi, rubber dam izolasyonu ile, dişe 20 ml % 17 EDTA ile bol irrigasyon yapılmalıdır. Paper point ile kurutulmalıdır.

- Fazla enstrümantasyon (eğge, explorer) ile kanal sisteminde kanama yaratılır (tüm kanalın kanla doldurulması amacıyla apikal foramenlerin 2 mm ötesinde bir K

tipi eğeyi döndürerek indüklenir). Kan pıhtısı oluşturmaya bir alternatif, trombosit açısından zengin plazma (PRP), trombosit açısından zengin fibrin (PRF) veya otolog fibrin matrisinin kullanılmasıdır (84).

- Kanama mine sement sınırında 3-4 mm restoratif materyale izin verecek düzeyde durdurulur.

- Gerekirse ve beyaz MTA kullanılıyorsa kan pıhtısının üzerine CollaPlug , Collacote , CollaTape gibi emilebilir bir matris yerleştirilmelidir.

- 3-4 mm'lik bir cam iyonomer tabakası MTA üzerine yerleştirilir ve 40 saniye boyunca hafifçe ışınlanır. MTA renk değişikliği ile ilişkilendirilmiştir. MTA'ya alternatifler (biyoseramikler veya trikalsiyum silikat simanlar [örneğin, Biodentin (Septodont, Lancasted, PA, ABD), EndoSequence BC RRM-Fast, Brasseler, ABD] estetik kaygının olduğu dişlerde düşünölmelidir.

- Anterior ve premolar dişlerde Collatape / Collaplug kullanılmalı ve 3 mm kalınlığında renklenmeye sebep olmayan bir restoratif materyalle restore edilmeli ve ardından kompozitle kapatılmalıdır.

- Molar dişlerde Collatape / Collaplug kullanılmalı ve 3 mm MTA ile restore edilmelidir ve ardından rezin modifiye cam iyonomer veya kompozitle kapatılmalıdır (84).

2.5.5. Takip

- Klinik ve radyografik inceleme yapılır.

- Ağrı, yumuşak dokuda şişlik veya sinüs yolu (genellikle birinci ve ikinci randevular arasında görülür) olmamalıdır.

- Apikal radyolusensin azalması, (genellikle tedaviden 6-12 ay sonra gözlenir).

- Kök duvarlarının artan genişliği, (bu genellikle kök uzunluğundaki belirgin artıştan önce görülür ve genellikle tedaviden 12-24 ay sonra ortaya çıkar).

- Artan kök uzunluğu,

- Pozitif pulpa canlılık testi yanıtı beklenmektedir.
- İlk 2 yıldan sonra yıllık takip önerilmektedir.
- CBCT, ilk değerlendirme ve takip ziyaretleri için şiddetle tavsiye edilmektedir (84).

2.6. Rejeneratif Endodontik Tedavi Yöntemleri

Rejeneratif endodontide çeşitli tedavi yaklaşımları bulunmaktadır. Bu teknikler kan pıhtılaşması yoluyla kök kanal revaskülarizasyonu, post natal kök hücre tedavisi, pulpa implantasyonu, iskele implantasyonu, enjekte edilebilir iskelesi, üç boyutlu hücre yazılımı ve gen terapisi olarak sıralanabilir. Bu rejeneratif endodontik teknikler, halihazırda açıklanan temel doku mühendisliği ilkelerine dayanır ve hücreler, büyüme faktörleri ve yapı iskelelerinin özel olarak ele alınmasını içerir (34).

2.6.1. Kan Pıhtılaşması Yoluyla Kök Kanal Revaskülarizasyonu

Revaskülarizasyon sırasında, apekte overenstrümanasyon yapılarak kök kanalına kanamanın indüklenmesi sağlanır ve ardından kan pıhtısı üzerine bir koronal bariyer materyali yerleştirilir. İntrakanal kanama kullanımı, dentin matrisindekilerle birlikte önemli sayıda farklılaşmamış mezenkimal kök hücreyi kök kanal sistemine aktarabildiğinden pulpa boşluğuna yeni bir doku oluşumuna ve kök gelişiminin yeniden başlamasına katkıda bulunur ve kan pıhtısı bir iskele görevi görebildiğinden, bu prosedürlerde önemli bir adımı temsil ettiğinden günümüzde en çok tercih edilen metodlardandır (4, 93).

Bu vakaların önemli bir yönü, birkaç hafta boyunca TAP'ın yerleştirilmesiyle NaOCl ve klorheksidin gibi kanal içi irrigantların kullanılmasıdır. Bu antibiyotik kombinasyonu, kök kanal sistemlerini etkili bir şekilde dezenfekte eder ve nekrotik dişlerin revaskülarizasyonunu artırır. Çeşitli irrigantların ve ilaçların seçiminin ek araştırmaya değer olduğu düşünülmektedir çünkü bu materyaller, antimikrobiyal özelliklerine ek olarak rejenerasyon için önemli etki sağlayabilmektedir (34).

2.6.2 Post Natal Kök Hücre Tedavisi

Rejenerasyon potansiyeli olan hücreleri elde etmek için en kolay yol, dezenfekte edilen kök kanal sistemine apeks açıldıktan sonra erişkin kök hücrelerinin enjeksiyonudur. Deri, yanak mukozası, kemik ve yağ dokusu gibi çeşitli dokulardan erişkin kök hücreleri elde edilmektedir (94).

2.6.3. Pulpa İmplantasyonu

Pulpa implantasyonu, laboratuarda çeşitli yöntemlerle hazırlanmış pulpa dokusunun temizlenmiş ve prepare edilmiş kök kanalına transplante edilmesi ile gerçekleştirilen bir tedavi şeklidir (34). Kültür ortamında çoğaltılan pulpa dokusu in vitro olarak ekstrasellüler matriks protein tabakası ya da biyoçözünür polimer nanofiber tabakada üzerinde yetiştirilebileceği gibi, hastalık ve patojen içermeyen arıtılmış pulpa kök hücre dizisi de implante edilecek pulpa dokusunun kaynağı olabilir (95).

2.6.4. İskele İmplantasyonu

İskele, pulpa kök hücrelerinin büyümesini ve farklılaşmasını teşvik eden, hücre organizasyonunu sağlayan hücre kanlanması destekleyen üç boyutlu bir yapıdır (34, 96). Porlar, tabakalar, jeller ve kanalları olan kompleks yapılardan oluşabilirler. İmplantasyondan sonra yavaşça çözünerek yeni oluşan doku ile iskelenenin yer değiştirmesi planlanır (97).

2.6.5. Enjekte edilebilir doku iskelesi

Pulpa dokusunun kök kanal yapısına bir destek sağlaması gerekmediğinden, yumuşak üç boyutlu iskele matriksleri geliştirilmiştir. Hidrojel, bunun en önemli örneği olup enjekte edilebilir bir doku iskelesidir. Hücre proliferasyonu ve farklılaşması için bir substrat işlevi görerek pulpa rejenerasyonunun gerçekleşmesine yardımcı olduğu belirtilmiştir (98).

2.6.6. Üç Boyutlu Hücre Yazılımı

Bu teknikte özel bir cihaz kullanılarak, pulpa dokusunu tekrar oluşturması ve hidrojel içine hücre tabakalarını dağıtmasıyla elde edilen yapı, cerrahi olarak kök kanalına implante edilmektedir (99)

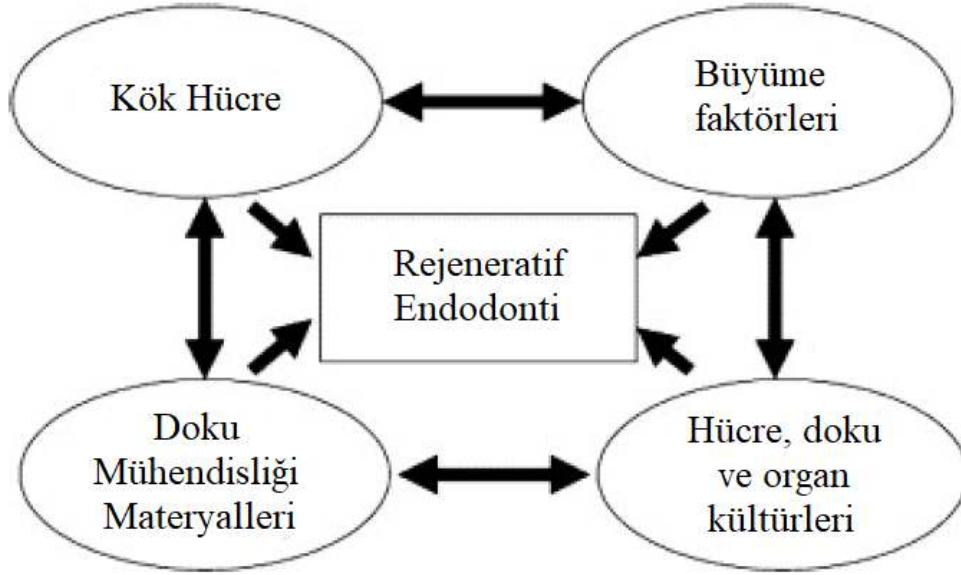
2.6.7. Gen Tedavisi

Bu tedavinin amacı, vücudun gereksinim duyduğu gerekli kimyasal maddeyi vücut dışından sağlamaktansa, vücudun kendisinin üretmesini sağlamaktır. Pulpa dokusunun mineralizasyonunu arttırıcı genin aktarımı rejeneratif pulpa tedavisinde kullanılmıştır ancak bu çalışmalarda henüz kesin bir başarı sağlanamamıştır. Sağlık açısından riskinin yüksek olması nedeniyle, gen tedavilerinin rejeneratif endodontide kullanımının yakın gelecekte mümkün görülmediği ifade edilmiştir (100).

2.7. Doku Mühendisliği

Rejeneratif endodontik tedavinin sonucunu geliştirmek ve fonksiyonel bir pulpa-dentin kompleksini yeniden oluşturmak için, rejeneratif endodonti alanında doku mühendisliği teknolojisi uygulanmıştır (101). Rejeneratif endodontik prosedürlerin geliştirilmesine doku mühendisliği prensiplerinin uygulanması, fonksiyonel bir pulpa-dentin kompleksi oluşturmak için farklı kök hücrelerin, büyüme faktörlerinin (morfojenlerin) ve iskelelerin doğru yerleşimi üzerine araştırma yapılmasını gerektirir (102).

Tablo 2.1. Rejeneratif endodontik prosedürleri geliştirmek için gerekli temel araştırma alanları (34).



2.7.1. Kök Hücreler

Kök hücreler, farklılaşma yoluyla birçok farklı hücre tipine dönüşme potansiyeline sahip olgunlaşmamış, kendilerini yenileyebilen, spesifik olmayan, vücuttaki konumlarına ve üretebildikleri hücrelerin türüne göre değişebilen hücrelerdir (103). Erişkin kök hücreler ve embriyonik kök hücreler olmak üzere iki tip kök hücre vardır. İnsan vücudunda doğal olarak bulunan bu kök hücrelere ek olarak, son zamanlarda indüklenmiş pluripotent kök hücreleri, somatik hücrelerin genetik manipülasyonu yoluyla yapay olarak üretilmiştir (104).

Kök hücreler de genel olarak farklılaşma kapasitelerine göre totipotent, pluripotent ve multipotent olarak üç gruba ayrılır. Araştırmacılar geleneksel olarak embriyonik kök hücrelerin farklılaşma yeteneğinin postnatal kök hücrelerinkinden çok daha fazla olduğunu bulmuşlardır, ancak son çalışmalar postnatal kök hücrelerin ilk düşünüldüğünden daha fazla farklılaşma kapasitesi olduğunu göstermektedir (34). Embriyonik hücreler elde edilmeleri hakkında yasal ve etik ihtilaflar sebebiyle kolaylıkla kullanılamamaktadır bu yüzden daha çok erişkin kök hücreler üzerine

odaklanılmıştır. Erişkin kök hücreler, bulundukları dokudan köken alan, multipotent, farklılaşmamış hücrelerdir ancak sadece bazı dokulara dönüşebilirler (97).

Daimi diş pulpası kök hücreleri, insan süt dişi kök hücreleri, periodontal ligament kök hücreleri, diş folikülü progenitör kök hücreleri ve apikal papilladan kök hücreler (SCAP) dahil olmak üzere dişlerden çeşitli yetişkin kök hücreleri izole edilmiştir. İnsan histolojisi çalışmaları, başlatılan intrakanal kanamanın kök hücrelere sistemik seviyelerden 400-600 kat daha yüksek seviyelerde kök hücreler sağladığını göstermiştir (77).

Dental pulpa kök hücreleri, yerleşik bağışıklık hücreleri tarafından ve hasarlı dentinden salınan kemotaktik ajanların bir gradyanını takiben yaralanma bölgesine alınır. Bu hücrelerin oluşturduğu onarıcı dentin, kaybedilen birincil, ikincil ve reaksiyoner dentinden farklıdır. Düzensiz, atübüler ve hücresel kapanımlara sahip olduğu tespit edildiğinde genellikle "osteodentin" olarak adlandırılır. Bu hücresel onarım süreci, MTA ve Biodentin gibi biyoaktif malzemelerle de geliştirilir. Ayrıca kök hücrelerin odontoblastlara kontrollü olarak farklılaştırılması önemli bir araştırma alanıdır ve doku mühendisliği kavramlarına uygundur. Servikal alanın veya ideal olarak pulpa odasının yapısal olarak güçlendirilmesine izin veren iletim sistemlerinin geliştirilmesi, kayıp diş yapısını yenilemek için klinik fırsatlar sağlayabilir. Böylece doğal dişlerin olası kırık veya çekim endikasyonunda ağızda tutulmasını sağlayabildiği bildirilmiştir (105).

2.7.2. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri, hücre aktivitesini düzenleyen ve hücresel proliferasyonu ve/veya farklılaşmayı indükleyen spesifik yüzey reseptörleri aracılığıyla ekstrasellülmatriks dinamiklerine katılan, hücreler arası ve hücre-ECM sinyalizasyonuna özgü peptit molekülleridir (106). Büyüme faktörleri dental pulpa-dentin rejenerasyonunda nakledilen hücreleri veya endojen hücreleri düzenler. Bu hücreler, tüm diş pulpa hücrelerinin göçünü, çoğalmasını, farklılaşmasını ve apoptozunu içeren geniş bir hücresel aktiviteyi kapsar, kök / progenitör hücreler buna dahildir (80).

Dentinden salınan morfojenler periapikal bölgede bulunan kök hücreleri kimyasal yolla çekebilirler. Lovelace ve ark. (89) periapikal kanamanın indüklenmesiyle mezenkimal kök hücrelerin periapikal alandan kanal boşluğuna geldiğini göstermiştir. Kan, trombosit kaynaklı birçok büyüme faktörü içerir. Bu nedenle, indüklenen periapikal kanama, fibrin iskele, mezenkimal kök hücreler ve kandan elde edilen biyoaktif büyüme faktörlerini kanal boşluğuna getirir. Pulpa rejenerasyonu için hastanın kendi kanından elde edilen büyüme faktörlerinin yanısıra dentinden salınan büyüme faktörleri ile yoğunluk ve nitelik açısından optimal karışım sağlanmaktadır (107).

Son zamanlarda PRP ve PRF de doku iskelesi olarak kullanılmaktadır çünkü PRP ve PRF büyüme faktörleri açısından zengindir ve bu durumun pulpa-dentin kompleksinin rejenerasyonuna yardımcı olabilir. Bununla birlikte, immatür nekrotik dişlerin yeniden canlandırılmasında trombosit konsantrasyonlarının klinik çalışmalarının sistematik bir incelemesi, PRP veya PRF'nin, rejeneratif endodontik tedavide kanal duvarlarının kalınlaşmasını ve devam eden kök gelişimini teşvik etmede kan pıhtısına göre önemli ölçüde üstün olmadığını göstermiştir (67). Ek olarak, rejeneratif endodontik prosedürlerde dentinin EDTA irrigasyonu ile demineralize edilmesinden sonra dentin matrisine gömülmüş büyüme faktörlerinin de kanal boşluğuna salındığını belirten çalışmalar mevcuttur.

2.7.3. Doku İskelesi

Rejenerasyon için kullanılan bir doku iskelesi, yerel bir alanda hücre büyümesi, farklılaşması ve organizasyonu için yapı sağlamalıdır (108). Kanamanın indüklenmesi ve intrakanal kan pıhtısının oluşumu, SCAP için bir iskele sağlamak adına pulpa dentin rejenerasyonu rejeneratif endodontide kullanılan güncel bir prosedürdür (109).

Çapraz bağlı bir fibrin ağ iskelesi oluşturmak için trombin ve fibrinojenin aktivasyonu ile intrakanal doku hasarından bir pıhtı oluşur. Kan pıhtısı, kök hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını desteklemek için temel büyüme faktörlerinden oluştuğundan kök hücre homingi için bir yapı iskelesi olarak biyomedikal alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (5). Ayrıca kan pıhtısı rejenerasyonda ihtiyaç duyulan

büyüme faktörleri açısından zengin bir kaynaktır ve sementoblast, odontoblast, fibroblast gibi hücrelerin farklılaşmasında, olgunlaşmasında ve rejenerasyonunda önemli bir role sahiptir (110).

Ancak ideal bir doğal iskele;

- hücre çoğalması için yeterli bir gözenekliliğe,
- besinlerin, oksijenin ve atığın taşınmasında etkinliğe,
- uygun fiziksel ve mekanik güce,
- minimal derecede bir enflamatuvar yanıt,

- doku rejenerasyon sürecine kıyasla benzer bir biyolojik olarak parçalanabilme yeteneğe sahip olmalıdır (111).

Son çalışmalarda, rejeneratif endodontik tedavide PRF ve PRP gibi alternatif iskeleler kullanmıştır (112-114). PRP, artmış büyüme faktörü konsantrasyonları nedeniyle rejeneratif endodontik tedavi rejimleri için potansiyel yüksek olan ideal bir iskele olarak belirtilmiştir (6, 114).

Doku iskeleleri, doğal ya da sentetik olmak üzere ikiye ayrılır (115). Doğal doku iskelelerinin örnekleri arasında kolajen, glikozaminoglikanlar, hyaluronik asit, demineralize veya doğal dentin matrisi, ve fibrin bulunmaktadır. Öte yandan, sentetik yapı iskeletlerinin örnekleri arasında polilaktik asit, poliglikolik asit, polilaktik-glikolik asit, poliepsilon kaprolakton, hidroksiapatit / trikalsiyum fosfat, biyoseramik ve hidrojel sayılabilir (105).

2.8. Rejeneratif Endodontik Tedavinin Avantajları

Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada rejeneratif endodontik tedavi uygulamaları ile açık apeksli dişlerde oluşan periapikal apse ve periradiküler kemik rezorpsiyonuna rağmen yeni kök oluşumu sağlanabildiği, pulpa nekrozu sonucu periradiküler lezyonu ve fistülü olan dişlerde bile apeks oluşumu gözlendiğini bildirilmiştir (61, 116, 117).

Başlıca avantajı, daha fazla kök gelişimi ve sert doku birikimi ile dentin duvarlarının güçlendirilmesi ve kök gelişimi derecesine bağlı olarak tedavi sonrası % 28 ile % 77 arasında değişen servikal kök kırığı olasılığını düşürmesidir (6, 118) .

2.9. Rejeneratif Endodontik Tedavinin Dezavantajları

İmmatür kalıcı nekrotik dişlerin endodontik tedavisi zorlu bir klinik prosedürdür. En güncel tedavi yaklaşımı olan rejeneratif endodontik tedavi çeşitli avantajlara sebep olsa da başlıca dezavantajı diş renklenmesine sebep olabilme potansiyelidir (6).

2.9.1. Rejenatif Endodontik Tedaviye Bağlı Diş Renklenmesi

Ön dişlerin endodontik tedavisine bağlı olarak kurondaki renk değişikliği, süregelen bir endişe kaynağıdır. Endodontik tedavi için yaygın olarak kullanılan materyallerden bazıları, çevredeki sert dokuların bir miktar boyanmasına neden olur (119).

Direkt pulpa kuafajı, Cvek pulpotomi, perforasyon onarımı ve rejeneratif endodonti gibi pulpa tedavisi prosedürleri, materyallerin dişin koronal üçte birlik kısmına renk değişikliği potansiyeli taşıyan materyal yerleştirilmesini içerir (120). Bizmut oksit eklenmiş modifiye Portland simanından oluşan MTA bu amaçla kullanılmak üzere 1993 yılında piyasaya sürülmüştür. Düşük sitotoksositeye sahip biyouyumlu bir materyal olduğu gösterilmesine ve endodontik onarım malzemesi olarak birçok ideal özelliği olmasına rağmen, MTA kullanımıyla ilgili bir endişelerden biri diş rengini değiştirmesidir (8). Bununla birlikte dişin renklenmesi, hemoglobin ürünlerinin dentin tübüllerine nüfuz ettiği travma geçirmiş dişlerde de görülebileceği üzere, yalnızca endodontik ürünlere atfedilemez (13).

Revaskülarizasyon, kök kanalının antibiyotik içerikli pat ile dezenfekte edilmesi, kök kanal sisteminde kanama indüklenmesi ve ardından kan pıhtısı üzerine bir bariyer materyali yerleştirilmesini içermektedir. Bu prosedürün en büyük dezavantajlarından biri, antibiyotik içerikli patın, kanın veya bariyer materyalinin neden olabileceği diş renklenmesidir (25). Farklı endodontik materyallerin renk değiştirme potansiyeli üzerine yakın zamanda yapılan bir çalışma, TAP'ın en şiddetli

renk değişikliği ile ilişkili olduğunu göstermiştir ve renk değişikliği TAP içerisindeki minosiklin varlığı ile ilişkilendirilmiştir (85, 121).

Minosiklin içeren antibiyotik kombinasyonu ile oluşturulan renklenme genellikle şiddetlidir, ancak koronal dentin tübüllerinin bir DBA ile tıkanmasıyla en aza indirgenebilir veya bunun yerine intrakanal medikament olarak kalsiyum hidroksit kullanılmasıyla renk değişiminin tamamen önlenemediğini savunan çalışmalar mevcuttur (22, 122-124). Bunun yanında kalsiyum hidroksit ile gerçekleştirilen rejeneratik endodontik tedavi sonrasında da renk değişikliği olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (44). Minosiklin yerine amoksisilin, tetrasiklin, doksisisilin, gibi çeşitli antibiyotikler kullanılarak çeşitli çalışmalar yapılmıştır ancak renk değişimi azaltılsa da tamamen önlenemediği rapor edilmiştir (6, 125).

Silva ve ark. (126), EndoVac (SybronEndo, Orange, CA) kullanarak olgunlaşmamış dişlerin kök kanal boşluğunu nekrotik pulpalarla dezenfekte etmek için tek seansta gerçekleştirilen bir tedavi protokolü bildirmiştir. Diğer bir çalışma da minosiklinin sefaklor ile değiştirilmesi TAP'ın dışı renklendirmeyen yeni bir pat ile değiştirmek, klinisyenin yaptığı mantıklı bir seçim olarak değerlendirilmiştir (68).

Zayıf kullanım özellikleri, uzun sertleşme süresi ve potansiyel renklenme olasılığına gibi dezavantajlara sahip olmasına rağmen MTA, biyouyumluluğu ve iyi sızdırmazlık özellikleri nedeniyle revaskülarizasyon prosedürlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (127, 128). Rejeneratif endodontik tedavi sonrası diş renklenmesinin birincil etiyolojisi minosiklin olmakla birlikte, MTA'nın dış yapısını da renklendirebileceğine dair vaka raporları mevcuttur (129).

Kan kontaminasyonunun yanı sıra, kullanılan materyallerin yapısı ve bileşimi de renk değiştirme potansiyelini belirleyen önemli faktörler arasında yer almaktadır. Endodontik materyallerin neden olduğu diş renk değişikliği klinisyen ve hastalar için yaygın bir sorundur ve endodontik tedavi görmüş dişlerin estetik görünümünü bozabilmektedir (130). Ortaya çıkan renk değişikliği, bizmut, demir, alüminyum ve magnezyum gibi metal bileşenlere bağlıdır. Beyaz MTA (WMTA) tarafından diş renklenmesinin olası bir mekanizması, tozun kalsiyum alüminoferrit fazına ait olan

demir içeriğinin oksidasyonu ile ilgilidir. Bizmut oksit ile renk değişikliği mekanizması ile ilgili olarak da, bu maddenin oksidasyonunun formülasyonundaki oksijeni kararsızlaştırdığı, karbondioksit ile reaksiyona girerek bizmut karbonat üreterek renk değişikliğine neden olduğu belirtilmiştir. Diğer bir teori, bizmut oksidin dentin kollajeni ile etkileşmesidir (21).

MTA'nın ise içeriğindeki metal oksitin renk değişikliğine neden olduğu bildirilmiştir (17). Kalsiyum hidroksit tekniği ile tedavi edilen nekrotik pulpalı immatür dişlerde renk değişikliği dişin servikal kısmındaki MTA ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (131). Yapılan başka bir çalışmada WMTA sebebiyle oluşan renk değişikliği zamanla arttığı bildirilmiştir (22). Bu nedenle Biodentin, son zamanlarda vital pulpa tedavisi, perforasyon onarımı, kök ucu dolgusu, apeksifikasyon ve revaskülarizasyon gibi klinik uygulamalar için MTA'ya bir alternatif olarak önerilmiştir. Biodentin bizmut oksit yerine bir radyopaklaştırıcı olarak zirkonyum oksit içermesi nedeniyle MTA'dan daha az renk değişimi gösterdiğini belirten çalışmalar mevcuttur (23). Materyallerin dentin tübüllerine girmesinin veya kalan mine dentin yapısından geçişinin renk değişimine neden olduğu ileri sürülmüştür. Materyalin krom değerindeki değişikliklerin dişin rengini etkileyebileceği bildirilmiştir (120).

Bununla birlikte MTA, sodyum hipoklorit ve klorheksidin ile etkileşime girdiğinde de ciddi renk değişikliği göstermektedir. Bu durum bizmut oksitin irrigasyon solüsyonu ile etkileşimine atfedilmiştir. Biodentin ise bu solüsyonların varlığında renk kararlılığı göstermiştir. Bunun nedeninin Biodentin'in bizmut oksit içermemesi olduğu bildirilmiştir (120). Literatürde Biodentin'in biyoaktif ve biyouyumlu özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (31). Geliştirilmiş renk stabilitelerine ve MTA'ya göre azaltılmış renklendirme potansiyellerine ek olarak, bu materyallerin aynı zamanda mezenkimal kök hücrelerin proliferasyonunu ve odontojenik farklılaşmasını da teşvik ettiği rapor edilmiştir (31, 132). Ayrıca, kullanım özellikleri ve potansiyel renk değişimi riskini azaltmış olmaları nedeniyle mine sement sınırının üzerine yerleştirilebilirler. Bu biyoaktif malzemelerin daha koronale yerleştirilebilmesi arzu edilen bir avantajdır çünkü servikal sert doku birikimi, kırılmaya karşı direnci ve uzun süreli diş sağkalımını potansiyel olarak

artırabilir (52). Bununla birlikte biodentinin renk değiştirme etkileri hakkında literatürde çok az bilgi mevcuttur (133, 134).

2.10. Diş Renklenmeleri ve Etiyolojisi

Estetik, günümüzde önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle diş hekimliğinde de son yıllarda estetik açıdan kabul edilebilir ve olabildiğince doğal restorasyonlara oluşturulması büyük önem kazanmıştır. Bu nedenle diş şeklinin ve pozisyonunun yanı sıra diş rengi de önemli bir estetik kaygı haline gelmiştir (135).

Dişlerdeki renk değişikliği çeşitli etiyojilere bağlı olarak gerçekteşebilmektedir. Renk değişikliği, "herhangi bir nedenden dolayı bir dişin tonunda, rengine veya yarı saydamlığında meydana gelen herhangi bir değişiklik" olarak tanımlanmıştır. Lokalizasyon, renklenme şiddeti ve görünüm açısından renklenmeler arasında büyük farklılıklar vardır. İçsel renk değişiklikleri diş yapısına dahil edilir. Dış renklenmeler ise diş yüzeyine yapışır. İçsel ve dışsal renk değişiklikleri kombinasyon halinde de mevcut olabilir ve mine, dentini veya pulpayı etkileyebilir. Diş renklenmeleri kalıtsal olabilir, hastanın davranışına, yaşına ve hastalığına bağlı olabilir veya diş ve tıbbi tedavi nedeniyle iyatrojenik olarak ortaya çıkabilir (Tablo 2.2.) (136).

Tablo 2.2. İntreksek ve Ekstresek Renk Sınıflandırması (137).

İNTRENSEK VE EKSTRENSEK RENKLENMELER

Renk	Ekstresek	İntrensek (tek diş)	İntrensek (çok diş)
Siyah	Betel cevizi Kromojenik bakteriler Kahve Dental plak Metaller Çay Tütün Şarap	Amalgam restorasyonlar Cam iyonomer restorasyonlar Kanamalı pulpal travma Minosiklin (revaskülarizasyon prosedürleri) Metaller (gümüş, altın, alaşımlar)	Minosiklin (oral) Tetrasiklin (oral)
Gri		Metaller (gümüş, altın, alaşımlar) Silikatlı materyaller (örn. MTA)	Dentinogenesis İmperfekta Talasemi
Kahverengi / kırmızımsı	Kahve Dental plak Doksisiklin Uyuşturucular (örn. gat, esrar) İodin Oral gargaralar (örn. klorheksidin) Diğer yiyecekler Çay Tütün Şarap	Çürük (aktif, durmuş) Servikal kök rezorpsiyonu Kompozit rezin, cam iyonomer restorasyonlar Dental travma Endodontik irrigasyon solüsyonları İodin Minosiklin (revaskülarizasyon prosedürleri) Kanamalı pulpa travma Rezorsinol-formaldehit rezin	Amelogenesis imperfekta Konjenital eritropoetik porfiri Dental travma Dentinogenesis imperfekta Florozis Mine formasyonu sırasında enfeksiyon varlığı Tetrasiklin (oral) Talasemi
Yeşil	Kromojenik bakteriler Metaller Çay	–	Hiperbilirubinemi Talasemi
Turuncu	Kromojenik bakteriler Metaller Doksisiklin	–	–
Sarı	–	Çürük (aktif) Kompozit rezin, cam iyonomer restorasyonlar Dental travma	Yaşlanma Amelogenesis imperfekta Dentinogenesis imperfekta Dental travma Florozis Hemolitik hastalıklar Hemoglobin, heme Hiperbilirubinemi Malnütrisyon (örn. rickets, skorbüt)
Beyaz	–	Çürük (başlangıç) Dental travma	Travmaya bağlı kalsifikasyon Florozis Mine formasyonu sırasında enfeksiyon varlığı Malnütrisyon (örn. rickets, skorbüt)

Yukarıda görüldüğü gibi (Tablo 2.2) diş renklenme etyolojisi, intrensek veya ekstresek sebeplerle oluşabilen renklenmenin konumuna göre sınıflandırılmıştır. Bununla birlikte internalize renk değişimi kategorisini değerlendiren çalışmalar da mevcuttur (7, 138).

2.10.1. Sistemik İntrensek Nedenler

2.10.1.1. Genetik Nedenler

Amelogenesis imperfekta; amelogenin, enamelın, matrix metalloproteinaz, kallikrein ve FAM83H isimli mine yapısı ve görünümü etkileyen beş gendeki mutasyonlarla ilişkili bir grup kalıtsal durumu tanımlar. Amelogenin kusurları anormal olgunlaşma ve mineralizasyon kusurlarına yol açabilir; düzensiz, hipoplastik mine; veya hipoplaziden hipomaturasyona veya hipomineralizasyona kadar değişen diğer fenotipik varyasyonlara sebep olabilir (139). Porfiri, eritroblastozis fetalis veya talasemi ve orak hücreli anemiye içeren daha birçok hastalık da dişte renk değişikliğine neden olmaktadır (140).

2.10.1.2. Hastalıkla İlişkili Nedenler

Diş gelişimi sırasında yaşanan yüksek ateş, diş yüzeyinde kronolojik mine hipoplazisine yol açarak bant tipi renk değişimlerine neden olabilir. Vitamin ve mineral eksiklikleri hipoplaziye neden olabilir. D vitamini eksikliği olan raşitizm, osteomalazi, kemiklerdeki gelişimsel anormalliklerden kaynaklanan beyaz hipoplazilere yol açabilir (141).

2.10.1.3. Metabolik Nedenler

Mine hipoplazisi, diş oluşumu sırasında florüre aşırı maruz kaldıktan sonra da ortaya çıkabilir. Bu maruziyet mineralize diş yapısında, özellikle mine matriksinde değişikliklere neden olabilir ve benekli bir diş görünümü verebilir. Hipoplazinin kapsamı, diş oluşumu sırasında florür alımı ile doğrudan ilişkilidir ve renk değişiminin derecesini etkileyecektir. Tümör, enfeksiyon veya travma gibi durumların da renk değişimine neden olabileceği bildirilmiştir (142).

2.10.1.4 İlaça Bağlı Nedenler

Tetrasiklin, idrar yolu enfeksiyonları, klamidya ve akne gibi hastalıkları tedavi etmek için kullanılan bir antibiyotiktir. 1950'lerden 1980'lerin başına kadar sıklıkla kullanılmıştır. Özellikle küçük çocuklarda, tüm dişi etkileyebilecek veya

yatay çizgilerden oluşan bir desen olarak ortaya çıkabilecek gri veya kahverengi, derin, koyu lekeler neden olmaktadır. Birçok yetişkin de dişlerinde tetrasiklin lekelerinden muzdariptir. Çocuklar, rahimde oldukları andan 8 yaşına kadar tetrasiklin renk değişimlerine karşı hassastırlar. Diş gelişimi doğumdan önce başladığından, kadınlara hamilelik sırasında tetrasiklin kullanmaktan kaçınmaları tavsiye edilmektedir (141).

2.10.2. Lokal İç Renklenme Nedenleri

2.10.2.1 Pulpal Kanama

Diş travması, intrapulpal kan damarlarının zarar görmesine ve ardından kan bileşenlerinin dentin tübüllerine salınmasına neden olabilir (143). Eritrositlerin hemolizi, hemoglobinin globin ve bir demir atomu içeren heme proteinine parçalanmasıyla sonuçlanacaktır (13). Demir sülfidler şeklindeki demir, dentin tübüllerine ulaşarak çevresindeki dentinde lekeler ve renk değişimlerine neden olabilmektedir. Pulpanın iyileşmesine veya nekrotik olmasına bağlı olarak, renk değişikliği geri dönebilir veya devam edebilir. Pulpa canlı kalırsa, diş sonunda başlangıçtaki rengine dönebilir; ancak, pulpa nekrozunun meydana geldiği durumlarda renk değişikliği kalabileceği ve daha da artabileceği bildirilmiştir (7, 144, 145).

Kan kendi başına dentin içinde hemoglobinin, metabolitlerinin veya diğer hematin moleküllerinin birikimiyle renk değişikliğine yol açabilir (13). Kalsiyum silikat simanlarının renk değişimi, materyal kırmızı kan hücreleriyle temas ettiğinde gözlenebilir (17), bu nedenle demir iyonlarının ve kalsiyum alumino ferrat gelişiminin renk değişikliğinin kaynağıyla ilgili olabileceği varsayılmaktadır. Başka bir olası bir hipotez, kalsiyum silikat esaslı simanda kan bileşenlerini emebilen gözeneklerin varlığıdır (22).

2.10.2.2. Pulpa Nekrozu

Diş pulpasının kimyasal, mekanik veya mikrobiyal olarak zarar görmesi, özellikle bakteriler ve bunların toksik yan ürünleri tarafından meydana gelebilir. İlk enflamasyondan sonra, pulpa lokal mikroapseler geliştirir, ardından doku nekrozu ve

sonunda tam nekroz gelişir. Pulpa nekrozundan kaynaklanan parçalanma ürünleri dentin tübüllerine dahil olabilir ve çevreleyen dentinin renginin değişmesine neden olabilir. Renk değişiminin yoğunluğu, renk değiştiren materyallerin pulpa odasında kaldığı süre ile orantılı olarak artmaktadır (146).

2.10.2.3. Pulpa Doku Kalıntıları

Endodontik tedaviden sonra geride kalan kalıntı pulpa dokusu sonunda parçalanır ve diş yapısının rengini bozabilir. Klinik bir sonuç olarak, tedavi sırasında giriş kavitesi preperasyonunda pulpa boynuzları ve diğer tüm pulpa dokuları dikkatlice çıkarılmalıdır (146).

2.10.2.4. Restoratif Materyaller

Amalgam veya altın gibi metalik dolgu malzemeleri renk değişimlerine neden olabilir. Altın dolgular, inleyler veya onleyler, ancak aynı zamanda pinler veya postlar çoğunlukla renk değişikliklerine neden olur, diş yarı saydamlığını azaltır ve kalan ince diş kısımlarından koyu tonda renklenmelere sebep olurlar. Amalgam dolgular zamanla aşınma ve bozulmaya uğrayacak ve yan ürünler diş yapısında renk değişikliklerine neden olacaktır (147).

2.10.2.5. Kanal İçi Medikamentler ve Kök Kanalı Dolum Malzemeleri

Dişlerdeki renk değişimlerinden çeşitli endodontik medikamentler ve kök kanal dolum malzemeleri sorumlu olabilir. Geçmişte kök dolguları için kullanılan gümüş konlar, dişlerde ve çevre dokularda gri, koyu renk değişimlerine neden olabilmektedir (148, 149). Gutta perchanın açık pembe renk değişikliğine neden olduğu bildirilmiştir (150, 151). Resorsinol-formaldehit rezin patın pembeden koyu bordoya kadar değişen renk değişikliklerine neden olduğu bildirilmiştir (152, 153). İyot içeren kanal içi medikamentleri ya da fenoller kök kanal boşluğunda kalabilir ve oksidasyon yoluyla dentin tübüllerine nüfuz ederek kademeli renk değişimlerine neden olabilmektedir (154).

Biyouyumluluğu ile bilinen bir dental malzeme olan MTA; apeksifikasyonlar, perforasyon onarımı, kök ucu dolgusu ve revaskülarizasyon prosedürleri için kullanılır. MTA dişlerin ve komşu yumuşak dokuların renk değişimine neden

olmaktadır (155). Renk değiştirme etkileri hem gri hem de beyaz formülasyonlar için gösterilmiştir. Felman ve Parashos (17), MTA'yla birlikte kan varlığının renk değişikliğini yoğunlaştırabileceğini bildirmiştir; ancak tam mekanizma hala bilinmemektedir. Ek olarak, ağır metal iyonlarının salınımı ve bizmut oksitin MTA içinde bir radyopaklaştırıcı olarak varlığının da renk değişikliğine yol açabildiği dūřünölmektedir (156). Koronal bariyer için kalsiyum silikat simanlar kullanıldığında, renklenme potansiyeli daha dūřük olan bizmut içermeyen kalsiyum silikat simanlarına öncelik verilmelidir. Bununla birlikte bizmut oksit içermeyen simanların da kanla temas ettiğinde renk değiştirebildiği bildirilmiştir. Bunun yanı sıra kalsiyum silikat koronal bariyer olabildiğince apikale uygulanmalıdır. Renk değişikliği bekleniyorsa ve tavsiyelere titizlikle uyulursa, dişlerdeki renk değişikliği seviyesi insan gözü eşiğinin altına indirilebilmektedir (157). Ayrıca immatür nekrotik dişlerin revaskülarizasyonunu başlatmak için çeşitli kombinasyonlarda antibiyotik patlar kullanılır. Özellikle TAP kullanılması, sert doku yapısında koyu renk değişimleri meydana getirmiştir (85).

2.10.2.6. Diş Çürüğü

İlerlemiş çürükler dişte renk değişimine neden olabilir. Çürüklerin erken evreleri beyaz, opak mine lezyonları ile karakterizedir. Çürüğe müdahale edilmezse, lezyon ekzojen kaynaklardan pigmentler olarak koyulaşabilir ve sıklıkla koyu kahverengi veya siyah bir renge dönüşebilmektedir (158).

2.10.2.7. Kalsifik Metamorfoz / Distrofik Kalsifikasyon

Kalsifik metamorfoz, travmadan kaynaklanabilmekte ve pulpanın mineralize doku ile obliterasyonu ile sonuçlanmaktadır. Odontoblastlar travmatik etkiyle yok edilebilir ve pulpadaki yetişkin kök hücre popölasyonlarından alınan hücreler ile yer değiştirebilir. Bu hücreler, onarıcı dentinin hızla birikmesini başlatarak sarımsı veya sarı kahverengimsi renk değişimlerine neden olabilmektedir. En çok ön dişler etkilenir (7).

2.10.2.8. Kök Rezorpsiyonu

Kök rezorpsiyonu genellikle klinik olarak asemptomatiktir, ancak bazen başlangıçta mine sement sınırında pembe bir görünüm oluşur. Kök rezorpsiyonu her

zaman kök yüzeyinde, sırasıyla iç veya dış kök rezorpsiyonu olarak, pulpal veya periodontal yönden başlar. Belli bir boyuta ulaşıncaya kadar radyografide rezorptif bir kavite görmek zor olabilir (159).

2.10.2.9. Yaşlanma

Yaşlanmaya bağlı diş renklenmeleri, renk değiştiren materyallerin zamanla sert doku yapısına penetre olmasına atfedilen fizyolojik bir sürecin sonucudur. İnsizal aşınma veya çatlaklar gibi yaşa bağlı değişiklikler daha kolay penetrasyona izin verir. Dahası, zamanla diş minesi incelir ve dentin ile mine yapısı arasındaki orandaki değişiklik dişlerin koyulaşmasına neden olur (160).

2.10.3. Ekstresek Renklenme Nedenleri

Ekstresek lekeler yiyecek, içecek veya sigara ile ilgili yüzeysel lekeler ve renk değişimleridir. Kahve veya çay gibi içeceklerin pigmentleri veya sigaradan kaynaklanan katran koyu, kahverengimsi renk değişimlerine neden olabilmektedir. Portakal, havuç, meyan kökü veya çikolatanın aşırı tüketimi yiyeceklerle ilgili lekelerle neden olabilir. Farklı popülasyonlara sahip bölgelerde, betel cevizi ve areka fıstığı kullanımı yaygındır. Özellikle, Güneydoğu ve Doğu Asya, Hindistan, Nepal, Bangladeş, Sri Lanka, Pakistan ve Çin'in bazı bölgeleri, Melanezya, Tayvan ve Pasifik Adaları kökene sahip olan kişiler etkilenebilir. Betel cevizi içeren maddelerin sürekli çiğnenmesi büyük ölçekli siyah renk değişimlerine neden olabilir. Marijuana'da da renk değiştiren ajanlar da bulunur. Asitli gıdalardan demineralizasyon veya kötü ağız hijyeni daha pürüzlü diş yüzeyleri oluşturursa, lekelenmenin etkileri hızlanabilmekte veya artabilmektedir (161).

2.11. Diş Renginin Algılanması ve Ölçülmesi

Dişler tipik olarak birkaç renkten oluşur ve tek bir dişte diş eti kenarından dişin insizal kenarına kadar bir renk geçişi oluşur. Diş eti marjini, minenin altındaki dentinin birbirine yakın olması nedeniyle genellikle daha koyu bir görünüme sahiptir. Çoğu insanda köpek dişleri, orta ve yan kesici dişlerden daha koyu renktedir ve daha genç insanlar, özellikle süt dişlerinde karakteristik olarak daha açık dişlere sahiptir (7). Dişlerin rengi, iç ve dış renklendirmelerin birleşik etkileri ile belirlenir. İç diş rengi, minenin ve dentinin ışık saçılması ve emilim özellikleri ile ilişkilidir. Dış renk,

çeşitli materyallerin (örn. kırmızı şarap, klorheksidin, demir tuzları) mine yüzeyinde emilimiyle ilişkilidir (162). Hassas bir dış rengi belirlemenin yüksek klinik önemi nedeniyle, dış faktörlerden olabildiğince az etkilenen objektif ve tekrarlanabilir bir dış rengi belirlenmesini sağlayan sistemler sürekli olarak geliştirilmektedir (135).

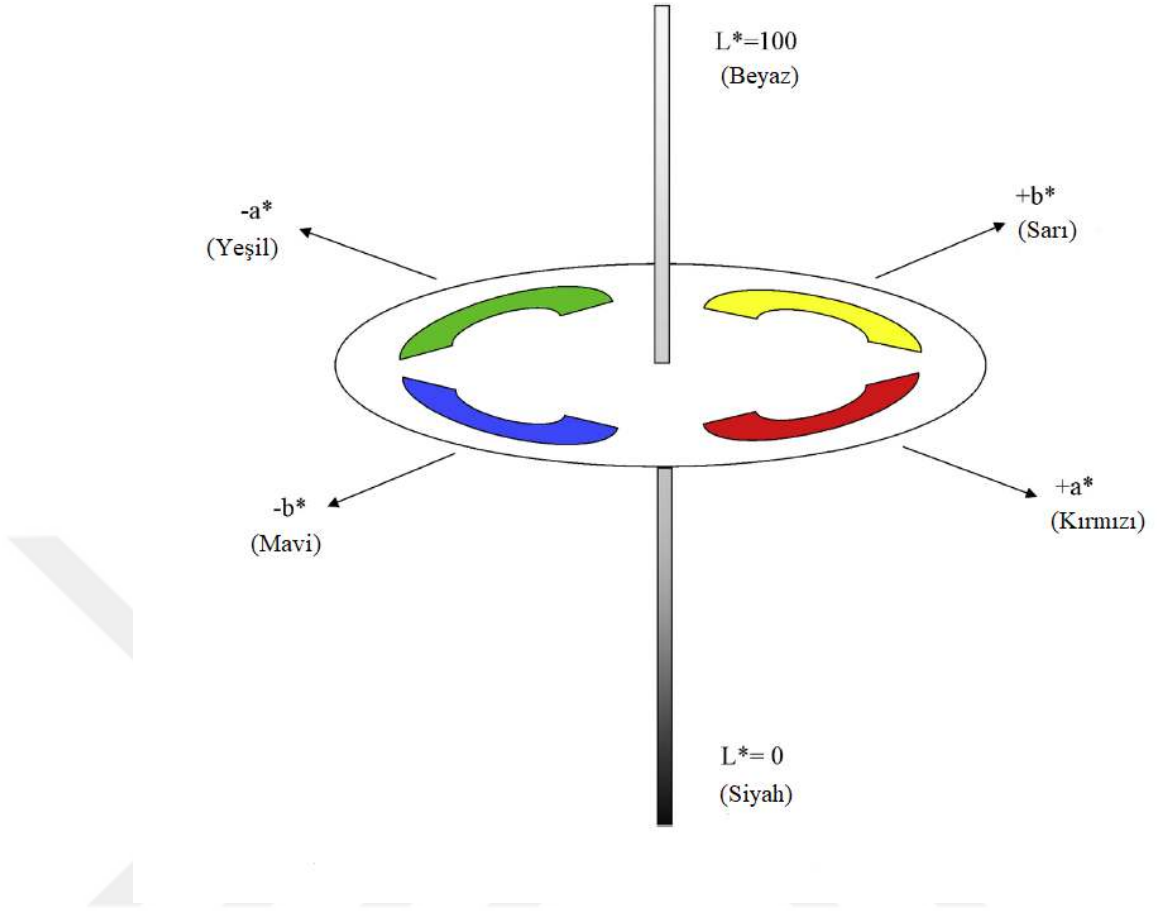
Renklerin üç temel bileşeni ışık kaynağı, ışık kaynağı tarafından aydınlatılan nesneler ve görüş sisteminden oluşur. Bir ışık kaynağı, spektrumdaki farklı dalga boylarındaki enerji dağılımı ile karakterize edilebilir. Işık bir nesnenin üzerine düştüğünde, nesnenin fiziksel özelliklerine bağlı olarak; yansıma, saçılma, soğurma ve iletim yoluyla değiştirilir. Bir nesnenin rengi, spektral yansımasına, yani farklı dalga boyları için yüzeyden yansıyan gelen ışığın miktarına büyük ölçüde bağlıdır. Işık göze ulaştığında, enerjisi retinadaki fotoreseptörler tarafından emilir ve beyin tarafından yorumlanan bir sinyale dönüştürülür (163).

2.11.1. Munsell Renk Sistemi

İnsanlar tarafından renk algısı, göze giren görünür ışığın spektrumunu içerir. Gözün retinasındaki üç tip renk reseptörünü uyarır ve ardından reseptörler de optik sinir yoluyla beyinle iletişim kurar. Bir gözlemcinin algılayacağı rengi üç renk parametresiyle belirlemek en yaygın olanıdır. Diğer renk düzeni sistemleri de rengi üç boyutlu olarak tanımlasa da, Munsell, rengi algısal olarak renk tonu, değer ve kroma boyutlarına ilk ayrılan ve renkleri üç boyutlu uzayda sistematik olarak gösteren ilk kişi olmuştur (164).

2.11.2. CIELAB Renk Sistemi

Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) (165), renk algısını daha iyi bir yorumlamak ve tek tip bir renk uzayına sahip olmak için, CIELAB renk alanını 1976'da tanıttı. CIE renk sistemindeki parlaklık (L^*) değerleri, incelenen yüzeyin açıklığını veya koyuluğunu temsil eder. Tamamen siyah olan 0 ile parlak beyazı temsil eden 100 arasında değişir (166). (Şekil 2.2)



Şekil 2.2. CIELAB Renk Sistemi (25).

2.12. Renk Ölçüm Yöntemleri

Dişlerin renk ölçümü amacıyla renk skalaları kullanılarak görsel karşılaştırmalar, kolorimetreler, spektrofotometreler, spektoradyometreler gibi çeşitli cihazlarla yapılan teknikler ve dijital görüntü analizi gibi birçok farklı yöntem kullanılmaktadır (163). Dental renk ölçüm cihazları kullanılmaya başlandığında, tutarsız olarak tanımlanan görsel ölçüme kıyasla daha iyi doğruluk sergiledikleri bildirilmiştir. Bu değerlendirmeden sonra diş hekimliğinde renk ölçümü için hem görsel hem de enstrümantal araçların modernizasyonu gerçekleşti (167).

2.12.1. Renk Skalası Kullanılarak Görsel Renk Ölçümü

Piyasada bulunan bir diş rengi kılavuzu ile görsel renk eşleştirme, en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Ancak bir restorasyonun mevcut diş yapısıyla

eşleştirilmesi öngörülebilir bir süreç değildir. Aydınlatma, yaş, cinsiyet, göz yorgunluğu ve renk görme eksiklikleri gibi faktörler olabileceğinden, genellikle tutarsız ve öznel bir yöntem olarak kabul edilir. Bununla birlikte, hızlı ve uygun maliyetli bir yöntemdir, bireylerin ayırt etme yetenekleri eğitim ve deneyim ile geliştirilebilir. Ancak objektif ve doğru renk seçimi yapmak için, diş rengi eşleştirme cihazlarının mevcut diş hekimliği uygulamalarında klinik renk eşleştirme için rengi belirlemede güvenilir ve yararlı olduğu düşünülmektedir (163, 168).

2.12.2. Cihaz Kullanılarak Renk Ölçümü

2.12.2.1. Kolorimetre

Kolorimetreler, üç geniş bant filtre kullanarak bir nesneden yansıtılan ışık miktarını ölçer ve doğrudan tristimulus (CIEXYZ) değerlerini verir. Kolorimetreler, spektrofotometreler kadar hassas olarak kabul edilmezler ve daha az bilgi sağlarlar, ancak yine de faydalı cihazlar olabilirler (169). CIE XYZ sistemi bir kolorimetre sistemidir (aynı XYZ değerlerine sahip iki örnek, CIE standardında belirtilen görüntüleme koşulları altında görsel olarak eşleşecektir), güncel olarak diş hekimliği alanındaki birçok araştırmacı CIE (1976) $L^* a^* b^*$ veya CIELAB olarak adlandırılan sistemi kullanmaktadır (169).

2.12.2.2. Spektroradyometre

Spektroradyometreler, ışığı ölçen spektral cihazlardır. Spektrofotometreden farklı olarak, diş yüzeyiyle temas edecek şekilde yerleştirilmezler, bunun yerine spektral parlaklığı belli bir mesafeden ölçerler. Yerleşik bir ışık kaynakları yoktur, ancak ortam aydınlatmasını kullanırlar. Uygun kalibrasyon, bir renk uyarını için CIE XYZ değerlerinin hesaplanmasına izin verebilir (169).

2.12.2.3. Spektrofotometre

Spektrofotometre, diş hekimliğinde yaygın ve başarıyla kullanılan bir renk değerlendirme yöntemidir ve şu anda altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir (1). Restoratif rezin, dental materyaller, porselenler, yapay dişler ve renk

skalasındaki renk değişimlerinin belirlenmesinde kullanılmaktadırlar. Spektrofotometreler, görünür spektrum boyunca 1-25 nm aralıklarla bir nesneden yansıyan ışık enerjisi miktarını ölçer ve ölçülen spektral yansımayı renk koordinatlarına (CIEXYZ, CIELAB veya CIELCH) ve çeşitli diş rengi değerlerine dönüştürebilir. Bu, tek bir renk tonu olabilir veya bir diş yüzeyindeki ince farklılıkları haritalayabilir. Görsel ve enstrümantal renk tonu eşleştirme yeteneğinin sistematik bir incelemesinde, çalışmaların çoğu bir spektrofotometre kullanıldığında daha kesin sonuçlar bildirmiştir (163). Bu metodoloji, diş hekimliğinde kantitatif diş rengi ölçümleri için doğru ve güvenilir olarak rapor edilmiştir. Spektrofotometrenin önemli bir avantajı, diş rengi ölçümünün bir numunenin görsel spektrumdaki toplam yansımasını tanımlayan spektral yansıma ölçümüne dayanmasıdır (170).

2.12.2.4. Dijital Kameralar

Temassız renk ölçüm yöntemlerinden bir diğeri de dijital görüntülemedir. Çoğu dijital sabit kamera, renkli bir görüntü oluşturmak için kullanılan kırmızı, yeşil ve mavi görüntü bilgilerini alır. Kırmızı yeşil mavi (RGB) renk modeli, geniş bir renk dizisini yeniden oluşturmak için kırmızı, yeşil ve mavi ışığın çeşitli yollarla bir araya getirildiği ek bir modeldir. Dijital kameralar, elektronik gölge alma için en temel yaklaşımı temsil eder ve yine de belirli bir dereceye kadar insan gözüyle öznel renk seçimi gerektirir (171).

Diş hekimliğinde renk eşleştirme ve iletişim için dijital görüntülemenin kullanımına artan bir ilgi mevcuttur. Bu yöntemin avantajları arasında temassız ölçüm; tüm diş yüzeyini değerlendirme yeteneği; yarı saydamlık ve yüzey eğriliğinden kaynaklanan sistematik hata en aza indirilebilmesi bulunmaktadır (172) Ancak farklı aydınlatma koşulları altında metamerizm fenomeni sebebiyle aslında farklı olan diş renkleri aynı görünebileceğinden bu sistemler için bir dezavantaj oluşturabilir. Bu nedenle, dijital görüntüleme için aydınlatma ve görüntüleme koşulları kritik öneme sahiptir (163).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmanın metodolojisi Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 25.08.2020 tarihli ve 2020/165 numaralı etik kurul kararı ile onaylandı.

3.1. Örneklem Büyüklüğü Hesaplanması

Örneklem büyüklüğü, benzer bir tasarıma sahip literatürdeki güncel bir çalışma (173) referans alınarak G * Power yazılımı 3.1.2 (Universitat, Düsseldorf, Almanya) kullanılarak 0,05 alfa hata olasılığı ve % 80'lik güç (etki büyüklüğü = 0,25) kullanılarak gerçekleştirilen güç analizine dayanarak hesaplandı.

Güç analizi, grup başına minimum 15 ve toplamda 105 örneğin istatistiksel açıdan gerekli olduğunu gösterdi.

3.2. Dişlerin Seçimi

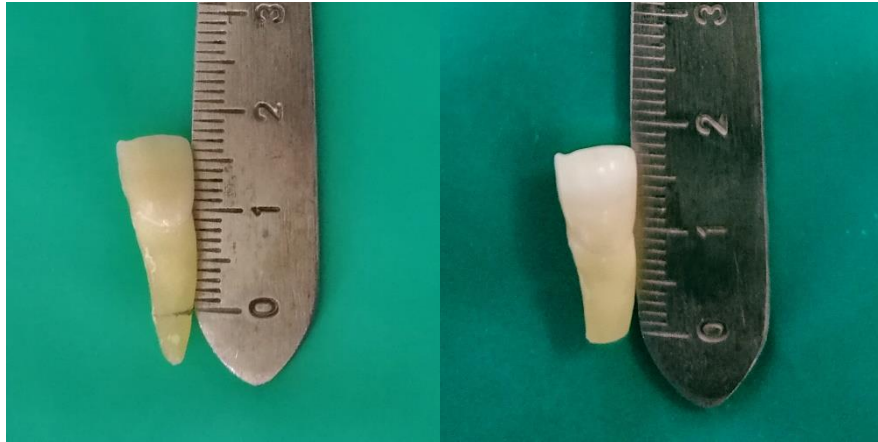
Mevcut çalışmaya periodontal, ortodontik ve protetik nedenlerle çekilmiş, daimi, tek köklü, tek kanala sahip 105 adet üst keser diş dahil edildi. Çalışma tasarımı göz önünde bulundurularak standardizasyonu sağlamak için kullanılan dişlerin öncelikle bukkolingual ve mezyodistal yönlerden preoperatif radyografileri alındı ve dişler x10 büyütmede stereomikroskop altında incelenerek aşağıda belirtilen kriterlere sahip dişler mevcut çalışmaya dahil edildi;

- Herhangi bir çürük ya da restorasyon içermeyen,
- Kök kanal gelişimini tamamlamış olan,
- Schneider sınıflamasına (174) göre düz kanallara sahip (kök kurvaturü eğimi 10° ya da daha az),
- Kök kanalında ilave kanal, dilaserasyon gibi herhangi bir anatomik varyasyonu olmayan,
- Kırık, çatlak, internal rezorpsiyon, external rezorpsiyon, kalsifikasyon içermeyen,
- Daha önce kök kanal tedavisi yapılmamış olan ve kural renklenmesi olmayan dişler çalışmaya dahil edildi.

Bu kriterlerden herhangi birine sahip olmayan dişler çalışmadan çıkarıldı ve yerlerine kriterlere uygun yeni dişler dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen dişler çalışmada kullanılıncaya kadar 25°C oda sıcaklığında % 0,9'luk serum fizyolojik solüsyonunda saklandı. Solüsyon her hafta değiştirilip yenilendi.

3.3. Dişlerin Preparasyonu

Dişlerin kök yüzeyini kaplayan yumuşak ve sert doku artıkları periodontal küret (#3-4 Gracey, Nordent, ABD) yardımıyla temizlendi. 105 adet tek kök tek kanallı üst keser diş 48 saat boyunca % 0.5 Kloramin-T çözeltisinde (Merck, Almanya) bekletilerek dezenfekte edildi. Kullanılana kadar distile suda 25°C' de saklanan dişlerin geleneksel endodontik giriş kaviteleri su soğutması altında aeratör ve elmas rond frez (G&Z Instrumente, Lustenau, Avusturya) kullanılarak prepare edildi. Dişlerin palatinal yüzeylerinden rond frezle giriş kavitesi açma prensiplerine uyularak pulpa odasına girildi. Kavite duvarları elmas fissür frez (G&Z Instrumente, Lustenau, Avusturya) ile şekillendirildi. Kanal ağzları tespit edilerek, #10 K tipi eğe (Dentsply Maillefer, Ballaigues, İsviçre) ile dişlerin apikal açıklıkları kontrol edildi. Kök ucu kapanmamış dişleri simüle etmek ve diş boyutlarını standardize etmek amacıyla literatürde daha önce tarif edildiği gibi (20) tüm dişlerin kök boyları mine sement sınırından itibaren 10 ± 1 mm olacak şekilde klinik piyasemene takılan elmas separe ile düşük hızda su soğutması altında dişlerin apikal kısmı uzaklaştırılarak kök uzunluğu standart kökler elde edildi (Şekil 3.1, 3.2).



Şekil 3.1. Çalışmaya dahil edilen tüm dişlerin apikal bölümü uzaklaştırılarak kök ucu kapanmamış dişler simüle edildi ve kök boyu 10 ± 1 mm uzunluğunda standardize edildi.

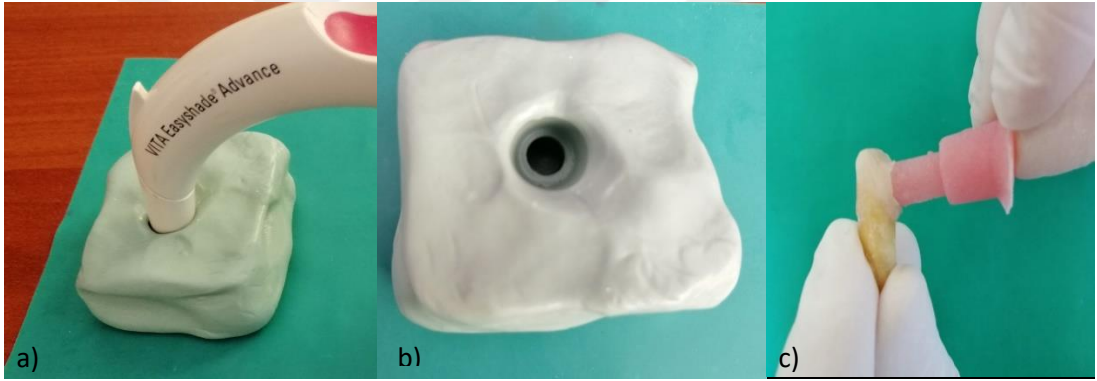


Şekil 3.2. Çalışmaya dahil edilen bütün dişlerin apikal bölümü uzaklaştırıldı.

Apikal bölümün uzaklaştırılmasının ardından tüm örnekler sırasıyla Protaper Next (Dentsply Maillefer, Ballaigues, İsviçre) X1, X2, X3, X4 ve X5 eğeleri kullanılarak prepare edildi. Tüm preparasyon işlemleri VDW Gold endomotorla (VDW, Münih, Almanya) üretici talimatlarında belirtilen tork ve rpm değerleri kullanılarak gerçekleştirildi (175). Her eğe değişimi sırasında kök kanalları 2 ml %1,5 NaOCl (Wizard, Rehber Kimya, İstanbul, Türkiye) ile irrigate edildi. Kök kanal preparasyonunun ardından standart $1,1 \pm 0,5$ mm kanal içi çapına sahip immatür diş modeli elde etmek için Chen ve ark. (166) tarafından gerçekleştirilen metodoloji rehber alınarak sırasıyla #2' den #4' e kadar numaralı Gates Glidden frezler (Proud, London, UK) ile kök kanalları prepare edildi. Preparasyon prosedürlerinin tamamlanmasının ardından AAE'nin rejeneratif endodontik protokolü (84) temel alınarak her bir kök kanalı 5 dakika süresince 20 ml % 1,5 NaOCl (Wizard), ardından 20 ml %17'lik EDTA (Nazar Kimya Ltd., İstanbul, Türkiye) ile irrigate edildi. Kök kanallarının tüm irrigasyon işlemlerinde 30 gauge ucu kapalı yandan delikli iğne kullanıldı (NaviTip; Ultradent, South Jordan, UT, ABD). İrrigasyon prosedürlerinin tamamlanmasının ardından kök kanalları paper point (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, ABD) ile kurulandı.

Preparasyon işlemlerinin tamamlanmasının ardından kök ucundaki apikal açıklıklar kademeli teknik kullanılarak kompozit (Clearfill Majesty Esthetic, Okayama, Japonya) ile kapatıldı. Her bir kompozit kademesi ışın cihazı (Monitex Blu lex GT-1200, Tayvan, Çin) kullanılarak 20 saniye boyunca sertleştirildi.

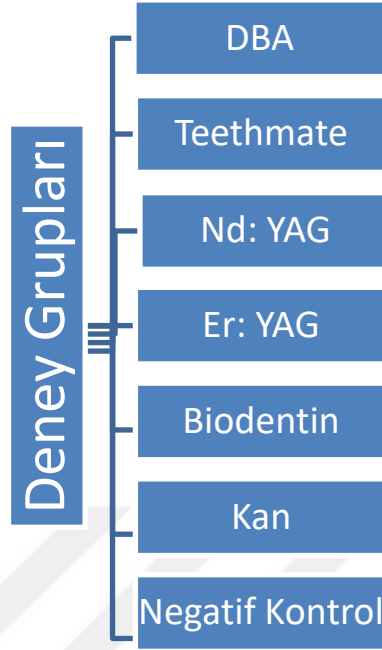
Spektrofotometrenin dişle temas edecek baş kısmının silikon esaslı bir ölçü maddesi (Zetaplus, Zhermack, Badia Polesine, İtalya) ile ölçüsü alındı. Elde edilen ölçü içerisine kimyasal sertleşen akrilik rezin dökülerek model elde edildi. Renk ölçümlerinin her seferinde aynı noktadan yapılabilmesi için, elde edilen model dişlerin bukkal yüzeyinde mine sement sınırının üzerinde yerleştirilerek, etrafına akıcı kompozitten (Filtek Z250, 3M ESPE, Almanya) sabit bir çerçeve hazırlandı. Böylece bütün dişlerin kuronlarının vestibül servikal yüzeylerinde spektrofotometrenin ucu yerleşecek şekilde kompozit çerçeveler oluşturuldu (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. a) Spektrofotometrenin ölçüm yapan uç kısmının silikonla ölçüsünün alınması. b) Alınan ölçü. c) Akrilik modelle diş etrafında sabit çerçeve oluşturulması.

Örnekler numaralandırılarak distile su ile doldurulmuş eppendorf tüplerine yerleştirildi. Ardından tüm örnekler rastgele 7 deney grubuna ayrıldı (n=15) (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Deney gruplarının adlandırılması.



3.4. Örneklerin Deney Gruplarına Ayrılması ve Test Edilecek Prosedürlerin Uygulanması

DBA grubu: Bu gruptaki dişlerin pulpa odasının iç yüzeylerine 7. Jenerasyon all in one dentin bonding ajanı olan Nova Compo B Plus (IMICRYL, Konya, Türkiye) mikroaplikatör yardımıyla 20 sn boyunca uygulandı. 5 sn boyunca hafifçe havayla kurutuldu. Polimerizasyon için ışık cihazıyla (Monitex Blu lex GT) 1200 mW/cm² ışık gücü ile 20 sn süresince ışınladı (176) (Şekil 3.4). Sağlıklı gönüllüden (M.O.A.) eğitimli bir kişi tarafından alınan kan örnekleri her dişe mine sement sınırının 4 mm altına kadar enjekte edildi. Kök kanallarının kan ile doldurulmasının ardından kan pıhtısının üzerine spongostan (Cutanplast, Milano, İtalya) yerleştirildi. 3 mm kalınlığındaki Biodentin (Septodont, Saint-Maur-des-Fosses, Fransa) mine sement sınırında konumlanacak biçimde yerleştirildi. 12 dk sertleşme süresi beklendi. Daimi olarak kompozitle (Clearfill Majesty Esthetic) restore edildi.



Şekil 3.4. DBA grubundaki dişlere bond uygulanması.

Teethmate grubu: Bu grupta bulunan dişlerin pulpa odasının dentin duvarlarına üreticinin talimatları doğrultusunda hazırlanan Teethmate hipersensitivite ajanı (Kuraray Noritake Dental, Nigata, Japonya) mikroaplikatör yardımıyla uygulandıktan sonra 60 sn ovma hareketi yapıldı (Şekil 3.5). Dişlere DBA grubunda anlatıldığı şekilde kan, spongostan (Cutanplast) ve Biodentin (Septodont) yerleştirildikten sonra kompozitle (Clearfill Majesty Esthetic) restore edildi.



Şekil 3.5. Teethmate grubundaki dişlerden birine ajanın uygulanması.

Nd:YAG Lazer grubu: Lazer cihazı (Fotona AT, Fidelis III, Ljubljana, Slovenya) Nd:YAG dentin hipersensitivitesi önleme moduna ayarlandı (Şekil 3.6). Bu grupta bulunan dişlerin pulpa odasının dentin duvarlarına 300 µm optik fiber uç

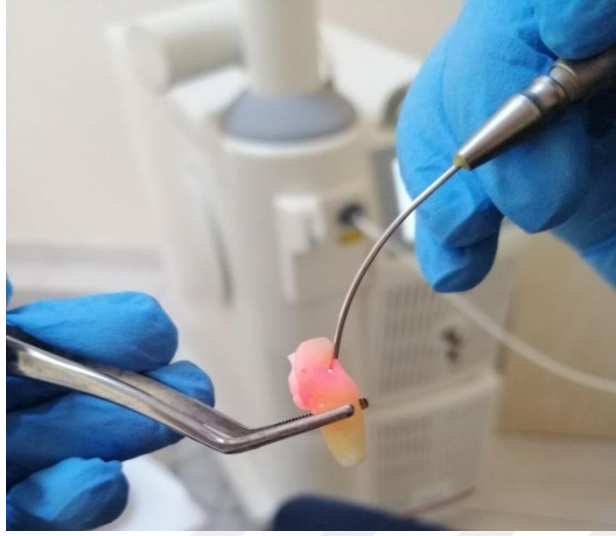
yardımıyla 1 mm mesafeden dik olarak süpürme hareketiyle hava/su kullanılmadan 10 Hz, 1 W parametrelerinde (Şekil 3.7) 60 sn lazer uygulandı (Şekil 3.8) (177, 178). DBA ve Teethmate grubuna ortak şekilde uygulanan prosedürler bu gruptaki dişlere de uygulandı.



Şekil 3.6. Çalışmada kullanılan lazer cihazı (Fotona AT, Fidelis III, Ljubljana, Slovenya).



Şekil 3.7. Dişlere uygulanan Nd:YAG parametreleri.



Şekil 3.8. Nd:YAG fiber optik uç yardımıyla pulpa odasının dentin yüzeyine lazer uygulanması.

Er:YAG Lazer grubu: Bu grupta bulunan dişlerin pulpa odası dentin duvarlarına lazer cihazına (Fotona AT, Fidelis III) takılan non-kontakt başlık (R02) ile Er:YAG modu seçilerek 1 mm mesafeden dik olarak hava/su spreyi kullanılmadan 80 mJ, 2 Hz, 0,15 W parametrelerinde (Şekil 3.9) 60 sn süresince lazer uygulandı (Şekil 3.10). Tüm örneklerle 1 dakika boyunca yavaş ve düzenli olarak lazer uygulandı (177). İlk üç gruba ortak bir şekilde uygulanan prosedürler bu gruptaki dişlere de uygulandı.

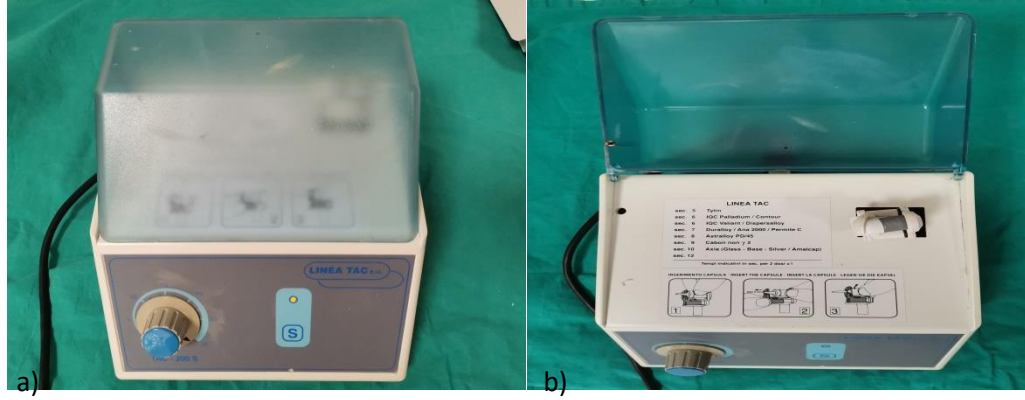


Şekil 3.9. Cihazda Er:YAG modu seçilerek uygulanan parametreler.

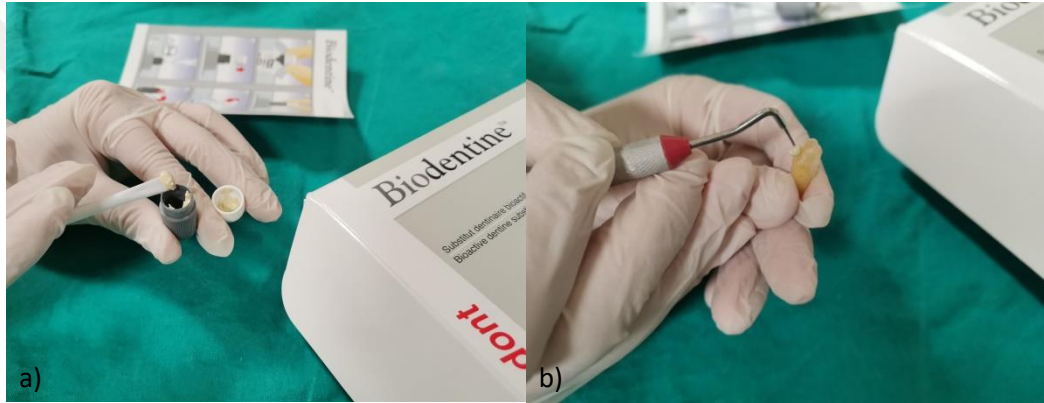


Şekil 3.10. R02 başlık ve non kontakt ucla Er:YAG lazerin dentin duvarlarına uygulanması.

Biodentin grubu: Bu grupta dentin tübüllerinin tıkanması amacıyla herhangi bir işlem gerçekleştirilmemiştir. Biodentin'den kaynaklı renklenmeyi tek başına ele alabilmek adına bu gruptaki tüm dişlere yalnızca Biodentin uygulanmıştır. Üretici firmanın talimatlarına uygun olarak tekli doz kabında toz içeren kapsül açılarak toza suda çözünebilir polimer ve kalsiyum klorür içeren 5 damla sıvısı damlatılarak daha sonra kapsül kapatıldı. Amalgamatör (Linea Tac, Montegrosso, İtalya) ile 30 sn karıştırıldı (Şekil 3.11). 3 mm kalınlığındaki Biodentin (Septodont, Saint-Maur-des-Fosses, Fransa) mine sement sınırında konumlanacak biçimde 2 nolu el pluggeri (Buchanan, ABD) ile kondanse edildi. Tüm işlemler 12 dk olan sertleşme süresi göz önünde bulundurularak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.12).



Şekil 3.11. a) Çalışmada kullanılan amalgamatör (Linea Tac). b) Kapsülün amalgamatöre yerleştirilmesi.



Şekil 3.12. a) Amalgamatörde 30 sn karıştırılıp Biodentin elde edilmesi. b) El pluggeri ile Biodentin'in dişe yerleştirilmesi.

Kan grubu: Bu grupta dentin tübüllerinin tıkanması amacıyla herhangi bir işlem gerçekleştirilmemiştir. Kan kaynaklı renklenmeyi tek başına değerlendirebilmek adına bu gruptaki tüm dişlere yalnızca rejeneratif tedavi prosedürü uygulanmıştır. Herhangi bir sistemik rahatsızlığa sahip olmayan ve sigara kullanmayan sağlıklı gönüllüden (M.O.A) eğitimli bir kişi tarafından K2-EDTA'lı tüplere (BD Vacutainer®, Plymouth, İngiltere) tam taze kan alındı (Şekil 3.13). Kök kanalları mine sement sınırının 4 mm altına kadar bir enjektör kullanılarak alınan kan ile dolduruldu. Her grup için gönüllüden alınan taze kan beklenmeksizin örneklerle uygulandı. Kan toplama tüpleri sterilildi ve deney sırasında pıhtılaşmayı önlemek için bir antikoagülan ajan olarak K2-EDTA ile kaplanmıştı (9). Kan alınınca herhangi bir bekletme süresi olmaksızın kök kanalları mine sement sınırının 4 mm altında olacak

şekilde bir enjektör yardımıyla alınan kan ile dolduruldu (6). Kök kanallarının kan ile doldurulmasının ardından 15 dk kan pıhtısı oluşmasına izin verildi ve ardından kanamanın daha öngörülebilir indüksiyonuna izin vermek adına kan pıhtısının üzerine dilimler halinde kesilerek hazırlanmış spongostan (Cutanplast) yerleştirildi (11) (Şekil 3.14).



Şekil 3.13. Çalışmada kullanılan K2-EDTA'lı tüpe alınan kan örneği.



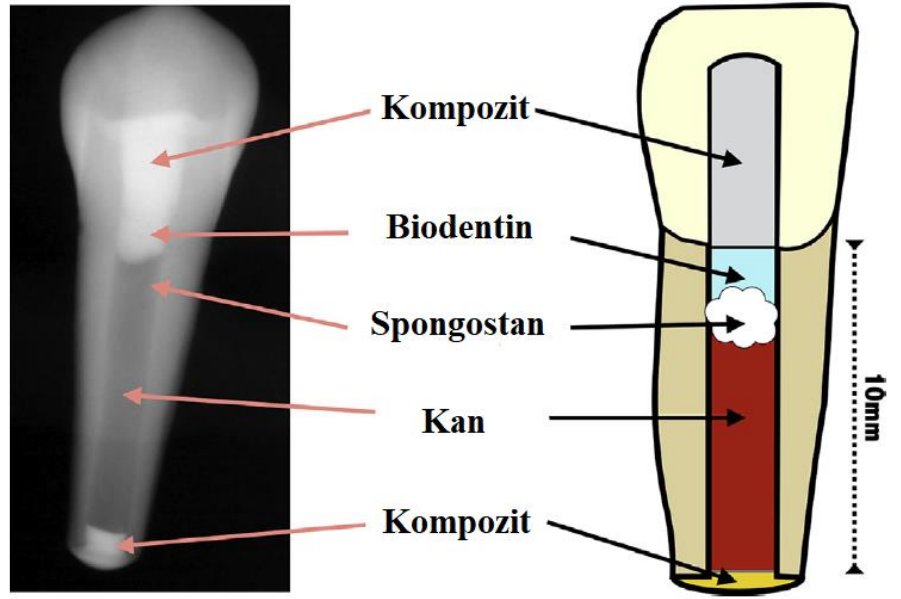
Şekil 3.14. Örneklerle uygulanan spongostan (Cutanplast) ve dilimler halinde kesilmesi.

Negatif Kontrol grubu: Bu grupta bulunan dişlerin pulpa odasına herhangi bir işlem uygulanmadı. Preparasyon sonrası giriş kaviteleri kompozitle kapatıldı.

Dişlerin ayrıldığı 7 grubu (n=15) ve uygulanan materyalleri özetleyen tablo ve ilk dört grubuna dentin tübül tıkama işlemlerinden sonra uygulanan deney prosedürleri aşağıda belirtilmiştir (Tablo 3.2, Şekil 3.15).

Tablo 3.2. Dişlerin test edilecek gruplara göre ayrılması ve gruplara uygulanacak olan materyaller.

	Dentin Tübül Tıkama Yöntemi	Kan	Biodentin
DBA	Bond	+	+
Teethmate	Teethmate	+	+
Nd: YAG lazer	Nd:YAG	+	+
Er: YAG lazer	Er:YAG	+	+
Biodentin	-	-	+
Kan	-	+	-
Negatif Kontrol	-	-	-



Şekil 3.15. Deney prosedürlerinin şematize edilmesi (166).

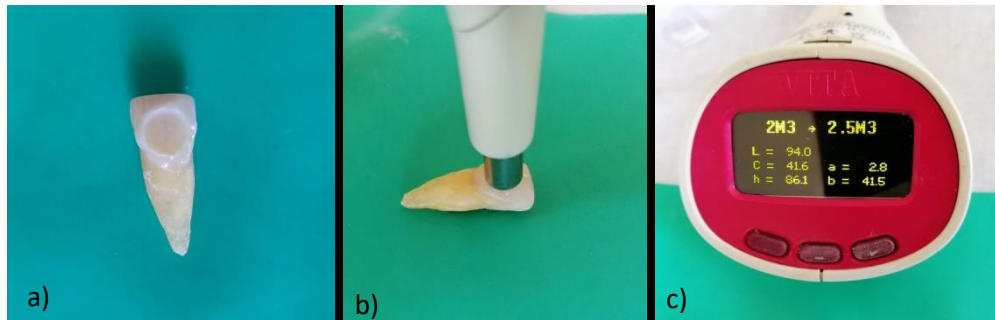
Eppendorf tüplerinin içleri yarıya kadar distile su ile dolduruldu ve dişler numaralarına göre kron kısımları su içerisinde kalacak şekilde tüpler içerisine yerleştirildi ve renk ölçümleri aralıkları beklenirken bu ortamda saklandı. Ağız ortamını taklit etmek amacıyla dişler deney süresi boyunca içi distile su dolu olan eppendorf tüpleri içerisinde, 37 °C de ve %100 nem ortamını sağlayan etüvde inkübe edildi. Deney periyotları olarak belirlenen işlemde hemen sonraki durum, 1. hafta, 1.ay ve 3.ayda dişler inkübatörden çıkarılarak renk ölçümleri yapıldı ve not edildi. Kanla temas eden örneklerde ağız ortamını simüle etmek ve güneş ışığının renk değişimi açısından etkisini önlemek amacıyla yapılan benzer çalışma (179) temel alınarak, örnekler ölçümler arasında karanlık bir ortamda saklanmıştır. Ölçümler sırasında standartlaştırılmış koşullar sağlanmıştır.

3.5. Renk Ölçümü

Uluslararası Aydınlatma Komisyonu Commission International de l'Eclairage (CIE), ISO tarafından ışık, görme ve renk konusunda uluslararası bir standardizasyona sahip, tanınan bir kuruluştur (120). Dişlerdeki renk değişimlerinin

ölçümü, spektrofotometre gibi spesifik bir cihaz kullanılarak CIELab standartlarına uygun bir biçimde yapılabilir. Bu yüzden çalışmadaki örneklerin renk ölçümleri spektrofotometre cihazı olan Vita Easyshade Advance (VITA Zahnfabrik, Bad Sackingen, Almanya) kullanılarak yapıldı. Çalışmamızda tüm örnekler, ek tanımlayıcı veriler mevcut olmadan rastgele biçimde sayısal olarak kodlandı. Böylelikle araştırmacı, herhangi bir örnekte kullanılan uygulama prosedürüne karşı kör oldu. Literatürde farklı zamanlarda renk analizi yapılırken objektif bir değerlendirme yapabilmek adına ölçüm dişlerin aynı bölgesinden yapılması gerektiği bildirilmiştir (20). Bu amaçla, deney gruplarına ayrılmadan önce dişlerin bukkal yüzeyleri üzerinde kompozit bir çerçeve yapıldı. Böylece renk değerlendirilmesinde belirlenen zaman aralıklarında yapılacak ölçümlerin objektif olması amaçlandı.

Her renk ölçüm prosedüründen önce cihaz, üretici talimatlarına uygun olarak kalibrasyon tablası kullanılarak kalibre edildi. Ölçümler sırasında spektrofotometrenin başlığı kompozit çerçeve içerisine yerleştirilerek ölçüm yapıldı. Renk ölçümleri, beyaz ışık altında spektrofotometrenin ucu dişlerin labial yüzlerindeki çerçeveye yerleştirilerek aynı noktadan üç kez gerçekleştirildi. Her ölçüm için L^* , a^* ve b^* değerleri elde edildi ve bu ölçümlerin ortalaması hesaplandı (Şekil 3.16). L^* değerleri, siyahtan (0) beyaza (100) kadar değişen renk değişimini belirtirken, a^* değerleri kırmızıdan (+80 a^*), yeşile (-80 a^*) ve b^* değerleri sarıdan (+80 b^*) ve maviye (-80 b^*) değişen renk varyasyonlarını ifade etmektedir (12).



Şekil 3.16. a) Kompozit çerçeve yapılmış diş örneği. b) Spektrofotometrenin çerçeveye yerleştirilerek ölçüm yapılması. c) VITA Easyshade spektrofotometre ekranında görülen ölçüm değerleri.

Renk ölçümleri aşağıdaki 5 zaman noktasında Vita Easyshade Advance ile değerlendirildi.

T0: Başlangıçta herhangi bir işlem yapılmadan önce

T1: İşlemden hemen sonra

T7: İşlemden 1 hafta sonra

T30: İşlemden 1 ay sonra

T90: İşlemden 3 ay sonra

Veriler, CIE L * a * b renk sisteminin 3 parametrik değerine dönüştürüldü. Ortalama renk değişimi (ΔE) değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (13):

$$\Delta E^* = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{1/2}$$

$$\Delta L^* = L1^* - L0^*; \Delta a^* = a1^* - a0^*; \Delta b^* = b1^* - b0^*$$

ΔE değeri, zaman noktaları arasındaki renk farkını açıklar. 3.3'den büyük bir ΔE değerinin algılanabilir renk değişimi olduğu düşünülmektedir (12).

Renk değişimi zaman noktasında; T0, diş hazırlandıktan sonra ancak materyallerin yerleştirilmesinden öncesinde yapılan ölçümü, T1 materyallerin yerleştirilmesinden hemen sonraki ölçümü belirtmektedir. Deney, renk değerlendirmesinde sapma veya yanlışlığı en aza indirmek için aynı arka plan aydınlatmasına sahip bir odada gerçekleştirildi (12). Elde edilen veriler belirlenen formüle göre hesaplanarak tüm gruplar için renk değişimi değerlendirildi. Görsel karşılaştırma için bir dijital kameralı cep telefonu kamerası kullanılarak her ölçüm aşamasında örneklerin fotoğrafları çekilmiştir.

3.6. İstatistiksel analiz

Elde edilen verilerin normalliğini doğrulamak için *Shapiro-Wilk* testi uygulandı. Veriler normal dağılım gösterdiği için ΔE değerleri *Two-Way Anova* ve *Post-Hoc Tukey* testleri kullanılarak analiz edildi. Hangi farklılıkların klinik olarak

görünür olduğunu belirlemek için, insan algılanabilirlik eşiğı 3,3 birim olarak kabul edildi. Tüm istatistiksel analizler SPSS yazılımı 17 versiyonu (IBM, Armonk, NY, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel olarak anlamlılık seviyesi %5 olarak belirlendi.



4. BULGULAR

Mevcut çalışmada rejeneratif endodontik prosedür uygulanan 105 adet üst keser dişte ilgili gruplarda dentin tübül tıkama yöntemlerini uygulanmasının ardından T0, T1, T7, T30 ve T90 zaman aralıklarında Vita Easyshade Advance (VITA Zahnfabrik) spektrofotometre ile renk analizi yapıldı. Elde edilen bulgular gruplar arası ve grup içi olarak istatistiksel açıdan yorumlandı.

T0: Başlangıçta herhangi bir işlem yapılmadan önce

T1: İşlemden hemen sonra

T7: İşlemden 1 hafta sonra

T30: İşlemden 1 ay sonra

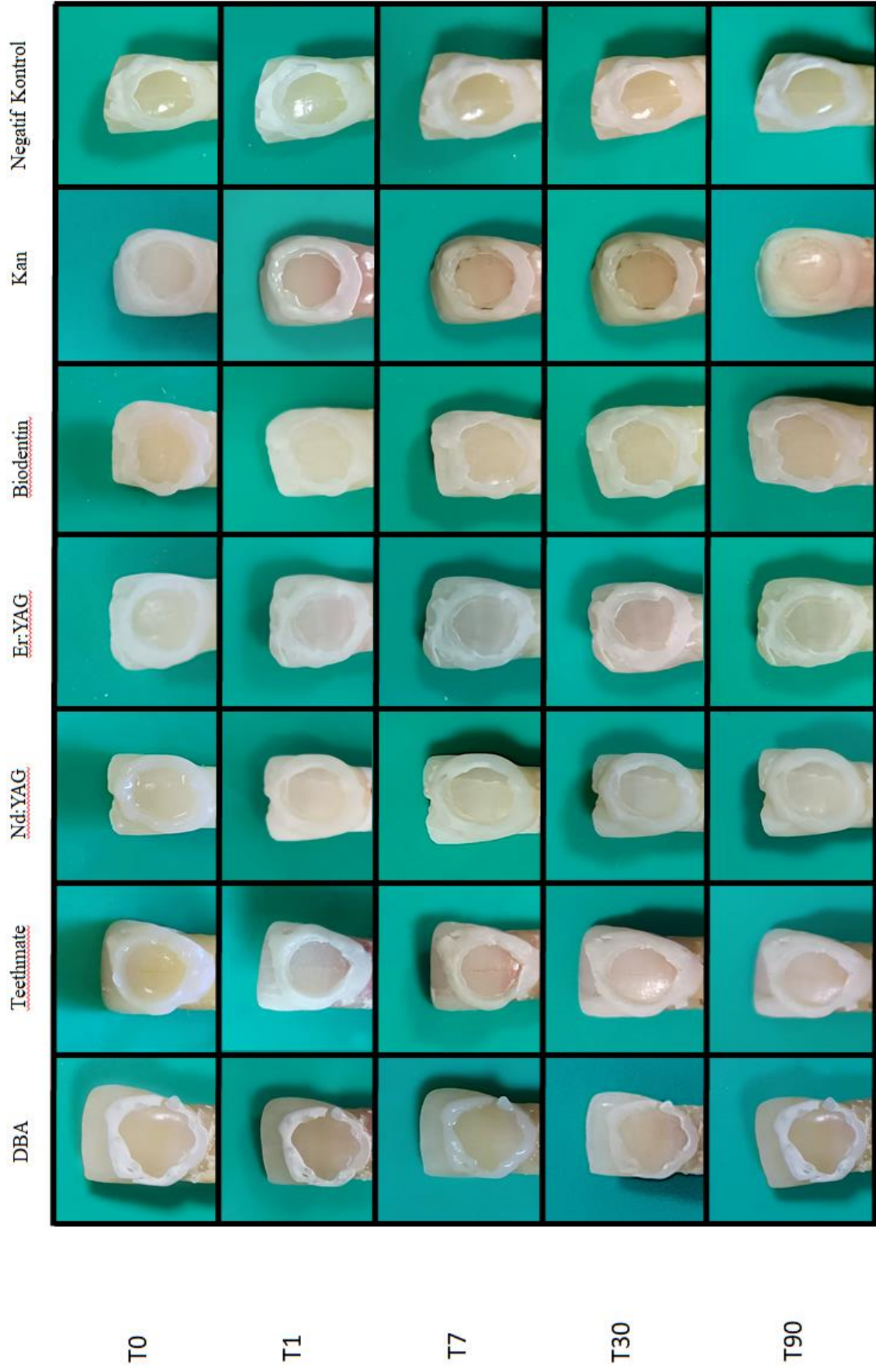
T90: İşlemden 3 ay sonra

Negatif kontrol grubu haricindeki tüm gruplara ait örneklerde klinik olarak algılanabilir renk değişikliği gözlemlendi ($\Delta E > 3.3$) (Şekil 4.1.). T0 – T90 zaman aralığında Negatif Kontrol grubu haricindeki tüm gruplar için ΔE değerleri 4,26–19,44 aralığındaydı (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Gruplara ait zamana bağlı ΔE (Ortalama $\pm$ Standart Sapma) değerleri.

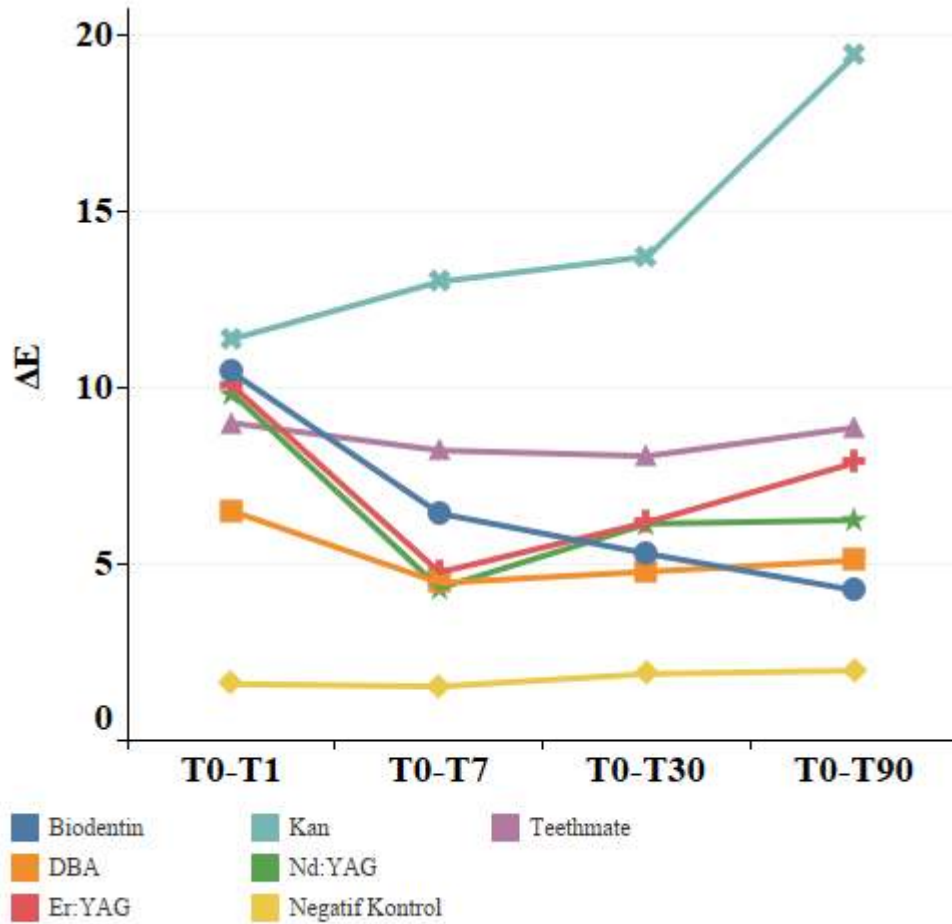
	DBA	Teethmate	Nd:YAG	Er:YAG	Biodentin	Kan	Negatif Kontrol
T0-T1	6,51 $\pm$ 3,12axy	9,01 $\pm$ 4,24ay	9,86 $\pm$ 4,69ay	10,08 $\pm$ 3,55ay	10,45 $\pm$ 3,08ay	11,39 $\pm$ 5,19ay	1,60 $\pm$ 0,86ax
T0-T7	4,47 $\pm$ 2,16	8,23 $\pm$ 3,43	4,32 $\pm$ 2,72y	4,77 $\pm$ 2,28	6,44 $\pm$ 2,47	13,02 $\pm$ 7,73	1,53 $\pm$ 0,68y
T0-T30	4,79 $\pm$ 3,50b	8,07 $\pm$ 4,24b	6,15 $\pm$ 4,19b	6,19 $\pm$ 3,44b	5,30 $\pm$ 2,25b	13,73 $\pm$ 8,86b	1,89 $\pm$ 0,36b
T0-T90	5,11 $\pm$ 3,37b	8,88 $\pm$ 4,50b	6,25 $\pm$ 3,81b	7,88 $\pm$ 3,89b	4,26 $\pm$ 2,21b	19,44 $\pm$ 7,25b	1,98 $\pm$ 0,40b

*Satırlar arası fark a, b, c; sütunlar arası fark ise x, y, z ile ifade edilmiştir.



Şekil 4.1. Tüm gruplardan seçilmiş birer dişin T0, T1, T7, T30 ve T90 zaman aralıklarında fotoğraflandırılması.

Negatif kontrol, DBA ve Teethmate gruplarında tüm zaman aralıklarındaki renklenme artışı açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$). Nd:YAG grubunda T0-T1 'e kıyasla , T0-T7 zaman aralığında; Er:YAG grubunda T0-T1 'e kıyasla T0-T7 ve T0-T30 zaman aralıklarında; Biodentin grubunda T0-T1'e kıyasla diğer tüm zaman aralıklarında ; Kan grubunda ise T0-T1 'e kıyasla T0-T90 zaman aralığında renklemedeki artış istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ($p<0,05$) (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Grupların tüm ölçüm aralıklarına ait ortalama ΔE değerlerinin grafikte karşılaştırılması.

T0-T1 zaman aralığında negatif kontrol grubuna kıyasla Teethmate, Nd:YAG, Er:YAG, Biodentin ve Kan uygulanan gruplarda istenmeyen renklenme istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazlaydı ($p<0,05$). DBA grubu ile negatif kontrol grubu arasında ise istatistiksel olarak bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

T0-T7 zaman aralığında negatif kontrol grubuna kıyasla DBA, Teethmate, Er:YAG, Biodentin ve Kan uygulanan gruplarda istenmeyen renklenme istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazlaydı ($p<0,05$). Kan uygulanan grupta DBA, Nd:YAG ve Er:YAG grubuna kıyasla istenmeyen renklenme istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazlaydı ($p<0,05$).

T0-T30 zaman aralığında negatif kontrol grubuna kıyasla Teethmate Nd:YAG, Er:YAG, Biodentin ve Kan uygulanan gruplarda istenmeyen renklenme istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazlaydı ($p<0,05$). Kan uygulanan grupta DBA grubuna kıyasla istenmeyen renklenme istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazlaydı ($p<0,05$).

T0-T90 zaman aralığında negatif kontrol grubuna kıyasla Teethmate, Nd:YAG, Er:YAG ve Kan gruplarında istenmeyen renklenme istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazlaydı ($p<0,05$). Kan uygulanan grupta DBA, Nd:YAG ve Biodentin grubuna kıyasla istenmeyen renklenme istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazlaydı ($p<0,05$).

5.TARTIŞMA

Günümüzde nekrotik pulpalı immatür apekse sahip dişlerin tedavisinde rejeneratif endodontik prosedürler endodontik tedavi yöntemlerinin önemli bir parçası haline gelmiştir (180). Rejeneratif endodontik tedavi kalsiyum hidroksit ve MTA ile gerçekleştirilen apeksifikasyon teknikleriyle elde edilemeyen kök uzunluğunun artışı, dentin duvarlarının kalınlaşması ve dişin vitalitesinin geri kazandırılması gibi avantajlar sunduğu için günümüzde immatür apekse sahip dişlerde popülerlik kazanan bir tedavi yöntemi olmuştur (3, 157). Bununla birlikte rejeneratif endodontik prosedürlere bağlı olarak gelişen renklenme özellikle estetik açıdan önemli olan diş gruplarında bu tedavi yaklaşımının uygulanmasında sınırlamalara neden olabilmektedir (11). Literatürde rejeneratif endodontik prosedürler sonrası oluşabilecek koronal renklenmeyi önlemek için farklı tedavi yaklaşımlarının etkinliği araştırılmasına rağmen henüz rejeneratif endodontik prosedürlere bağlı olarak gelişen renklenmeyi önlemede kesin bir tedavi protokolü belirtilmemiştir. Mevcut çalışmada dentin tübül ağzlarını farklı mekanizmalarla tıkayan Teethmate hipersensivite ajanı, DBA ve Nd:YAG, Er:YAG olmak üzere dört farklı tedavi yaklaşımının etkinliği araştırıldı. Test edilen tedavi protokolleri arasında koronal renklenmeyi önleme açısından anlamlı farklılıklar bulunmadığı için çalışmanın sıfır hipotezi kabul edildi.

İn vitro ortam koşullarında yürütülen çalışmalarda test edilen yöntemleri arasındaki farklılığın incelenmesinde çalışma standardizasyonunun sağlanması önem taşımaktadır. Literatürde rejeneratif endodonti ile tedavi edilmesi planlanan immatür dişlerle ilgili yapılan in vitro çalışmalarda standardizasyonun sağlanması için aynı grup dişlerin kullanılması ve bu dişlerin boyutlarının, kanal çaplarının, kanal anatomilerinin de benzer olması gerektiği bildirilmiştir (181). Bununla birlikte araştırma sonuçlarını etkileyebileceğinden dolayı başlangıçta dişlerde herhangi bir renklemenin olmamasının da gerekli olduğu rapor edilmektedir (182, 183). Rejeneratif endodontik tedavi sonrasında oluşabilecek renklenme nedeniyle estetik problemlerin çoğunlukla üst ön grup dişlerde gözlemlendiği göz önünde bulundurularak mevcut çalışmada tek köklü, tek kanallı, kök gelişimi tamamlanmış ve daha önce bir renklenmeye sahip olmayan üst kesici dişleri kullanıldı. (184). Benzer şekilde

dişlerin boyutsal olarak standardizasyonunun sağlanması adına tüm dişlerin mine sement sınırından itibaren eşit kök boyuna sahip olacakları şekilde apikal bölümü uzaklaştırıldı ve immatür apeksi simüle etmek ve apikal çapın standartize edilmesi için Chen ve ark. (185) tarafından belirtilen prosedür uygulanarak örneklerin Gates Glidden #4 nolu frezle apikal çap $1,1\pm0,1$ mm olacak şekilde genişletildi.

Literatürde rejeneratif endodontiye bağlı renk değişimini araştıran çalışmalarda insan dişi, sığır dişi ve küboid mine dentin bloklarının kullanıldığı rapor edilmiştir (8, 22, 173, 186). Spektrofotometre kullanılan çalışmalarda yapısı ve kimyasal komponentleri insan dişlerine benzerlik gösterdiği için sığır dişleri tercih edilmesine rağmen, sığır dişlerinin insan dişlerinden daha yüksek tübüler yoğunluğa sahip olduğu bildirilmektedir (6, 11). Renk değişimi, materyal bileşenlerinin dentin tübüllerine penetre olması ile ilişkili olduğu için, sığır dişi ve insan dişlerinde görülen renk değişimi arasındaki farklılıklar koronal renklenmenin derecesini etkileyebilmektedir (12). Mine dentin bloklarının ise bir dişi tam anlamıyla taklit etmesi mümkün değildir (22). İn vitro ortam şartlarında gerçekleştirilen çalışmaların in vivo ortam koşullarını simüle etmesi çalışmanın güvenilirliği açısından önem taşıdığı bilgisi göz önünde bulundurularak mevcut çalışmada rejeneratif endodontik tedaviye bağlı oluşan renklenmeyi değerlendirmek ve klinik durumu simüle etmek için insana ait dişler kullanıldı. Literatürde koronal renklenmeyi araştıran çalışmalarda, endodontik prosedürlerin ortograd veya retrograd yaklaşımla gerçekleştirildiği görülmüştür (6, 9, 91, 173, 187). Retrograd yaklaşımın sağlam kronun zarar görmesini engellediği ve koronal mikro sızıntıyı bağlı oluşabilecek renklemeyi elimine ettiği bildirilmesine rağmen bu yöntem klinik durumu taklit edememe ve kurondaki pulpa dokusu kalıntılarının renk değişimine neden olması gibi dezavantajlara sahiptir. (17, 20, 166, 170). Bu nedenle bu çalışmada klinik durumu simüle etmek amacıyla ortograd yaklaşımla endodontik tedavi prosedürleri gerçekleştirildi.

Rejeneratif endodontik prosedürler ile yeterli miktarda dezenfeksiyonun sağlanması, kök hücre sağ kalımı ve farklılaşmasında etkili bir rol oynamaktadır. (2). Rejeneratif endodontik tedavide mekanik enstrümantasyonun minimal yapılması nedeniyle dezenfeksiyonun etkinliği büyük oranda irrigasyon protokolüne bağlıdır. NaOCl rejeneratif prosedürlerde en sık kullanılan irrigantlardan biri olmasına rağmen

NaOCl'in SCAP'lar üzerindeki etkisi ile ilgili yapılan araştırmalarda, %0,5-3'lik NaOCl' in hücre canlılığını %60' a düşürdüğu, %6' lık NaOCl' in ise hücre canlılığını %20' nin altına düşürdüğu rapor edilmiştir (188). Bununla birlikte NaOCl solüsyonunun ardından EDTA kullanımının NaOCl'ye bağlı oluşan toksisiteyi azalttığı ve hücre canlılığını arttırdığı gösterilmiştir (189). Bu nedenle rejeneratif endodontik tedavide irrigasyon safhasında EDTA solüsyonu ile NaOCl solüsyonlarının bir arada kullanılması tavsiye edilmektedir. Bu bilgiler ışığında ve AAE'nin en güncel rejeneratif endodontik tedavi yaklaşımı (84) göz önünde bulundurularak mevcut çalışmada belirtilen konsantrasyonlarda NaOCl ve EDTA kullanılarak irrigasyon işlemi gerçekteştirildi.

Güncel literatürde rejeneratif endodontik prosedürlerde hücre büyümesi, farklılaşması ve organizasyonu için kan, PRF, PRP gibi doku iskeleleri kullanılmaktadır (6, 109, 190). PRP ve PRF doku iskeleleri büyüme faktörleri açısından yüksek potansiyele sahip olmalarına rağmen ve kan alma sürecine pediatrik hastaların uyum sağlayamama riski, klinikte PRP'yi işlemek için gereken ek ekipman ve reaktifler, bileşiminin değişkenliği, hızlı büyüme faktörü azalımı yetersiz mekanik dayanım, uygulanma zorluğu gibi dezavantajlara sahiptir (191-194). Ayrıca PRP ve PRF'nin kök gelişimini teşvik etmede kan pıhtısına üstün etkinlik göstermediğini bildiren çalışmalar mevcuttur (67). Kan pıhtısı ise otolog olarak sağlanması, düşük maliyeti ve klinik uygulama kolaylığı sağlaması nedeniyle en sık tercih edilen doku iskelelerinden biridir (4, 109, 195). Rejeneratif endodontik tedavide intrakanal kanama yönteminin kullanılmasının, pulpa rejenerasyonu için hastanın kendi kanından elde edilen büyüme faktörlerinin yanısıra dentinden salınan büyüme faktörleri ile yoğunluk ve nitelik açısından optimal karışım sağladığı rapor edilmiştir (107). İntrakanal kanama yönteminde meydana gelen kan pıhtısının dentin matrisinde bulunan önemli sayıda farklılaşmamış mezenkimal kök hücreyi kök kanal sistemine aktarmasıyla pulpa boşluğuında yeni bir doku oluşumuna ve kök gelişiminin yeniden başlamasına katkıda bulunduğu bildirilmiştir (93). Tüm bu faktörler göz önüne alınarak çalışmamızda intrakanal kanama yöntemiyle rejeneratif endodontik tedavi uygulandı. Tüm bu avantajlarına rağmen literatürde birçok araştırmada doku iskelesi olarak intrakanal kanama yöntemi uygulanan dişlerde istenmeyen renklenmenin meydana geldiği rapor edilmiştir (17, 21, 22, 196).

Rejeneratif endodontik tedavilerde kanama kontrolü yapılamadığı için kan ve kan ürünleri koronal dokularla direkt ya da indirekt temas ederek istenmeyen renklenmeye sebep olabilmektedir (25). Koronal diş yapıları ile kanın temas etmesiyle eritrositlerin dentin tübüllerine penetrasyonu ve eritrositlerin hemolizini takiben tübüllerde hemoglobin ve hematin moleküllerinin birikimine ve rejeneratif endodontik tedavi sonrası diş renginde istenmeyen renklenmeye neden olmaktadır (157). Histokimyasal testlerde, eritrositlerle boyanmış dişlerde bir renk değişim gradyanı gösterilmiştir. Renklenmenin pulpa odasına daha yakın olan dentin bölgelerinde daha fazla olduğu ve yoğunluğunun dış kısımlara doğru azaldığı bildirilmiştir (166). Kan varlığında diş renklenmesinin meydana gelmesini açıklayan bir başka hipotezde ise, eritrositlerin bazı kalsiyum silikat bazlı materyaller tarafından absorbe edilmesi ve hemolizinin materyalin ve diş yapısının renginin değişmesine neden olabilmesi olarak açıklanmıştır (11, 173). Bu nedenle literatürde rejeneratif endodontiye bağlı renklenmeyi minimuma indirmek ve koronal bariyer materyaline yeterli alan sağlamak adına kanamanın mine sement sınırının altında oluşturulması önerilmiştir (6, 12). MTA veya Biodentin gibi biyoaktif koronal bariyer materyallerinin periservikal alana yerleştirilmesi, dişe servikal güç sağlamak için çok önemli olan bu bölgede kök gelişimini önlediğinden kanın pulpa odasına mümkün olduğunca akmasının teşvik edilmesi gerektiğini savunan görüşler de mevcuttur (14, 15). Bununla birlikte kanda bulunan Fe^{2+} iyonu, doğal bir redoks reaksiyonu nedeniyle koyu kahverengi bir renge sahip olan ferrik (Fe^{3+}) haline gelir ve bu nedenle materyallerin renginin değişmesine neden olabileceği düşünülmektedir (6). Kan kontaminasyonunun bizmut oksit veya diğer radyopaklaştırıcıları içeren kalsiyum silikat esaslı materyallerle ilişkili renk değişikliğini önemli ölçüde artırdığı birçok çalışmada bildirilmiştir (6, 21, 197), fakat Biodentin’de bu reaksiyonun minimal ya da hiç gerçekleşmediğini rapor eden çalışmalar da mevcuttur (12, 157). Tüm bu sebepler göz önünde bulundurularak çalışmamızda kan mine sement sınırının 4 mm altına kadar bir enjektör kullanılarak kanallara yerleştirildi. Bununla birlikte, bazı klinik durumlarda, kök kanalındaki kan seviyesini kontrol etmek ve onu mine sement sınırının 4 mm altında olan ideal seviyeyle sınırlamak zor olabilir. Shokouhinejad ve ark. (11) Biodentin’in apikal yönde yer değiştirmesini önlemek için biodentinin bir kollajen matriks üzerine yerleştirilmiş olmasına rağmen,

materyalin yaklaşık olarak kanla temas halinde olduğunu, bu durumun pulpa odasının dentin duvarlarının renklenmesinde payı olduğunu bildirmişlerdir (11). Bu bilgiler ışığında klinik durumu simüle edebilmek adına gönüllü bir kişiden alınan kan (M.O.A) kök kanalına enjekte edilmeden önce pıhtılaşmayı önlemek için K2-EDTA içeren tüplere alındı (9). Kök kanalına kanın enjekte edilmesinin ardından, klinik koşullara benzer bir ortam oluşturmak için 15 dk kan pıhtısı oluşumu beklendi (11). Biodentin'in kanla temasını önlemek ve homojen bir yerleşim sağlamak amacıyla spongostan, dişlere kan enjeksiyonundan sonra mine sement sınırının 4 mm altında kalacak şekilde dişlere yerleştirildi (6).

Literatürde rejeneratif endodontik prosedürlerde koronal bariyer olarak kullanılan çeşitli kalsiyum silikat esaslı simanlarla ilişkili olarak dişlerde belirli oranlarda renk değişimi meydana geldiği çeşitli vaka raporlarında ve ex vivo çalışmalarda bildirilmiştir (22, 155, 179, 198, 199). Rejeneratif endodontik tedavide yaygın olarak kullanılan kalsiyum silikat esaslı simanlardan biri olan WMTA'nın demir içeriği oksidasyonla kalsiyum alüminoferrit fazına geçerek dentin tübüllerine penetre olmasıyla ilişkili olarak, renk değişimine neden olduğu düşünülmektedir (17). MTA'nın içeriğinde bulunan radyopaklaştırıcı özelliğe sahip bizmut oksitin oksijensiz bir ortamda ısındığında önemli kromojenik değişikliklere neden olduğu rapor edilmiştir (199). Marciano ve ark. (200) dentin kollajenindeki amino asitlerin, MTA'daki bizmut oksit ile etkileşime girerek dişte siyah renklenmeye neden olduğunu bildirdi. Radyopaklaştırıcı olarak zirkonyum oksit içeren Biodentin kullanıldığında koronal bariyer materyalinin daha iyi renk stabilitesine sahip olduğu gösterilmiştir (197). Biodentin diğer kalsiyum silikat esaslı simanlara kıyasla daha kısa bir sertleşme süresine sahip olduğundan tek seansta daimi restorasyon tamamlanabilme avantajına da sahiptir (166). Ayrıca Laurent ve ark. (201) Biodentin'in herhangi bir konsantrasyonda pulpa dokusu için sitotoksik ya da genotoksik olmadığını rapor etti. Biodentin'in ışık ve anaerobik ortam şartlarında renk değişikliği göstermediği bildirilmiştir (199). Rejeneratif endodontik tedavilerde koronal bariyer olarak kullanılacak kalsiyum silikat esaslı simanların tedavinin başarısı ve mikrosızıntının oluşturacağı olası bir renklenmeyi önlemek için kök kanal dentinine iyi bağlanması gerektiği bildirilmiştir (202, 203). MTA'nın tek boyutlu kristal yapısına kıyasla biodentinin trikalsiyum silikat formları üç boyutlu yapıya

sahip olması ve trikalsiyum silikat partikül boyutunun MTA'dan daha geniş yüzey alanına sahip olması daha dayanıklı bir materyal olduğunu göstermektedir (204). Biodentin'in elastik modülü ve bükülme dayanımı MTA'dan daha fazlayken, dentinle benzerdir (205). Kısa sertleşme süresi, üstün mekanik özellikleri, kullanım kolaylığı ve potansiyel renk kararlılığı gibi birçok avantajı göz önünde bulundurularak Biodentin'in estetik açıdan hassas alanlarda koronal bariyer olarak kullanımı AAE tarafından önerilmektedir (84). Tüm bu faktörler göz önünde bulundurularak mevcut çalışmada koronal bariyer materyali olarak kalsiyum silikat esaslı simanlardan Biodentin tercih edildi.

Renk değişimi değerlendirilen çalışmalarda üst restorasyon olarak Cavit, IRM, cam iyonomer gibi bir çok geçici dolgu materyali ya da kompozit gibi daimi restorasyon materyali kullanılmıştır (11, 166). Kompoziti sertleştirmek için gerçekleştirilen ışınlama prosedürünün MTA'da renk değişikliğine neden olduğu, ancak Biodentin'de renk değişimine neden olmadığı bildirilmiştir (199). Bu etkileşimden kaynaklanabilecek renklenmeyi elimine etmek adına bu bilgiler ışığında çalışmamızda koronal bariyer olarak Biodentin tercih edildiği için ve mikrosızıntının oluşturabileceği olası bir renklenmeyi önlemek adına üst restorasyon materyali olarak kompozit tercih edildi.

Diş rengi, aydınlatma koşulları, yarı saydamlık, opaklık, parlaklık ve insan gözü ve beyninin sınırlamaları gibi çeşitli faktörlerden etkilenen karmaşık bir fenomen olarak tanımlanmaktadır (206). Diş renklenmesini araştıran çalışmalarda görsel ve enstrümantal yöntemler kullanıldığı bildirilmiştir. Subjektif bir yöntem olan görsel yöntem, ticari olarak üretilen renk kılavuzlarını kullanmaktadır. Bu yöntem klinisyen yorumu ve yorgunluğu ve aydınlatma koşulları gibi çevresel etmenler nedeniyle son derece zor uygulama koşullarına sahiptir. Enstrümantal renk analizi ise objektif, ölçülebilir ve daha hızlı elde edilen bir yöntem olarak kabul görmektedir (150). Spektrofotometreler, kolorimetreler, spektoradyometreler ve dijital görüntüleme sistemleri literatürde diş renklenme değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan enstrümantal renk analizi sistemleridir (163). Dozic ve ark. (206) 2 kolorimetre, 2 dijital görüntüleme sistemi ve 1 spektrofotometre olmak üzere 5 ayrı renk ölçüm cihazını in vitro ve in vivo olarak karşılaştırdıkları çalışmanın sonucunda

kolorimetrelerin diğer cihazlara kıyasla anlamlı bir şekilde daha az güvenilir sonuçlar verdiğini bildirdi. Cihazların büyük kısmı in vivo koşullarda in vitro koşullara oranla daha güvenilir olmasına rağmen spektrofotometrenin her iki koşulda da güvenli bir ölçüm yöntemi olduğu bildirilmiştir. Kolorimetreler düz yüzeyleri ölçmek için tasarlanmıştır, ancak dişler genellikle düz yüzeye sahip değildir ve yüzey anormalliklerine sahip olabilmektedir. Ayrıca dişler yarı saydamdır, bu da rengi ölçülen dişte ışık kaybına yol açarak yanlış renk değerleri verebilmektedir ve cihazlar arası uyum nispeten zayıf olduğundan bu yöntem kullanıldığında renk analizinde dezavantajlı bir durum oluşmaktadır (162, 163). Spektrometre ise diğer renk ölçüm cihazları ile kıyaslandığında daha yüksek maliyete sahip olması ve ölçüm için aydınlatma koşullarının ayarlanmasının zorluğu nedeniyle çalışmalarda daha az kullanılmaktadır (162). Dijital görüntüleme sistemleri, dişlerin rengini belirlemede giderek daha popüler hale gelse de bu sistemlerin kesinliği ve doğruluğunun kamera kalitesi ve görüntü işleme yönteminden büyük oranda etkilendiği bildirilmektedir. Ayrıca dijital görüntüleme ile renk ölçümünde farklı aydınlatma koşulları altında farklı diş renkleri metamerizm fenomeni nedeniyle aynı görünebileceğinden bu durum potansiyel bir sorun oluşturmaktadır (207). Spektrofotometreler ise, renk değişimini tespit etmek için geçerli bir metodolojiye sahiptir ve dişlerin renklenmesinin araştırıldığı çalışmalarda renk analizinde objektif sonuçlar elde edilen, kullanımı kolay cihazlardır. Spektrofotometrelerde renk ölçümü cihazdan bağımsızdır ve renk için sayısal bir değer elde etmek için standart sabitler kullanılmaktadır. Bu durum hata marjı ve araştırmacıdan dolayı oluşacak sapma değerlerini minimuma indirmektedir (166). Spektrofotometre, tek bir renk tonunu ölçebilir veya bir diş yüzeyindeki ince farklılıkları belirleyebilmektedir. Görsel renk ölçümünün ve spektrofotometrenin, renk ölçüm tonlarını eşleştirme yeteneğinin sistematik olarak incelendiği çalışmanın sonucunda spektrofotometrenin daha doğru ve kesin sonuçlar verdiği bildirilmiştir (208). Mevcut çalışmada, uluslararası standardizasyon teşkilatının standartlarına göre rengin belirlenmesini sağlayan, güncel ve literatürde renk analizinde yaygın kullanılan bir renk sistemi olan, görsel renk uzayını tamamen kapsarken, renkteki küçük değişikliklere bile duyarlı, bulguları tekrarlanabilir ve objektif olan CIELAB (Commission Internationale de l'Eclairage $L^*a^*b^*$) renk sistemi kullanıldı (130, 209). Öklid mesafesi, sayısal

değerde ΔE , 2 nesne arasındaki veya 2 farklı zaman periyodundaki renkteki toplam değişim büyüklüğünü temsil edecek şekilde hesaplanır. Algılanabilir renk değişimi, 3.3'ten büyük bir ΔE değerine karşılık gelir (6, 12). ΔE değerlerinin 3.7'den büyük olduğunda insan gözü için algılanabilir renk değişimi kabul edildiğini savunan çalışmalar da mevcuttur (186, 210). ΔE değerlerini hesaplamak için değerlendirilen üç kromatik parametre; ΔL parlaklıktaki 0 (siyah) 'dan 100 (beyaz)'a doğru değişimi ifade etmektedir. Yeşilden (negatif a^*)'dan kırmızıya (pozitif a^*)'ya değişimi ve maviden (negatif b^*)'den sarıya (pozitif b^*)'ye değişimi belirtmektedir (12, 196). Nötr renklere yaklaştıkça a^* ve b^* değerleri sıfıra yaklaşmaktadır, renk yoğunluğu artarsa bu değerler de artar (162). CIELAB renk sistemi ayrıca klinik olarak yorumlanabilme kolaylığı, renk farklılıklarının tanımlanabilmesi gibi avantajlara da sahiptir (211). Tüm bu faktörler göz önüne alındığında yüksek veri stabilitesi ve mükemmel tekrarlanabilirliğe sahip olduğu belirtilen Vita Easysshade Advance (VITA Easysshade; VITA Zahnfabrik) çalışmamızda kullanıldı. Her bir ölçüm 3 kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. Ticari olarak spektrofotometrelerde sapmalar olsa da, bu tutarsızlık çalışma ile ilgili değildir çünkü çalışmamızda dişlerin renginin önemi yoktur, önemli olan renk değişimidir (22). İnsan gözü 3 çeşit sensör içerirken bu cihazlar daha çok sayıda sensör içermektedir ve insan gözünün ayırt edemeyeceği farklılıkları da tespit edebilmektedir (212). İnsan gözü parlaklığı rengin kendisinden daha net algılamaktadır. Kurondaki renk değişimi ile ilgili olarak parlaklık kaybının renk stabilitesi için kritik olduğu gösterilmiştir (118). Renk algısının çok karmaşık olması sebebiyle çalışmamızda subjektif etkileri en aza indirmek için aynı ortamda aynı aydınlatma koşulları altında renk tespiti yapıldı (166, 213). Objektif bir renk analizi için renk ölçümü her dişte aynı bölgeden yapılmalıdır (186). Ölçümlerin standardize edilerek aynı noktadan yapılması gerekliliği spektrofotometrenin kullanımının güçlüklerindendir (214). Dental materyallerle ilişkili renk değişiminin en belirgin biçimde kronun servikal üçte birlik kısmında meydana geldiği çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (17, 215). Bu sebeple çalışmamızda dişlerin bukkal yüzeylerine spektrofotometrenin başlığının yerleşebileceği şekilde mümkün olduğunca dişin servikal kısmına yakın olacak şekilde kompozit bir çerçeve yapılarak tüm ölçümlerin aynı noktadan yapılması sağlandı.

ΔE değeri iki farklı zaman aralığı arasındaki renk değişiminin büyüklüğünü belirtmektedir. ΔE değerinin artışı renk değişiminin yükseldiğini ifade etmektedir. Literatürde diş renginde meydana gelen 3.3 ile 3.7 arasındaki ΔE değerleri klinik olarak algılanabilir renk değişimi sınırı olarak kabul edilmektedir (8, 173, 186). Mevcut çalışmada klinik olarak algılanabilir renk değişiminin, 3.3'ten büyük bir ΔE değerine karşılık geldiği kabul edildi. Renk stabilitesindeki önemli farklılıklar, başlangıçtaki ilk renk ölçümü T0 ile T1, T7, T30 ve T90'da ölçülen değerler formüllerle hesaplanarak ΔE değerleri ile 7 grubun tümü için değerlendirildi. Mevcut çalışmada ölçüm yapılan tüm zaman aralıklarında negatif kontrol grubuna ait örneklerin hiçbirisinde klinik olarak algılanabilir renk değişimi ($\Delta E < 3.3$) meydana gelmedi. Chen ve ark. (166)'nın rejeneratif endodontik tedaviyle trikalsiyum silikat simanların kan varlığında renklenmesini değerlendiren güncel çalışması bulgularımızı destekleyici nitelikte 180. günde negatif kontrol grubunda ΔE 'nin klinik olarak algılanabilir seviyede olmadığını bildirmiştir. ($\Delta E = 1.71 \pm 0.34$ ($\Delta E < 3.3$)). Fundaoğlu ve ark. (173) da farklı antibiyotik patların spektrofotometrik analizle renk değişimini ölçtükleri çalışmada kontrol grubunda algılanabilirlik düzeyinden düşük seviyede meydana geldiğini belirtmişlerdir ($\Delta E = 1.79$). Literatürde dişlerin saklanma koşullarının renk değişiminde önemli bir predispozan faktör olduğu gösterilmiştir. Gerçekleştirilen in vitro çalışmalarda diş dokularının ve diş minesinin dehidrasyonunun, dişin optik özelliklerinde geri dönüşümlü değişikliklere yol açması nedeniyle dişin reflektans özelliklerinin artması ve ardından parlaklık artışı olduğu bildirilmiştir (216). Diş çekiminden sonra dişin yapısında bu tür değişimler meydana gelmesi nedeniyle, in vitro yapılan çalışmalarda deney süresi boyunca dişler %0.05 timol içeren distile su, %2'lik gluteralehit, %10'luk formalin, steril salin, serum fizyolojik gibi çeşitli solüsyonlarda saklanmıştır (217). Ancak dişlerin saklama koşulları için hangi ortamın en uygun olduğu konusunda bir fikir birliği bulunmamaktadır. Mevcut çalışmada tüm dişler tedavi prosedürleri uygulanırken bekleme süresince distile suyla doldurulmuş eppendorf tüplerine yerleştirildi. Klinik koşulları simüle etmek için eppendorf tüpleri ölçüm zamanları dışındaki tüm deney süresince 37 ° C'de ve % 100 nemde inkübatörde saklandı (120). Mevcut çalışmada negatif kontrol grubunda tüm zaman aralıklarındaki renk değişimi açısından anlamlı bir farklılık bulunmaması dişlerin uygun ortam koşullarında

saklandığını göstermektedir. Dişlerde herhangi bir değişiklik olmadan deneylerin yapılması sağlanmış ve klinik koşullar simüle edilerek gerçeğe yakın sonuçların elde edilmesi hedeflenmiştir. Bununla birlikte negatif kontrol grubunda klinik olarak algılanabilir seviyeden düşük seviyede renklenme gözlenmiştir. Maksimum renklenme 90. günde gözlenmiştir ve T90'da negatif kontrol grubunda ortalama ΔE değeri $1,98 \pm 0,40$ 'dır.

Çalışmamızda test edilen diğer gruplarda ise çeşitli zaman aralıklarında başlangıca kıyasla klinik olarak algılanabilir renk değişimi ($\Delta E > 3.3$) gözlemlendi. Bu durum mevcut çalışmada rejeneratif endodontik tedavide renklenmeyi önlemeyi hedefleyen hiçbir yöntemin renk değişimini %100 önleyemediğini gösterdi. Mevcut çalışmada rejeneratif endodontik tedavi prosedüründe doku iskelesi olarak kan kullanıldı. En fazla renk değişimi tespit edilen grup kan grubuydu. Kan grubunda renk değişimi tüm zaman aralıklarında gittikçe artarak 90. günde maksimum renk değişimi gözlemlendi. Çalışmamızın bulgularıyla benzer şekilde Yoldaş ve ark. (179) çeşitli kalsiyum silikat simanların ve kanın neden olduğu renklenmeyi değerlendirdikleri çalışmada kan grubunda başlangıca kıyasla 1 yıl sonunda en yüksek renk değişim değerlerinin ölçüldüğünü bildirmiştir. Bununla birlikte bulgularımıza benzer şekilde diş dokusunun kan ile temas süresi arttıkça renklemenin arttığı gözlemlenmiştir. Madani ve ark. (218) da çeşitli kalsiyum silikat simanların kan varlığında ve kan olmadan renk değişimini ölçtükleri çalışmada en 6 ay sonunda en çok renklenme görülen grubun yalnızca kan uygulanan grup olduğunu ve çalışmamızdaki bulgulara paralel olarak renklenme artışının giderek arttığını bildirmiştir. Adl ve ark. (9) da çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde 3 ay sonunda, Ramos ve ark. (196) ise 1 yıl sonunda en büyük renk değişikliğinin tüm zaman aralıklarında kan grubunda gözlemlendiğini rapor etmiştir. Literatürde kanın hemoliz ve eritrositlerin dentin tübüllerine penetre olmasıyla renklemeye sebep olduğu bildirilmektedir (12). Sadece kan uygulanan grubunun en yüksek renk değişim değerlerini göstermesini açıklayan hipotezlerden biri de, kan bileşenlerinin içeri akışını engelleyen kalsiyum silikat esaslı koronal bariyer kullanılmasıyla açıklanabilir (179).

Kan grubu ve negatif kontrol grubu dışındaki materyallerin uygulandığı tüm gruplar için gözlemlenen genel bir eğilim, Beatty ve ark.'nın (219) kalsiyum silikat

esaslı simanların renk değişimi karşılaştırdıkları çalışmaya benzer şekilde işlem den hemen sonra maksimum renk değişimi ve ardından 1. günde bir geri tepme etkisi gözlemlenmesiydi. Bu geri tepme etkisine rağmen mevcut çalışmada tüm zaman aralıklarında Biodentin grubunda da klinik olarak algılanabilir renk değişimi gözlemlendi. Çalışmamızın bulgularıyla benzer şekilde Beatty ve ark. (219) Biodentin ve çeşitli koronal bariyer materyallerinin neden olduğu renklenmeyi ölçtükleri çalışmada tüm ölçüm zamanlarında 2 ay sonunda materyallerin klinik olarak algılanabilirlik düzeyinde renklerinin değiştiğini gösterdi. Bunun aksine, kontrol grubu tüm zaman noktalarında algılanabilirlik düzeyinin altındaydı ve bu sonucun bulguların güvenilirliğini desteklediği bildirildi. Ramos ve ark. (196) Biodentin'in renklenmesinin 6. haftada çalışmamızın bulgularına paralel olarak klinik olarak algılanabilir düzeyin üzerinde olduğunu bildirdi. Mozynska ve ark. (209) ise çalışmamızı destekler nitelikte kullanılan kalsiyum silikat simanın türüne ve geçen zamana bağlı olarak ΔE 'nin değerinin önemli ölçüde arttığını bildirmiştir. Araggi ve ark. (220) da çalışmamıza benzer şekilde Biodentin grubundaki dişlerde 3 ay sonunda klinik olarak algılanabilir renk değişikliği olduğunu rapor etti. Kalsiyum silikat esaslı simanlarının renk değişimi potansiyelini değerlendiren 23 in vitro çalışmanın sistematik bir incelemesinde, incelenen çeşitli materyaller arasında Biodentin ve Endosequence'nin en az renk değişimi potansiyeline sahip olduğunu bildirildi. Çalışmamızdaki bulguların aksine Marconyak ve ark. (8) yaptıkları çalışmada Biodentin'in 60 gün sonunda klinik olarak algılanabilir renk değişikliğine neden olmadığını bulmuşlardır. Palma ve ark. (221) rejeneratif endodontik prosedürlerde kullanılan kalsiyum silikat esaslı simanların kanla ve kandan bağımsız olarak altı aylık renk stabilite değerlendirmesini hedefleyen çalışmada kandan bağımsız olarak değerlendirildiğinde Biodentin'in, 6 ay sonunda klinik olarak algılanabilir düzeyin ($\Delta E > 3.3$) biraz üstünde renk değişimi gösterdiği bulursa da renk kararlılığı sergilediğini bildirmiştir. Marciano ve ark. (200) Biodentin içeriğinde bulunan zirkonyum oksit ve kalsiyum tungstatın renk kararlılığı sergilediğini bildirmişlerdir. Çalışmalarında, kollajen ile temas halindeki zirkonyum oksit ve kalsiyum tungstat renk değişikliği göstermediğinden Biodentin'in iyi bir renk stabilitesine sahip olduğunu rapor ettiler. Yoldaş ve ark. (179) da kalsiyum silikat esaslı simanların oluşturduğu diş renklenmesini ölçtüklerini çalışmada Biodentin'in

en az renklenme potansiyeline sahip olduğunu bildirmiştir. Mevcut çalışmada ise bunun aksine tek başına kullanılan Biodentin'in renklenme potansiyeli sahip olduğu tespit edildi. Çeşitli çalışmalarda Biodentin'in renk değişimi değerlendirilmesinde farklılıklar olması, uygulanan Biodentin kalınlığı, ortam koşulları, karıştırma süresi, ölçüm cihazı türü, dişte ölçüm yapılan noktaların farklı olmasından kaynaklanıyor olabileceğini düşünmekteyiz.

Zızka ve ark. (157) koronal bariyer için kalsiyum silikat simanlar kullanıldığında, koronal renklenme potansiyeli daha düşük olan bizmut içermeyen kalsiyum silikat simanlara öncelik verilmesi gerektiğini bildirdi. Bununla birlikte bizmut oksit içermeyen kalsiyum silikatların da kanla temas ettiğinde minimal renk değişimine sebep olduğunu rapor etti. Bu durum Biodentin'in diğer kalsiyum silikat esaslı simanlara göre daha hızlı sertleşmesiyle kan bileşenleri daha hızlı bloke etmiş olabileceği teorisiyle açıklanmıştır (12). Oliveira ve ark. (23) da kanla birlikte koronal bariyer materyallerinin diş renklenmesine sebep olduğunu bildirdi. Shokouhinejad ve ark. (21) kan varlığında, ProRoot MTA, OrthoMTA, Biodentin ve Endosequence RRM'in, 6 aylık süre sonunda ΔE 'de klinik olarak algılanabilir düzeyde ($\Delta E > 3.3$) meydana geldiğini bildirmiştir. Benzer şekilde Adl ve ark. (9) Biodentin ile birlikte kan uygulanan grupta klinik olarak algılanabilir renk değişimi görüldüğünü bildirmiştir. Kan varlığında kalsiyum silikat esaslı maddelerin renk değişimi potansiyelinin kesin mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamış olsa da, kalsiyum silikat esaslı materyalin sertleşme süresi boyunca kan temasıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir (179). Literatürde kalsiyum silikat bazlı malzemelerdeki porözitelere materyalin sertleşmesi sırasında kan bileşenlerinin potansiyel olarak sıkışabileceği düşünülerek renk değişikliğine neden olduğu bildirilmiştir (22).

Literatürde rejeneratif endodontik tedavinin oluşturacağı olası renklenmeyi önlemek amacıyla pulpa odasının dentin tübüllerini tıkamak için DBA'ların uygulanması gerektiği çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (11). Poly ve ark. (118) ile Bezgin ve ark. (222) DBA'nın rejeneratif endodontik tedavide minosiklin antibiyotik patına bağlı kuron renklenmesini azaltmak için iyi bir seçenek olduğunu gösterdi. Akbari ve ark. (223) MTA kullanımına bağlı diş renk değişikliğini önlemek için dentin tübüllerinin DBA ile tıkanmasını önerdi. Kim ve ark. (85) ve Shokouhinejad

ve ark. (11) ise DBA'ların antibiyotikli pata bağı renklenmeyi azalttığını ancak tamamen engelleyemediğini rapor etmiştir. Bununla birlikte, DBA'ların özellikle polimerize edilmemiş formlarda kök hücreler üzerindeki toksik etkisi hakkında endişeler mevcuttur (224). Bu yüzden dentin tübüllerini tıkamak için lazerler gibi daha güncel ve farklı yöntemler kullanılmaya başlanmıştır (20). Ancak bu konuda literatürde henüz çok az çalışma mevcuttur. Yapılan kapsamlı literatür taramasında rejeneratif endodontik prosedürlerde renklenmeyi önleme potansiyelini araştırmak amacıyla Teethmate ve Nd:YAG ile ilgili bir çalışma, Er:YAG lazer ile ilgili yapılan bir çalışma bulunamadı. Bu nedenle çalışmamızın bulguları literatürdeki diğer çalışmaların sonuçlarıyla doğrudan karşılaştırılamamıştır. Fundaoğlu ve ark. (20) üç farklı dentin tübül oklüzyon yönteminin üçlü antibiyotik patının neden olduğu renk değişikliğine karşı önleyici etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada 21 günün sonunda Teethmate, DBA ve Nd:YAG lazer arasında renklenmeyi önlemede anlamlı farklılık bulunmadığını bildirdi. Çalışmamızı destekler nitelikte üç grupta da klinik olarak algılanabilir renk değişimi gözlemlendi. Bu çalışmada ve mevcut çalışmamızda Nd:YAG ve Teethmate gruplarında klinik olarak algılanabilir renk değişimi görülmesinin nedeni dentin tübüllerini %100 tıkayamamaları ve oluşturdıkları tıkaçın zamanla bozulabilmesiyle açıklanabilir.

Çalışmamızda kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda klinik olarak algılanabilir renk değişimi gözlenmesinin sebebi kan ve Biodentin'in sebep olduğu renk değişiminin kullanılan dentin tübül oklüzyon metodlarıyla azaltılabilse de tamamen önlenememesi olabileceği düşünülmektedir. Çeşitli çalışmalar incelendiğinde farklı sonuçların bulunması ortam koşulları, üst restorasyon seçimi, diş seçimi, uygulanan doku iskelesi, uygulanan kalsiyum silikat simanın türü, renk ölçüm cihazının türü, ölçüm aralıkları gibi metodolojik farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Literatürde rejeneratif endodontik tedavinin neden olduğu renklenmenin araştırıldığı çalışmalarda renklenme genellikle antibiyotikli patlar açısından değerlendirilmiştir (22, 85, 129, 187). Bununla birlikte literatürde sadece kan ve Biodentin'in oluşturduğu renklenmeyi değerlendiren çalışmalar olsa da sadece bu tür renklenmeleri önlemek adına literatürde daha az araştırma mevcuttur (6, 25). Bununla birlikte rejeneratif endodontik tedavilerde, önceki tedavi adımlarında da indüklenebilen renk değişimi nedeniyle, tedavinin her adımıyla

ilişkili renk değışikliklerinin ayrı ayrı ölçülemediğı belirtilmektedir (11). Bu nedenle, kan ve Biodentin'in oluşturduğu renklenmeyi değlendirmeyi hedefleyen bu çalışmamızın sonuçları, kanal içi medikamentlerin neden olduğu diş renklenmesini değlendiren diğr bazı çalışmaların sonuçlarıyla direkt karşılaştırılmaz.

Standartlaştırılmış şartlar sağlanmasına rağmen, mevcut in vitro çalışma modeli, klinik durumu tam olarak taklit etmede sınırlamalara sahiptir. Klinik koşullarda restorasyon sınırlarında sızıntı olması durumunda endodontik koronal bariyer materyalinin tükürük bileşenleri ve bakterilerle etkileşimi meydana gelebilir. Bu durumda, in vivo olarak farklı renklenme mekanizmalarına yol açabilir (22). İnsan dişlerini kullanmanın olası bir sınırlaması, kullanılan dişlerin rengindeki beklenen doğal renk değışimidir. Bir in vitro araştırmanın sonuçlarını etkileyebilecek diğr bir metodolojik faktör, çekilmiş dişlerdeki olası pulpa kalıntılarıdır (166). Bununla birlikte yerleştirme sırasında materyale kanın karışmaması için azami özen gösterilmesine rağmen, materyalin yanlışlıkla kanla karıştırılması da materyalin ve dolayısıyla dişin kromatik değışiminde rol oynayabilir. Dentin tübül tıkayıcı tekniklerin renklenmeyi önlenmede etkisinin değlendirilmesi adına uzun dönem etkinliğinin incelenmesiyle daha farklı sonuçlar ortaya çıkabileceğinde daha fazla sayıda ve daha uzun takipli randomize kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Rejeneratif endodontik tedaviye bağı kan ve Biodentin'in oluşturduğu renklenmeyi önlemede çeşitli dentin tübül tıkama yöntemlerinin etkinliğini spektrofotometrik analizle değerlendiren in vitro çalışmamızın sınırlamaları dahilinde şu sonuçlar elde edilmiştir:

1. Mevcut çalışmada negatif kontrol dışındaki gruplarda tüm zaman aralıklarında klinik olarak algılanabilir renk değişimi gözlemlendi. Bu durum çalışmamızda kullanılan hiçbir dentin tübül tıkama yönteminin rejeneratif endodontik prosedürlere bağı renklenmeyi %100 önleyemediğini gösterdi.
2. Renk değişimini önlemek açısından anlamlı bir fark bulunmayan DBA ve Teethmate'in, Nd:YAG ve Er:YAG lazere kıyasla uygulama kolaylığı ve düşük maliyete sahip olmaları nedeniyle dentin tübül tıkaçıcı olarak öncelikli kullanımının uygun olduğu düşünülmektedir.
3. Diş dokusunun kan ile temas süresi arttıkça renklenmenin arttığı gözlemlendi.
4. Tek başına kullanılan biodentinin renklenme potansiyeli olduğu tespit edildi.

7. KAYNAKLAR

1. **Fagogeni I, Metlerska J, Lipski M, Falgowski T, Maciej G, Nowicka A.** Materials used in regenerative endodontic procedures and their impact on tooth discoloration. *Journal of oral science*. **2019**;61(3):379-85.
2. **Diogenes A, Henry MA, Teixeira FB, Hargreaves KM.** An update on clinical regenerative endodontics. *Endodontic Topics*. **2013**;28(1):2-23.
3. **Akyıldız BM, Sönmez I.** Rejeneratif Endodontik Tedavi: Bir Literatür Derlemesi. *Türkiye Klinikleri Pediatric Dentistry-Special Topics*. **2016**;2(1):1-12.
4. **Santos L, Chisini LA, Springmann CG, Souza BDM, Pappen FG, Demarco FF, et al.** Alternative to Avoid Tooth Discoloration after Regenerative Endodontic Procedure: A Systematic Review. *Brazilian dental journal*. 2018;29(5):409-18.
5. **Taweewattanapaisan P, Jantararat J, Ounjai P, Janebodin K.** The Effects of EDTA on Blood Clot in Regenerative Endodontic Procedures. *Journal of endodontics*. **2019**;45(3):281-6.
6. **Shokouhinejad N, Razmi H.** Coronal tooth discoloration induced by regenerative endodontic treatment using different scaffolds and intracanal coronal barriers: a 6-month ex vivo study. **2019**;44(3):e25.
7. **Watts A, Addy M.** Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *British dental journal*. **2001**;190(6):309-16.
8. **Marconyak LJ, Jr., Kirkpatrick TC, Roberts HW, Roberts MD, Aparicio A, Himel VT, et al.** A Comparison of Coronal Tooth Discoloration Elicited by Various Endodontic Reparative Materials. *Journal of endodontics*. **2016**;42(3):470-3.
9. **Adl A, Javanmardi S, Abbaszadegan A.** Assessment of tooth discoloration induced by biodentine and white mineral trioxide aggregate in the presence of blood. *Journal of conservative dentistry : JCD*. **2019**;22(2):164-8.
10. **Bosenbecker J, Barbon FJ, de Souza Ferreira N, Morgental RD, Boscato N.** Tooth discoloration caused by endodontic treatment: A cross-sectional study. **2020**.
11. **Shokouhinejad N, Khoshkhounejad M, Alikhasi M, Bagheri P, Camilleri J.** Prevention of coronal discoloration induced by regenerative endodontic treatment in an ex vivo model. **2018**;22(4):1725-31.

12. **Chen SJ, Karabucak B, Steffen JJ, Yu YH, Kohli MR.** Spectrophotometric Analysis of Coronal Tooth Discoloration Induced by Tricalcium Silicate Cements in the Presence of Blood. *Journal of endodontics*. **2020**.
13. **Marin PD, Bartold PM, Heithersay GS.** Tooth discoloration by blood: an in vitro histochemical study. *Endodontics & dental traumatology*. **1997**;13(3):132-8.
14. **Staninec M, Marshall GW, Hilton JF, Pashley DH, Gansky SA, Marshall SJ, et al.** Ultimate tensile strength of dentin: Evidence for a damage mechanics approach to dentin failure. *Journal of biomedical materials research*. **2002**;63(3):342-5.
15. **Ichim I, Kuzmanovic DV, Love RM.** A finite element analysis of ferrule design on restoration resistance and distribution of stress within a root. *International endodontic journal*. **2006**;39(6):443-52.
16. **Berger T, Baratz AZ, Gutmann JL.** In vitro investigations into the etiology of mineral trioxide tooth staining. *Journal of conservative dentistry : JCD*. **2014**;17(6):526-30.
17. **Felman D, Parashos P.** Coronal tooth discoloration and white mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics*. **2013**;39(4):484-7.
18. **Krastl G, Allgayer N, Lenherr P, Filippi A, Taneja P, Weiger R.** Tooth discoloration induced by endodontic materials: a literature review. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology*. **2013**;29(1):2-7.
19. **Bortoluzzi EA, Araújo GS, Guerreiro Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M.** Marginal gingiva discoloration by gray MTA: a case report. *Journal of endodontics*. **2007**;33(3):325-7.
20. **Fundaoğlu Küçükkekenci F, Küçükkekenci AS, Çakici F.** Evaluation of the preventive efficacy of three dentin tubule occlusion methods against discoloration caused by triple-antibiotic paste. *Odontology*. **2019**;107(2):186-9.
21. **Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Pirmoazen S, Shamshiri AR, Dummer PM.** Evaluation and Comparison of Occurrence of Tooth Discoloration after the Application of Various Calcium Silicate-based Cements: An Ex Vivo Study. *Journal of endodontics*. **2016**;42(1):140-4.
22. **Lenherr P, Allgayer N, Weiger R, Filippi A, Attin T, Krastl G.** Tooth discoloration induced by endodontic materials: a laboratory study. *International endodontic journal*. **2012**;45(10):942-9.
23. **Oliveira LV, da Silva GR.** A laboratory evaluation of cell viability, radiopacity and tooth discoloration induced by regenerative endodontic materials. **2020**;53(8):1140-52.

24. **Almutairi W, Yassen GH, Aminoshariae A, Williams KA, Mickel A.** Regenerative Endodontics: A Systematic Analysis of the Failed Cases. *Journal of endodontics*. **2019**;45(5):567-77.
25. **Akbulut MB, Terlemez A, Akman M, Buyukerkmen B, Guneser MB, Eldeniz AU.** Tooth discoloration effects of calcium silicate based barrier materials used in revascularization and treatment with internal bleaching. *Journal of dental sciences*. **2017**;12(4):347-53.
26. **Cruse WP, Bellizzi R.** A historic review of endodontics, 1689-1963, part 1. *Journal of endodontics*. **1980**;6(3):495-9.
27. **Dammaschke T.** The history of direct pulp capping. *Journal of the history of dentistry*. **2008**;56(1):9-23.
28. **Ferreira CF, Magini RS, Sharpe PT.** Biological tooth replacement and repair. *Journal of oral rehabilitation*. **2007**;34(12):933-9.
29. **Hermann BW.** [On the reaction of the dental pulp to vital amputation and calxyl capping]. *Deutsche zahnärztliche Zeitschrift*. **1952**;7(24):1446-7.
30. **Torabinejad M, Chivian N.** Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics*. **1999**;25(3):197-205.
31. **Zanini M, Sautier JM, Berdal A, Simon S.** Biodentine induces immortalized murine pulp cell differentiation into odontoblast-like cells and stimulates biomineralization. *Journal of endodontics*. **2012**;38(9):1220-6.
32. **Berman LH, Hargreaves KM.** Cohen's Pathways of the Pulp 11th Edition ed. Rotstein I, editor. St. Louis, Missouri: Elsevier; **2016**. 1072 p.
33. **Berman LH, Hargreaves KM.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition ed. Rotstein I, editor. Louis, Missouri.: Elsevier; **2016**. 1073 p.
34. **Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM.** Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *Journal of endodontics*. **2007**;33(4):377-90.
35. **Berman LH, Hargreaves KM.** Regenerative Endodontics. 11th Edition ed. Rotstein I, editor. Louis, Missouri: Elsevier; **2016**. 1074 p.
36. **Ostby BN.** The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. *Acta odontologica Scandinavica*. **1961**;19:324-53.
37. **Diogenes A, Ruparel NB, Shiloah Y, Hargreaves KM.** Regenerative endodontics: A way forward. *Journal of the American Dental Association* (1939). **2016**;147(5):372-80.

38. **Nygaard-Ostby B, Hjortdal O.** Tissue formation in the root canal following pulp removal. *Scandinavian journal of dental research.* **1971**;79(5):333-49.
39. **Trope M.** Regenerative potential of dental pulp. *Journal of endodontics.* **2008**;34(7 Suppl):S13-7.
40. **Skoglund A, Tronstad L, Wallenius K.** A microangiographic study of vascular changes in replanted and autotransplanted teeth of young dogs. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology.* **1978**;45(1):17-28.
41. **Kling M, Cvek M, Mejare I.** Rate and predictability of pulp revascularization in therapeutically reimplanted permanent incisors. *Endodontics & dental traumatology.* **1986**;2(3):83-9.
42. **Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N.** Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspsids using a modified novel technique to eliminate potential coronal discolouration: a case report. *International endodontic journal.* **2009**;42(1):84-92.
43. **Skoglund A, Tronstad L.** Pulpal changes in replanted and autotransplanted immature teeth of dogs. *Journal of endodontics.* **1981**;7(7):309-16.
44. **Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M.** Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology.* **2001**;17(4):185-7.
45. **Rotstein I, Ingle J.** Ingle's Endodontics. 7th Edition ed. North Carolina, USA, **2019**.
46. **Torneck CD.** Effects and clinical significance of trauma to the developing permanent dentition. *Dental clinics of North America.* **1982**;26(3):481-504.
47. **Chen X, Bao ZF, Liu Y, Liu M, Jin XQ, Xu XB.** Regenerative endodontic treatment of an immature permanent tooth at an early stage of root development: a case report. *Journal of endodontics.* **2013**;39(5):719-22.
48. **Byström A, Sundqvist G.** Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scandinavian journal of dental research.* **1981**;89(4):321-8.
49. **Abbott PV, Yu C.** A clinical classification of the status of the pulp and the root canal system. *Australian dental journal.* **2007**;52(1 Suppl):S17-31.
50. **Diangelis AJ, Andreasen JO, Ebeleseder KA, Kenny DJ, Trope M, Sigurdsson A, et al.** International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 1. Fractures and luxations of permanent teeth. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology.* **2012**;28(1):2-12.

51. **Flanagan TA.** What can cause the pulps of immature, permanent teeth with open apices to become necrotic and what treatment options are available for these teeth. *Australian endodontic journal : the journal of the Australian Society of Endodontology Inc.* **2014**;40(3):95-100.
52. **Diogenes A, Ruparel NB.** Regenerative Endodontic Procedures: Clinical Outcomes. *Dental clinics of North America.* **2017**;61(1):111-25.
53. **Saoud TM, Zaazou A, Nabil A, Moussa S, Lin LM, Gibbs JL.** Clinical and radiographic outcomes of traumatized immature permanent necrotic teeth after revascularization/revitalization therapy. *Journal of endodontics.* **2014**;40(12):1946-52.
54. **Kumar H, Al-Ali M, Parashos P, Manton DJ.** Management of 2 teeth diagnosed with dens invaginatus with regenerative endodontics and apexification in the same patient: a case report and review. *Journal of endodontics.* **2014**;40(5):725-31.
55. **Rotstein I, Ingle J.** Ingle's Endodontics. 7th Edition ed. North Carolina, USA, **2019**.
56. **Guerrero F, Mendoza A, Ribas D, Aspiazu K.** Apexification: A systematic review. *Journal of conservative dentistry : JCD.* **2018**;21(5):462-5.
57. **Murray PE.** Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin Can Induce Apical Closure More Frequently Than Blood-Clot Revascularization for the Regeneration of Immature Permanent Teeth: A Meta-Analysis of Clinical Efficacy. *Frontiers in bioengineering and biotechnology.* **2018**;6:139.
58. **Frank AL.** Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. *Journal of the American Dental Association* (1939). **1966**;72(1):87-93.
59. **Garcia-Godoy F, Murray PE.** Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology.* **2012**;28(1):33-41.
60. **Rafter M.** Apexification: a review. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology.* **2005**;21(1):1-8.
61. **Petrino JA, Boda KK, Shambarger S, Bowles WR, McClanahan SB.** Challenges in regenerative endodontics: a case series. *Journal of endodontics.* **2010**;36(3):536-41.
62. **Berman LH, Hargreaves KM.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition ed. I. R, editor. Louis, Missouri.: Elsevier; **2016**. 2093 p.

63. Guideline on pulp therapy for primary and immature permanent teeth. 2014 [18.09.2018]. Available from: https://www.aapd.org/globalassets/media/policies_guidelines/bp_pulptherapy.pdf.
64. **Berman LH, Hargreaves KM.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition ed. I. R, editor. Louis, Missouri.: Elsevier; **2016.** 1115 p.
65. **Huang GT.** Apexification: the beginning of its end. *International endodontic journal.* **2009**;42(10):855-66.
66. **Fuks AB.** Pulp therapy for the primary and young permanent dentitions. *Dental clinics of North America.* **2000**;44(3):571-96, vii.
67. **Kim SG, Malek M.** Regenerative endodontics: a comprehensive review. **2018**;51(12):1367-88.
68. **Thibodeau B, Trope M.** Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: case report and review of the literature. *Pediatr Dent.* **2007**;29(1):47-50.
69. **Heithersay GS.** Stimulation of root formation in incompletely developed pulpless teeth. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology.* **1970**;29(4):620-30.
70. **Cvek M.** Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. I. Follow-up of periapical repair and apical closure of immature roots. *Odontologisk revy.* **1972**;23(1):27-44.
71. **Wigler R, Kaufman AY, Lin S, Steinbock N, Hazan-Molina H, Torneck CD.** Revascularization: a treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development. *Journal of endodontics.* **2013**;39(3):319-26.
72. **Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC.** 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.* **2002**;18(3):134-7.
73. **Shin SY, Albert JS, Mortman RE.** One step pulp revascularization treatment of an immature permanent tooth with chronic apical abscess: a case report. *International endodontic journal.* **2009**;42(12):1118-26.
74. **Jeeruphan T, Jantararat J, Yanpiset K, Suwannapan L, Khewsawai P, Hargreaves KM.** 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.* **2012**;38(10):1330-6.
75. **Albuquerque MT, Valera MC, Nakashima M, Nor JE, Bottino MC.** Tissue-engineering-based strategies for regenerative endodontics. *Journal of dental research.* **2014**;93(12):1222-31.

76. **Kontakiotis EG, Filippatos CG, Tzanetakis GN, Agrafioti A.** Regenerative endodontic therapy: a data analysis of clinical protocols. *Journal of endodontics*. **2015**;41(2):146-54.
77. **Feigin K, Shope B.** Regenerative Endodontics. *Journal of veterinary dentistry*. **2017**;34(3):161-78.
78. **Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB.** Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. *Journal of endodontics*. **2013**;39(3 Suppl):S30-43.
79. **Shokouhinejad N, Khoshkhounejad M, Alikhasi M, Bagheri P, Camilleri J.** Prevention of coronal discoloration induced by regenerative endodontic treatment in an ex vivo model. *Clinical oral investigations*. **2018**;22(4):1725-31.
80. **Gathani KM, Raghavendra SS.** Scaffolds in regenerative endodontics: A review. *Dental research journal*. **2016**;13(5):379-86.
81. **Kumar H, Al-Ali M, Parashos P, Manton DJ.** Management of 2 teeth diagnosed with dens invaginatus with regenerative endodontics and apexification in the same patient: a case report and review. *Journal of endodontics*. **2014**;40(5):725-31.
82. **Law AS.** Considerations for regeneration procedures. *Pediatric dentistry*. **2013**;35(2):141-52.
83. **Huang GT.** Pulp and dentin tissue engineering and regeneration: current progress. *Regenerative medicine*. **2009**;4(5):697-707.
84. Endodontics AAo. AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure 2018 [4/1/2018]. Available from: https://f3f142zs0k2w1kg84k5p9i1o-wpengine.netdna-ssl.com/specialty/wp-content/uploads/sites/2/2018/06/ConsiderationsForRegEndo_AsOfApril2018.pdf.
85. **Kim JH, Kim Y, Shin SJ, Park JW, Jung IY.** Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. *Journal of endodontics*. **2010**;36(6):1086-91.
86. **Lin LM, Ricucci D, Huang GT.** Regeneration of the dentine-pulp complex with revitalization/revascularization therapy: challenges and hopes. *International endodontic journal*. **2014**;47(8):713-24.
87. **Berman LH., Hargreaves KM.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition ed. Louis, Missouri.: Elsevier; 2016. 1099 p.
88. **Paryani K, Kim SG.** Regenerative endodontic treatment of permanent teeth after completion of root development: a report of 2 cases. *Journal of endodontics*. **2013**;39(7):929-34.

89. **Saoud TMA, Ricucci D, Lin LM, Gaengler P.** Regeneration and Repair in Endodontics-A Special Issue of the Regenerative Endodontics-A New Era in Clinical Endodontics. **2016**;4(1).
90. **Bakhtiar H, Esmaceli S, Fakhr Tabatabayi S, Ellini MR, Nekoofar MH, Dummer PM.** Second-generation Platelet Concentrate (Platelet-rich Fibrin) as a Scaffold in Regenerative Endodontics: A Case Series. *Journal of endodontics*. **2017**;43(3):401-8.
91. **Akçay M, Arslan H, Yasa B, Kavruk F, Yasa E.** Spectrophotometric analysis of crown discoloration induced by various antibiotic pastes used in revascularization. *Journal of endodontics*. **2014**;40(6):845-8.
92. **Rotstein I, Ingle J.** Ingle's Endodontics. North Carolina, USA. **2019**. 945 p.
93. **Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A.** Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *Journal of endodontics*. **2011**;37(2):133-8.
94. **Kindler V.** Postnatal stem cell survival: does the niche, a rare harbor where to resist the ebb tide of differentiation, also provide lineage-specific instructions? *Journal of leukocyte biology*. **2005**;78(4):836-44.
95. **Fukuda J, Khademhosseini A, Yeh J, Eng G, Cheng J, Farokhzad OC, et al.** Micropatterned cell co-cultures using layer-by-layer deposition of extracellular matrix components. *Biomaterials*. **2006**;27(8):1479-86.
96. **Nakashima M.** Tissue engineering in endodontics. *Australian endodontic journal : the journal of the Australian Society of Endodontology Inc*. **2005**;31(3):111-3.
97. **Kabakçı HF, Erdemir A.** Rejeneratif Endodontide Büyüme Faktörleri. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi.28(1):113-24.
98. **Canoglu E ÇZ.** Rejeneratif Pulpa Tedavilerinde Bir Güncelleme. **2008**; 16.05.2008.
99. **Sanjana NE, Fuller SB.** A fast flexible ink-jet printing method for patterning dissociated neurons in culture. *Journal of neuroscience methods*. **2004**;136(2):151-63.
100. **Yılmaz A.** Rejeneratif Endodonti. Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry.46(3):91-8.
101. **Chae Y, Yang M, Kim J.** Release of TGF-beta1 into root canals with various final irrigants in regenerative endodontics: an in vitro analysis. **2018**;51(12):1389-97.

102. **Berman LH, Hargreaves KH.** Cohen's Pathways the Pulp. 11th Edition ed. I. R, editor. St. Louis, Missouri.: Elsevier; **2016.** 1076 p.
103. **Topsakal KG, Korkmaz YN.** Diş hekimliğinde kullanılan kök hücre tipleri: Literatür derlemesi. *Selcuk Dental Journal.*6(1):73-81.
104. **Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K.** Stem cells in dentistry--part I: stem cell sources. *Journal of prosthodontic research.* **2012**;56(3):151-65.
105. **Berman LH, Hargreaves KH.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition ed. I. R, editor. St. Louis, Missouri.: Elsevier; **2016.** 1095 p.
106. **Sun HH, Jin T, Yu Q, Chen FM.** Biological approaches toward dental pulp regeneration by tissue engineering. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine.* **2011**;5(4):e1-16.
107. **Shah N, Logani A, Bhaskar U, Aggarwal V.** Efficacy of revascularization to induce apexification/apexogenesis in infected, nonvital, immature teeth: a pilot clinical study. *Journal of endodontics.* **2008**;34(8):919-25; Discussion 1157.
108. **Bansal R.** Regenerative endodontics: a state of the art. *Indian journal of dental research : official publication of Indian Society for Dental Research.* **2011**;22(1):122-31.
109. **Chrepa V, Austah O, Diogenes A.** Evaluation of a Commercially Available Hyaluronic Acid Hydrogel (Restylane) as Injectable Scaffold for Dental Pulp Regeneration: An In Vitro Evaluation. *Journal of endodontics.* **2017**;43(2):257-62.
110. **Gronthos S, Brahimi J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, et al.** Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *Journal of dental research.* **2002**;81(8):531-5.
111. **Saber SE.** Tissue engineering in endodontics. *Journal of oral science.* **2009**;51(4):495-507.
112. **Torabinejad M, Faras H.** A clinical and histological report of a tooth with an open apex treated with regenerative endodontics using platelet-rich plasma. *Journal of endodontics.* **2012**;38(6):864-8.
113. **Güven Polat G, Yıldırım C, Akgün OM, Altun C, Dinçer D, Ozkan CK.** The use of platelet rich plasma in the treatment of immature tooth with periapical lesion: a case report. *Restorative dentistry & endodontics.* **2014**;39(3):230-4.
114. **Shivashankar VY, Johns DA, Maroli RK, Sekar M, Chandrasekaran R, Karthikeyan S, et al.** Comparison of the Effect of PRP, PRF and Induced Bleeding in the Revascularization of Teeth with Necrotic Pulp and Open Apex: A Triple Blind Randomized Clinical Trial. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR.* **2017**;11(6):Zc34-zc9.

115. **Huang GT, Sonoyama W, Chen J, Park SH.** In vitro characterization of human dental pulp cells: various isolation methods and culturing environments. *Cell and tissue research*. **2006**;324(2):225-36.
116. **Wang X, Thibodeau B, Trope M, Lin LM, Huang GT.** Histologic characterization of regenerated tissues in canal space after the revitalization/revascularization procedure of immature dog teeth with apical periodontitis. *Journal of endodontics*. **2010**;36(1):56-63.
117. **Alaçam T.** Endodonti. Ankara **2012**. Kök Ucu Kapanmamış Genç Sürekli Dişlerde Kök Oluşumunun Teşviki ve Tedavi Yöntemleri p.1324
118. **Poly A, Marques F, Fidel SR, Monnerat AF, Sassone LM.** Ability of two single-step restorative materials to avoid crown darkening caused by intracanal minocycline paste. *Clinical oral investigations*. **2019**;23(3):1281-6.
119. **D'Mello G, Moloney L.** Management of coronal discolouration following a regenerative endodontic procedure in a maxillary incisor. *Australian dental journal*. **2017**;62(1):111-6.
120. **Kohli MR, Yamaguchi M, Setzer FC, Karabucak B.** Spectrophotometric Analysis of Coronal Tooth Discoloration Induced by Various Bioceramic Cements and Other Endodontic Materials. *Journal of endodontics*. **2015**;41(11):1862-6.
121. **Nosrat A, Li KL, Vir K, Hicks ML, Fouad AF.** Is pulp regeneration necessary for root maturation? *Journal of endodontics*. **2013**;39(10):1291-5.
122. **Nagata JY, Gomes BP, Rocha Lima TF, Murakami LS, de Faria DE, Campos GR, et al.** Traumatized immature teeth treated with 2 protocols of pulp revascularization. *Journal of endodontics*. **2014**;40(5):606-12.
123. **Soares Ade J, Lins FF, Nagata JY, Gomes BP, Zaia AA, Ferraz CC, et al.** Pulp revascularization after root canal decontamination with calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel. *Journal of endodontics*. **2013**;39(3):417-20.
124. **Cehreli ZC, Isbitiren B, Sara S, Erbas G.** Regenerative endodontic treatment (revascularization) of immature necrotic molars medicated with calcium hydroxide: a case series. *Journal of endodontics*. **2011**;37(9):1327-30.
125. **Conde MCM, Chisini LA, Sarkis-Onofre R, Schuch HS, Nör JE, Demarco FF.** A scoping review of root canal revascularization: relevant aspects for clinical success and tissue formation. *International endodontic journal*. **2017**;50(9):860-74.
126. **da Silva LA, Nelson-Filho P, da Silva RA, Flores DS, Heilborn C, Johnson JD, et al.** Revascularization and periapical repair after endodontic treatment using apical negative pressure irrigation versus conventional irrigation plus triantibiotic intracanal dressing in dogs' teeth with apical periodontitis. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. **2010**;109(5):779-87.

127. **Chen CL, Huang TH, Ding SJ, Shie MY, Kao CT.** Comparison of calcium and silicate cement and mineral trioxide aggregate biologic effects and bone markers expression in MG63 cells. *Journal of endodontics*. **2009**;35(5):682-5.
128. **Gandolfi MG, Shah SN, Feng R, Prati C, Akintoye SO.** Biomimetic calcium-silicate cements support differentiation of human orofacial mesenchymal stem cells. *Journal of endodontics*. **2011**;37(8):1102-8.
129. **Nosrat A, Homayounfar N, Oloomi K.** Drawbacks and unfavorable outcomes of regenerative endodontic treatments of necrotic immature teeth: a literature review and report of a case. *Journal of endodontics*. **2012**;38(10):1428-34.
130. **Gürel MA, Kivanç BH, Ekici A, Alaçam T.** Evaluation of crown discoloration induced by endodontic sealers and colour change ratio determination after bleaching. *Australian endodontic journal : the journal of the Australian Society of Endodontology Inc*. **2016**;42(3):119-23.
131. **Chen MY, Chen KL, Chen CA, Tayebaty F, Rosenberg PA, Lin LM.** Responses of immature permanent teeth with infected necrotic pulp tissue and apical periodontitis/abscess to revascularization procedures. *International endodontic journal*. **2012**;45(3):294-305.
132. **Chen I, Salhab I, Setzer FC, Kim S, Nah HD.** A New Calcium Silicate-based Bioceramic Material Promotes Human Osteo- and Odontogenic Stem Cell Proliferation and Survival via the Extracellular Signal-regulated Kinase Signaling Pathway. *Journal of endodontics*. **2016**;42(3):480-6.
133. **Camilleri J.** Staining Potential of Neo MTA Plus, MTA Plus, and Biodentine Used for Pulpotomy Procedures. *Journal of endodontics*. **2015**;41(7):1139-45.
134. **Vallés M, Roig M, Duran-Sindreu F, Martínez S, Mercadé M.** Color Stability of Teeth Restored with Biodentine: A 6-month In Vitro Study. *Journal of endodontics*. **2015**;41(7):1157-60.
135. **Brandt J, Nelson S, Lauer HC, von Hehn U, Brandt S.** In vivo study for tooth colour determination-visual versus digital. *Clinical oral investigations*. **2017**;21(9):2863-71.
136. **Berman LH, Hargreaves KM.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition. ed. I. R, editor. Louis, Missouri.: Elsevier; **2016**. 2224 p.
137. **Berman LH, Hargreaves KH.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition ed. Rotstein I II, editor. Louis, Missouri.: Elsevier; **2016**. 2225 p.
138. **Sulيمان M.** An overview of tooth discoloration: extrinsic, intrinsic and internalized stains. *Dental update*. **2005**;32(8):463-4, 6-8, 71.

139. **Gadhia K, McDonald S, Arkutu N, Malik K.** Amelogenesis imperfecta: an introduction. *British dental journal.* **2012**;212(8):377-9.
140. **Berman LH, Hargreaves KM.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition ed. I. R, editor. Louis, Missouri.: Elsevier; 2016. **2226** p.
141. **Berman LH Hargreaves KM.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition ed. Rotstein I IJ, editor. Louis, Missouri.: Elsevier; **2016**. 2227 p.
142. **Clarkson J.** Review of terminology, classifications, and indices of developmental defects of enamel. *Advances in dental research.* **1989**;3(2):104-9.
143. **Arens D.** The role of bleaching in esthetics. *Dental clinics of North America.* **1989**;33(2):319-36.
144. **Freccia WF, Peters DD, Lorton L, Bernier WE.** An in vitro comparison of nonvital bleaching techniques in the discolored tooth. *Journal of endodontics.* **1982**;8(2):70-7.
145. **Rotstein I, Zalkind M, Mor C, Tarabeah A, Friedman S.** In vitro efficacy of sodium perborate preparations used for intracoronary bleaching of discolored non-vital teeth. *Endodontics & dental traumatology.* **1991**;7(4):177-80.
146. **Berman LH, Hargreaves KM.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition ed. Rotstein I IJ, editor. Louis, Missouri.2016. **2228** p.
147. **Nathoo SA.** The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration. *Journal of the American Dental Association* (1939). **1997**;128 Suppl:6s-10s.
148. **Abou-Rass M.** Evaluation and clinical management of previous endodontic therapy. The Journal of prosthetic dentistry. **1982**;47(5):528-34.
149. **Brady JM, del Rio CE.** Corrosion of endodontic silver cones in humans: a scanning electron microscope and X-ray microprobe study. *Journal of endodontics.* **1975**;1(6):205-10.
150. **Partovi M, Al-Havvaz AH, Soleimani B.** In vitro computer analysis of crown discoloration from commonly used endodontic sealers. *Australian endodontic journal : the journal of the Australian Society of Endodontology Inc.* **2006**;32(3):116-9.
151. **Van der Burgt TP, Plasschaert AJ.** Tooth discoloration induced by dental materials. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology.* **1985**;60(6):666-9.
152. **Matthews JD, Jr.** Pink teeth resulting from Russian endodontic therapy. *Journal of the American Dental Association* (1939). **2000**;131(11):1598-9.

153. **Schwandt NW, Gound TG.** Resorcinol-formaldehyde resin "Russian Red" endodontic therapy. *Journal of endodontics*. **2003**;29(7):435-7.
154. **Berman LH, Hargreaves KM.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition ed. Rotstein I IJ, editor. Louis, Missouri.**2016**. 2229 p.
155. **Belobrov I, Parashos P.** Treatment of tooth discoloration after the use of white mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics*. **2011**;37(7):1017-20.
156. **Marciano MA, Duarte MA, Camilleri J.** Dental discoloration caused by bismuth oxide in MTA in the presence of sodium hypochlorite. *Clinical oral investigations*. **2015**;19(9):2201-9.
157. **Žižka R, Šedý J, Gregor L, Voborná I.** Discoloration after Regenerative Endodontic Procedures: A Critical Review. *Iranian endodontic journal*. **2018**;13(3):278-84.
158. **Berman LH, Hargreaves KM.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition ed. Rotstein I IJ, editor. Louis, Missouri.: Elsevier; **2016**. 2230 p.
159. **Andreasen FM, Sewerin I, Mandel U, Andreasen JO.** Radiographic assessment of simulated root resorption cavities. *Endodontics & dental traumatology*. **1987**;3(1):21-7.
160. **Vogel RI.** Intrinsic and extrinsic discoloration of the dentition (a literature review). *Journal of oral medicine*. **1975**;30(4):99-104.
161. **Berman LH, Hargreaves KM.** Cohen's Pathways of the Pulp. 11th Edition ed. Rotstein I IJ, editor. Louis, Missouri.: Elsevier; **2016**. 2231 p.
162. **Joiner A.** Tooth colour: a review of the literature. *Journal of dentistry*. **2004**;32 Suppl 1:3-12.
163. **Joiner A, Luo W.** Tooth colour and whiteness: A review. *Journal of dentistry*. **2017**;67s:S3-s10.
164. **Johnston WM.** Color measurement in dentistry. *Journal of dentistry*. **2009**;37 Suppl 1:e2-6.
165. **CIE P.** Colorimetry. Central Bureau of the Comission Internationale de L'Eclairage Viena; **1986**.
166. **Chen SJ, Karabucak B, Steffen JJ, Yu YH, Kohli MR.** Spectrophotometric Analysis of Coronal Tooth Discoloration Induced by Tricalcium Silicate Cements in the Presence of Blood. *Journal of endodontics*. **2020**;46(12):1913-9.

167. **Chu SJ, Trushkowsky RD, Paravina RD.** Dental color matching instruments and systems. Review of clinical and research aspects. *Journal of dentistry*. **2010**;38 Suppl 2:e2-16.
168. **Chang JY, Chen WC, Huang TK, Wang JC, Fu PS, Chen JH, et al.** Evaluating the accuracy of tooth color measurement by combining the Munsell color system and dental colorimeter. *The Kaohsiung journal of medical sciences*. **2012**;28(9):490-4.
169. **Pan Q, Westland S.** Tooth color and whitening - digital technologies. *Journal of dentistry*. **2018**;74 Suppl 1:S42-s6.
170. **Ioannidis K, Mistakidis I, Beltes P, Karagiannis V.** Spectrophotometric analysis of crown discoloration induced by MTA- and ZnOE-based sealers. *Journal of applied oral science : revista FOB*. **2013**;21(2):138-44.
171. **Blaes J.** Today's technology improves the shade-matching problems of yesterday. *Journal (Indiana Dental Association)*. **2002**;81(4):17-9.
172. **Guan YH, Lath DL, Lilley TH, Willmot DR, Marlow I, Brook AH.** The measurement of tooth whiteness by image analysis and spectrophotometry: a comparison. *Journal of oral rehabilitation*. **2005**;32(1):7-15.
173. **Fundaoglu Küçükekenci F, Çakici F, Küçükekenci AS.** Spectrophotometric analysis of discoloration and internal bleaching after use of different antibiotic pastes. *Clinical oral investigations*. **2019**;23(1):161-7.
174. **Schneider SW.** A comparison of canal preparations in straight and curved root canals. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. **1971**;32(2):271-5.
175. <http://criticalpathstechnology.com/wp/wp-content/uploads/2014/03/PROTAPER-NEXT-Brochure.pdf>
176. **Ayar MK, Erdemir F.** Bonding performance of universal adhesives to er,cr:YSGG laser-irradiated enamel. *Microscopy research and technique*. **2017**;80(4):387-93.
177. [updated 4/1/2018]. Available from: https://f3f142zs0k2w1kg84k5p9i1o-wpengine.netdna-ssl.com/specialty/wp-content/uploads/sites/2/2018/06/ConsiderationsForRegEndo_AsOfApril2018.pdf.
178. **Abed AM, Mahdian M, Seifi M, Ziaei SA, Shamsaei M.** Comparative assessment of the sealing ability of Nd:YAG laser versus a new desensitizing agent in human dentinal tubules: a pilot study. *Odontology*. **2011**;99(1):45-8.
179. **Yoldaş SE, Bani M, Atabek D, Bodur H.** Comparison of the Potential Discoloration Effect of Bioaggregate, Biodentine, and White Mineral Trioxide Aggregate on Bovine Teeth: *In Vitro Research*. *Journal of endodontics*. **2016**;42(12):1815-8.

180. **Kahler B, Rossi-Fedele G, Chugal N, Lin LM.** An Evidence-based Review of the Efficacy of Treatment Approaches for Immature Permanent Teeth with Pulp Necrosis. *Journal of endodontics*. **2017**;43(7):1052-7.
181. **Wu MK, De Gee AJ, Wesselink PR, Moorer WR.** Fluid transport and bacterial penetration along root canal fillings. *International endodontic journal*. **1993**;26(4):203-8.
182. **Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ.** Reinforcement of immature roots with a new resin filling material. *Journal of endodontics*. **2006**;32(4):350-3.
183. **Hatibovic-Kofman S, Raimundo L, Chong L, Moreno J, Zheng L.** Mineral trioxide aggregate in endodontic treatment for immature teeth. Conference proceedings : Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society IEEE Engineering in Medicine and Biology Society Annual Conference. **2006**;2006:2094-7.
184. **Thelen DS, Trovik TA, Bårdsen A.** Impact of traumatic dental injuries with unmet treatment need on daily life among Albanian adolescents: a case-control study. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology*. **2011**;27(2):88-94.
185. **Wu MK, Wesselink PR.** Endodontic leakage studies reconsidered. Part I. Methodology, application and relevance. *International endodontic journal*. **1993**;26(1):37-43.
186. **Ioannidis K, Mistakidis I, Beltes P, Karagiannis V.** Spectrophotometric analysis of coronal discolouration induced by grey and white MTA. *International endodontic journal*. **2013**;46(2):137-44.
187. **Yasa B, Arslan H, Akcay M, Kavrik F, Hatirli H, Ozkan B.** Comparison of bleaching efficacy of two bleaching agents on teeth discoloured by different antibiotic combinations used in revascularization. *Clinical oral investigations*. **2015**;19(6):1437-42.
188. **Galler KM.** Clinical procedures for revitalization: current knowledge and considerations. *International endodontic journal*. **2016**;49(10):926-36.
189. **Martin DE, De Almeida JF, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, et al.** Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *Journal of endodontics*. **2014**;40(1):51-5.
190. **Narang I, Mittal N, Mishra N.** 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*. **2015**;6(1):63-8.
191. **Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, Perry G, Dybdal-Hargreaves N, Hargreaves KM, et al.** 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*. **2011**;37(8):1109-15.

192. **Bezgin T, Yilmaz AD, Celik BN, Kolsuz ME, Sonmez H.** Efficacy of platelet-rich plasma as a scaffold in regenerative endodontic treatment. *Journal of endodontics*. **2015**;41(1):36-44.
193. **Fernandes G, Yang S.** Application of platelet-rich plasma with stem cells in bone and periodontal tissue engineering. *Bone research*. **2016**;4:16036.
194. **Jadhav G, Shah N, Logani A.** Revascularization with and without platelet-rich plasma in nonvital, immature, anterior teeth: a pilot clinical study. *Journal of endodontics*. **2012**;38(12):1581-7.
195. **Dianat O, Mashhadi Abas F, Paymanpour P, Eghbal MJ, Haddadpour S, Bahrololumi N.** Endodontic repair in immature dogs' teeth with apical periodontitis: blood clot vs plasma rich in growth factors scaffold. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology*. **2017**;33(2):84-90.
196. **Ramos JC, Palma PJ, Nascimento R, Caramelo F, Messias A, Vinagre A, et al.** 1-year In Vitro Evaluation of Tooth Discoloration Induced by 2 Calcium Silicate-based Cements. *Journal of endodontics*. **2016**;42(9):1403-7.
197. **Dettwiler CA, Walter M, Zaugg LK, Lenherr P, Weiger R, Krastl G.** In vitro assessment of the tooth staining potential of endodontic materials in a bovine tooth model. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology*. **2016**;32(6):480-7.
198. **Marciano MA, Estrela C, Mondelli RF, Ordinola-Zapata R, Duarte MA.** Analysis of the color alteration and radiopacity promoted by bismuth oxide in calcium silicate cement. *Brazilian oral research*. **2013**;27(4):318-23.
199. **Vallés M, Mercadé M, Duran-Sindreu F, Bourdelande JL, Roig M.** Influence of light and oxygen on the color stability of five calcium silicate-based materials. *Journal of endodontics*. **2013**;39(4):525-8.
200. **Marciano MA, Costa RM, Camilleri J, Mondelli RF, Guimarães BM, Duarte MA.** Assessment of color stability of white mineral trioxide aggregate angelus and bismuth oxide in contact with tooth structure. *Journal of endodontics*. **2014**;40(8):1235-40.
201. **Laurent P, Camps J, De Méo M, Déjou J, About I.** Induction of specific cell responses to a Ca(3)SiO(5)-based posterior restorative material. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. **2008**;24(11):1486-94.
202. **Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Iravani A, Kharrazifard MJ, Dummer PM.** Effect of acidic environment on the push-out bond strength of mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics*. **2010**;36(5):871-4.

203. **Lin LM, Shimizu E, Gibbs JL, Loghin S, Ricucci D.** Histologic and histobacteriologic observations of failed revascularization/revitalization therapy: a case report. *Journal of endodontics*. **2014**;40(2):291-5.
204. **Camilleri J, Sorrentino F, Damidot D.** Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. **2013**;29(5):580-93.
205. **Grech L, Mallia B, Camilleri J.** Investigation of the physical properties of tricalcium silicate cement-based root-end filling materials. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. **2013**;29(2):e20-8.
206. **Dozić A, Kleverlaan CJ, El-Zohairy A, Feilzer AJ, Khashayar G.** Performance of five commercially available tooth color-measuring devices. *Journal of prosthodontics : official journal of the American College of Prosthodontists*. **2007**;16(2):93-100.
207. **Cal E, Sonugelen M, Guneri P, Kesercioglu A, Kose T.** Application of a digital technique in evaluating the reliability of shade guides. *Journal of oral rehabilitation*. **2004**;31(5):483-91.
208. **Chen H, Huang J, Dong X, Qian J, He J, Qu X, et al.** A systematic review of visual and instrumental measurements for tooth shade matching. *Quintessence international* (Berlin, Germany : 1985). **2012**;43(8):649-59.
209. **Możyńska J, Metlerski M, Lipski M, Nowicka A.** Tooth Discoloration Induced by Different Calcium Silicate-based Cements: A Systematic Review of In Vitro Studies. *Journal of endodontics*. **2017**;43(10):1593-601.
210. **Ioannidis K, Beltes P, Lambrianidis T, Kapagiannidis D, Karagiannis V.** Validation and spectrophotometric analysis of crown discoloration induced by root canal sealers. *Clinical oral investigations*. **2013**;17(6):1525-33.
211. **Fujimoto J.** Contemporary Fixed Prosthodontics. 4th Edition. ed. Rosenstiel SF. LM, editor. St. Louis: Mosby.; **2006**.
212. **Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W.** Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Archives of oral biology*. **2000**;45(5):355-61.
213. **Lim MY, Lum SO, Poh RS, Lee GP, Lim KC.** An in vitro comparison of the bleaching efficacy of 35% carbamide peroxide with established intracoronary bleaching agents. *International endodontic journal*. **2004**;37(7):483-8.
214. **Paravina RD, Powers JM.** Esthetic Color Training in Dentistry. China: Elsevier-Mosby.; **2004**.

215. **Karabucak B, Li D, Lim J, Iqbal M.** Vital pulp therapy with mineral trioxide aggregate. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology*. **2005**;21(4):240-3.
216. **Russell MD, Gulfraz M, Moss BW.** In vivo measurement of colour changes in natural teeth. *Journal of oral rehabilitation*. **2000**;27(9):786-92.
217. **Salz U, Bock T.** Testing adhesion of direct restoratives to dental hard tissue - a review. *The journal of adhesive dentistry*. **2010**;12(5):343-71.
218. **Madani Z, Alvandifar S, Bizhani A.** Evaluation of tooth discoloration after treatment with mineral trioxide aggregate, calcium-enriched mixture, and Biodentine(®) in the presence and absence of blood. *Dental research journal*. **2019**;16(6):377-83.
219. **Beatty H, Svec T.** Quantifying Coronal Tooth Discoloration Caused by Biodentine and EndoSequence Root Repair Material. *Journal of endodontics*. **2015**;41(12):2036-9.
220. **Araghi S, Khavid A, Godiny M, Saeidipour M.** In vitro evaluation of coronal discoloration following the application of calcium-enriched mixture cement, Biodentine, and mineral trioxide aggregate in endodontically treated teeth. *Dental research journal*. **2019**;16(1):53-9.
221. **Palma PJ, Marques JA.** Six-Month Color Stability Assessment of Two Calcium Silicate-Based Cements Used in Regenerative Endodontic Procedures. **2019**;10(1).
222. **Bezgin T, Yilmaz AD, Celik BN, Sönmez H.** Concentrated platelet-rich plasma used in root canal revascularization: 2 case reports. *International endodontic journal*. **2014**;47(1):41-9.
223. **Akbari M, Rouhani A, Samiee S, Jafarzadeh H.** Effect of dentin bonding agent on the prevention of tooth discoloration produced by mineral trioxide aggregate. *International journal of dentistry*. **2012**;2012:563203.
224. **Yasuda Y, Inuyama H, Maeda H, Akamine A, Nör JE, Saito T.** Cytotoxicity of one-step dentin-bonding agents toward dental pulp and odontoblast-like cells. *Journal of oral rehabilitation*. **2008**;35(12):940-6.