



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PEDODONTİ ANABİLİM DALI

SÜT DİŞLERİ KÖK KANALLARINDA
Er,Cr:YSGG LAZER UYGULAMASININ ISI,
SİTOTOKSİSİTE VE KANAL
DEZENFEKSİYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN
DEĞİŞİK PARAMETRELER
KULLANILARAK İNCELENMESİ

Mehmet TANRIVER

DOKTORA TEZİ
Doç. Dr. Adem KUŞGÖZ
TRABZON-2013



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PEDODONTİ ANABİLİM DALI

SÜT DİŞLERİ KÖK KANALLARINDA
ER,CR:YSGG LAZER UYGULAMASININ ISI,
SİTOTOKSİSİTE VE KANAL
DEZENFEKSİYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN
DEĞİŞİK PARAMETRELER
KULLANILARAK İNCELENMESİ

Mehmet TANRIVER

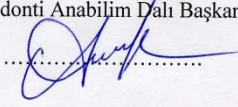
DOKTORA TEZİ
Doç. Dr. Adem KUŞGÖZ
TRABZON-2013

ONAY

Bu tez Doktora Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur

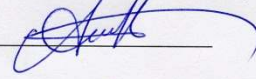
Doç. Dr. Adem KUŞGÖZ

Pedodonti Anabilim Dalı Başkanı



Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Pedodonti Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Mehmet TANRIVER'in hazırladığı "Süt Dişleri Kök Kanallarında Er,Cr:YSGG Lazer Uygulamasının Isı, Sitotoksitesite ve Kanal Dezenfeksiyonu Üzerine Etkisinin Değişik Parametreler Kullanılarak İncelenmesi" başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Doç. Dr. Adem KUŞGÖZ



Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

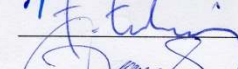
Prof. Dr Yücel YILMAZ



Doç. Dr. Alp Erdin KOYUTÜRK



Doç.Dr. Tamer TAŞDEMİR



Doç. Dr. Tahsin YILDIRIM



Doç. Dr. Adem KUŞGÖZ



Tarih: 14/03/2013

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/.../.... tarih ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Ahmet KALKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışması ile elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, kaynak gösterilerek tezimden yararlanabileceğini, tezimin BAP koordinasyon birimi tarafından 2010.127.007.1 nolu proje kodu ile desteklendiğini beyan ederim.

26.02.2013

Mehmet TANRIVER

İTHAF

Bu doktora tezimi, benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve her zaman yanımda olan sevgili anne, babama ve eşime ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleri ile yardım ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Adem KUŞGÖZ'e, Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki hocalarım ve arkadaşlarıma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda öğretim üyesi olan Yrd. Doç. Dr. Celal Kurtuluş Buruk'a, Prof. Dr. İlknur TOSUN'a, ATİGEN-CELL Teknoloji'de Prof. Dr. Murat Ertürk'e, Karadeniz Teknik Üniversitesi Makine Mühendisliği Termodinamik Bölümü'nde Prof.Dr.Orhan AYDIN'a Yrd. Doç. Dr. Mete AVCI'ya ve Arş. Gör. Cemalettin Aygün'e, tezimin istatistik analizlerinin gerçekleştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Prof.Dr.Gamze Çan, Yrd. Doç. Dr. Tamer TÜZÜNER, Dr. Bekir Bulut'a, teknisyen Ömer Akpınar'a, teknisyen Mustafa Kırarslan'a, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne

Tez çalışmamızda sarf malzeme ve teçhizat temininde maddi desteğini esirgemeyen Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) koordinasyon birimine katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Mehmet TANRIVER

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
BOŞ SAYFA	
İÇ KAPAK	
ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER, KISALTMALAR ve FORMÜLLER DİZİNİ	x
RESİM DİZİNİ	xi
TABLO DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1 Süt Dişlerinde Pulpa Hastalıkları	5
4.2 Süt Dişi Kanal Enfeksiyonlarında Etkili Olan Mikroorganizmalar	6
4.2.1 Enterococcus faecalis	7
4.2.2 Candida Albicans	7
4.3 Süt Dişlerinde Pulpa Tedavileri	8
4.4 Endodontide smear tabakası	9
4.5 Smear tabakası kaldırma yöntemleri	10
4.6 Kök kanal tedavilerinde irrigasyon	10
4.7 Süt dişlerinde kullanılan çeşitli irrigasyon solüsyonları	11
4.7.1 Sodyum hipoklorit	11
4.7.2 Klorheksidin	12
4.7.3 Serum fizyolojik	13
4.7.4 Etilen Diamin Tetraasetik Asit EDTA	13
4.8 Lazerle smear uzaklaştırılması	13
4.9 Lazerin tanımı	14
4.10 Lazer ışığının özellikleri	14

4.11 Lazer sisteminin bileşenleri	14
4.12 Lazer doku etkileşimleri	15
4.13 Dişhekimliğinde lazer	15
4.14 Endodontide lazerler	16
4.15 Erbium, Chromium: Yttrium Scandium Gallium Garnet Lazer	17
4.16 Lazer doku etkileşimlerini belirleyen faktörler	19
4.17 Lazerlerin Oluşturabileceği Zararlar	20
4.17.1 Primer Zararlar	20
4.17.2 Sekonder Zararlar	20
4.17.3 Mekanik zararlar	20
4.17.4 Elektriksel zararlar	20
4.17.5 Kimyasal zararlar	20
4.17.6 Yangın tehlikesi	20
4.17.7 Spesifik zararlar	20
4.18 Lazer risk sınıflaması	21
4.19 Lazer güvenliği	21
4.20 Kök kanal sistemleri içinde lazerler: sorunlar ve kısıtlamalar	22
4.21 Lazerlerin kök kanal tedavisi sırasındaki antibakteriyel etkileri	22
4.22 Lazer irradyasyonunun periodontal hücreler üzerine sitotoksik etkileri	23
4.23 Lazer irradyasyonunun termal etkileri	23
4.24 Kök kanallarında lazer irradyasyonunun morfolojik etkileri	26
5 GEREÇ VE YÖNTEM	28
5.1 Antimikrobiyal etkinlik aşaması	28
5.1.1 Dişlerin seçimi ve hazırlanması	28
5.1.2 Mikroorganizma suşları	29
5.1.3 Çalışmada kullanılan besiyerleri	29
5.1.4 Mikroorganizmaların üretilmesi	30
5.1.5 Mikroorganizma süspansiyonlarının hazırlanması	30
5.1.6 Fosfat tamponlu tuzlu su (phosphate buffered saline, PBS) hazırlanması	30
5.1.7 Kök kanallarının hazırlanması	31

5.1.8 Kök kanallarının E. faecalis ile enfekte edilmesi	32
5.1.9 Dezenfeksiyon işlemlerinin gerçekleştirilmesi	32
5.1.9.1 Kontrol grupları	32
5.1.9.2 Çalışma grupları	32
5.1.10 Bakterilerin sayılması	35
5.1.11 Kök kanallarının C. albicans ile enfekte edilmesi	35
5.1.12 Dezenfeksiyon işlemlerinin gerçekleştirilmesi	36
5.1.12.1 Kontrol grupları	36
5.1.12.2 Çalışma grupları	36
5.1.13 Mayaların sayılması	37
5.2 Sitotoksisite aşaması	39
5.2.1 Periodontal ligament hücre kültürü	39
5.2.2 Periodontal ligament hücrelerinin lazer uygulama için hazırlanması	40
5.2.3 Sitotoksisite testi	40
5.3 Sıcaklık artışının incelenmesi	45
5.4 SEM analizi aşaması	48
5.5 İstatistiksel analiz	49
6 BULGULAR	51
6.1 Antimikrobiyal etkinlik aşaması	51
6.2 Sitotoksik etki inceleme aşaması	57
6.2.1 Mikroskopik değerlendirme	58
6.2.2 Spektrofotometrik değerlendirme	60
6.3 Sıcaklık artışını inceleme aşamasının bulguları	64
6.4 SEM analizi aşaması	71
6.4.1 Su spreyiyle lazer irradyasyonu sonucu elde edilen SEM görüntüleri	71
6.4.2 Su spreyinin kullanılmadığı Er,Cr:YSGG lazer irradyasyonu ile oluşan SEM analiz görüntüleri	73
7. TARTIŞMA	76
7.1 Sonuç ve öneriler	95
8. KAYNAKLAR	97

9.ETİK KURUL ONAYI	123
10. ÖZGEÇMİŞ	125

KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ArF	Argon Florid
Cfu	colony forming unit
CHX	Klorheksidin
DMEM	Dulbecco's modified essential medium
DMSO	Dimetil sülfoksit
EDTA	Etilen daimin tetraasetik asit
Er,Cr:YSGG	Erbium chromium yttrium scandium gallium garnet
Er:YAG	Erbium yttrium aluminium garnet
Ho:YAG	Holmium yttrium aluminium garnet laser
HgCdZnTe	Mercury cadmium zinc tellurium
FDS	Fatal dana serumu
GaAlAs	Gallium Aluminium Arsenik
HKV	Hücre kültür vasatı
KA	Kanlı Agar
MHA	Mueller-Hinton Agar
MTT	Metil tiyazol tetrazolyum
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDL	Periodontal ligament
SDA	Saboraud Dextrose Agar
SDB	Saboraud Dextrose Broth
SEM	Scanning electron microscope (taramalı elektron mikroskop)
TSB	Tryptic Soy Broth

SİMGELER

A⁰	Angström
Atm	Atmosfer basıncı
cm	Santimetre
dk	Dakika

C°	Santigrat derece
Hz	Hertz
kHz	Kilohertz
Kw	Kappa katsayısı
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
µm	Mikro metre (10⁻⁶ m)
pH	Power of hydrogen (hidrojenin gücü)
sn	Saniye
W	Watt
%	Yüzde
#	Numara
±	Artı eksi

FORMÜLLER

CO₂	Karbon dioksit
NaOCl	Sodyum hipoklorit
O₂	Oksijen
H₂O	Hidrojen dioksit
H₂O₂	Hidrojen peroksit

Resimler Dizini

Resim	Sayfa
Resim 1. Akrilik içerisine gömülmüş alt süt ikinci azı dişleri.	31
Resim 2. Etüve yerleştirilmeye hazır deney örnekleri	31
Resim 3. Çalışmada kullanılan Waterlase Biolase MD cihazının görünümü	34
Resim 4. Çalışmada kullanılan Waterlase Biolase MD cihazının kontrol panelinin görünümü	34
Resim 5. 200 µ'luk fiber optik lazer ucu	34
Resim 6. Er,Cr:YSGG Lazer başlığı	35
Resim 7. Periodontal ligament (PDL) hücre kültür aşamaları	41
Resim 8. Periodontal ligament hücresi ekilmiş 96 kuyucuklu kültür plaklarına Er,Cr:YSGG lazer uygulanmasının görünümü	42
Resim 9. Periodontal ligament (PDL) hücrelerin lazer uygulama için hazırlanması	44
Resim 10. MTT ile sitotoksosite testi. Kuyucuklardaki hücreler üzerinde 0,1 ml hücre kültür vasatı olduğunda (a) ve olmadığına (b) lazer (1) 0,75,(2) 1,5,(3) 3,(4) 4 W dozlarında) uygulandıktan 30 dakika sonra kuyucuklara MTT ilave edilip 3 saat sonra DMSO ilave edilerek formazan kristallerinin çözündürülmesinin görünümü.	45
Resim 11. Termal inceleme aşamasında dişlerin, sitotoksosite aşamasında da lazer başlığının sabitlendiği özel olarak tasarlanmış fiksator	46
Resim 12. Termal artışın kaydedilmesinde kullanılan Thermoflir A20 cihazı.	46
Resim 13. Su spreynin uygulandığı grupta rubber dam uygulanması ve su sızıntısının önlenmesi için sakşın uygulamasının görünümü	47
Resim 14. Su spreyi uygulanmayan grupta iradyasyon sırasındaki görünüm	47
Resim 15. Lazer iradyasyonu sırasında termal kamera ile alınan görüntülerin ThermoCam Researcher Professional programı ile yorumlanması.	48
Resim 16. Örneklerin altınla kaplanmasında kullanılan (Polaron Sputter Coater SC502, East Sussex, İngiltere) cihazının görünümü	49
Resim 17. SEM analizinde kullanılan cihazın görünümü (JEOL JSM-5200, Tokyo, Japonya)	49
Resim 18. Altın kaplanmış deney örneklerinin görünümü	49

Resim 19. MTT ile boyanan canlı (a) ve ölü (b) hücrelerin mikroskopik görünümü. Canlı hücreler (a) MTT boyasını indirgeyebildikleri için hücre içerisinde menekşe/mor renginde formazan kristalleri oluştururlar.	57
Resim 20. Kuyucuklarda HKV varlığında (a) ve yokluğunda (b) farklı dozlarda lazer uygulamasının PDL hücreleri üzerine etkisinin mikroskopik olarak değerlendirilmesi. MTT ile 3 saat süre ile boyandıktan sonra formazan kristalleri DMSO ile çözüldürülmeden önce hücreler mikroskopik olarak fotoğraflandı. MTT boyası almayan ölü (siyah oklar) veya boya alan canlı (beyaz oklar) hücre alanları.	59
Resim 21. Su spreyi kullanılan grupta açık dentin tübüllerinin ve yer yer smear tabakasının görünümü	71
Resim 22. Su spreyi kullanılan gruptaki diğer bir örnekte smear tabakasının tam olarak uzaklaştırılamadığı dentin tübüllerinin görünümü	71
Resim 23. Su spreyi kullanılan gruptaki diğer bir örnekte yer yer smear tabakasının görünümü	72
Resim 24. Su spreyi kullanılan gruptaki bir örnekte dentin tübüllerinin tıkanmış haldeki görünümü	72
Resim 25. Su spreyi kullanılan gruptaki bir örnekte açık dentin tübüllerinin görünümü	73
Resim 26. Su spreyinin kullanılmadığı grupta dentin tübüllerini tamamen kapatacak şekilde kalın debris tabakasının görünümü	73
Resim 27. Su spreyinin kullanılmadığı gruptaki bu örnekte karbonizasyon ve dentin tübüllerini tamamen kapatacak şekilde kalın debris tabakasının görünümü	74
Resim 28. Su spreyinin kullanılmadığı gruptaki bu örnekte dentin tübüllerinin tıkanmış ve kalın debris tabakasının görünümü	74
Resim 29. Su spreyinin kullanılmadığı gruptaki bu örnekte yüzeyde çatlakların ve kalın debris tabakasının görünümü	75
Resim 30. Su spreyinin kullanılmadığı gruptaki bu örnekte yüzeyde çatlakların karbonizasyon ve kalın debris tabakasının görünümü	75

Tablolar Dizini

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Er,Cr:YSGG cihazı ve özellikleri	19
Tablo 2. Kullanılan besiyerleri, oranlar ve katkıları	29
Tablo 3. Çalışmada kullanılan dişlerin gruplara dağılımı	38
Tablo 4. <i>E. faecalis</i> 'in serum fizyolojikle dezenfeksiyonu öncesi ve sonrası elde edilen cfu/ml değerleri ve dezenfeksiyonun meydana getirdiği antibakteriyel ve antifungal etki	53
Tablo 5. <i>E. faecalis</i> 'in %2.5 NaOCl ile dezenfeksiyonu öncesi ve sonrası elde edilen cfu/ml değerleri ve dezenfeksiyonun meydana getirdiği antibakteriyel ve antifungal etki	54
Tablo 6. <i>E. faecalis</i> 'in %2 CHX glukonat ile dezenfeksiyonu öncesi ve sonrası elde edilen cfu/ml değerleri ve dezenfeksiyonun meydana getirdiği antibakteriyel ve antifungal etki	55
Tablo 7. <i>E. faecalis</i> 'in Er,Cr:YSGG lazer ile dezenfeksiyonu öncesi ve sonrası elde edilen cfu/ml değerleri ve dezenfeksiyonun meydana getirdiği antibakteriyel ve antifungal etki	56
Tablo 8. Hücre kültür vasatlı grup	61
Tablo 9. Hücre kültür vasatsız grup	62
Tablo 10. Distal kökün tümünü içeren en yüksek sıcaklık verileri	65
Tablo 11. Koronal bölgeden elde edilen en yüksek sıcaklık verileri	66
Tablo 12. Orta üçlünden elde edilen en yüksek sıcaklık verileri	67
Tablo 13. Lazer temas noktasından elde edilen en yüksek sıcaklık verileri	68
Tablo 14. Apikal noktadan elde edilen en yüksek sıcaklık verileri	69
Tablo 15. Su spreyi kullanılan grupların kendi aralarında karşılaştırılması	70
Tablo 16. Su spreyi kullanılmayan grupların kendi aralarında karşılaştırılması	70

Şekiller Dizini

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Hücre kültür vasatlı grup	63
Şekil 2.Hücre kültür vasatsız grup	63

ÖZET

Süt Dişleri Kök Kanallarında Er,Cr:YSGG Lazer Uygulamasının Isı, Sitotoksosite ve Kanal Dezenfeksiyonu Üzerine Etkisinin Değişik Parametreler Kullanılarak İncelenmesi

Bu in vitro çalışmanın amacı, endodontide kullanılan çeşitli irrigasyon solüsyonları ile Er,Cr:YSGG lazerin dezenfeksiyon etkinliklerinin karşılaştırılması, Er,Cr:YSGG lazerin sitotoksik etkisinin, kök kanal duvarlarında meydana getirdiği sıcaklık artışının ve morfolojik değişimlerin incelenmesiydi. Antibakteriyel etkinliğin değerlendirilmesi için çekilmiş 120 adet diş iki gruba ayrılarak *E. faecalis* ve *C. albicans* ekildi. Kullanılan üç farklı dezenfeksiyon yöntemine (grup 1; %2.5 NaOCl, grup 2; %2 CHX glukonat, grup 3; Er,Cr:YSGG lazer) göre alt gruplara ayrıldı. Sitotoksosite çalışması için bir adet üçüncü azı dişinden periodontal ligament üretilerek dört farklı lazer güç seviyesinin (0.75 W, 1.5 W, 3 W, 4 W) etkinliği değerlendirildi. Sıcaklık artışı 32 adet diş üzerinde su spreylili ve su spreysiz incelendi. Ayrıca 10 adet diş üzerinde morfolojik değişimler SEM kullanılarak analiz edildi. %2.5'lik NaOCl her iki mikroorganizma üzerinde en etkili ajan idi. Oysa *C. albicans*'a karşı üç deney grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık bulunamadı ($p > 0.01$). Er,Cr:YSGG lazerin etkinliği *E. faecalis* ile karşılaştırıldığında *C. albicans* üzerinde daha anlamlı bulundu ($p = 0.000$). Hücre kültür vasatlı ortamda değerlendirilen farklı güç seviyeleri arasında herhangi bir farklılık bulunmazken ($p > 0.05$), hücre kültür vasatsız ortamda 1.5, 3 ve 4 W'lık güç seviyeleri birbirinden farklı olmaksızın ($p > 0.05$) ciddi sitotoksositeye sebep oldu ($p < 0.05$). Sıcaklık artışı su spreyi kullanımına bakılmaksızın lazer temas noktasında en yüksek bulundu ($p > 0.05$). SEM analizinde su spreyi kullanımında daha düzenli ve daha temiz kanal duvarları elde edilirken su spreyi kullanılmayan dişlerde düzensiz, karbonize yüzey yapısı ve çatlak oluşumu gözlemlendi. Sonuç olarak bu çalışmanın kısıtlamaları dahilinde, Er,Cr:YSGG lazerin NaOCl'e alternatif değil yardımcı olarak kullanılabileceği söylenebilir ve bu lazerin daha etkin ve güvenli kullanımını sağlayacak parametrelerin belirlenmesi için daha çok in vitro ve hayvan çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar sözcükler: CHX glukonat, Er,Cr:YSGG lazer, İrrigasyon, Morfolojik değişim, NaOCl, SEM, Sıcaklık artışı, Sitotoksosite.

SUMMARY

Evaluation of the Effects of Er,Cr:YSGG Laser Usage on Thermal Changes, Cytotoxicity and Canal Disinfection Using Different Parameters in Primary Tooth Root Canals

The aim of this in vitro study was to compare the disinfecting efficacy of various endodontic irrigation solutions with Er,Cr:YSGG, to evaluate the cytotoxic effects, thermal increments and morphological changes induced by Er,Cr:YSGG laser in root canals. One hundred and twenty teeth extracted with orthodontic purposes were assigned to two groups in which *E. faecalis* and *C. albicans* were cultured. They were divided in three subgroups according to the disinfection method used (group 1; 2.5% NaOCl, group 2; 2% CHX gluconate, group 3; Er,Cr:YSGG laser). Periodontal ligament cells were isolated and cultured from an orthodontically extracted third molar and cytotoxic effects of Er,Cr:YSGG laser in four different power outputs (0.75, 1.5, 3, 4 W) were evaluated. Thermal increments were evaluated in 32 teeth with and without water spray. In addition, morphological changes were examined under SEM analysis in ten teeth. For both microorganisms evaluated, 2.5% NaOCl was the most effective method against *E. faecalis*. However, there was no statistically significant difference among three experimental groups against *C. albicans* ($p > 0.01$). The effectiveness of Er,Cr:YSGG laser on *E. faecalis* was found statistically significantly higher when compared with *C. albicans* ($p = 0.000$). While there was no significant difference among different power outputs evaluated in group with cell culture medium ($p > 0.05$), 1.5, 3, and 4 W power outputs caused serious cytotoxicity ($p < 0.05$) in group without cell culture medium with no significant difference among them ($p > 0.05$). Thermal increments were found highest in the point of laser contact regardless of the water spray usage ($p > 0.05$). While more regular and cleaner root canal surfaces were observed in water spray usage; rough, carbonized and cratered surfaces were observed in group without water spray usage under SEM analysis. In conclusion within the limitations of this study, Er,Cr:YSGG laser can be an adjunct, not an alternative to NaOCl and further in vitro and animal studies are needed to better understanding of this laser.

Keywords: CHX gluconate, Er,Cr:YSGG laser, morphological change, NaOCl, SEM, thermal increment, cytotoxicity

GİRİŞ VE AMAÇ

Çocuk dişhekimliğinin ana hedefi; beslenme, konuşma, estetik ve gelişim sürecinde dentoalveoler yapılar için hayati öneme sahip olan süt dişlerini fizyolojik düşme zamanına kadar sağlıklı bir şekilde idame ettirerek ark uzunluğunun korunmasını sağlamak ve çocuğun psikolojik ve fizyolojik gelişimine destek olmaktır. Çocuk diş hekimliği alanındaki koruyucu uygulamalar gelişimini sürdürse de günümüzde halen süt dişleri çürüğe bağlı olarak kaybedilmektedir (1, 2). Bu yüzden; daimi dişin süreceği zamana kadar süt dişinin doğal yer tutucu olarak görev yapması için sağlıklı bir şekilde ağızda tutulması gerekmektedir (3). Çürük veya travma nedeniyle geri dönüşümsüz pulpa iltihabı gözlenen süt dişlerinin tedavisinde endodontik veya cerrahi yaklaşımlar tercih edilmektedir. Nekrotik pulpalı veya geri dönüşümsüz enfeksiyonlu dişlerin hiçbir tedavi yapılmadan ağızda tutulması daimi diş germi, periapikal dokular ve hastanın sistemik durumu için bir risk faktörü oluşturmaktadır (4, 5) . Süt dişleri için endodontik tedavide hedef; kök kanalının karmaşık yapısına nüfuz etmiş mikroorganizmaları gidermek, bu sayede diş ve destek dokularını dentoalveoler sistemde sağlıklı bir şekilde korumaktır. Bu sebeple, anatomik yapıya uyarak kök kanallarının genişletilmesi, çeşitli solüsyonlarla irrigasyon ve ara seanslarda kanal içi ilaçlarla muamele edilmesini takiben kanalların sızdırmaz bir şekilde doldurulmasıyla dezenfeksiyon elde edilmiş olur (6).

Günümüzde, süt dişlerinde gerçekleştirilen kök kanal tedavisi daimi dişlere göre daha zor olmasına rağmen, klinik pratiğinde yaygın olarak tercih edilmektedir (7). Bazı yazarlar süt dişlerinin kök kanal morfolojilerinin kompleks oluşundan dolayı, pulpa dokusunun tamamen uzaklaştırılamayacağını; ayrıca, süt dişlerinin kök kanallarında bulunan çeşitli mikroorganizmaların elimine edilmesinin de zor olduğunu belirtmişlerdir (8-11). Süt ve daimi dişlerin kanal tedavisinde kök kanallarının biyomekanik preparasyonunu takiben çeşitli irrigasyon solüsyonlarıyla dezenfeksiyon işlemleri gerçekleştirilmektedir. Ancak, son yıllarda kullanılan irrigasyon solüsyonlarının sitotoksik etkilerinden dolayı, alternatif yöntemlerin araştırılmasına başlanmıştır. Günümüzde lazer birçok bilim dalında olduğu gibi diş hekimliğinde de büyük ilgi görmüş ve kullanım alanı bulmuştur. Oral yumuşak ve sert dokularının tedavilerinde geleneksel yöntemlere alternatif olabileceği yönünde bulgular sunan birçok araştırmaya

rastlanmıştır (12). Endodontide de lazerlerle kök kanallarının preparasyon ve dezenfeksiyon üzerine etkinliğini inceleyen bir çok çalışma mevcuttur.

Literatürde son yıllarda yaygın bir şekilde kullanılan erbium, chromium, yttrium-scandium-gallium-garnet (Er,Cr:YSGG) lazerin diş hekimliğinde çeşitli alanlarda ve daimi dişlerin kök kanal tedavisinde kullanımına dair çalışmalar bulunmaktadır. Ancak, literatürde süt dişlerinin kanal tedavisinde uygulanmasına yönelik çok az çalışma mevcuttur (13).

Bu in vitro tez çalışmasında, çekilmiş süt dişlerinde kök kanal tedavisi sırasında dezenfeksiyon için Er,Cr:YSGG lazer ve klinikte sıklıkla kullanılan irrigasyon solüsyonları olan sodyum hipoklorit (%2.5) (NaOCl) (Wizard, Rehber Kimya San. ve Tic. Türkiye) ve klorheksidin glukonatın (%2) (CHX) (Ceraxidine C, Konya, Türkiye) kök kanallarına ekilen *E. faecalis* ve *C. albicansa* karşı antibakteriyel ve antifungal etkinliğinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Bununla birlikte Er,Cr:YSGG lazerin irradyasyon sırasında kök kanallarının içinde ve kök kanalları çevresinde sıcaklık artışına sebep olduğu bilinmektedir. Lazerlerle oluşturulan fototermal etki antibakteriyel etki göstermekle beraber, canlı dokularda hasara da yol açabilmektedir. Bu amaçla süt dişlerinde Er,Cr:YSGG lazer uygulaması sırasında oluşan sıcaklık artışının termal kamerayla, buna ek olarak Er,Cr:YSGG lazer uygulamasının sitotoksik etkisinin metil tiyazol tetrazolyum (MTT) analizi ile, son olarak da kök kanal duvarlarında oluşan morfolojik değişimlerin tarama elektron mikroskobu (SEM) görüntüleriyle değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Süt dişleri çocuğun beslenme, konuşma, çene gelişimi ve estetiğine katkıda bulunmakla beraber ardından gelecek olan daimi dişler için iyi bir yer tutucu olarak görev yapmaktadır. Koruyucu tedavilerdeki gelişmelere rağmen, pek çok süt veya daimi diş erken yaşta kaybedilmektedir (1). Sağlıklı bir fiziksel ve dental gelişim için çok önemli olan süt dişlerinin erken kaybı; gelişmekte olan çocukta geçici veya kalıcı okluzyon bozukluklarına, estetik problemlere, beslenmede sorunlara, anormal dil alışkanlıklarına, psikolojik sorunlara ve konuşma problemlerine sebep olabilmektedir (14). Çürük; diş yüzeyi, plaktaki özel bakteriler, zaman ve özellikle rafine şekerlerin ağırlıkta olduğu fermente karbonhidratlardan zengin diyet gibi önemli faktörlerin etkileşiminde ortaya çıkan kronik enfeksiyöz bir hastalıktır. Diş çürüğü konuşma, beslenme, uyuma, yutma ve nefes almayı etkileyebilecek derecede ağırlara sebep olabilmektedir. Ayrıca, bireyin dış görünüşündeki değişiklik özgüven eksikliğine yol açarak sosyal dışlanmayı da beraberinde getirebilmektedir (15).

Çürük dentin boyunca ilerlediği zaman mikroorganizmalar veya toksinleri tübüller vasıtasıyla pulpaya ulaşabilmekte, bu uyarılar da pulpada patolojiler meydana gelmesine sebep olabilmektedir (16).

4.1 Süt dişlerinde pulpa hastalıkları

Süt dişlerinde başlıca çürük ve travmayla meydana gelebilecek pulpa hastalıkları şu şekilde sıralanabilir:

1. Geri dönüşümlü pulpitis
 2. Geri dönüşümsüz pulpitis
 3. Ülseratif ve hiperplastik pulpitis
 4. Nekroz
1. Geri dönüşümlü pulpitiste etken ortadan kaldırıldığında gerileyen bir enflamasyon vardır. Diş asemptomatiktir.
 2. Geri dönüşümsüz pulpitiste ağrı sürekli veya kesik kesik olabilir. Etkenin ortadan kaldırılması durumunda bile ağrı devam eder. Ağrı yaygın olduğundan diş perküsyon ile ayırt edilebilir.
 3. Ülseratif pulpitis çürükle ekspoz pulpanın açılma noktasında oluşumu ile kendini gösteren kronik iltihap durumudur. Ağrı yoktur. Hiperplastik pulpitiste çürükle

ekspoze pulpa çürük kavitesine doğru büyüme eğilimi gösterir. Geri dönüşümsüz pulpitis andıran spontan ağrı bulguları verebilmektedir.

4. Pulpa nekrozunda pulpanın akut veya kronik iltihabı veya travma dolayısıyla kan dolaşımı aniden kesilmiştir. İki çeşit nekroz görülür: Likefaksiyon nekrozu ve koagülasyon nekrozu (17-20).

Pulpal hastalıkta bir dişin çekilip yerine yer tutucu yapılması daha kolay bir seçenek gibi görünse de yer tutucuların kullanımına ilişkin zorluklar bulunmaktadır (4). Bu yüzden, doğru teşhis konulduğunda kök kanal tedavisi kök pulpasında dejeneratif değişim gözlenen süt dişleri için en uygun tedavi seçeneğidir (1) .

4.2 Süt dişi kanal enfeksiyonlarında etkili olan mikroorganizmalar

Pulpal hastalığın başlatıcısı fiziksel, termal veya kimyasal dış etkenler olsa da pulpa ve periapikal hastalıkların en önemli nedeni mikroorganizmalar ve toksinleridir. Ağız boşluğu ve kök kanallarında çok zengin bir mikroorganizma çeşitliliği mevcuttur. Bir çalışmada oral kavitede 300'den fazla bakteriyel grup veya bakteri türü izole edilmiştir (21). Ağız florasında tespit edilen mikroorganizmalar kök kanallarından da izole edilebilir. Oral kavite, nazofarenks ve gastrointestinal bölgedeki herhangi bir mikroorganizma kök kanal enfeksiyonuna yol açabilir. Ağız florasında mikroorganizmalar patojen olmasa bile, metabolizma ürünleri, fizikokimyasal değişimler ve virülans faktörleri ile kanal içinde bariz doku değişikliklerine sebep olabilmektedirler (22). Pulpa ve periapikal hastalıkların gelişimi ve devam etmesinde mikroorganizmaların hayati rolü birçok hayvan ve insan çalışmasında açıkça ortaya konmuştur (23-25). Kök kanal enfeksiyonlu ve apikal lezyonlu dişlerden kültür alındığında 3-12 arasında bakteri türüne rastlanmıştır. Bakteri koloni formasyonu ise, 10^2 - 10^8 arasında bulunmuştur. Enfekte kök kanalında tespit edilen bakteri sayısı ile periapikal lezyonun büyüklüğü doğru orantılı bulunmuştur (26). Mikrobiyolojide anaerob tekniklerin gelişmesi ile son yıllarda yapılan çalışmalarda enfekte kök kanallarındaki bakterilerin %70-90 oranında anaerob bakteriler olduğu açığa çıkarılmıştır (22).

Süt dişlerinde furkasyon bölgesinin geçirgenliği kanıtlanmıştır. Endotoksinler, doku yıkım ürünleri ve bakteriler bu bölgede bulunan aksesuar kanallar vasıtasıyla kökler arası bölgede daha kolay kemik yıkımına yol açarlar (27). Süt dişlerinde

radıyografıde lezyon belirgin şekilde görünür hale geldiğinde kökün dış çevresinde mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilm tabakası gözlenmiştir (28).

Başarısız kök kanal tedavilerinde en sık izole edilen bakteri türü *E. faecalis* olduğu için bakteriyolojik çalışmalarda bu bakteri üzerine yoğunlaşmıştır (29). Bazı araştırmacılar da kök kanallarının %55'inin *Candida* türlerini içerdiğini göstermişlerdir (30).

4.2.1 *Enterococcus faecalis*

Enterokoklar tek başına, çiftler halinde veya kısa zincirler halinde gözüken gram pozitif koklardır. Ayrıca oksijen varlığı veya yokluğunda büyüyebilme yeteneğine sahip olan fakültatif anaeroblardır (31,32). *Enterococcus* türleri insan intestinal lümeninde büyük miktarlarda bulunur ve birçok durumda konakçıya zararları olmamaktadır. Ayrıca, kadın genital yolunda ve oral kavitede de az sayıda bulunurlar (33). Karbonhidratlar, gliserol, laktat, malat, sitrat, arjinin, agmatin ve birçok α keto asit gibi birkaç çeşit enerji kaynağını katabolize ederler (31). Enterokoklar aşırı alkali pH (9.6) ve tuz koşulları gibi kötü koşullarda hayatta kalabilir (31,34). 10 °C-45°C arasında büyüebilir ve 30 dakika boyunca 60°C'de sıcaklıkta hayatta kalabilirler (34). Kök kanalının enfeksiyöz durumlarında anaerobik bakteriler en önemli rolü oynamaktadır. *E. faecalis*'in tedavi sonrası dental enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan bakteri olduğu gösterilmiştir; ancak doğal habitatı bağırsaktır (21,35,36). Bu tür temel olarak kullanılan birkaç antimikrobiyal ajana karşı belirgin direnç gösteren önemli bir hastane patojenidir (37,38). *E. faecalis* Ağızda tükürükten, mukozal yüzeylerden ve supragingival dental plaktan izole edilir (39-42).

E. faecalis birincil endodontik enfeksiyonlar ve inatçı enfeksiyonlarla bağdaştırılmıştır (32). Birincil endodontik enfeksiyonlar kategorisinde, *E. faecalis* akut periradiküler periodontitis veya akut periradikülerlerden daha çok asemptomatik kronik periradiküler lezyonlarla ilişkilendirilmektedir. *E. faecalis* birincil endodontik enfeksiyonların %4 ila %40'ında bulunmaktadır. İkincil enfeksiyonlarda ise 9 kat daha fazla rastlanıldığı bildirilmiştir (32).

4.2.2 *Candida Albicans*

Candida türleri oral kavitede, gastrointestinal yolda, anüste, kasıklarda, vajinal kanalda ve sağlıklı insanların vulvasında bulunur. *Candida* türleri insanlarda yüzeysel hastalıktan hayatı tehdit edici yaygın mikozlara kadar geniş bir yelpazede hastalığa

sebebe olabilir (43). Dilin sırtı *C. albicans*ın oral habitatı kabul edilir, ancak başka yerlerde de bulunabilir (44). Bu bölgeler mukoza ve supragingiva, dentin, kök, subgingiva ve periodontal ceplerdir (44-51).

Şen ve ark silindirik dentin tüpü modeli kullanarak %0.12 CHX, %1 NaOCl ve %5 NaOCl'in *C. Albicans*'a karşı antifungal etkinliğini değerlendirmişler (52). Smear tabakası varlığında *C. albicans*'ın bu irrigasyon solüsyonlarına karşı daha dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Waltimo ve ark *C. Albicans*'ın yedi türünün iyodin potasyum iyodid, klorheksidin asetat (%0.5), NaOCl (%5 ve %0.5) ve kalsiyum hidroksite karşı duyarlılığını değerlendirmişler ve test edilen tüm *C. albicans* türlerinin bu ilaçlara benzer duyarlılık gösterdiğini belirtmişlerdir (53).

4.3 Süt Dişlerinde Pulpa Tedavileri

Süt dişlerinde pulpa tedavileri iki grup halinde özetlenebilir (26);

1. Konservatif (koruyucu) pulpa tedavileri: Pulpa canlılığının korunması amaçlanır.
2. Radikal pulpa tedavileri: Pulpa canlılığı korunmaz, kanal tedavisini takiben kök kanalının doldurulmasını içerir.

Enfeksiyonu elimine etmek için kabul edilen endodontik tedavi prosedürü; kök kanal debridmanı (54), NaOCl veya hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi dezenfekte edici bir ajanla irrigasyon, ara seanslarda kanallara ilaç uygulanması ve son olarak kanalın sızdırmaz bir materyalle doldurulmasından ibarettir (55). Diş hekimleri süt dişlerinin kök kanal sisteminin kompleks olması, preparasyonun zorluğu ve kanal tedavisinde kullanılan ilaçlar ve kanal dolgu maddelerinin daimi diş germine verebilecekleri potansiyel hasardan dolayı, kök kanal tedavisinden endişe duymaktadırlar. Buna rağmen süt dişlerinde yapılan kanal tedavilerinden alınan başarı oranları yüksek olduğu için çocuk diş hekimleri kanal tedavisini çekim ve yer tutucuya tercih etmektedirler (1,56).

Süt dişi kök kanal tedavisinin başarısı mikrobiyolojik faktörler yanında, anatomik faktörler (kök kanal ramifikasyonları) ve preparasyon sırasında doğal olarak oluşan debris ve smear tabakasına bağlı olarak da azalabilmektedir. Kök kanal enstrümantasyonu sırasında bakteri ve yan ürünlerini içeren smear tabakası denilen inorganik ve organik bir tabaka üretilmektedir. Bu tabaka bakterilerin üreyebileceği bir ortam oluşturabileceğinden ve kanal dolumunun kalitesini düşürebileceğinden uzaklaştırılması gereklidir.

4.5 Endodontide smear tabakası

Dentin el aletleri veya döner aletlerle kesildiği zaman mineralize dokular bölünüp parçalanmaz ancak büyük oranlarda debris oluşturacak şekilde dağılırlar. Mineralize kollajen matriksten oluşan smear tabakası dentin yüzeyini örter. İlk olarak Eick ve ark SEM kullanarak smear tabakasının varlığını göstermişlerdir (57). Bu araştırmacılar smear tabakasının 0.5-15 µm'den daha küçük boyutta parçacıklardan oluştuğunu bildirmişlerdir. Brännström ve Johnson kavite preparasyonlarının morfolojisini inceledikleri çalışmalarında ince bir tabaka aşınmış debris tespit etmişlerdir (58). Bu tabakanın 2-5 µm kalınlığında olduğunu ve dentin tübüllerine birkaç mikrometre uzandığını bulmuşlardır.

Kavite ve kök kanalındaki smear tabakası farklı özellikler sergilemektedir. McComb ve Smith kök kanalındaki dentin tübül sayılarının daha büyük değişkenlik gösterdiğini ve burada daha fazla yumuşak doku artığı bulunduğunu bildirmişlerdir (59). Apikal bölgedeki smear tabakasının koronal bölgede olduğu gibi sadece dentin değil, ayrıca odontoblastik uzantıların artıkları, pulpa dokusu ve bakterileri de içerdiğini öne sürmüşlerdir. Lester ve Boyde smear tabakasını 'yer değiştirmiş inorganik dentin içerisinde hapsolmuş organik madde' olarak tanımlamışlardır. NaOCl irrigasyonu ile kaldırılamadığı için bu tabakanın birincil olarak inorganik dentinden oluştuğu kanısına varılmıştır (60).

Smear tabakasının kaldırılması mı korunması mı gerektiği sorusu tartışmalıdır (61,62). Birçok yazar uzaklaştırılması gerektiğini savunmuştur (63-65). Apikal ve koronal mikrosızıntıya olan etkileri (66-68), tübüllere bakteriyel penetrasyon özellikleri (69-71) ve kök kanal materyallerinin adaptasyonuna olan negatif etkileri de literatürde bildirilmektedir (72-74). Uzaklaştırılmasını destekleyen fikirler:

1. Kalınlığı ve hacmi değişkendir, tahmin edilemez, çünkü büyük oranda sudan oluşur
2. Bakteri, bakteri yan ürünleri, nekrotik dokuları içerir
3. Dentin tübüllerine derin penetrasyon göstererek bakteriler için substrat olarak rol oynayabilir
4. Dezenfekte edici ajanların optimum penetrasyonunu kısıtlayabilir
5. Dolum materyalleri ve kanal duvarları arasında bariyer olarak görev yapabilir ve bu yüzden tatmin edici bir kapatmayı önler

6. Zayıf tutunan bir yapışkan yapıdır ve kök kanal dolumu ve dentin duvarları arasında sızıntı ve bakteriyel kontaminant geçiş potansiyeline sahiptir(60,75-77).

4.7 Smear tabakası kaldırma yöntemleri

Mekanik şekillendirme sırasında dentin kanallarının üzerini tıkayan ve kök kanal tedavisinin başarısını negatif yönde etkileyebilecek olan smear tabakası aşağıdaki yöntemlerle uzaklaştırılabilir:

1. Kimyasal olarak ortadan kaldırma
 - a. Sodyum hipoklorit (NaOCl)
 - b. Şelasyon ajanları
 - c. Organik asitler
 - d. Sodyum hipoklorit ve EDTA
2. Ultrasonik smear uzaklaştırma
3. Lazerle smear uzaklaştırma (78)

4.8 Kök kanal tedavilerinde irrigasyon

Mikroorganizmaların kök kanal sistemlerinden eliminasyonu mekanik enstrümantasyon, irrigasyon rejimleri ve kanal içi ilaçlardan oluşan karmaşık bir süreçtir. Kök kanal anatomisinin düzensiz yapısı göz önünde bulundurulduğunda sadece mekanik enstrümantasyonun bakteri eliminasyonunu sağlayamayacağı bilinmektedir. Buna ek olarak, kök kanallarında kalan pulpa artıklarının bakteriler için besin olabileceği de bildirilmektedir. İşte bu sebeplerden dolayı doku ve diğer debrisleri uzaklaştırmak ve dezenfeksiyon sağlamak için kök kanallarında kimyasal irrigasyon gerçekleştirilmesi gerekmektedir (79).

Kök kanallarında yapılan kimyasal irrigasyonun amaçları;

1. Kök kanalının preparasyonu sırasında oluşan inorganik ve organik artıkların fiziksel ve kimyasal olarak uzaklaştırılması, bu artıkların apikal bölgeyi tıkamasının önlenmesi,
2. Kök kanalları içindeki mikroorganizmaların antibakteriyel etkiyle uzaklaştırılması,
3. Kök kanallarında lubrikasyon özelliğiyle mekanik preparasyonun kolaylaştırılması,
4. Kök kanal enstrümanlarının ulaşamadığı bölgelerde dezenfeksiyon sağlamak,
5. Kök kanallarının temizlenmesinde kullanılan ara seans medikamentlerinin etkinliğini arttırmak,
6. Smear tabakasını uzaklaştırmak,
7. Renkleşmiş dişlerin ağartılmasına yardımcı olmak şeklinde sıralanabilir (80-82).

İdeal bir irigasyon ajanında bulunması gereken özellikler şu şekilde sıralanabilir:

1. Kök kanallarında preparasyon sırasında meydana gelen artık organik ve inorganik doku ve debrisleri eritebilmeli,
2. Periodontal dokulara antijenik, toksik ve karsinojenik etkileri bulunmamalı,
3. Yüzey gerilimi düşük olmalı, kök kanallarında mekanik preparasyonla ulaşılamayan yüzeylere etki edebilmeli,
4. Kanal aletlerinin lubrikasyonu sayesinde kolay çalışmasını sağlamalı,
5. Antimikrobiyal etkisi olmalı ve kalıcı etki göstermeli,
6. Endotoksinleri elimine edebilmeli,
7. Smear tabakasını kaldırabilmeli, dentine kötü etkileri olmamalı,
8. Kanaldaki etkileri uzun olmalı,
9. Kanal dolgu maddesinin etkilerini kısıtlamamalı,
10. Dolgu maddelerinin dentine bağlanma kuvvetini azaltmamalı,
11. Dişte renkleşme yapmamalı,
12. Kolay ulaşılabilmesi,
13. Manipülasyonu kolay olmalı,
14. Ucuz olmalı,
15. Raf ömrü uzun olmalı,
16. Depolanması kolay olmalıdır (83).

Kök kanal dezenfeksiyonunda mekanik enstrümantasyonla beraber çeşitli kimyasal ajanlar da kullanılır. Yakın zamanda ultrasonik tedavi ve lazer irradyasyon kullanımı dezenfeksiyonu arttırmak için önerilmiştir (84,85).

4.10 Süt dişlerinde kullanılan çeşitli irigasyon solüsyonları

1. NaOCl
2. CHX glukonat
3. Serum fizyolojik
4. EDTA

4.10.1 Sodyum Hipoklorit (NaOCl)

Yeşilimsi sarı renkli bir sıvı olan NaOCl kuvvetli klor kokusuna sahip, suda eriyen ve ışıkla bozulan bir maddedir (86). NaOCl hem bir okside edici hem de hidrolize edici ajandır (87). NaOCl solüsyonları 1920'lerden beri endodontik irigasyon amacıyla kullanılmaktadır (88). Kök kanallarının NaOCl solüsyonuyla irigasyonu

günümüzde çok geniş kabul gören bir dezenfeksiyon yöntemidir. Endodontik bir irrigan olarak NaOCl göreceli olarak ucuzdur; bakterisidal ve virüsaldır, proteinleri çözer, düşük viskozitesi vardır ve yeterli saklama koşulları sunar (89,90). Toksisitesine bağlı olarak, keratinize epitelyum hariç tüm canlı dokulara zararlıdır (87,91). NaOCl vital ve nonvital dokuları iyi şekilde çözebilen, geniş spektrumlu bir antibakteriyel ajandır. Düşük yüzey gerilimi ve dentin duvarlarına kolayca diffüze olabilmesi, kolay ulaşılabilmesi nedeniyle sıklıkla tercih edilen bir ajandır (92). Endodontik amaçlarla NaOCl %0.5 ve %5.25 arasında değişen yoğunluklarda irrigasyon sırasında kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda %3 ile %5 yoğunluk aralığında kullanımının bakteri ile direk temas sonucunda bakteri eliminasyonu sağladığı bununla birlikte pulpa dokusunu çözerek kanaldan uzaklaştırdığı da bildirilmiştir (29,93). NaOCl'in %2.5'luk solüsyonu nekrotik pulpa ve apikal periodontitisi tedavi etmede kullanılmaktadır (94). Daha yüksek yoğunluklu NaOCl çözeltileri apikal ve periapikal dokulara zarar verici etkiler doğurabilir (95).

4.10.2 Klorheksidin

Klorheksidin iki simetrik 4-klorofenil halkası ve merkezi bir heksametilen zinciriyle birbirine bağlı iki biguanid grubundan oluşmaktadır (96). Klorheksidin bakterilerin hücre zarı üzerindeki fosfolipitler, lipopolisakkaritlerle etkileşen, aktif veya pasif transport mekanizmasıyla hücre içine giren pozitif yüklü iyon oluşturmak için solüsyonlarda çözünen hidrofobik ve lipofilik bir moleküldür (97).

Molekülün pozitif yükü ve mikrobiyal hücre duvarı üzerindeki negatif yüklü fosfat grupları sayesinde klorheksidinin bakteri hücrelerine girişi kolaylaşmaktadır. En yaygın oral preparasyon olan klorheksidin glukonat suda çözünebilir ve fizyolojik pH'de hazır olarak çözünerek pozitif yüklü klorheksidin componentini salmaktadır. Düşük konsantrasyonda (%0.2), düşük molekül ağırlıklı maddeler- özellikle potasyum ve fosfor- dışarı çıkacaktır. Diğer taraftan, yüksek konsantrasyonlarda (örneğin %2), klorheksidin bakterisidaldır ve hücre ölümüyle sonuçlanan sitoplazmik içeriğin presipitasyonunu gerçekleştirir (97). Gram pozitif, gram negatif bakterilere ve mayalara karşı etkilidir; ancak, mikobakteriler, bakteriyel sporlar ve birçok virüs tipi klorheksidine dirençlidir (98). İnsan dişlerinin kullanıldığı in vitro bir çalışmada Ercan ve ark %2'lik klorheksidinin dentin tübülleri içindeki *E. faecalis* karşı en etkili ajan olduğunu bildirmişlerdir (99). Klorheksidinin dental dokulara ve mukoz membranlara

tutunması ve terapötik seviyede uzun süreli dereceli salımı ve biyouyumlu olması gibi özellikler klinik kullanımının sebeplerinden birkaçıdır (100).

4.10.3 Serum fizyolojik

Serum fizyolojik biyomekanik şekillendirme sırasında oluşturduğu antibakteriyel etki çok sınırlı ve azdır. Mekanik preparasyonda ortaya çıkan debris kök kanalından uzaklaştırmaya yaramaktadır. Diğer irriganlarla karşılaştırıldığında daha az doku hasarına yol açacağından iyi bir irrigasyon ajanı olarak sayılabilmektedir (83).

4.10.4 Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA)

Şelasyon ajanı olan EDTA ve organik çözücülüğü yüksek olan NaOCl'in birlikte kullanımıyla smear ve debrisin etkin şekilde kaldırıldığı gösterilmiştir (101). EDTA dentinde bulunan kalsiyum iyonlarıyla reaksiyona girer ve oluşan kalsiyum şelatları çözünebilir hale geçer; ayrıca, tübül çevresi ve tübüller arası dentini dekalsifiye ederek kollajenin açığa çıkmasını sağlar. NaOCl ise açığa çıkmış bu kollajeni çözerek dentin tübüllerinin ağzı genişlemiş olur (102,103). EDTA'nın düşük yoğunluklu çözeltileri %17'lik yoğunluğa göre periapikal dokular ve çevre dokular açısından daha güvenlidir (104).

İrrigasyon ajanlarının kullanımı sırasında solüsyon ve kaldırdığı debris apekten taşarak komplikasyona sebep olabilir. Bu yüzden, irrigasyon ajanının biyolojik dokularla olan uyumu, tipi, kullanılan hacim ve kanalda ne kadar bekletileceği, irrigasyon için kullanılacak yardımcı sistemin türü ve solüsyonun kombine kullanımı gibi konular gündeme gelmektedir (105)

Süt dişlerinde yapılan bir çalışmada kök kanal tedavisinin şekillendirme aşamasında NaOCl'in smear tabakası oluşumunu teşvik ettiği, EDTA ve sitrik asitin ise smear tabakası uzaklaştırmayı kolaylaştırdığı bulunmuştur (106).

4.11 Lazerle smear uzaklaştırılması

Lazerler ana kanaldaki dokuları buharlaştırmak, smear tabakasını kaldırmak ve kök kanallarının apikal bölümündeki artık dokuları elimine etmek için kullanılabilir. Lazerin etkinliği güç seviyesi, ekspoz süresi, dokularda ışığın absorpsiyonu, kök kanalının geometrisi ve uç-hedef arası mesafe gibi faktörlere bağlıdır (78).

Bazı araştırmacılar Neodymium-tytrium-aluminium-garnet (Nd:YAG) lazerin varyantlarını kullanmışlar ve dentin duvarlarında hiç değişiklik olmamasından gerçek erime ve dentin rekristalizasyonuna kadar değişen aralıkta bulgular elde etmişlerdir

(107,108). Ancak göreceli olarak yeni olan Er,Cr:YSGG lazerin smear uzaklaştırmadaki etkinliği üzerine literatürde geleneksel yöntemlerden daha az debris bıraktığı (109); geleneksel yöntemden istatistiksel olarak farklı olmadığı (110); kısmi veya bütün dentinal debrisini uzaklaştırdığı bunun yanında bazı bölgelerde karbonizasyon ve kısmi erime gibi yüksek sıcaklığa bağlı etkiler meydana getirdiği (111,112); ve NaOCl'den daha iyi temizleme yeteneğine sahip olduğuna dair birbiriyle çelişen bulgulara rastlanmıştır (111,113) .

4.13 Lazerin tanımı

LASER kelimesi (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) radyasyonun uyarılmış yayılımıyla ışığın şiddetinin artırılması manasına gelen sözcüklerin ilk harflerinden oluşan bir akronimdir. Mevcut diş hekimliğinde kullanılan lazerin geçmişi 1990'lı yılların başlarında Danimarkalı bir Fizikçi Bohr'un kuantum mekanizması alanında ortaya koyduğu teorilere dayanmaktadır (114-116). Işık 300000 km/s sabit hızla yayılan dalgalar şeklinde salınan bir elektromanyetik enerji çeşididir. Bu enerjinin temel ünitesi foton olarak adlandırılır. Işık dalgaları genlik ve dalgaboylarıyla karakterize edilir. Genlik fotonun osilasyon hareketinin toplam yüksekliğine tekabül eder ve dalganın enerjisinin bir göstergesidir. Enerjinin birimi juldür. Dalgaboyu metreler halinde ifade edilen bir dalganın karşılıklı tekabül eden noktaları arasındaki mesafedir.

4.14 Lazer ışığının özellikleri:

Bütün lazerlerde ışığın ortak özellikleri şu şekilde açıklanabilir:

1. Eş fazlı olması (koherent): Lazer ışığındaki fotonların hareketi aynıdır yani en yüksek seviyeye çıkış ve inişleri aynı zamanda olur.
2. Paralel (kolimasyon): Lazer ışığının oluşturulduğu aktif madde odasında iki ayna bulunmaktadır. Işın buradan kontrollü olarak çıkarılmaktadır. Bu odadan sadece aynı yönde hareket eden ışınlar çıktığı için paralel özelliğe sahiptirler.
3. Tek renkli (monokromatik): Işık dalgalarının tümü aynı renktedir (117-119).

4.15 Lazer sisteminin bileşenleri

Lazer cihazı temelde bir ışık güçlendiricisidir. Bu sistemde dışarıdan yapılan bir uyarı ile aynı dalga boyu, faz ve yönde foton akımı oluşmaktadır. Lazer cihazlarında aktif madde bulunan bir oda mevcuttur. Lazere adını veren bu aktif madde gaz, sıvı veya katı halde bulunabilir. Lazer cihazlarında elektronların uyarılması amacıyla ışık ya

da elektrik enerjisi kullanılmaktadır. Aktif maddelerin uyarılması ile oluşan fotonlardan bir tanesi tam yansıtıcı diğeri seçici yansıtıcı özelliğe sahip aynalar ile paralel hale getirilerek sistem dışına ışık enerjisi halinde gönderilir (114).

Lazer sistemi üç temel parçadan oluşur:

1. Aktif ortam (lazer ışınması bu ortamda oluşur): Kristal, sıvı, gaz veya yarı iletken
2. Işımayı başlatacak bir kaynak; lazer frekansını kapsayan güçlü bir ışık, başka bir lazer kaynağı, elektrik veya radyo dalgaları.
3. Rezonatör: ışınım materyalini içinde bulunduran kavite. Rezonatörün her iki tarafında hassas şekilde birbirine paralel birer ayna bulunur. Bu aynalardan bir tanesi tam yansıtıcı diğeriye %99 yansıtıcıdır. Uyarılmış ışınların bir kısmı bu yarı geçirgen aynadan geçer. Lazer ışınları buradan paralel çıkarlar. Ortam içinde kullanılan materyal lazere adını verir. Örneğin, Neodymium YAG lazerde neodymium ytterbium argon gas, CO₂ lazerde karbondioksit gazı bulunmaktadır (120,121).

4.16 Lazer doku etkileşimleri

1. Yansıma: Dokular ve lazer arasında oluşan ilk etkileşim yansımadır. Işık hedef dokuda hiçbir etki göstermeden yansır.
2. Abzorpsiyon: Hedef bölge lazer enerjisini abzorbe eder. Dokunun abzorpsiyon kapasitesi, pigmentasyonu, içerdiği su miktarı, lazerin emisyon modu ve dalga boyu bu etkileşimin derecesini belirler.
3. Transmisyon: Lazer enerjisi dokuda hiçbir etkide bulunmadan geçer.
4. Saçılma: Lazer enerjisi hedef dokuda saçılır ve beklenen biyolojik etki azalır. Bu sırada çevre dokularda ısı artışı olmaktadır (114).

4.17 Dişhekimliğinde lazer

Ticari olarak ulaşılabilir medikal lazer dalga boyları ultraviyolede (UV) orta-kızılötesine (yaklaşık 200 nm'den 10 µm'ye) kadar değişen aralıkta elektromanyetik spekturumun göreceli olarak az bir kısmını içerir (122) . Ultraviyolede uzak kızılötesi aralığına kadar geniş bir sprektrumda 193 nm ila 10600 nm arasındaki lazer dalga boyları diş hekimliğinde kullanım alanı bulmaktadır (123). Dental lazerler diş hekimliğinde oral cerrahi (124), periodontoloji (125,126), koruyucu diş hekimliği (127,128), endodonti (129,130) ve daha bazı dallar dahil 30 yıldır geniş bir yelpazede kullanım alanı bulmaktadır.

Moritz ve ark in vitro bir çalışma ile kızılötesine yakın aralıkta salım yapan bu sistemi kök kanal tedavisi için önermiştir (131). Diyot lazerin takip edildiği in vivo bir çalışmada klinik şartlar altında bu lazerin bakterisidal etkisi kanıtlanmıştır (132). Birkaç araştırmacı da karşılaştırılabilir sonuçlar sergilemiştir (85,133). Biyokalsifiye dokularla lazerin etkileşimi birçok dalgaboyu kullanılarak çalışılmıştır. Atım süresi, tekrar oranı ve fluence gibi bazı lazer parametrelerine dayanarak CO₂ ve Nd:YAG lazerler minede pürüzlenme kraterleşme, çatlak, fissürleşme erime veya rekristalizasyon gibi yüzey değişiklikleri oluşturabilirler. Ek olarak, bazı çalışmalar bu lazerlerin ciddi manada yüzey ve pulpa sıcaklık artışları meydana getirebileceğini göstermiştir (134-138). Derin termal etkiler ve biyokalsifiye dokuları düzgün bir şekilde kesmekten yoksun olması ilk başlarda üretilen CO₂ ve Nd:YAG lazerleri diş hekimliğinde kullanımını kısıtlamıştır. Argon florid, excimer lazerlerin diş çürüğünü kaldırabildiği ve sağlam mine ve dentini etkili bir şekilde kesme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiş ancak etkili olduğu kanıtlanamamıştır (139). Kripton florid ve excimer lazerler ultraviyole aralıkta ışın salımı yaparlar ve dentini kesebildikleri gösterilmiştir; ancak mine etkili kesmeye dayanıklıdır (140,141).

4.18 Endodontide Lazerler

Endodontik olarak ilk uygulama literatüre 1971 yılında yüksek güçlü infrared CO₂ lazer ile apikal forameni tıkama girişiminde bulunan Weichman ve Johnson tarafından rapor edilmiştir (142).

Kök kanalların bakterilerden tamamen arındırılmasının zor olduğu ve mevcut endodontik tekniklerin kanal sistemlerini tamamen dezenfekte edemediği kesin olarak ortaya konmuştur (143). Mekanik enstrümantasyonla kök kanallarının önemli bir kısmına dokunulmadan kaldığına dair hem in vitro hem de klinik kanıtlar mevcuttur (144). Yakın zamanda değişik dalga boylarında lazerlerin daimi dişlerin kök kanallarını temizleme yönünden yüksek potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (145-147). Konağın immün cevabı kök kanallarının iç yapısına etki edemez bununla birlikte bazı bakteriler diğerleri için inhibitör etki gösterirler. Bu sebeplerden dolayı kök kanallarında az sayıda bakteri türü prolifer olup yaşayabilmektedir (148,149). Geleneksel kök kanal tedavisi sırasında mikroorganizmalar sadece kısmen etkilenir. Patojenik mikroorganizmalar kök dentinine 1 mm'den daha fazla penetre olabilirken, dezenfektan solüsyonlar yaklaşık olarak sadece 100 µm kadar ulaşabilirler (150,151). Son zamanlarda değişik

dalgaboylarıyla lazerler daimi dişlerin kök kanallarını temizleme konusunda büyük potansiyel göstermişlerdir (145-147). Endodontide özellikle Diyet, Nd:YAG, Er:YAG, Argon, Er,Cr:YSGG 'nin önerildiği görülmektedir (152,153). 1980'lerin başından beri bir çok dalgaboyu araştırılmış olsa da endodontik tedavi açısından en iyi araştırılmış lazer Nd:YAG lazerdir. Bu lazer hem kök kanal yüzeylerinde hem de derin dentinde bakterisidal etki gösterirler. White ve ark (154), Rooney ve ark (155), Gutknecht ve ark (156) Nd:YAG lazerin yüksek bakterisidal etkisini kanıtlamışlardır. *E. faecalis* gibi yüksek derecede dirençli bakterilere karşı uygun kanal dezenfeksiyonu sağlarlar; eğeler ve kimyasal solüsyonlarla endodontik enstrümantasyonlarla karşılaştırıldığında daha çok sayıda kanal ramifikasyonunun (lateral, aksesuar kanallar ve istmuslar) obturasyonuna izin verirler (157). Genel olarak dental lazerler dentin dokusuna daha iyi penetrasyon özelliğinden dolayı eskiden ulaşılamayan kısımlara daha iyi ulaşabilmektedir (158-160).

Süt dişlerinde kanal boşluğunun biyomekanik olarak temizlenip şekillendirilmesini takiben rezorbe olabilen bir patla obturasyonunun yüksek klinik başarı gösterdiği bilinmektedir (161-163). Ancak, bazı çocuk hastaları tedavi ederken uzun süreli endodontik işlemler klinisyen için çok zorlayıcı olabilmektedir (164). Bu yüzden daha tatmin edici kanal temizliği sunan ve daha az zaman alan bir teknik geleneksel kök kanal tedavisine iyi bir alternatif olabilir.

Er,Cr:YSGG lazerin kök sıcaklığını arttırmadan daha kısa sürede kanalları temizleyebildiği düşünülmektedir (165). Bu da çevre dokulara zararı önlemek için istenen bir özelliktir (166).

4.19 Erbium, Chromium: Yttrium Scandium Gallium Garnet Lazer

Er,Cr:YSGG lazer 2.78 µm dalga boyunda çalışan, atış ışınlama sistemi ve su buharı/hava karışımından oluşan bir soğutma sisteminden oluşmaktadır. Hava su spreyi kullanılan bu sistemde lazer ışını fiber kablo ve safir uç vasıtasıyla iletilmekte ve atımlı veya sürekli modda uygulanabilmektedir. Sert dokuların içeriğinde bulunan suyla lazer etkileşimi sayesinde çok hassas kesiler yapılabilen ve bu yüzden "hidrokinetik sistem" olarak adlandırılmaktadır. Lazer enerjisi su spreyiyle doku yüzeyine gönderilen damlacıklarda şiddetli patlayıcı kuvvetler oluşturarak hidrokinetik etki göstermektedir. SEM ile yapılan analizlerde frezle yapılan preparasyona göre dentin prizmalarında daha az hasar gözlenmiş, smear ve debris tabakasının uzaklaştırıldığı görülmüştür (165).

Dental mineral hidroksil iyonunun simetrik gerinmeye bağı olarak 2.8 µm dalgaboyuna yakın güçlü bir abzorpsiyonu vardır ve 3 µm dalgaboyunda konumlanmış dokular arasındaki suya bağı olarak geniş bir abzopsiyon bandı bulunmaktadır. Er,Cr:YSGG lazer emisyonu bu dar hidroksil iyon abzorpsiyon bandına etki ederken, Er:YAG lazer emisyonu 3 µm dalgaboyunda konumlanmış suyun geniş abzorpsiyonunun tam üzerindedir (167). Er,Cr:YSGG lazer irradyasyonunun kök kanallarından debris ve smear tabakasını uzaklaştırabilmesi için sadece su spreyi soğutmasıyla kullanılabileceğı sonucuna varılmıştır. Bu bulgu literatürdeki diğr bazı araştırmacıların çalışmalarında belirtilen sonuçlarla aynıdır (168,169).

Er,Cr:YSGG lazerin pedodontide çeşitli kullanım alanları mevcuttur. Soares ve ark süt dişlerinin kök kanal duvarlarının temizliğı üzerine Er,Cr:YSGG lazer tedavisinin etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında düz ve tek köklü süt dişlerinin lazerle tam enstrumentasyonunun temizlik açısından rotary preparasyona benzer, manuel enstrumentasyondan ise daha iyi sonuçlar elde edildiğini bildirmiştir (13).

Ablasyonun Er:YAG lazerde 300°C’de Er,Cr:YSGG lazerde ise 800°C’de gerçekleştiğı bulunmuştur (167). Bu yüzden su spreynin ablasyon alanlarında Er,Cr:YSGG lazer irradyasyonunda önemli ve gerekli olduğı gösterilmiş ve buna ek olarak suyun dental sert dokuların ablasyonunda başlatıcı olarak önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir.

Tablo 1. Er,Cr:YSGG cihazı ve özellikleri

Dalgaboyu	2780 nm
Güç	0.1-8.0 W
Pulse repetition rates: frekans	10-50 Hz (klinikisyenin seçimine göre)
Lazer sınıflaması	4
Operating voltage	100-230 VAC
Boyut	10.5 x 19 x 32 in (27 x 48 x 91 cm)
Ağırlık	75 lbs (34 kg)

(170)

4.20 Lazer Doku Etkileşimlerini Belirleyen Faktörler

Atom ve moleküllerin en dış yörüngesindeki elektronların elektronik ve/veya titreşimsel enerji geçişlerinden lazer emisyonu oluşturulur. Lazer doku etkileşimleri ve biyolojik moleküllerin atomlarının dış katmanlarındaki elektronların lazerle indüklenmiş eksitasyon ve takip eden de-eksitasyon mekanizmaları bu emisyon sürecinde önemli rol oynamaktadırlar. Lazer-doku etkileşimleri irradasyon parametrelerinin ilişkilerine bağlıdır: 1) Lazer kaynağının dalgaboyu veya dalgaboyu bandı; 2) Lazer uygulanan dokunun fiziksel özellikleri; 3) irradasyon veya atım enerjisi; 4) devamlı (sürekli) ışınlama veya atımlı irradasyon; 5) doku üzerine uygulanan lazer ışığının boyutu; 6) irradasyon süresi veya lazer atım uzunluğu ve tekrar oranı; 7) su spreyinin kullanımı; 8) yukarıda bahsedilen 3-6.cı parametrelerle lazer irradasyonu sonucu dokudaki fiziksel özelliklerin değişikliği (122).

İrradasyon sırasında dokunun fiziksel özellikleri lazer doku etkileşimlerini belirler. Fiziksel özellikler optik, absorpsiyon ve dağılma katsayısı, dağılma (scattering) anizotropisi, termal iletkenlik, ısı kapasitesi ve mekanik güç gibi dokunun termal ve mekanik özellikleri ile etkileşim halindedir (171).

Biyotıpta lazerlerle gerçekleştirilen tedavi yöntemleri 5 etki mekanizmasına dayanmaktadır:

- 1) Saf optik: Floresans spektroskopisi (kanseri görüntüleme) ve yüksek çözünürlükte görüntü elde etmek için optik koherens tomografi (OCT);
- 2) Fotokimyasal: Fotodinamik tedavi (PDT);
- 3) Fotobiyostimülatif: Lazer akupunktur;
- 4) Fototermal: Lazer destekli refraksiyon (örn. Korneanın parçalarını ablasyon ile düzeltme) dövme uzaklaştırma ve fototermal fragmentasyon veya diş yapısının ablasyonu;
- 5) Fotomekanik (fotoakustik): lazer litotripsi.

Dental lazerlerin temel prensipleri Meire ve De Moor tarafından açıklanmıştır (172). Genel olarak, göreceli olarak düşük yoğunluk ve uzun süreli lazer ışığı emisyonları kısa süreli ve yüksek yoğunluklarda uygulananlardan daha az zararlıdır. Güç yoğunluğu ve ekspoz süresi arasındaki bu ilişkiden potansiyel olarak belli tipte etkileşimlerin oluşması için minimal bir seviye veya eşik değerde enerji olması gerektiği vurgulanmıştır (173).

4.21 Lazerlerin Oluşturabileceği Zararlar

4.21.1 Primer Zararlar

Lazer ışığının doğrudan göz ve deriye zarar vermesidir. Gözde retina, kornea ve lens bu ışıklardan en fazla zarar gören tabakalardır. Güvenlik kurallarına uyulmadığı ve dikkatsiz çalışıldığı zaman görüş azalması veya kaybı oluşabilir. Lens, lazer ışınlarını yoğunlaştırarak hasarı arttırabilir. 300 nm dalgaboyundaki tüm UV ışıkları kornea, 400 nm dalgaboyundaki lazer ışınlarıysa lens tarafından soğurulur (174-176).

4.21.2 Sekonder Zararlar

Lazerin kullanımına bağlı meydana gelirler.

4.21.2.1 Mekanik Zararlar; Lazer kavitesi içindeki tüplerde meydana gelen yüksek basınç dolayısıyla oluşabilir.

4.21.2.2 Elektriksel Zararlar; Lazer ünitlerindeki elektriksel voltaj değişimleri, flaş lambalarının patlamasıyla meydana gelebilir.

4.21.2.3 Kimyasal Zararlar; Lazer cihazının iç yapısında kullanılan materyale göre değişebilir. Örneğin excimer lazerlerde, toksik florin ve klorid gazı kullanılır. Bir sızıntı durumu söz konusu olduğunda bu gazlar hava yolu ile ortama karışıp zararlı olabilirler.

4.21.2.4 Yangın Tehlikesi; Lazerin güç çıkışı veya elektrik aksamında meydana gelecek hasarlar sonucu ortamda bulunmaması gereken kumaş örtüler, kağıt ürünleri, plastikler, mum ve rezin gibi katı maddeler, etanol, aseton, metilmetakrilat, çözücü sıvılar, oksijen, nitrozoksit, genel anestezi ve aromatik buharlar gibi maddelerle etkileşim sonucunda oluşabilir. (174,175,177).

4.21.2.5 Spesifik Zararlar; Sekonder radyasyon sonucu meydana gelir. Uzun ekspoz sonucunda kornea enflamasyonu veya eritem oluşabilir.

Lazer kullanımına ait bazı kavramların önemi vurgulanmaktadır. Bunlar:

- Maximum Permissible Exposure (MPE): İzin verilen sınır doz
- Nominal Hazard Zone (NHZ): Lazerlerin doğrudan, yansıyan, sıçrayan ışınlarından oluşan muhtemel zararların tamamını kapsayan alan
- Nominal Ocular Hazard Distance (NOHD): Göze zarar vermeksizin çalışılacak en kısa mesafe
- Ocular Distance (OD): Göz mesafesi
- Maximum Acceptable Concentration (MAC): Çalışma sırasında ortaya çıkan aerosoller için kabul edilebilen en yüksek miktar (175,178,179).

4.22 Lazer Risk Sınıflaması

2005 yılında EN 60825-1 çerçevesinde yapılan lazer risk sınıflaması ise 7 gruba ayrılmaktadır;

Sınıf 1: Güvenli lazerler bu gruba girer. Marketlerdeki etiket okuyucuları ve CD çalarlar bu gruptadır. Hiçbir güvenlik önlemi gerektirmezler.

Sınıf 1 M: Optik bir aletle bakıldığında göz için zararlı olan lazerlerdir.

Sınıf 2: 400-700 nm lik dalga boyuna sahip görünür skaladaki lazerlerdir. Bunlara örnek olarak lazer işaretleyiciler ve silah hedef sistemleri verilebilir. Hiçbir güvenlik önlemi gerektirmezler.

Sınıf 2M: Optik bir aletle bakıldığında göz için zararlı olan lazerlerdir.

Sınıf 3R: Yapım işlerinde, mesafe ölçümünde ve silah hedef sistemlerinde kullanılan 400-1400 nm dalga boyuna sahip lazerlerdir. Lazer güvenliği eğitimi almak ve güvenlik kurallarına uymak gereklidir.

Sınıf 3B: Gücü 0.5 W'dan küçük lazerlerdir. Ultraviyolede uzak kızılötesi spektruma kadar uzanırlar. Yapım işlerinde, mesafe ölçümünde ve lazer gösterilerinde kullanılırlar. Lazer güvenliği eğitimi almak ve güvenlik kurallarına uymak gereklidir.

Sınıf 4: Gücü 0.5 W'dan daha yüksek, yangın ve tutuşma tehlikesi taşıyan göze ve deriye zararları olabilen ve materyal işlenmesi ve medikal tedavide kullanılan lazerlerdir. Lazer güvenliği eğitimi almak ve güvenlik kurallarına uymak gereklidir (178-180).

4.23 Lazer Güvenliği

Lazerlerin güvenli kullanımına dair çok sayıda uyarı, kural ve standart belirtilmiş olmasına rağmen lazer yaralanmaları halen rapor edilmektedir. Lazer kullanımının gittikçe yaygınlaşmasıyla meydana gelebilecek komplikasyonların artmış olması da lazer güvenliğinin önemini arttırmaktadır (181).

Lazer kullanımı sırasında oluşabilecek en büyük tehlike, uygun koruyucu gözlük kullanılmamasına bağlı olarak gözlerde oluşturabileceği hasardır. Lazer ışını görünmediğinden ve metal gibi yansıtıcı yüzeylerden de yansıdığı için bu risk artar. Bazı durumlarda da lazer endotrakeal tüpte yanma ve cilt yanıkları gibi önemli komplikasyonlara yol açabilir.

Lazer gözde sulanma, ağrı, batma, görme bozukluğu veya kalıcı kayıplara yol açabilir. Bu yüzden kullanılacak olan lazer için özel olarak üretilmiş koruyucu gözlük kullanımı şarttır. Lazer ışığının çıkış noktasına gözlük kullanılsa bile bakılmamalıdır.

İçeriğinde toksik gazlar, bakteriyel sporlar, kanser hücreleri ve bazı virüsler bulunabileceği için lazer dumanına da dikkat edilmeli ve çalışılan oda iyi havalandırılmalıdır. Lazer cihazıyla çalışıldığı sırada odanın kapısı mutlaka kapalı olmalı ve lazer uyarı levhası mutlaka bulundurulmalıdır.

Cihazın bakımı teknisyenler tarafından düzenli bir şekilde gerçekleştirilmeli ve odada gaz veya elektrik kaçağı olmamasına dikkat edilmelidir (182).

4.24 Kök Kanal Sistemleri İçinde Lazerler: Sorunlar ve Kısıtlamalar

Lazerlerin kök kanallarında kullanımında göz ardı edilemeyecek bir dizi kısıtlama vardır. Lazer ışığı optik bir fiber veya lazer rehberinin ucundan düz bir çizgide salınır (183). 200 µm veya daha geniş çaplı ucu olan optik bir fiber kök kanal kurvatüründe kanalın daha derin alanlarına kolaylıkla uygulanabilmektedir.

Optik bir fiber kullanıldığında lazer ışığının kök kanalının bütün iç yüzeyine etki etmesi için apikalden koronale helikodial bir hareket önerilmektedir. Ancak, bir lazer kullanarak kanal yüzeyinin uniform şekilde irradiye edilmesi imkansız olmasa da zordur. Matsumoto (184) şu olası kısıtlamalara vurgu yapmıştır: Lazerle smear tabakası ve debrisin uzaklaştırılması olasıdır ancak lazer lateral kanal duvarlarına irradyasyon yapmadığından ve düz bir çizgi şeklinde ilerlediğinden dolayı bütün kök kanal duvarlarını temizlemek zordur. Kök kanal duvarlarının daha iyi ekspoz edilebilmesi için irradyasyonun çoğunluğunu lateral duvarlara göndermek için yeni fiber uçları tasarlanmaktadır.

4.25 Lazerlerin kök kanal tedavisi sırasındaki antibakteriyel etkileri

Lazer enerjisinin kök kanal duvarı üzerine bir etkide bulunabilmesi için abzorpsiyonu gereklidir. Her dalgaboyu için abzorpsiyon derecesi farklıdır ve abzorpsiyon spektrumuyla açıklanır (78).

Patojenik mikroorganizmalar kök dentinine 1 mm'den bile daha fazla penetre olabilme yeteneğine sahiptirler; ancak, dezenfekte edici solüsyonlar ancak 100 µm kadar derinliğe ulaşabilirler (150,151). Ek olarak, *E. faecalis* gibi bazı bakteriler intra ve ekstraradiküler biyofilm oluşturma kapasitesine sahiptirler bu şekilde kontrol edilmeleri de zorlaşır (185-187). Genel olarak dental lazerler dentin dokularına daha iyi

penetrasyonlarından dolayı tübüler ağına daha önceden ulaşamayan kısımlarına daha iyi ulaşım sağlarlar (158-160). Moritz ve arkadaşlarının in vitro koşullarda Nd:YAG, Er:YAG ve Ho:YAG lazerin karşılaştırıldığı çalışmalarında taze çekilmiş ve endodontik olarak tedavi edilmiş dişler inokule edilip lazer ışığına maruz bırakılmıştır. Er:YAG bakteriyel eliminasyon açısından en etkili lazer olarak bulunmuş ve genel kullanım açısından da diğer lazer sistemlerinden biraz daha üstün olduğu bildirilmiştir (188).

4.28 Lazer irradyasyonunun periodontal hücreler üzerine sitotoksik etkileri

Lazer sistemlerinin kök kanallarında meydana getirdiği sıcaklık artışı antibakteriyel etkiye sahip olsa da periodontal dokular için endişe kaynağıdır. Bu yüzden değişik lazer sistemlerinin hücre kültürleri üzerindeki etkilerini araştıran birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Hücre kültürlerinin kullanılması başlangıç çalışması için mükemmel bir yöntemdir; çünkü, pH kontrolünü, sıcaklığı O₂ ve CO₂ gerilimi ve örnek karakterizasyonu ve homojenliğin kontrol edilmesine izin vermektedir (189).

Periodontal dokulara zarar verilmemesi için lazer ışığını ileten fiber optik ucun döner hareketi özellikle kökün apikal üçlüsünde dişin soğumasına izin vermektedir. Döner hareket protokolü kökün ulaşamayan noktalarına ışığın ulaştırılmasında en iyi yöntem olarak gösterilmiştir (190,191). Kreisler ve ark 9 mm uzaklıktan 809 nm bir diyet lazerin insan gingival fibroblastları üzerine stimülasyon etkisi olduğunu bildirmiştir (192). Başka bir çalışmada Kreisler ve ark hücre kültürleri üzerine 0.5 mm uzaklıktan bir diyet lazer uygulamış ve yüksek güçte lazerlerin hücre sayılarında azalmaya neden olduğunu belirtmiştir (193).

Dalgaboyu Er:YAG lazerinkine yakın ve 2.78µm olan Er,Cr:YSGG lazerin çekilmiş insan dişlerini prepare edebildiği ve performansının da Er:YAG lazere yakın olduğu bildirilmiştir (168,194).

4.26 Lazer irradyasyonunun termal etkileri

Diş hekimliğinde lazer kullanımında karşılaşılan önemli zorluklardan biri değişik teknik ve dental işlem stratejileriyle kontrol altına alınacak olan ısı üretimidir. Antibakteriyel etkinlik için avantajlı fakat periodontal dokular için tehlikeli olan bu sıcaklık artışlarının belirlenmesi için uygun lazer stratejileri geliştirilmektedir. Bu amaçla termokupllar (195), eliptik aynalar, HgCdZnTe dedektörler(167), ve kızılötesi kameralar (196) periodontal dokular ve mine yüzeyindeki sıcaklık artışını ölçme amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (190).

Lazer destekli kök kanal tedavisi olarak bilinen işlemde lazerin tipine bağlı olarak 10.3 ve 14.4°C arasında bir sıcaklık artışı mevcuttur (197-199). Ancak dentinal dokularda ısı artışının soğutulması sırasında çatlak veya fissürleşme gibi istenmeyen yan etkiler olabilmektedir (200). Aynı zamanda, irradyasyonun termal etkisi ile periodontal ligament ve çevreleyen kemik zedelenebileceği için, lazer ışını sadece kök kanalının iç duvarlarıyla sınırlı kalmalıdır. Lazerlerin klinik uygulaması için yapısal, estetik hasarlar ve işlem sonrası şikayete yol açabilecek mine yüzey karbonizasyonu veya çatlakları gibi morfolojik hasarları önlemek için hassas bir irradyasyon parametresi seçilmelidir (201). Ayrıca, lazer irradyasyonu ile oluşturulan sıcaklık artışı düşünüldüğünde irradiye edilen materyalin termal iletkenliği de göz önünde bulundurulmalıdır (202).

Periodontal dokularda 37°C'ye kadar hiçbir patolojik değişiklik beklenmemektedir. Sıcaklık 46°C'ye yükseldiğinde doku hasarı geri dönüşümlüdür. Doku ve kan proteinleri 60°C'de denatüre olmaktadır (koagülasyon). Dokudaki su 100°C'de buharlaşır. Suyun buharlaşmasından sonra organik moleküller elimine olur, dehidrasyon ve hücre kontraksiyonu, karbonizasyon ve hücre yığınlarında boşluk oluşumuyla lokal doku büzülmesi gerçekleşir. Sonuçta doku buharlaşmasından kaynaklanan delikler ve kesikler şeklinde defektler meydana gelir ve komşu bölgede nekroz bölgesi oluşur (203-208). Vücut sıcaklığından 10°C fazla 1 dakikalık bir artış periodontal ligament hücrelerinde hasara yol açabilmektedir (209). Kemik daha düşük damarlanmaya sahip olduğu için termal hasarlara periodontal ligamentten daha hassastır. Kemik dokusu 47°C seviyesine çıkan sıcaklığa hassastır. Dahası 60°C veya daha yüksek sıcaklıklar kan akışını daimi olarak durdurur ve bariz kemik nekrozu gelişir (210). İn vivo olarak kök kanalı içinde yapılan herhangi bir işlemde olası termal hasardan dolayı kök yüzeyindeki sıcaklık bilinmelidir.

Su spreyli veya su spreysiz Er:YAG lazer irradyasyonu esnasında sıcaklık artışı çekilmiş dişlerin pulpa odalarına termal problemler yerleştirilerek araştırılmıştır. İrradyasyon sırasında su buharının eklenmesi sadece mine ve dentinin hızlı ablasyonunu değil aynı zamanda pulpaya güvenli yaklaşılmasını da sağlamıştır (211). Er:YAG lazerin endodontik tedavide su spreyiyle kullanımında en fazla sıcaklık artışı 2.0°C, su spreyi olmadan 10.7°C olmuştur (212). Kavite preparasyonunda ise su spreyiyle Er,Cr:YSGG lazer irradyasyonu pulpal sıcaklık artışında çok az veya neredeyse hiç

değişiklik meydana getirmemiştir (en fazla 2.0°C yükselme). Bu yüzden bu sistemin zararlı pulpal etkiler göstermeden diş preparasyonları yapmaya izin veren bir lazer sistemi olduğu belirtilmiştir (213-215). Nd:YAG lazer kullanılan diğer bir çalışmada köpeklerin dişlerinde kök kanallarının lazer tedavisi sırasında oluşan ısının periodontal dokunun nekrozu ve sonrasında ankilozla sonuçlandığı (216) ancak insan dişlerinde yapılan mevcut araştırmalara göre (217) Nd:YAG lazerin kök kanallarında kullanıldığında kök yüzeyi sıcaklığındaki ortalama artış periodontal ligament ve çevreleyen kemik için güvenli bulunan maksimum $9.56 \pm 0.28^{\circ}\text{C}$ 'dir (218). Kreisler ve ark'nın en son yayınlanan raporuna göre sıcaklık 3 ölçüm noktasında kanal içinde 1.5, 3.0 ve 4.5 W güçte 200 μm optik fiberli 809 nm dalgaboyunda Galyum Alüminyum Arsenik (GaAlAs) lazerle iradyasyon sırasında kaydedilmiştir (133). Sıcaklık artışları iradyasyon noktasından ölçüm noktasına kadar olan mesafenin kalan dentin kalınlığının sırasıyla 0.5 mm 1 ve 2 mm'de en yüksek olduğu görülmüştür. İradyasyon süreci boyunca 47°C sıcaklık geçilmemiştir (133). Kreisler ve ark kökü çevreleyen dokularda lazer iradyasyonunun absorpsiyonu dahil edilmediği için bu tür in vitro çalışmaların tam olmadığını belirtmişlerdir. Anic ve ark kökün dış yüzeyinde CO_2 lazerle atımlı modda, 0.5 W güçte (0.5 saniye atım genişliği, 10 atım) kanal içi iradyasyonda sıcaklık artışının 19.1°C olduğunu bildirmiştir (219).

Moritz ve ark kök kanalının yarı iletken lazer iradyasyonu ile indüklenen kök yüzeyinde oluşan ısı üretiminin 810 nm, 4 W, 10 ms atım uzunluğu (PL)/10 ms aralık süresi (ID) lazer iradyasyonu ile orantılı olduğunu ortaya koymuştur. Fiber bir noktada 1, 2, ve 3 saniye sabit tutulduğu zaman sıcaklık artışları sırasıyla 6, 12 ve 18°C olarak kaydedilmiştir (131). Bu yüzden fiberin kök kanalında devamlı hareket halinde tutulması gerektiği vurgulanmalıdır. Diğer taraftan, kökün lazerle tedavi edildiği herhangi bir zaman diliminde çalışma ve duraklama süresi diş soğuma için zaman bırakmak için gereklidir.

Saunders sıcaklık artışına ek olarak zaman faktörünün de önemli olduğunu ve sıcaklık düşüşünün in vitro ortamda in vivo ortama daha hızlı olduğunu belirtmiştir (220). Bu yüzden kökü çevreleyen dokuda kabul edilen maksimum sıcaklık artışı 10°C olsa da in vitro ortamda oda sıcaklığında soğuma süresi in vivo ortamda dokunun içindeki duruma göre daha hızlı olduğu için, kök yüzeyinde güvenli sıcaklık artış eşiği 7°C olarak belirlenmiştir (131,221-223). 2 W'lık güç Er,Cr:YSGG lazerde kök kanal

duvarlarında hiç karbonizasyon veya erimeye sebep olmamıştır, ve sonuçta oluşan sıcaklık artışı çevre dokulara zarar verecek derecede bulunmamıştır (165). Liu Nd:YAG lazerle süt dişlerinde pulpotomi gerçekleştirmiş ve daimi dişin mine hipoplazisi veya diğer malformasyonları sergilemediğini göstermiştir (129). Diğer taraftan, Altundaşar ve ark Er,Cr:YSGG lazerle daimi dişlerin kanallarını tedavi ederken termal hasar ve karbonizasyona uğramış alanlar göstermiştir (112). Bu yüzden, özellikle termal hasarla alakalı süt dişlerinde lazer tedavilerinin güvenliği belirlenmelidir. Er,Cr:YSGG lazer irradyasyonunun kök kanallarından debris ve smear tabakasını uzaklaştırmak için sadece su spreyi soğutmasıyla kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Bu bulgu geçmiş bir raporda belirtilen sonuçla aynıdır (168,169). Burkes ve ark'nın çalışmasında da devamlı ince bir su buharıyla Er:YAG lazer irradyasyonu ile mine ve dentinin etkili bir şekilde ablasyonunun sağlandığı bildirilerek su spreyinin önemine vurgu yapılmıştır (211).

4.27 Kök kanallarında lazer irradyasyonunun morfolojik etkileri

Endodontik kullanıma uygun değişik tipte lazerler kullanıldığında oluşan ultrastrüktürel değişimler birkaç çalışmada detaylı olarak anlatılmıştır (224-226). Altundaşar ve ark'nın çalışmasında SEM incelemesinde Er,Cr:YSGG lazerin kök kanallarında bazı bölgelerde erime, füzyon ve karbonizasyon oluşturduğu gözlenmiştir (112).

Soares ve ark'nın çalışmasında 35 tek köklü süt dişi üzerinde Er,Cr:YSGG lazer terapisinin kök kanal duvarlarının temizliği üzerine etkinliği geleneksel ve döner aletlerle preparasyonla karşılaştırılmıştır (13). Hiçbir tekniğin kök kanallarını tamamen temizleyemediği ve Er,Cr:YSGG lazerin ise döner aletle preparasyona benzer ancak manuel enstrumentasyona üstün olduğu bildirilmiştir. Ayrıca çalışmada lazer tekniğinin hem döner aletlerle hem de manuel enstrumentasyondan daha kısa sürede işlemin tamamlanmasına izin verdiği belirtilmiştir. Schoop ve ark ise Er,Cr:YSGG lazerin kök kanal duvarlarından smear tabakası ve debrisini uzaklaştırıp dentin tübül ağzlarını açabileceğini göstermişler ancak aşırı bir ablasyon gözlememelerine rağmen kanal genişletmesi amacıyla kullanıldığında perforasyonlara yol açılabileceğini belirtmişlerdir (227). Nd: YAG, CO₂ ve argon lazerlerin enerji seviyesi ve süresini değiştirerek debrisini buharlaştırma kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir. (228) Örneğin, 5 W güçte CO₂ lazer irradyasyonu kök kanal duvarlarını temizleme yönünden 2 W güçte Nd:YAG lazer

irradiasyonundan daha etkili bulunmuştur (229,230). Argon ve Nd:YAG lazerler kök kanal duvarlarından debris ve smear tabakasını kaldırmada kullanışlıdır (231). Er:YAG lazerin de debris uzaklaştırılmasında etkili bir cihaz olduğu gösterilmiştir (232). Nd:YAG ve Argon lazerlerle karşılaştırıldığında Er:YAG lazer su ve hidroksiapatitte yüksek etkili absorpsiyonundan dolayı smear tabakasını kaldırmada en iyi performansı göstermiştir (225,233).

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu tez çalışması Karadeniz Teknik Üniversitesi (K.T.Ü) Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı, K.T.Ü Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı, K.T.Ü Makine Mühendisliği Anabilim Dalı ve K.T.Ü ATİ Teknoloji laboratuvarında yapılmıştır.

Bu tez çalışması;

- Antimikrobiyal etkinlik
- Sitotoksik etki
- Sıcaklık artışının değerlendirilmesi
- SEM analizi olmak üzere 4 aşamada gerçekleştirilmiştir:

1. Antimikrobiyal aşamada *E. faecalis* ve *Candida albicans* (*C. albicans*) suşları ile enfekte edilen alt süt ikinci azı dişlerinin distal köklerinde dezenfeksiyon amacıyla uygulanan Erbium, Chromium: Yttrium Scandium Gallium Garnet (Er,Cr:YSGG) lazer, %2.5'lik Sodyum Hipoklorit (NaOCl) ve %2'lik klorheksidin glukonatın (CHX) antibakteriyel etkinlikleri karşılaştırıldı,
2. Sitotoksikite aşamasında Er,Cr:YSGG lazerin iradiye edilen insan periodontal ligament hücreleri üzerine sitotoksik etkileri [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)]-2,5-difeniltetrazolyum bromid (MTT) analiziyle incelendi,
3. Sıcaklık artışının değerlendirilmesinde Er,Cr:YSGG lazerin iradiyasyon sırasında kök kanalları ve çevresinde oluşturduğu sıcaklık artışı termal kamerayla değerlendirildi,
4. SEM analizinde Er, Cr: YSGG lazerin kök kanallarında meydana getirdiği morfolojik değişimler tarama elektron mikroskobu (SEM) ile değerlendirildi.

5.1 Antimikrobiyal etkinlik aşaması

5.1.1 Dişlerin seçimi ve hazırlanması

Çalışmanın mikrobiyolojik aşamasında; 6-10 yaş arasındaki bireylere ait kök anomalisi ve rezorpsiyonu olmayan ortodontik amaçla çekilmiş kök rezorpsiyonu kökün 1/3'ünü geçmemiş 120 adet alt süt ikinci azı dişi kullanıldı. Dişler çekildikten sonra steril serum fizyolojik solüsyonu içinde bekletildi ve kök yüzeylerindeki organik artıkların uzaklaştırılması için 30 dakika %5.25'lik NaOCl solüsyonu içinde tutuldu. Organik artıkların uzaklaştırılmasını takiben dişler tekrar serum fizyolojik içinde işlem başlayıncaya kadar saklandı. Radyolojik olarak kök kanallarında herhangi bir tıkanıklık olmayan ve klinik olarak çift kıvrım veya "S" şeklinde kanal bulundurmeyen, kök ve kron boylarının benzer olduğu ve 10 no'lu kanal eğesinin apikal foramene ulaşabildiği

dişler çalışmaya dahil edildi. Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Etik Kurul Başkanlığı'nın 5.21.2012 tarihli 2012-76 sayılı kararıyla onaylanmıştır

5.1.2 Mikroorganizma suşları

Çalışmada oral patojenleri temsilen *E. faecalis* ATCC 29212 (American Type Culture Collection) bakteri ve *C. albicans* ATCC 60193 mantar suşu kullanıldı.

5.1.3 Çalışmada kullanılan besiyerleri

Mikroorganizmaların üretimi ve test aşamasında kullanılmak üzere liyofilize besiyerlerinden prospektüsünde belirtilen oranlar (Tablo 2) rehberliğinde kültür ortamları hazırlandı.

Tablo 2. Kullanılan besiyerleri, oranlar ve katkıları

Besiyeri	Hazırlanışı (g/L)	EK (%)	Kaynağı
Kanlı Agar (KA)	40	5 kan	Merck, Darmstadt, Almanya
Tryptic Soy Broth (TSB)	30	-	Merck, Darmstadt, Almanya
Mueller-Hinton Agar (MHA)	34	-	Merck, Darmstadt, Almanya
Sabouraud %2 Dextrose Agar (SDA)	65	-	Merck, Darmstadt, Almanya
Sabouraud %2 Dextrose Broth (SDB)	30	-	Merck, Darmstadt, Almanya

Kısaca, Tablo 2’de verilen oranlar gözönünde bulundurularak toz besiyeri hassas terazide (Sartorius, *Göttingen, Almanya*) tartıldı. Oran ölçüsünde distile su eklendi. Katı besiyerleri kaynar su banyosu (Mommert, *Schwabach, Almanya*) içinde ara sıra karıştırarak agar tamamen çözünene kadar bekletildi. Sıvı besiyerleri ise manyetik karıştırıcı (Stuart, Staffordshire, İngiltere) kullanılarak çözüldü.

Besiyerleri otoklavda 121°C’de, 1 atm basınçta, 15 dakika tutularak steril edildi.

Kanlı agara, sıcaklığı 45-50°C’ye düşünce % 5 oranında insan kanı katıldı. Besiyerleri, Pastör fırınında (Nüve, Ankara, Türkiye) 175°C’de 1 saat bekletilerek steril

edilmiş 90 mm çapındaki cam petrilere 4 mm kalınlıkta olacak şekilde döküldü. Besiyerleri kullanılıncaya kadar buzdolabında kapaklı kutularda saklandı.

5.1.4 Mikroorganizmaların üretilmesi

Saklama kabından çıkarılan mikroorganizma stoğunu içeren vialler oda ısısında çözüldü. *E. faecalis* kanlı agar; *C. albicans* SDA besiyerine tek koloni ekimleri yapıldı ve petrilere inkübatöre kaldırıldı. Üreme gerçekleştiğinde koloni görünüşleri ve boyanma özellikleri değerlendirilerek stoktaki mikroorganizmayı temsil ettiğine karar verilen birer koloni 20ml TSB (*E. faecalis* için) ve SDB (*C. albicans* için) besiyerine aktarıldı. Bulanıklığı McFarland 0.5 oluncaya kadar inkübe edildi. McFarland 0.5 bulanıklığındaki mikroorganizma süspansiyonlarından üzerleri etiketli steril viyallere 1'er ml aktararak -80°C'ye kaldırıldı.

Mikroorganizma stoklarının kalite kontrolleri için bir gün sonra -80°C'deki stok viallerden biri çıkarıldı ve oda ısısında çözüldü. Steril 8 adet 1.5ml'lik santrifüj tüpüne 0.9'ar ml steril fosfat tamponlu tuzlu su (phosphate buffered saline, PBS) aktarıldı. Stok vialden 100 µl'yi ilk tüpe koyup vortekslemek (Janke&Kunkel, Staufen, Almanya) ve bir sonrakine 100µl pipetlemek suretiyle mikroorganizma stok solüsyonlarının sulandırımı hazırlandı. Bu sulandırmalardan *E. faecalis* için kanlı agar, *C. albicans* için SDA besiyerine 10'ar µl yaygın ekim yapılarak petrilere inkübe edildi. Üremenin ardından stoktaki mikroorganizmanın cfu/ml (colony forming unit/ml) olarak miktarı ve saflığı değerlendirildi.

5.1.5 Mikroorganizma süspansiyonlarının hazırlanması

Deneyin hemen öncesinde -80°C'deki stok mikroorganizma viallerinden biri çıkarıldı ve oda ısısında çözüldü. Vorteksledikten sonra bu solüsyondan uygun (*E. faecalis* için TSB, *C. albicans* için SDB) 2 ml sıvı besiyerine 1ml pipetlendi ve bulanıklığı McFarland 0.5 oluncaya kadar inkübe edildi (yaklaşık 2 saat). Üreme bulanıklığı McFarland 0.5'i geçmişse sıvı besiyeri eklenip McFarland 0.5 (yaklaşık *E. faecalis* için 1.5×10^8 , *C. albicans* için $1-5 \times 10^6$ mikroorganizma/ml) bulanıklığına ulaşıldı.

5.1.6 Fosfat tamponlu tuzlu su (phosphate buffered saline, PBS) hazırlanması

Fosfat tamponlu tuzlu su, tablet halindeki ticari üretimden (Oxoid, Hampshire, İngiltere) hazırlandı. Bir tablet 100 ml distile suda çözüldü, otoklavda 121°C'de, 1 atm basınçta, 15 dakika tutularak steril edildi.

5.1.7 Kök kanallarının hazırlanması

Dişler standardize preparasyon tekniği kullanılarak son eğe 35 numara olacak şekilde step back tekniğiyle genişletildi ve her eğe değişiminde kanallar 10 ml %2.5'lik NaOCl ile irigasyona tabi tutuldu. Preparasyonun tamamlanmasını takiben smear tabakasının uzaklaştırılması için 1 mL %17'lik etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) 3 dakika boyunca kanallarda bekletildi. Kanallardaki EDTA'nın uzaklaştırılması için de 3 dk boyunca %2.5'lik NaOCl bekletildi, bu solüsyonların etkilerini nötralize etmek için de son olarak kanallar 10 ml serum fizyolojik ile 1 dakika süreyle yıkandı. Daha sonra dişler akrilik bloklara gömüldü, 12'şerli gruplar halinde metal taşıyıcılara yerleştirildi ve otoklavda 121°C'de, 1 atm basınçta, 15 dakika tutularak steril edildi (Resim 1).



Resim 1. Akrilik içerisine gömülmüş alt süt ikinci azı dişleri.



Resim 2. Etüve yerleştirilmeye hazır deney örnekleri

5.1.8 Kök Kanallarının *E.faecalis* ile enfekte edilmesi

Dişlerin kök kanallarını *E. faecalis* ATCC 29212 suşu ile enfekte etmek için yeni hazırlanmış McFarland 0.5 bulanıklığındaki bakteri süspansiyonundan 10'ar µl bir otomatik pipet ile kanallara aktarıldı. Yirmi numara K file kanal aleti kullanılarak bakterilerin apikal bölgeye kadar ulaşması sağlandı. Kök kanallarının girişi öjenolsüz bir pat olan geçici dolgu maddesi (Coltosol F, Altstätten, Switzerland) ile kapatıldı. Dişlerin kurummasının engellenmesi için tabanlarıda nemlendirilmiş pamuk bulunan küvetler içinde 37°C'deki etüvde 24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kök kanalları açılarak tekrar 10 µl yeni hazırlanmış bakteriyle infekte edildi ve aynı koşullarda 24 saat daha inkübe edildi (Resim 2).

E. faecalis'e ait negatif kontrol grubundaki dişlerin kanallarına sadece 10 µl steril TSB uygulandı (bakteri verilmedi).

5.1.9 Dezenfeksiyon işlemlerinin gerçekleştirilmesi

5.1.9.1 Kontrol grupları

Negatif kontrol grubu

İnkübasyon sonunda geçici dolgu kaldırıldı. Bu grupta herhangi bir dezenfeksiyon işlemi uygulanmadı. Kök kanalı steril PBS ile ıslatıldı. Kanala kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1ml steril PBS içine aktarıldı.

Serum fizyolojik grubu

İnkübasyon sonunda geçici dolgu kaldırıldı. Kök kanalları 3 ml serum fizyolojikle irrigate edildi. Kök kanalı steril PBS ile ıslatıldı. Kanala kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı. Sonrasında steril serum fizyolojik ile kök kanalı yıkandı, yeni bir kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı.

5.1.9.2 Çalışma grupları

NaOCl grubu

İnkübasyon sonunda geçici dolgu kaldırıldı. Kök kanalı steril PBS ile ıslatıldı. Kanala kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı. Kök kanalları 3 ml %2.5'lik NaOCl ile toplam 15 dakika temas halinde kalacak şekilde irrigate edildi ve PBS ile nötralize edildi.

Yeni bir kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı.

CHX glukonat grubu

İnkübasyon sonunda geçici dolgu kaldırıldı. Kök kanalı steril PBS ile ıslatıldı. Kanala kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı. Kök kanalları 3 ml %2 CHX glukonat ile 15 dk temasta kalacak şekilde irrigé edildi ve PBS ile nötralize edildi. Yeni bir kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı.

Er,Cr:YSGG grubu

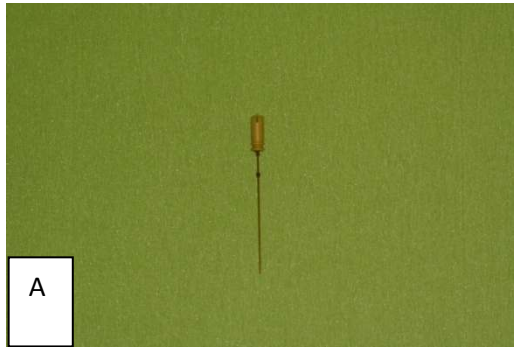
İnkübasyon sonunda geçici dolgu kaldırıldı. Kök kanalı steril PBS ile ıslatıldı. Kanala kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı. Sonrasında aktive edilen Er,Cr:YSGG (Waterlase Biolase MD) (Resim 3, 4) lazer başlığının 200 µ'luk fiber optik ucu kökün en apikalinden 2 mm kısa çalışılacak şekilde yerleştirildi (resim 5, 6). Üretici firmanın dezenfeksiyon için önerileri doğrultusunda Er,Cr:YSGG lazer 0.75 W gücünde %25 su spreyi, %35 hava modunda aktive edildi ve bir periyot 10 saniye uygulama 10 saniye dinlenme olacak şekilde 3 periyot halinde uygulandı ve kök kanalı devamlı bir şekilde apikalden koronale yavaş ve dairesel hareketlerle irradiye edildi. Daha sonra kök kanalı PBS ile nötralize edildi. Yeni bir kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı.



Resim 3. Çalışmada kullanılan Waterlase Biolase MD cihazının görünümü



Resim 4. Çalışmada kullanılan Waterlase Biolase MD cihazının kontrol panelinin görünümü



Resim 5. 200 µ'luk fiber optik lazer ucu.



Resim 6. Er,Cr:YSGG Lazer başlığı

5.1.10 Bakterilerin sayılması

Steril 1.5 ml'lik santrifüj tüplerine 0.9'ar ml steril PBS pipetlendi. İçlerinde kağıt kon bulunan 1.5ml'lik santrifüj tüpleri iyice vortekslenerek bakterinin sıvı ortama geçişi sağlandı. Bu tüplerden 100'er µl 0.9 ml PBS içeren tüplerden pipetlendi (10^{-1} sulandırım tüpü) ve üzerine ilgili bulunduğu örnek grubu ve numarası yazıldı. Stok örnek tüpü ve 10^{-1} sulandırım tüpünden 10'ar µl MHA besiyerlerinin yüzeylerine pipetlendi ve yayıldı. Petriler 37°C 'de 18 saat inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayıldı. Öncelikle stok örnek tüpünden yapılan ekimde oluşan koloniler sayıldı ve elde edilen rakam 100 ile çarpılarak kağıt kon ile kanaldan toplanan bakteri sayısı belirlendi. Eğer bu ekimde oluşan koloniler sayılamayacak kadar yoğunsa 10^{-1} sulandırım tüpünden yapılan ekimdeki üremeler sayıldı ve çıkan rakam 1000 ile çarpıldı.

5.1.11 Kök Kanallarının *C.albicans* ile enfekte edilmesi

Dişlerin kök kanallarını *C. albicans* ATCC 60193 suşu ile enfekte etmek için yeni hazırlanmış McFarland 0.5 bulanıklığındaki maya süspansiyonundan 10'ar µl bir otomatik pipet ile kanallara aktarıldı. Yirmi numara K file kanal aleti kullanılarak mayaların apikal bölgeye kadar ulaşması sağlandı. Kök kanallarının girişi geçici dolgu maddesi (Coltosol F, Altstätten, İsviçre) ile kapatıldı. Dişlerin kurumasının engellenmesi için tabanları da nemlendirilmiş pamuk bulunan küvetler içinde 37°C 'deki etüvde 24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kök kanalları açılarak tekrar 10 µl yeni hazırlanmış maya süspansiyonuyla enfekte edildi ve aynı koşullarda 24 saat daha inkübe edildi.

C. albicans'a ait negatif kontrol grubundaki dişlerin kanallarına sadece 10 µl steril TSB uygulandı (bakteri verilmedi).

5.1.12 Dezenfeksiyon işlemlerinin gerçekleştirilmesi

5.1.12.1 Kontrol grupları

Negatif kontrol grubu

İnkübasyon sonunda geçici dolgu kaldırıldı. Bu grupta herhangi bir dezenfeksiyon işlemi uygulanmadı. Kök kanalı steril PBS ile ıslatıldı. Kanala kağıt kon yerleştirildi ve 10sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1ml steril PBS içine aktarıldı.

Serum fizyolojik grubu

İnkübasyon sonunda geçici dolgu kaldırıldı. Kök kanalı steril PBS ile ıslatıldı. Kanala kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1ml steril PBS içine aktarıldı. Kök kanalları 3 ml serum fizyolojikle irige edildi ve yeni bir kağıt kon yerleştirilip 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı.

5.1.12.2 Çalışma grupları

NaOCl grubu

İnkübasyon sonunda geçici dolgu kaldırıldı. Kök kanalı steril PBS ile ıslatıldı. Kanala kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı. Kök kanalları 3 ml %2.5'lik NaOCl ile toplam 15 dakika temas halinde kalacak şekilde irrige edildi ve PBS ile nötralize edildi. Yeni bir kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı.

CHX glukonat grubu

İnkübasyon sonunda geçici dolgu kaldırıldı. Kök kanalı steril PBS ile ıslatıldı. Kanala kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı. Kök kanalları 3 ml %2 CHX glukonat ile 15 dakika temasta kalacak şekilde irrige edildi ve PBS ile nötralize edildi. Yeni bir kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı.

Er, Cr: YSGG grubu

İnkübasyon sonunda geçici dolgu kaldırıldı. Kök kanalı steril PBS ile ıslatıldı. Kanala kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı. Sonrasında Er,Cr:YSGG lazerin 200 µ'luk

fiber optik ucu kökün en apikaline yerleştirildi. Lazer aktive edildi ve kök devamlı bir şekilde apikalden koronale yavaş ve dairesel hareketlerle irradiye edildi. On saniye irradyasyon 10 saniye dinlenme olacak şekilde 3 periyot halinde irradyasyon tamamlandı. Daha sonra kök kanalı PBS ile nötralize edildi. Yeni bir kağıt kon yerleştirildi ve 10 sn beklendi. Çıkarılan kağıt kon 1.5 ml'lik santrifüj tüplerindeki 1 ml steril PBS içine aktarıldı.

5.1.13 Mayaların sayılması

Steril 1.5 ml'lik santrifüj tüplerine 0.9'ar ml steril PBS pipetlendi. İçlerinde kağıt kon bulunan 1.5 ml'lik santrifüj tüpleri iyice vortekslenerek mayaların sıvı ortama geçişi sağlandı. Bu tüplerden 100'er µl 0.9 ml PBS içeren tüplerden pipetlendi (10^{-1} sulandırım tüpü) ve üzerine ilgili bulunduğu örnek grubu ve numarası yazıldı. Stok örnek tüpü ve 10^{-1} sulandırım tüpünden 10'ar µl MHA besiyerlerinin yüzeylerine pipetlendi ve yayıldı. Petriler 37°C'de 18 saat inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayıldı. Öncelikle stok örnek tüpünden yapılan ekimde oluşan koloniler sayıldı ve elde edilen rakam 100 ile çarpılarak kağıt kon ile kanaldan toplanan *C.albicans* sayısı belirlendi. Eğer bu ekimde oluşan koloniler sayılamayacak kadar yoğunsa 10^{-1} sulandırım tüpünden yapılan ekimdeki üremeler sayıldı ve çıkan rakam 1000 ile çarpıldı.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan örneklerin gruplara dağılımı

Antimikrobiyal etkinlik	%2.5 NaOCl	%2 CHX glukonat	Er,Cr:YSGG lazer (0.75 W, %35 su, %25 hava)	Serum fizyolojik	Negatif kontrol
<i>E. faecalis</i> (n)	12	12	12	12	12
<i>C. albicans</i> (n)	12	12	12	12	12
Sitotoksik etki*	-	0.75 W	1.5 W	3 W	4 W
HKV (+) (n)	-	6	6	6	6
HKV (-) (n)	-	6	6	6	6
Kontrol (n)	6				
Sıcaklık artışı aşaması	Su spreji (+) (n)	16			
	Su spreji (-) (n)	16			
SEM analiz aşaması	Su spreji (+) (n)	5			
	Su spreji (-) (n)	5			

HKV: Hücre kültür vasatı, Su spreji (+): Su sprejli iradyasyon, Su spreji (-): Su spreysiz iradyasyon.

*Sitotoksik etkinin incelendiği aşamada kullanılan periodontal ligament hücreleri sağlıklı bir bireyden gömüklük sebebiyle çekilmiş bir adet üçüncü molar dişinden izole edilerek çoğaltılmıştır.

5.2 Sitotoksikite aşaması

Çalışmanın sitotoksik etki inceleme aşamasında herhangi bir sağlık problemi olmayan bireylerden ortodontik amaçlarla çekilmiş üçüncü molar dişlerden alınan periodontal ligament örneklerinden üretilmiş olan fibroblast hücreleri 96 kuyucuklu pleytlere ekildi ve daha sonra Er,Cr:YSGG lazerin çeşitli dozlarda ortam sıvısı varken ve yokken uygulanmasını takiben dansite ölçüm yöntemiyle MTT analizi Antimikrop Test Laboratuvarı, Trabzon'da gerçekleştirildi.

5.2.1 Periodontal ligament hücre kültürü

Gömüklük sebebiyle çekilen üçüncü molar diş, doku nakil solüsyonu (100 ünite/mL penisilin, 100 µg/mL streptomisin, 50 µg/mL fungizon ve %1 FBS katkılı DMEM) içerisinde hemen (<30 dakika) laboratuara ulaştırıldı. Periodontal ligament (PDL) doku eldesi için diş, laminar flow kabinet içerisinde steril bir petri kabına aktarıldı ve 2 kez doku nakil solüsyonu ile yıkandı. Somerman ve ark tarafından tarif edildiği şekilde dişin orta sınır hattı steril bir bistürinin ucu kazınarak 1-2 mm ebadında periodontal ligament doku parçacıkları elde edildi (234). Ligament parçacıkları iğne ucuyla alınarak doku nakil solüsyonu içeren yeni bir petri kabına aktarıldı. Steril bisturi ile ligament doku parçaları daha küçük parçalara ayrıldı ve daha sonra her bir doku parçası iğne ucu ile alınarak 25 cm² yüzey alanı olan hücre kültür plastik kabının (T25) iç tabanına 2-3 santimetre ara ile yerleştirildi. Doku parçaları bu şekilde 15-20 dakika 37⁰C, % 5 CO₂ hücre kültür etüvünde bekletildi. Daha sonra doku parçalarının üzerine dikkatlice hücre kültür vasatı (HKV; 100 ünite/mL penisilin, 100 mg/mL streptomisin ve %20 fetal dana serumu (FDS) içeren Dulbecco's modified essential medium (DMEM) ilave edildi. Kültür kabı tekrar etüve kaldırıldı ve haftada 2 kez vasat değiştirilerek inkübe edildi ve 2-3 günde bir kültür kabı hücre üremesi olup olmadığı yönünden invert mikroskop altında takip edildi. PDL dokusundan iğsi fibroblast türünde hücreler kültür kabı tabanına doğru filizlenmeye başladığında HKV % 10 FDS içeren HKV ile değiştirilerek takip edildi. Doku parçalarından filizlenen hücre tabakası yeterli bir alan oluşturulduğunda HKV uzaklaştırıldı ve kültür kabı tabanı fosfat tamponlu tuzlu su (Phosphate Buffered Saline: PBS) ile 3 kez nazıkçe yıkandı. Son PBS uzaklaştırıldıktan sonra hücreler üzerine %0.05 tripsin/EDTA solüsyonu ilave edildi (tripsinizasyon) ve hücrelerin kültür kabı tabanından ayrılarak süspansiyon haline gelmesi sağlandı. Tripsin inaktivasyonu için %10 FDS içeren HKV ilave edilerek

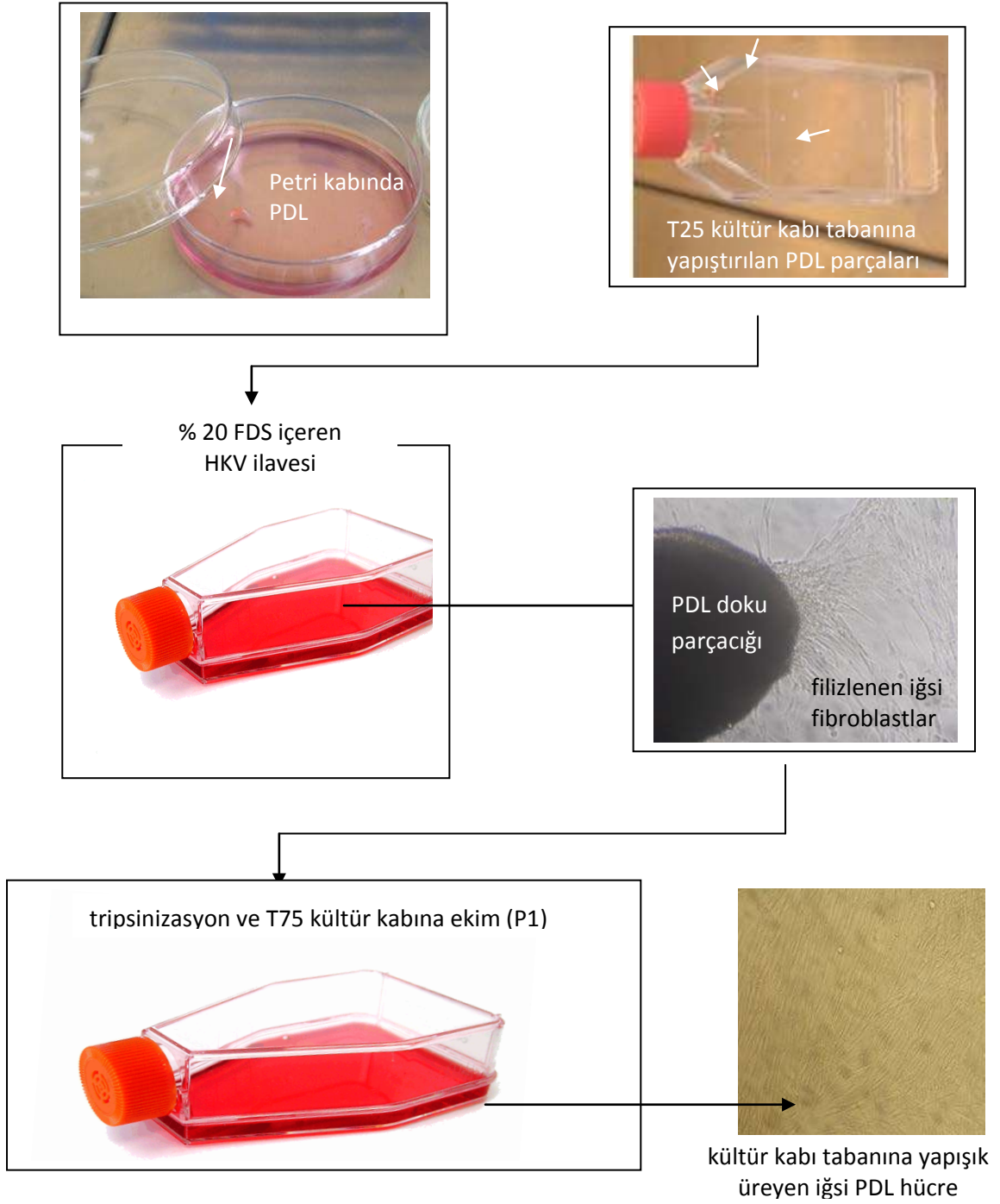
hücreler steril pastör pipeti yardımıyla kültür kabından uzaklaştırılarak steril bir tüpe aktarıldı. 1500 rpm devirde santrifüj edildikten sonra üst kısmı atılıp dipte biriken hücreler taze %10 FDS içeren HKV ile süspanse edildi ve T75 hücre kültür kabına aktarıldı (pasaj 1; P1). Hücre üremesi kültür kabı tabanının %80-90'ını kapladığında tekrar tripsinizasyon uygulandı ve elde edilen hücreler 4 adet T75'e ekildi (pasaj 2; P2). Pasaj 2 hücre çoğalması gerçekleştiğinde hücreler tekrar kaldırıldı ve bir kısmı % 10 dimetil sülfoksit (DMSO), %20 FDS içeren DMEM içerisinde viallere bölüştürülerek -196°C sıvı nitrojen buhar fazında dondurularak saklamaya alındı. Hücrelerin bir kısmı yukarıdaki gibi tekrar T75 kültür kaplarına ekildi ve çoğalmaya bırakıldı (pasaj 3; P3) (resim 7).

5.2.2 Periodontal ligament hücrelerinin lazer uygulama için hazırlanması

Çalışmada kullanılmak üzere hücreler (P3) tripsinizasyonla kaldırıldı ve %10 FDS içeren HKV vasatı içerisinde mililitresinde 1×10^5 olacak şekilde süspanse edildi. Daha sonra hücreler 8 kanallı pipet yardımıyla 96 kuyucuklu hücre kültür kabına, her bir kuyucuğa 0.1 ml olacak şekilde (10.000 hücre/kuyucuk) dağıtıldı. 37°C , %5 CO₂ hücre kültür etüvünde 48-72 saat hücre üremesi %80-90 olana kadar bekletildi. Hazır olduğunda lazer uygulaması için dışarı çıkartılarak kısa süre içerisinde kullanıldı.

5.2.3 Sitotoksitesite testi

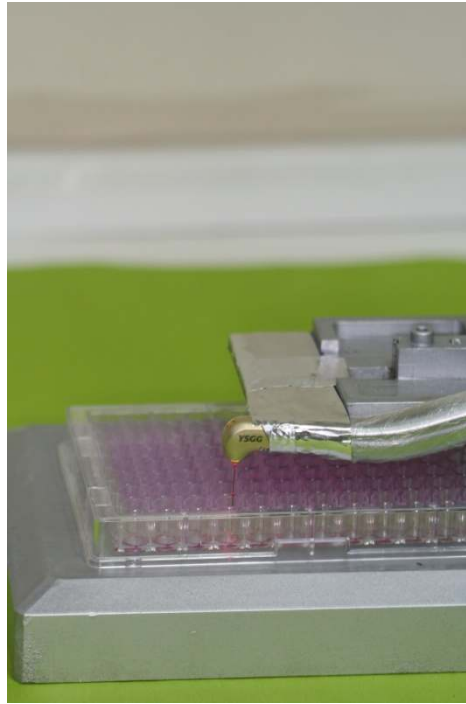
Lazer uygulamasının PDL hücreleri üzerine toksik etkisi [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)]-2,5-difeniltetrazolyum bromid (MTT) maddesi (Sigma) ile Mosmann ve Chang tarafından tarif edildiği şekilde değerlendirildi (235,236). Bu yöntemde canlı hücreler tarafından tetrazolyum tuzu olan MTT boyasının indirgenmesi özelliğinden yararlanılır. Canlı hücreler mitokondriyal enzimleriyle MTT boyasının tetrazolyum halkasını parçalayarak sarı renkli MTT boyası mor renkli formazan ürününe dönüştürülür. Hücre içerisinde tutulan formazan kristalleri dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözündürüldüğünde oluşan renk yoğunluğu 550 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür. Renk yoğunluğu ortamdaki canlı hücre sayısı ile orantılıdır .



Resim 7. Periodontal ligament (PDL) hücre kültür aşamaları

MTT kullanarak lazer uygulamasının PDL hücreleri üzerine toksik etkileri, yukarıda tarif edildiği şekilde hazırlanan 96-kuyucuklu kültür kaplarında üretilen tek tabaka hücreler üzerinde kültür vasatı varlığında ve yokluğunda olmak üzere 2 şekilde test edildi.

Hücreler üzerinde kültür vasatı varlığında lazer uygulamasında kuyucuk içerisindeki vasat (~0.1 ml) uzaklaştırılmaksızın 0.75, 1.5, 3 ve 4W güçlerde lazer uygulaması yapıldı. Bu maksatla lazer probu kuyucuk içerisine kuyucuk merkezi hizasında ve sıvı ile temas etmeyecek şekilde yerleştirildi ve 10 saniye süre ile ışıma her bir lazer dozu için 6 kuyucuğa olacak şekilde uygulandı (Resim 8).

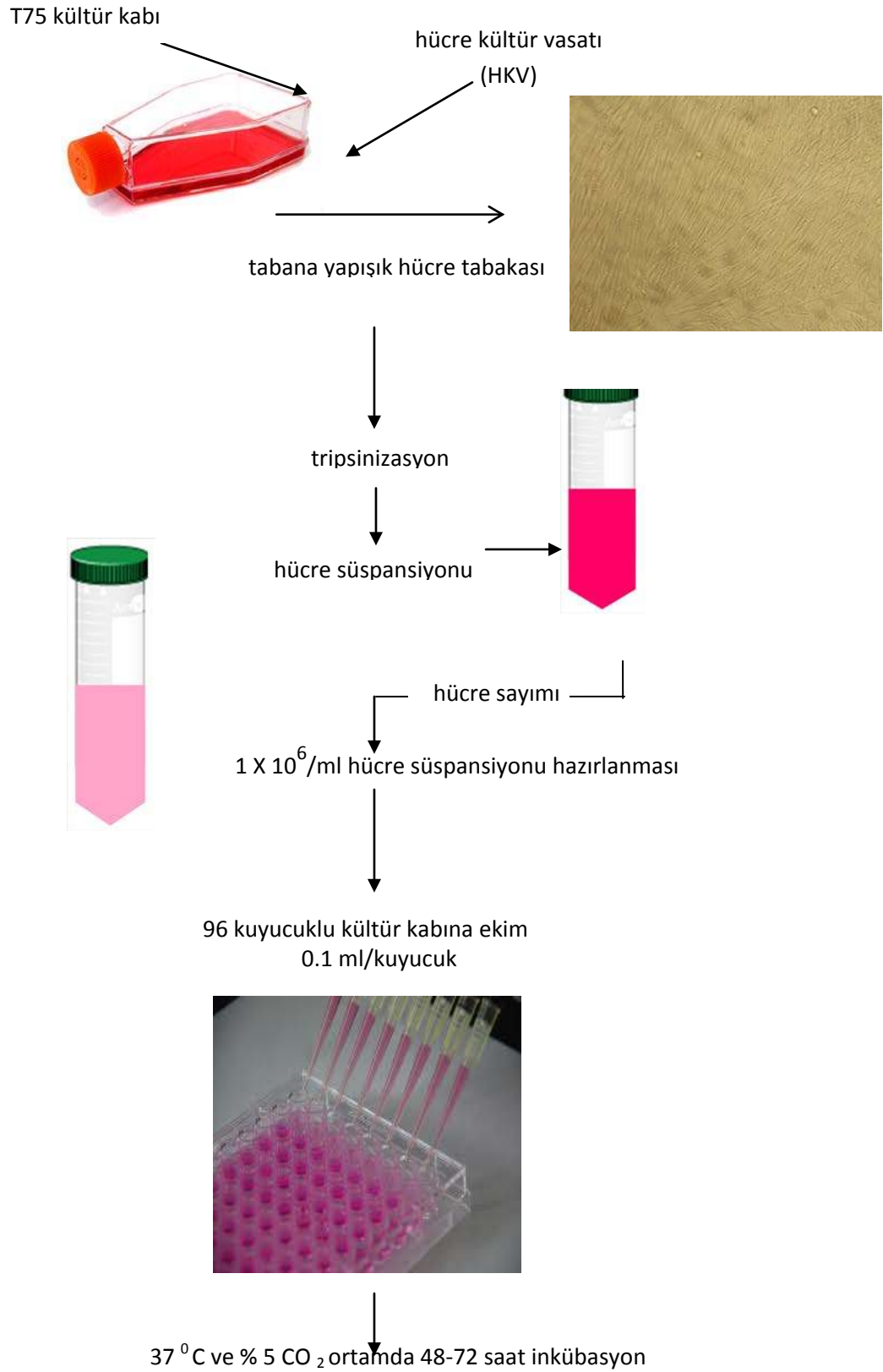


Resim 8. Periodontal ligament hücresi ekilmiş 96 kuyucuklu kültür plaklarına Er,Cr:YSGG lazer uygulanmasının görünümü

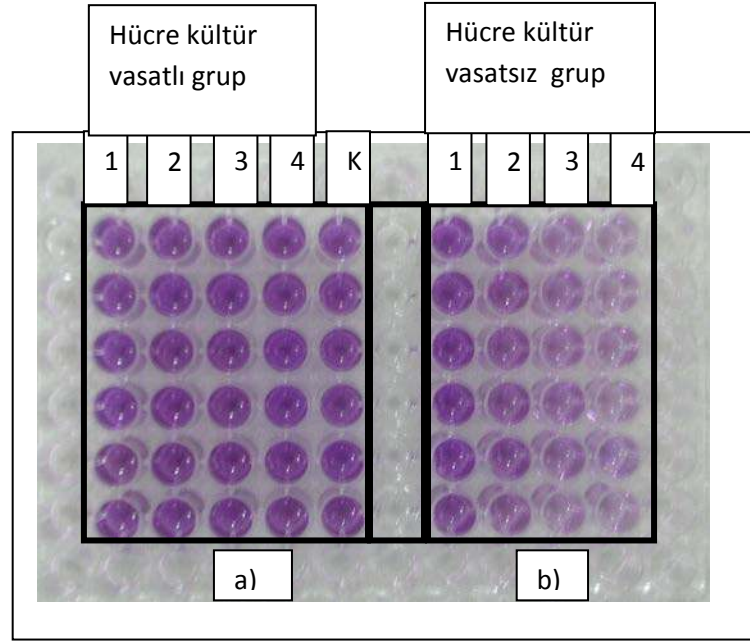
Hücreler üzerinde kültür vasatı uzaklaştırılarak lazer uygulamasında ise kuyucuk içerisindeki vasatın (~0.1 ml) 0.090 mililitresi mikropipet yardımıyla uzaklaştırıldı ve lazer probu tarif edildiği şekilde yerleştirilip uygulama yapılır yapılmaz uzaklaştırılan sıvı tekrar yerine bırakıldı. 10 saniye süre ile ışıma her bir lazer dozu için 6 kuyucuğa olacak şekilde uygulandı.

Lazer uygulama sonrasında kültür kabı derhal 37°C %5 CO₂ etüve kaldırıldı ve 30 dakika sonra kuyucuklara 10'ar ml MTT solüsyondan (son konsantrasyon 0.5 mg/ml) eklendi ve kültür kabı tekrar etüve 3 saat süre ile kaldırıldı (resim 9). Süre bitiminde kültür kabı içeriği boşaltıldıktan sonra kuyucuklarda kalan sıvı da kültür kabı alt

kısından tutularak kâğıt peçete üzerine hafifçe vurmak suretiyle giderildi. Canlı hücreler tarafından metabolize edilip hücre içinde tutulan formazan kristallerinin çözünmesi için kuyucuklara 100'er µl DMSO eklendi ve kültür kabı sallayıcı üzerinde 15 dakika çalkalandı. Mikroskop altında hücre içi boya kristallerinin tamamen eridiği kontrol edildikten sonra renk yoğunluğu ELISA okuyucusunda 550-630 nm dalga boyunda ölçüldü (resim 10).



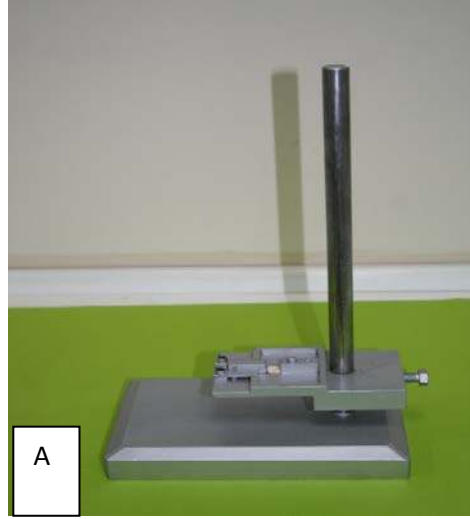
Resim 9. Periodontal ligament (PDL) hücrelerin lazer uygulama için hazırlanması



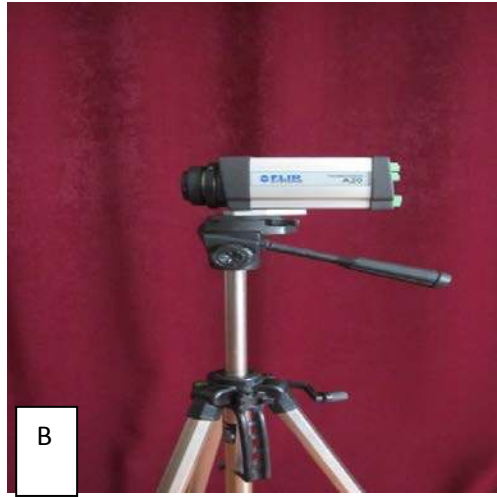
Resim 10. MTT ile sitotoksosite testi. Kuyucuklardaki hücreler üzerinde 0.1 ml hücre kültür vasatı olduğunda (a) ve olmadığına (b) lazer (1) 0.75,(2) 1.5,(3) 3,(4) 4 W dozlarında, K: Kontrol) uygulandıktan 30 dakika sonra kuyucuklara MTT ilave edilip 3 saat sonra DMSO ilave edilerek formazan kristallerinin çözündürülmesinin görünümü.

5.3 Sıcaklık artışının incelenmesi

Çalışmanın sıcaklık artışının incelenmesi aşamasında mikrobiyolojik aşamada anlatıldığı gibi hazırlanan 32 alt süt ikinci azı dişi kullanıldı. Dişler lazer irradyasyonu sırasında su spreyinin kullanıldığı ve kullanılmadığı olmak üzere iki gruba ayrılarak tez çalışması için özel olarak tasarlanmış çelik bir fiksatorde sabitlendi (resim11). Su spreyinin kullanıldığı grupta dişlerle fiksator arasına termal incelemede sıcaklık değerlerini değiştirmemesi için rubber dam tatbik edildi (resim 13). Su spreyi kullanılmayan gruptaysa rubber dam kullanılmadı (resim 14) Sıcaklık artışı verilerinin doğru kaydedilip analiz edilebilmesi için oda sıcaklığı: 25⁰C, odanın nem oranı: %47, sıcaklık aralığı (güvenliği): 0.1 C⁰ ve dentin emissivitesi de 0.92 olarak belirlendi. Daha sonra 50 cm uzaklıkta sabitlenen termal kamera (Thermoflir A20, Boston, Amerika Birleşik Devletleri) ile lazer irradyasyonu sırasında alınan görüntüler kaydedildi (resim 12).

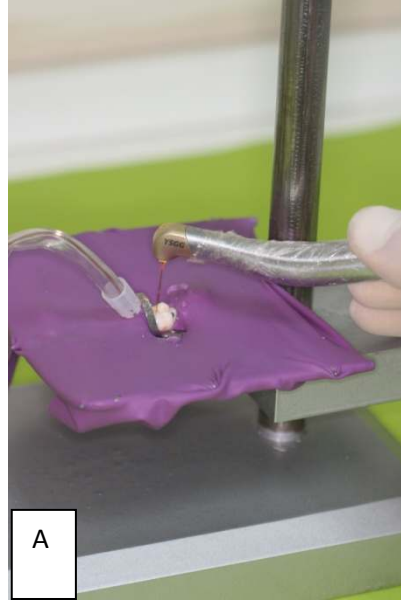


Resim 11. Termal inceleme aşamasında dişlerin, sitotoksisite aşamasında da lazer başlığının sabitlendiği özel olarak tasarlanmış fiksator.

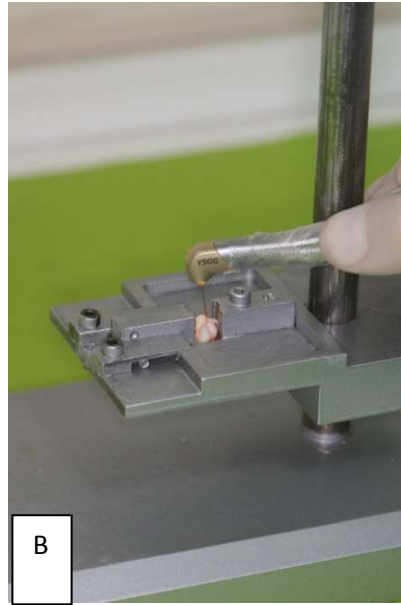


Resim 12. Termal artışın kaydedilmesinde kullanılan Thermoflir A20 cihazı.

Su spreynin kullanıldığı birinci grupta Er,Cr:YSGG lazer 0.75 W 30 s, %25 hava, %35 su spreyi ile dişlerin distal köklerine bir periyodu 10 saniye irradyasyon 10 saniye dinlenme olacak şekilde 3 periyot irradyasyon uygulandı. Su ve hava spreynin kullanılmadığı ikinci grupta ise 3 periyot irradyasyon uygulandı.



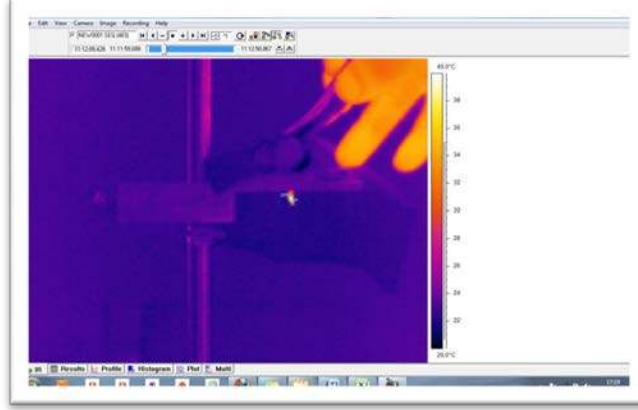
Resim 13. Su spreynin uygulandığı grupta rubber dam uygulanması ve su sızıntısının önlenmesi için sakşın uygulamasının görünümü



Resim 14. Su spreyi uygulanmayan grupta iradyasyon sırasındaki görünüm
Sıcaklık artışının değerlendirildiği gruplar şu bölgelere göre oluşturulmuştur:

1. Distal kökün tümü,
2. Distal kökün koronal üçlüsü,
3. Distal kökün orta üçlüsü,
4. Lazer ışığını ileten fiber ucun kökün internal yüzünde temas ettiği nokta ve
5. Distal kökün en apikal noktası

Yukarıda belirlenen gruplara göre en yüksek sıcaklıkları tespit etmek için video kayıtları üzerinde bu bölgelere ait en merkezi noktalar belirlendi. Daha sonra ThermoCam Researcher Professional software (Flir Systems, İsveç) (resim 15) programıyla görüntüler sekans halinde incelendi ve görüntü kaydı boyunca o noktalardaki en yüksek sıcaklıklar kaydedildi.



Resim 15. Lazer irradyasyonu sırasında termal kamera ile alınan görüntülerin ThermoCam Researcher Professional programı ile yorumlanması.

5.4 SEM analizi aşaması

Çalışmanın SEM analizi aşamasında 10 adet alt süt ikinci azı dişi irradyasyon sırasında su spreyinin kullanıldığı ve kullanılmadığı olmak üzere iki gruba ayrıldı. Dişlerin distal kökleri mikrobiyolojik aşamada anlatıldığı gibi hazırlandı. Birinci gruptaki dişler Er,Cr:YSGG lazer ile sıcaklık artışı aşamasındaki su spreyli grupla aynı şekilde, ikinci gruptaki dişler ise sıcaklık artışı aşamasındaki su spreyinin kullanılmadığı gruptaki dişlerle aynı şekilde irradyasyona tabi tutuldu. İrradyasyonu takiben kökler separe ile kökün iç yüzeyine zarar vermeden bukkolingual yönde yavaş hızda dönen bir elmas diskle ikiye ayrıldı. Tüm örnekler 70°C'de 2 saat süreyle etüvde kurutuldu (Polaron Sputter Coater SC502, East Sussex, İngiltere) ve kaplama cihazında yüzeyleri 0.02 mikron (226.8 Å) kalınlığında altın ile kaplandı (Resim 16 ve 18). Diş kökleri altınla kaplandıktan sonra SEM cihazında (JEOL JSM-5200, Tokyo, Japan) x500 ve x1000 magnifikasyonda incelendi ve mikrofotografı alındı (resim 17) .



Resim 16. Örneklerin altınla kaplanmasında kullanılan (Polaron Sputter Coater SC502, East Sussex, İngiltere) cihazının görünümü



Resim 17. SEM analizinde kullanılan cihazın görünümü (JEOL JSM-5200, Tokyo, Japonya)



Resim 18. Altın kaplanmış deney örneklerinin görünümü.

5.5 İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen bulguları istatistiksel olarak değerlendirmek için, SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Mikrobiyolojik aşamada grupların normal dağılıma uygunluğunu belirlemek için Kolmogorov Smirnov, normal dağılıma uyan grupların koloni oluşturan ünite değerlerinde meydana getirdikleri yüzdesel azalmaları karşılaştırmak için one way ANOVA, post-hoc tamhane testi ($p < 0.05$), normal dağılıma uymayan gruplarda karşılaştırma yapmak için Kruskal Wallis, bu gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapmak için Mann Whitney U testi ve Bonferroni düzeltmesi ($p < 0.001$), daha sonra

dezenfeksiyon için oluşturulan grupların iki mikroorganizmaya etkinliğini karşılaştırmak için t testi kullanıldı ($p < 0.05$).

Sitotoksite aşamasında ise vasatlı ve vasatsız grupların karşılaştırılmasında bağımsız örneklem t testi kullanıldı ($p < 0.05$).

Sıcaklık artışlarının incelendiği gruplarda normal dağılıma uygunluğu değerlendirmek için Shapiro Wilk testi, sonrasında normal dağılıma uyduğu için tek yönlü ANOVA ve Tamhane çoklu karşılaştırma testi uygulandı ($p < 0.05$).

SEM analizi aşamasında herhangi bir istatistiksel analiz gerçekleştirilmedi.

BULGULAR

6.1. Antimikrobiyal etkinlik aşaması

E. faecalis ve *C. albicans* ile enfekte edilen grupların dezenfekte edilmesiyle elde edilen cfu/ml değerlerindeki yüzdesel azalmaların normal dağılıma uygunluğunu değerlendirmek için yapılan analiz sonuçlarına göre *E. faecalis* için oluşturulan bütün grupların normal dağılıma uyduğu, *C. albicans* için oluşturulan gruplar arasında Er,Cr:YSGG lazer grubunun normal dağılıma uymadığı tespit edildi.

E. faecalis ve *C. albicans* için oluşturulan negatif kontrol gruplarında herhangi bir bakteriyel veya fungal üreme gözlenmedi.

E. faecalis için oluşturulan tüm grupların koloni oluşturan ünite değerlerinde meydana getirdikleri değişimler karşılaştırıldığında aralarında fark olduğu tespit edildi ($p = 0.000$). Daha sonra yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda;

NaOCl ile CHX glukonat ($p = 0.331$) ve Er,Cr:YSGG lazerin ($p = 0.017$) dezenfeksiyon etkinliği arasında istatistiksel olarak fark bulunmazken NaOCl ile serum fizyolojinin ($p = 0.006$) dezenfeksiyon etkinliği arasında fark tespit edildi.

CHX glukonat ve Er,Cr:YSGG lazerin dezenfeksiyon etkinliği arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p = 0.166$).

CHX glukonat ve serum fizyolojinin dezenfeksiyon etkinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p = 0.007$).

Er,Cr:YSGG lazer ve serum fizyolojinin dezenfeksiyon etkinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p = 0.012$).

C. albicans dezenfeksiyonu için kullanılan 4 yöntem arasında fark olduğu tespit edildi ($p = 0.000$).

Aralarında fark tespit edilen gruplar için ikili karşılaştırmalar gerçekleştirildi.

Buna göre:

NaOCl ile CHX glukonat ($p = 0.015$) ve Er,Cr:YSGG lazerin ($p = 0.149$) dezenfeksiyon etkinliği arasında fark bulunmadı.

Serum fizyolojik ve NaOCl'in dezenfeksiyon etkinliği arasında anlamlı farklılık tespit edildi ($p = 0.000$).

CHX glukonat ve Er,Cr:YSGG lazerin dezenfeksiyon etkinlikleri arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p = 0.131$).

CHX glukonat ve serum fizyolojînin dezenfeksiyon etkinliği arasında anlamlı farklılık bulundu ($p = 0.000$).

Er,Cr:YSGG lazer ve serum fizyolojînin dezenfeksiyon etkinliği arasında anlamlı farklılık tespit edildi ($p = 0.000$).

Daha sonra dezenfeksiyon yöntemlerinin iki mikroorganizmaya karşı etkinliklerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan analize göre;

CHX glukonatın *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı dezenfeksiyon etkinliği arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p = 0.191$).

Serum fizyolojînin *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı dezenfeksiyon etkinliği arasında anlamlı farklılık tespit edildi ($p = 0.009$).

Er,Cr:YSGG lazerin *E. faecalis* ve *C. albicans*a karşı dezenfeksiyon etkinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulundu ($p = 0.000$).

NaOCl'in her iki mikroorganizmada tam bir eliminasyona neden olduğu görüldü.

Tablo 4. *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın serum fizyolojikle dezenfeksiyonu öncesi ve sonrası elde edilen cfu/ml değerleri ve dezenfeksiyonun meydana getirdiği antibakteriyel ve antifungal etki

<i>E.faecalis</i> grubu				<i>C. albicans</i> grubu			
örnek	önce	sonra	Antibakteriyel etki	önce	sonra	Antifungal etki	
1	62000	21800	%64.84	38000	6200	%83.68	
2	58000	10700	%81.55	21000	5900	%71.90	
3	17000	8700	%48.82	59000	13700	%76.78	
4	64000	1200	%98.13	11900	1100	%90.76	
5	62000	13000	%79.03	39000	9800	%74.87	
6	93000	26000	%72.04	3400	1800	%47.06	
7	54000	1900	%96.48	5400	2200	%59.26	
8	47000	8000	%82.98	16000	4100	%74.38	
9	38000	5300	%86.05	27000	18000	%33.33	
10	800	100	%87.50	8200	7100	%13.41	
11	65000	11200	%82.77	2600	2200	%15.38	
12	22000	400	%98.18	11200	7700	%31.25	
Ort±ss: %81.5±14.4				Ort±ss: %56.±27			

Tablo 5. *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın %2.5 NaOCl ile dezenfeksiyonu öncesi ve sonrası elde edilen cfu/ml değerleri ve dezenfeksiyonun meydana getirdiği antibakteriyel ve antifungal etki

<i>E.faecalis</i> grubu				<i>C. albicans</i> grubu			
örnek	önce	sonra	Antibakteriyel etki	önce	sonra	Antifungal etki	
1	84000	-	%100	57000	-	%100	
2	91000	-	%100	64000	-	%100	
3	74000	-	%100	88000	-	%100	
4	39000	-	%100	94000	-	%100	
5	79000	-	%100	91000	-	%100	
6	65000	-	%100	53000	-	%100	
7	77000	-	%100	67000	-	%100	
8	72000	-	%100	64000	-	%100	
9	57000	-	%100	81000	-	%100	
10	71000	-	%100	70000	-	%100	
11	36000	-	%100	44000	-	%100	
12	47000	-	%100	112000	-	%100	

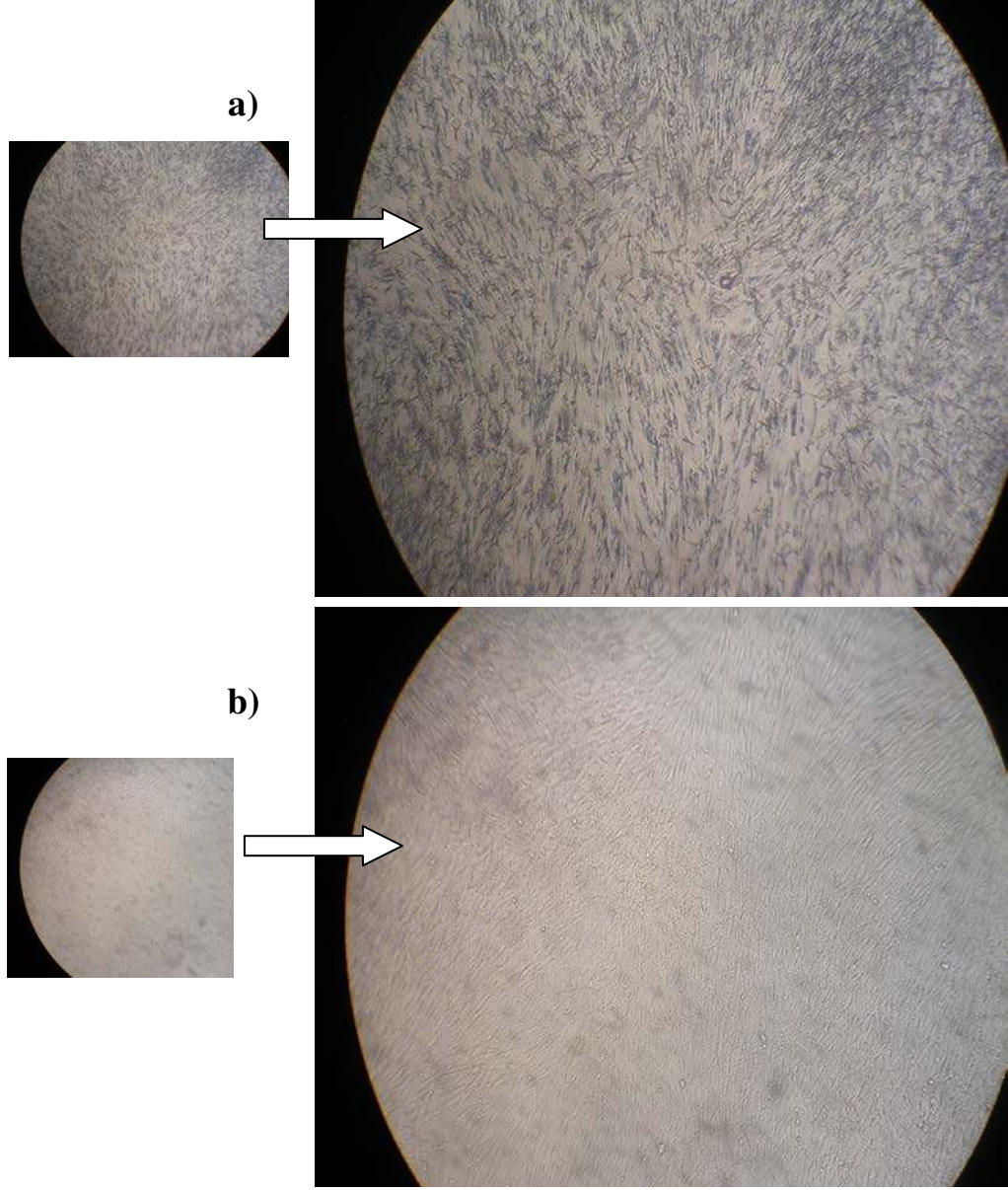
Tablo 6. *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın %2 CHX glukonat ile dezenfeksiyonu öncesi ve sonrası elde edilen cfu/ml değerleri ve dezenfeksiyonun meydana getirdiği antibakteriyel ve antifungal etki

<i>E.faecalis</i> grubu				<i>C. albicans</i> grubu		
örnek	önce	sonra	Antibakteriyel etki	önce	sonra	Antifungal etki
1	49000	1100	%97.76	72000	100	%99.86
2	9000	-	%100	42000	-	%100
3	84000	-	%100	55000	-	%100
4	17000	100	%99.41	67000	-	%100
5	26300	-	%100	82000	100	%99.88
6	77000	1800	%97.66	188000	1900	%98.99
7	61000	-	%100	53000	-	%100
8	24000	200	%99.17	61000	-	%100
9	51000	100	%99.80	72000	-	%100
10	42000	-	%100	64000	-	%100
11	82000	-	%100	78000	400	%99.49
12	53000	-	%100	110000	100	%99.91
Ort±ss: %99.5±0.9				Ort±ss: %99.8±0.3		

Tablo 7. *E. faecalis* ve *C. albicans*'ın Er,Cr:YSGG lazer ile dezenfeksiyonu öncesi ve sonrası elde edilen cfu/ml değerleri ve dezenfeksiyonun meydana getirdiği antibakteriyel ve antifungal etki

<i>E.faecalis</i> grubu				<i>C. albicans</i> grubu		
örnek	önce	sonra	Antibakteriyel etki	önce	sonra	Antibakteriyel etki
1	53000	100	%99.81	86000	-	%100
2	62000	3800	%93.87	112000	-	%100
3	38000	800	%97.89	62000	-	%100
4	41000	900	%97.80	77000	100	%99.87
5	67000	600	%99.10	117000	-	%100
6	43000	500	%98.84	97000	-	%100
7	53000	200	%99.62	114000	-	%100
8	37000	700	%98.11	91000	-	%100
9	58000	100	%99.83	127000	-	%100
10	57000	1000	%98.25	122000	9	%99.99
11	27000	700	%97.41	118000	-	%100
12	47000	800	%98.30	51000	-	%100
Ort±ss: %98.2±1.6				Ort±ss: %99.9±0.03		

6.2 Sitotoksik etki inceleme aşaması



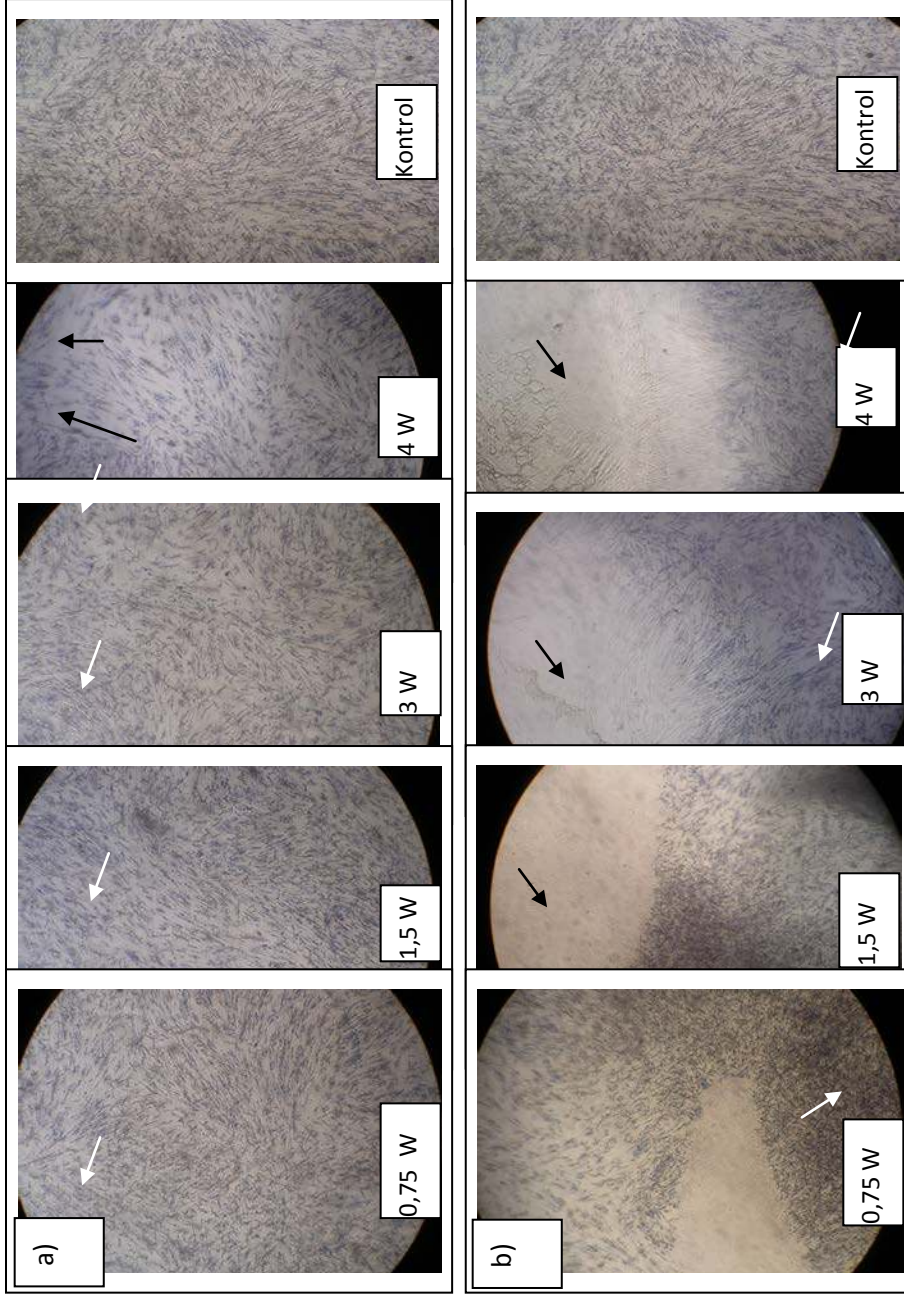
Resim 19. MTT ile boyanan canlı (a) ve ölü (b) hücrelerin mikroskopik görünümü. Canlı hücreler (a) MTT boyasını indirgeyebildikleri için hücre içerisinde menekşe/mor renge formazan kristalleri oluştururlar. Kontrol olarak formalinle sabitlenmiş hücreler ise (b) canlılıklarını kaybettikleri için MTT boyasını metabolize edemezler.

Hücre içerisinde tutulan formazan kristalleri dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözündürüldüğünde oluşan renk yoğunluğu 550 nm’ de spektrofotometrik olarak ölçülür. Renk yoğunluğu ortamdaki canlı hücre sayısı ile orantılıdır.

6.2.1 Mikroskopik değerlendirme:

Periodontal ligament hücre kültürü üzerine materyal metotta anlatıldığı şekilde lazer uygulandıktan sonra mikroskopik ve spektrofotometrik değerlendirme gerçekleştirildi.

Bu yöntemde lazer uygulama sonrasında hücreler 3 saat süre ile MTT ile boyandı; boya içeren kültür vasatı döküldükten sonra hücreiçi formazan kristalleri   z nd r lmeden önce lazer uygulaması yapılan hücreler grupları invert mikroskop altında fotoğraflandı (resim 20).



Resim 20. Kuyucuklarda HKV varlığında (a) ve yokluğunda (b) farklı dozlarda lazer uygulamasının PDL hücreleri üzerine etkisinin mikroskopik olarak değerlendirilmesi. MTT ile 3 saat süre ile boyandıktan sonra formazan kristalleri DMSO ile çözüldürülmeden önce hücreler mikroskopik olarak fotograflandı. MTT boyası almayan ölü (siyah oklar) veya boya alan canlı (beyaz oklar) hücre alanları.

Resim 20’de görüldüğü üzere, kuyucuklarda hücre kültür vasatı varlığında artan dozlarda lazer uygulandığında formazan kristalleri içeren hücre alan görünümü lazer uygulaması yapılmayan kontrol grubuna göre, 4 W gücünde Er,Cr:YSGG lazer uygulamasında kıymetsiz bir seyreklik olmakla beraber belirgin bir farklılık göstermedi. Ancak, kuyucuk içerisindeki kültür vasatı uzaklaştırıldığı durumda lazer uygulamasının kontrol hücre görünümüne göre belirgin bir hücre ölümüne sebep olduğu gözlemlendi.

6.2.2 Spektrofotometrik değerlendirme:

Hücre kültür vasatı varlığında veya yokluğunda değişik dozlarda lazer uygulamasının PDL hücreleri üzerine etkisinin kantitatif değerlendirmesi renk yoğunluğunun 550-630 nm dalga boyunda spektrofotometrik okunması ile yapıldı. Deney 3 kez tekrarlanmış her birinde benzer sonuçların alındığı değerlere örnek sitotoksite değerleri grafiksel olarak Şekil 1 ve 2’de gösterilmiştir. Şekil 1’de görüldüğü gibi; hücreler üzerinde ~0.1 ml hücre kültür vasatı varlığında 0.75, 1.5, 3 ve 4 W dozlarında lazer uygulamasının hücre canlılığı üzerine toksik etkisi lazer uygulanmayan kontrol hücrelere göre anlamlı bir fark göstermedi ($p > 0.05$). Ancak, Şekil 2’de görüldüğü gibi hücreler üzerinde kısmi bir ıslaklık kalacak kadar hücre kültür vasatı uzaklaştırılmış şartlarda lazer uygulamasının hücreler üzerinde doza göre anlamlı bir toksisite oluşturduğu saptandı. Zira kontrol hücre canlılığı ile karşılaştırıldığında 0.75 W lazer uygulaması anlamlı bir sitotoksisite oluşturmazken ($p > 0.05$) 1.5, 3 ve 4 W lazer uygulamalarının hücreler üzerinde ciddi bir toksisite oluşturduğu belirlendi ($p < 0.0001$).

Tablo 8. Hücre kültür vasathı grup

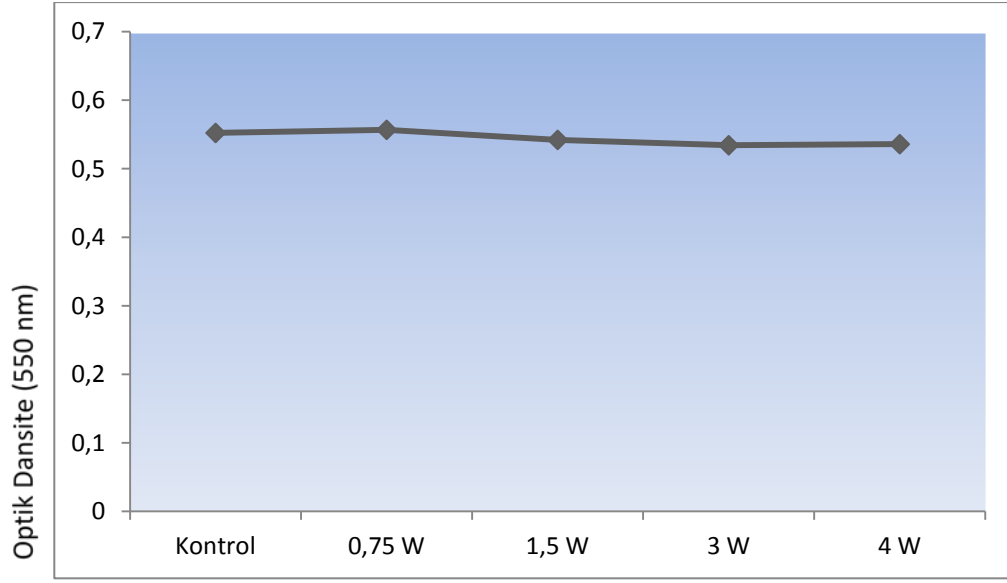
Kuyucuk	1	2	3	4	5	6	Ort±ss
Kontrol	0.5942	0.5155	0.5192	0.5079	0.5653	0.6117	0.5523±0.01814
0.75 W	0.5602	0.5659	0.6063	0.5878	0.4858	0.535	0.5568±0.01734
1.5 W	0.5578	0.5961	0.5297	0.5362	0.51	0.5228	0.5421±0.01259
3 W	0.5567	0.5751	0.5221	0.5059	0.5195	0.5262	0.5343±0.01066
4 W	0.5743	0.5072	0.5846	0.5568	0.5078	0.4849	0.5359±0.01683

**D
O
Z**

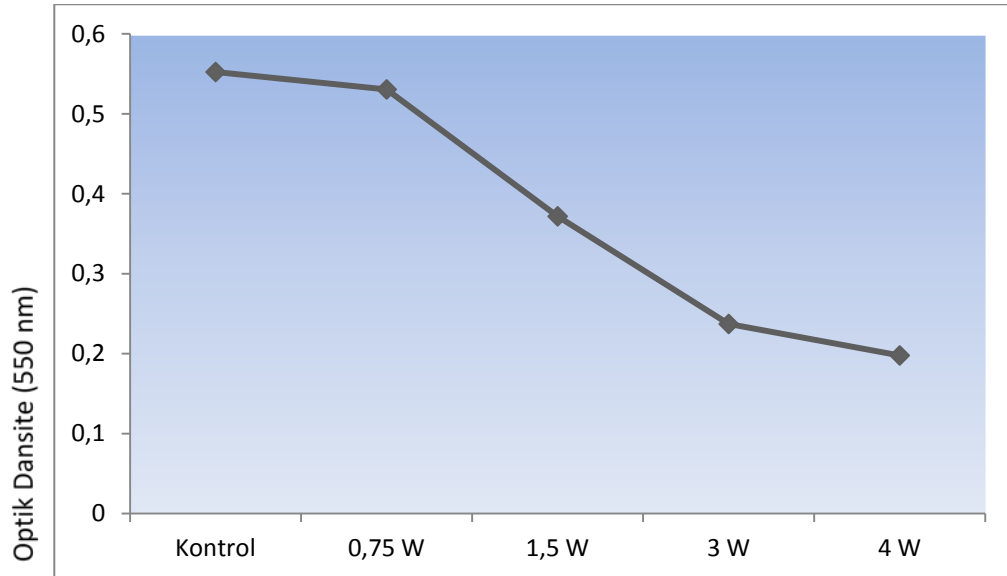
Tablo 9. Hücre kültür vasatsız grup

Kuyucuk	1	2	3	4	5	6	Ort±ss
Kontrol	0.5942	0.5155	0.5192	0.5079	0.5653	0.6117	0.5523±0.01814
0.75 W	0.5442	0.5074	0.5668	0.5625	0.5417	0.4602	0.5305±0.01646
1.5 W	0.4053	0.3739	0.3362	0.3363	0.449	0.33	0.3718±0.01946
3 W	0.2293	0.2507	0.227	0.2643	0.2617	0.1899	0.2372±0.01143
4 W	0.1722	0.1881	0.2226	0.1739	0.2538	0.1764	0.1978±0.01358

**D
O
Z**



Şekil 1. Hücre kültür vasatlı grup



Şekil 2. Hücre kültür vasatsız grup

6.3 Sıcaklık artışını inceleme aşamasının bulguları

Grupların normal dağılıma uyup uymadığını değerlendirmek amacıyla yapılan analiz sonucunda su spreyli ($p = 0.627$) ve su spreysiz grubun ($p = 0.749$) normal dağılıma uyduğu tespit edildi. Su spreyi kullanılan ve kullanılmayan gruplarda distal kökün tümü, koronal üçlü, orta üçlü, lazer temas noktası ve apikal üçlüde ölçülen en yüksek sıcaklık verileri Tablo 10, 11, 12, 13, 14’de verildi. Su spreyi kullanılan ve kullanılmayan grupların kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda elde edilen bulgular Tablo 15 ve 16’da sunulmuştur.

Tablo 10. Distal kökün tümünü içeren en yüksek sıcaklık verileri

örnek	Su spreyi kullanılan grup				Su spreyi kullanılmayan grup			
	önce	sonra	fark		önce	sonra	fark	
1	22	56.2	34.2		22	34.1	12.1	
2	22	40.9	18.9		22	32.9	10.9	
3	22	40.6	18.6		22	43	21	
4	22	43.2	21.2		22	49	27	
5	22	45.7	23.7		22	45.9	23.9	
6	22	42.3	20.3		22	40.2	18.2	
7	22	47.8	25.8		22	53.1	31.1	
8	22	37.1	15.1		22	51.8	29.8	
9	22	42	20		22	43.3	21.3	
10	22	40.7	18.7		22	42.7	20.7	
11	22	47.3	25.3		22	38.2	16.2	
12	22	42.1	20.1		22	43.9	21.9	
13	22	31.4	9.4		22	41.3	19.3	
14	22	46.4	24.4		22	45.7	23.7	
15	22	46.4	24.4		22	50.6	28.6	
16	22	34.5	12.5		22	42.5	20.5	
ort±ss: 20.8±5.8					Ort±ss: 21.6±5.8			

Tablo 11. Koronal bölgeden elde edilen en yüksek sıcaklık verileri

Su spreyi kullanan grup				Su spreyi kullanılmayan grup			
örnek	önce	sonra	fark	önce	sonra	fark	
1	22	29	7	22	26.1	4.1	
2	22	30.8	8.8	22	26.4	4.4	
3	22	25.7	3.7	22	28.6	6.6	
4	22	30.1	8.1	22	30	8	
5	22	31.5	9.5	22	30.8	8.8	
6	22	32.7	10.7	22	26.3	4.3	
7	22	33.2	11.2	22	32	10	
8	22	29.5	7.5	22	28.4	6.4	
9	22	26.1	4.1	22	26.6	4.6	
10	22	28.8	6.8	22	29.6	7.6	
11	22	26.9	4.9	22	26.3	4.3	
12	22	28.1	6.1	22	30	8	
13	22	29.1	7.1	22	26.5	4.5	
14	22	26.5	4.5	22	30.1	8.1	
15	22	27.8	5.8	22	26.7	4.7	
16	22	28.8	6.8	22	31.5	9.5	
Ort±ss:7±2.2			ort±ss:6.5±2				

Tablo 12. Orta üçlünden elde edilen en yüksek sıcaklık verileri

örnek	Su spreyi kullanılan grup			Su spreyi kullanılmayan grup		
	önce	sonra	fark	önce	sonra	fark
1	22	41.2	19.2	22	34.1	12.1
2	22	36.2	14.2	22	31.9	9.9
3	22	36.3	14.3	22	35.2	13.2
4	22	38.4	16.4	22	36.3	14.3
5	22	34.4	12.4	22	40.6	18.6
6	22	42.2	20.2	22	34.6	12.6
7	22	43.6	21.6	22	44.5	22.5
8	22	34.9	12.9	22	37.8	15.8
9	22	38.3	16.3	22	39.4	17.4
10	22	36.9	14.9	22	35.6	13.6
11	22	41.3	19.3	22	37.1	15.1
12	22	35.7	13.7	22	36.1	14.1
13	22	29.8	7.8	22	40.2	18.2
14	22	40.4	18.4	22	38.7	16.7
15	22	39.2	17.2	22	41.1	19.1
16	22	33	11	22	39.1	17.1
Ort±ss: 15.6±3.7				Ort±ss: 15.6±3.2		

Tablo 13. Lazer temas noktasından elde edilen en yüksek sıcaklık verileri

Su spreyi kullanan grup				Su spreyi kullanılmayan grup			
örnek	önce	sonra	fark	önce	sonra	fark	
1	22	56.2	34.2	22	28.5	6.5	
2	22	40.8	18.8	22	32.9	10.9	
3	22	35.4	13.4	22	43	21	
4	22	42.9	20.9	22	49	27	
5	22	40.9	18.9	22	35.6	13.6	
6	22	40	18	22	38.7	16.7	
7	22	43	21	22	46.3	24.3	
8	22	35.8	13.8	22	51.8	29.8	
9	22	42	20	22	34.9	12.9	
10	22	39.9	17.9	22	41.2	19.2	
11	22	47.3	25.3	22	35.1	13.1	
12	22	40.8	18.8	22	43.8	21.8	
13	22	31.1	9.1	22	41.3	19.3	
14	22	46.4	24.4	22	45.7	23.7	
15	22	46.4	24.4	22	50.3	28.3	
16	22	30.8	8.8	22	42	20	
Ort±ss: 19.2±6.3			Ort±ss: 19.3±6.6				

Tablo 14. Apikal noktadan elde edilen en yüksek sıcaklık verileri

örnek	Su spreyi kullanılan grup			Su spreyi kullanılmayan grup		
	önce	sonra	fark	önce	sonra	fark
1	22	28.2	6.2	22	25.5	3.5
2	22	27.8	5.8	22	26.5	4.5
3	22	27.2	5.2	22	30.2	8.2
4	22	32.1	10.1	22	24.9	2.9
5	22	29.3	7.3	22	27.4	5.4
6	22	30	8	22	28.2	6.2
7	22	29.7	7.7	22	34.4	12.4
8	22	25.8	3.8	22	36.9	14.9
9	22	28	6	22	28.3	6.3
10	22	25.8	3.8	22	28	6
11	22	27.7	5.7	22	28.4	6.4
12	22	28.7	6.7	22	27.4	5.4
13	22	29.2	7.2	22	28.5	6.5
14	22	26.4	4.4	22	28.8	6.8
15	22	29.9	7.9	22	32.8	10.8
16	22	23.8	1.8	22	26.6	4.6
Ort±ss: 6.1±2			Ort±ss: 6.9±3.2			

Tablo 15. Su spreyi kullanılan grupların kendi aralarında karşılaştırılması

	Distal kökün tümü	Koronal üçlü grubu	Orta üçlü grubu	Lazer temas noktası grubu	Apikal üçlü grubu
Distal kökün tümü		***			***
Koronal üçlü grubu	***		***	***	
Orta üçlü grubu		***			***
Lazer temas noktası grubu		***			***
Apikal üçlü grubu	***		***	***	

Tablo 16. Su spreyi kullanılmayan grupların kendi aralarında karşılaştırılması

	Distal kökün tümü	Koronal üçlü grubu	Orta üçlü grubu	Lazer temas noktası grubu	Apikal üçlü grubu
Distal kökün tümü		***	*		***
Koronal üçlü grubu	***		***	***	
Orta üçlü grubu	*	***			***
Lazer temas noktası grubu		***			***
Apikal üçlü grubu	***		***	***	

*p < 0.05

**p < 0.01

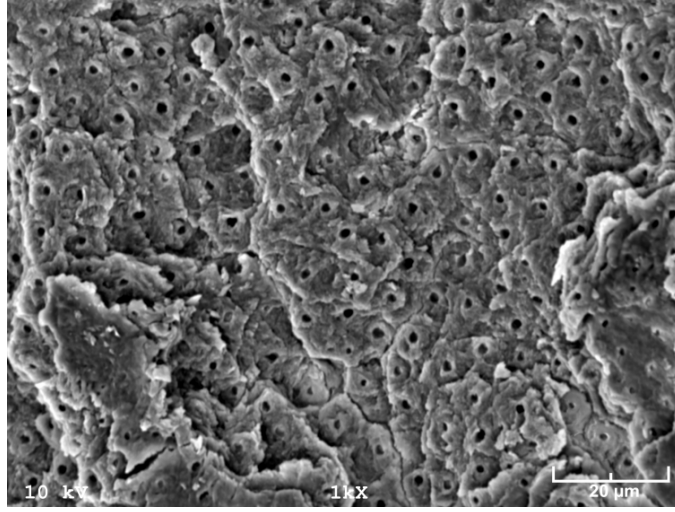
***p < 0.001

Ayrıca su spreyi kullanılan ve kullanılmayan grupların bölgesel olarak karşılaştırılması sonucunda hiçbir bölge arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı.

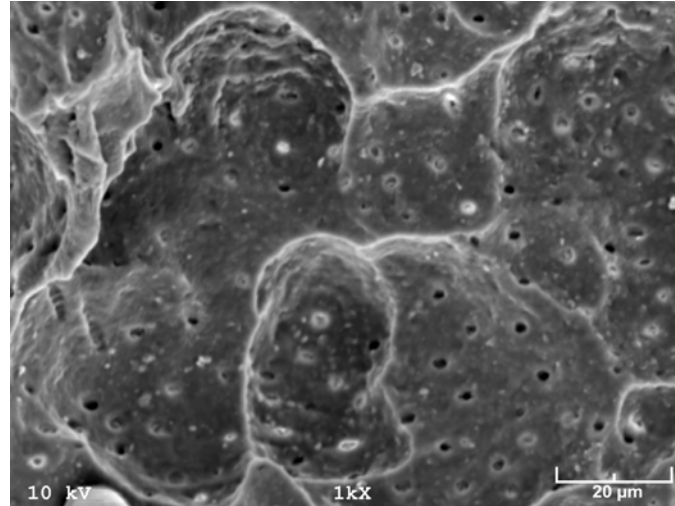
6.4 SEM analizi aşaması

6.4.1 Su spreyiyle lazer irradyasyonu sonucu elde edilen SEM görüntüleri

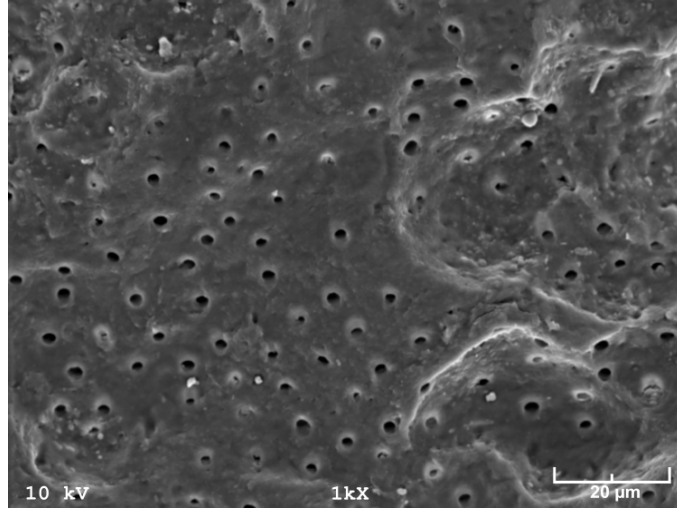
Su spreyiyle irradyasyon gerçekleştirilen gruptaki örneklerde genel olarak dentin tübüllerinin açıldığı, debris ve smear tabakasının çoğunlukla uzaklaştırıldığı görülmektedir. Su spreyiyle irradyasyon gerçekleştirildiğinde bazı örneklerde irradyasyon sırasında suyun buharlaşıp ortamdan uzaklaşmasına bağlı olarak dentin tübüllerinde rekristalizasyon gerçekleştiği görüldü.



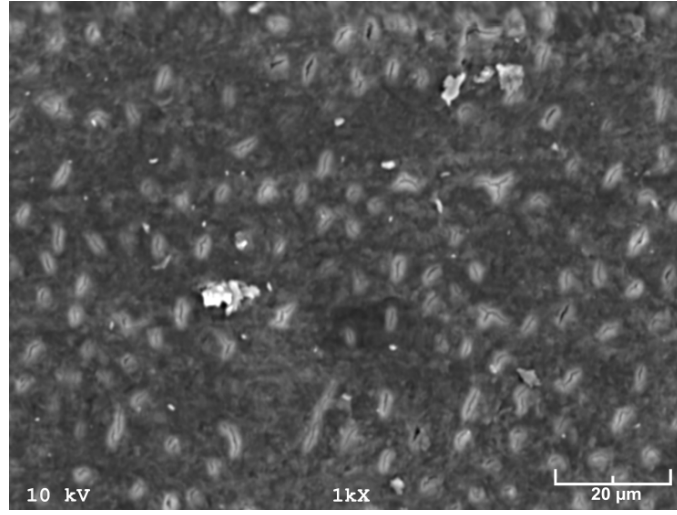
Resim 21. Su spreyi kullanılan grupta açık dentin tübüllerinin ve yer yer smear tabakasının görünümü



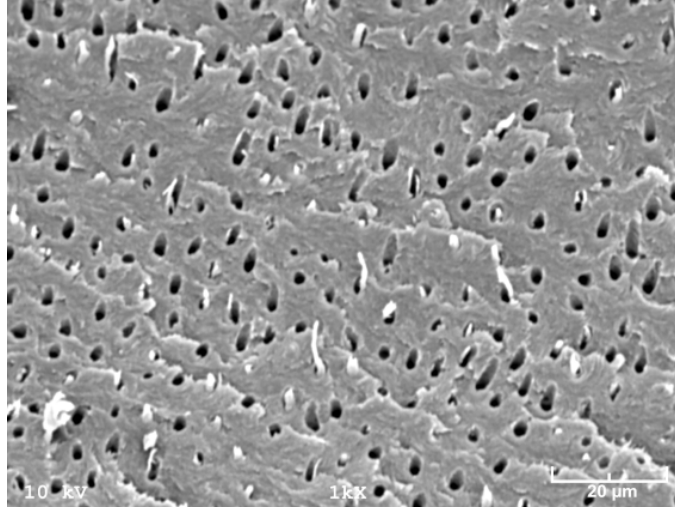
Resim 22. Su spreyi kullanılan gruptaki diğer bir örnekte smear tabakasının tam olarak uzaklaştırılmadığı dentin tübüllerinin görünümü



Resim 23. Su spreyi kullanılan gruptaki diğer bir örnekte yer yer smear tabakasının görünümü



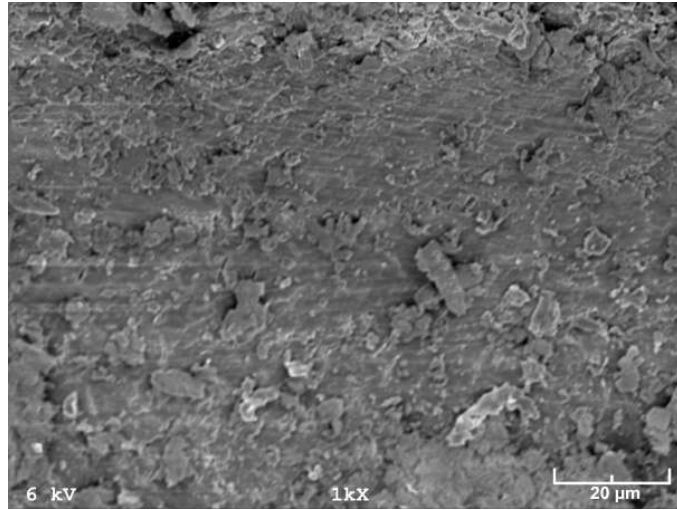
Resim 24. Su spreyi kullanılan gruptaki bir örnekte dentin tübüllerinin tıkanmış haldeki görünümü



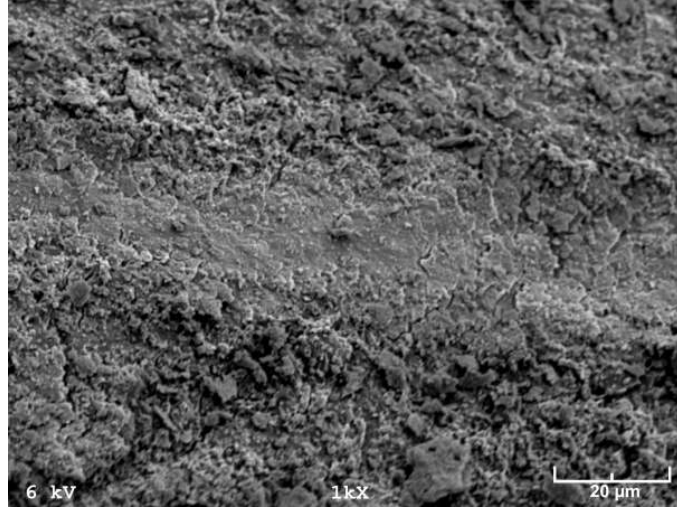
Resim 25. Su spreyi kullanılan gruptaki bir örnekte açık dentin tübüllerinin görünümü

6.4.2 Su spreyinin kullanılmadığı Er,Cr:YSGG lazer irradyasyonu ile oluşan SEM analiz görüntüleri

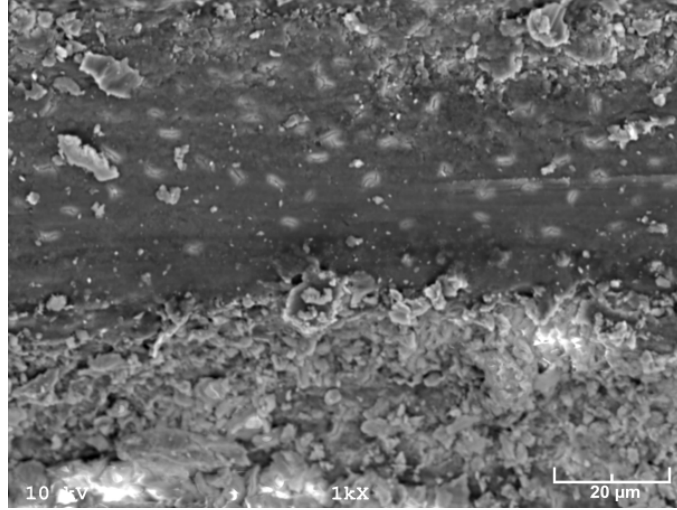
Su spreyinin kullanılmadığı örneklere genel olarak dentin tübüllerinin üzerinin tamamen kalın bir debrisle kapandığı, smear tabakasının uzaklaştırıldığı yüzeylerdeyse dentin tübüllerinde füzyon ve kapanma gerçekleştiği göze çarpmaktadır. Diğer bazı örneklerdeyse yüzeyi tamamen örtecek şekilde karbonizasyon oluşumu ve çatlaklara rastlanmaktadır.



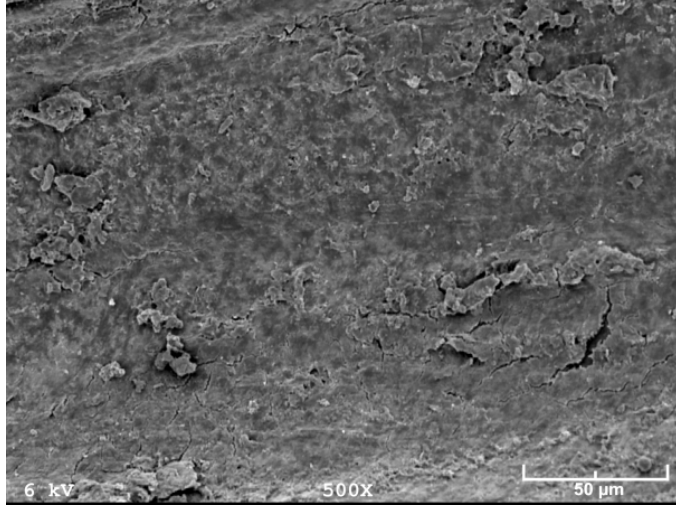
Resim 26. Su spreyinin kullanılmadığı grupta dentin tübüllerini tamamen kapatacak şekilde kalın debrisi tabakasının görünümü



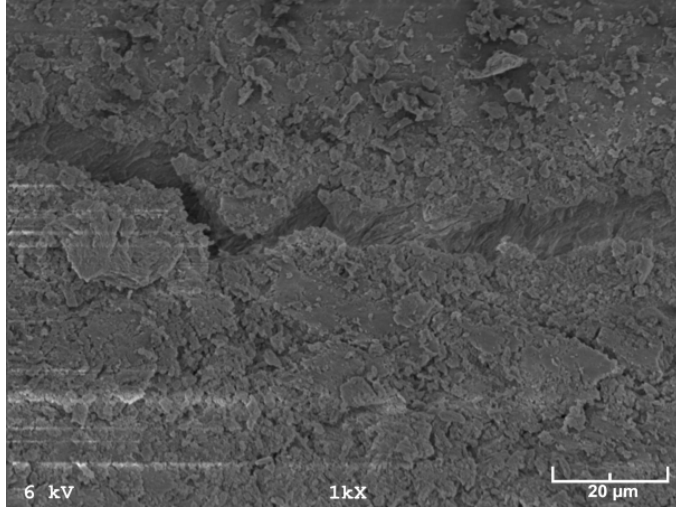
Resim 27. Su spreynin kullanılmadığı gruptaki bu örnekte karbonizasyon ve dentin tübüllerini tamamen kapatacak şekilde kalın debris tabakası ve karbonizasyon sahalarının görünümü



Resim 28. Su spreynin kullanılmadığı gruptaki bu örnekte dentin tübüllerinin tıklandığı ve kalın debris tabakasının görünümü



Resim 29. Su spreynin kullanılmadığı gruptaki bu örnekte yüzeyde çatlakların ve kalın debris tabakasının görünümü



Resim 30. Su spreynin kullanılmadığı gruptaki bu örnekte yüzeyde çatlakların karbonizasyon ve kalın debris tabakasının görünümü

TARTIŞMA

Diş hekimliğinde koruyucu uygulamalardaki büyük gelişmelere ve çürük prevalansındaki azalmaya rağmen toplumda halen yüksek çürük riskli bireyler mevcuttur (1). Süt dişlerinde çürük ilerlediğinde beslenme, konuşma gibi fizyolojik süreçler ve çocuğun psikolojik durumu etkilenmekte, ayrıca gelişebilecek bir enfeksiyon alttan gelecek olan daimi dişte hipoplazilere neden olabilmektedir. Süt dişleri çürüğe bağlı olarak restore edilemeyecek duruma gelip çekildiğinde de okluzyon bozulmakta ve ileri ortodontik sorunlar ortaya çıkabilmektedir. Bu yüzden süt dişleri ağızda fizyolojik düşme zamanlarına kadar sağlıklı bir şekilde tutulmaya çalışılmalıdır(237).

Süt dişlerinde kök kanal tedavisi; karmaşık anatomik yapıya sahip kök kanallarından nekrotik veya iltihaplı pulpanın etkin bir şekilde uzaklaştırılması, kök kanal sisteminin kemomekanik olarak hazırlanması, dezenfeksiyonu ve rezorbe olabilen bir patla hermetik olarak kapatılmasını içermektedir (238). Süt ve daimi dişler arasındaki gelişimsel, morfolojik ve fizyolojik farklılıklar uygulanacak endodontik tedavilerde de birtakım farklılıklara yol açmaktadır (239). Süt dişi kök kanallarındaki farklı morfolojik oluşumlar nedeniyle kanalların yeterli derecede temizlenmesi, şekillendirilmesi ve doldurulmasındaki güçlükler, gelişen daimi diş germine preparasyonun, kullanılan solüsyonların ve dolgu materyallerinin zarar verebileceği endişesi ve nihayet çocuklarda bu tedavi sırasında ortaya çıkabilecek kooperasyon problemleri nedeniyle hekimler arasında süt dişlerine uygulanan kök kanal tedavileri konusunda farklı görüşler mevcuttur. Bütün bu potansiyel problemlere rağmen, süt dişi kök kanal tedavilerinde kabul edilebilir düzeyde başarı oranlarının elde edilmesi ve süt dişinin bilinen en iyi yer tutucu olduğu düşüncesi, birçok hekimin bu tedavi şeklini çekime tercih etmesine neden olmaktadır (1,8).

Süt dişlerinin kök kanalları oldukça kompleks yapıda olduklarından dolayı mekanik temizleme ve dezenfeksiyon kanal tedavisinde her zaman başarıyı getirmeyebilir. Bununla birlikte irigasyon sırasında kullanılan solüsyonlar alttaki daimi diş germine zarar verme ve sitotoksik etki oluşturma potansiyeline sahiptirler. Ayrıca geleneksel kanal tedavisine alternatif ve daha hızlı bir yöntemin de bulunması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Sitotoksik etki göstermemeleri, kanalda kullanım kolaylığı ve antibakteriyel etkinlikleri nedeniyle kök kanallarının dezenfeksiyonu için lazerin kullanılması son yıllarda önerilmektedir. Bütün bunlara ek olarak çocuklarda

kanal tedavisinin kooperasyon zorluğu da düşünülürse kanal tedavisini kısaltacak alternatif yöntemlerin önemi anlaşılmış olmaktadır.

Literatürde lazerlerin dişhekimliği ve endodontide çeşitli kullanım alanlarında araştırıldığı görülmektedir. Süt dişlerinde ise birçok alanda lazerlerin ve ayrıca Er, Cr: YSGG lazerin kullanımına dair araştırmalara rastlanmaktadır. Süt dişlerinin kanal tedavisinde dezenfeksiyon amacıyla yapılmış literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamış ancak süt dişi kanal tedavisinde lazerlerin etkinliğinin araştırılması gerektiği bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında; Er,Cr:YSGG lazerin in vitro olarak süt dişi kanal tedavisinde dezenfeksiyon etkinliğinin, sitotoksik etkisinin, kanal duvarlarında oluşturduğu sıcaklık artışının ve yüzey morfolojisinde meydana getirdiği değişimlerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Er,Cr:YSGG lazerin çeşitli özelliklerini değerlendirmek amacıyla yapılan araştırmaların bazılarında ön kesici süt dişleri ve tek köklü daimi dişler (240-242), bazılarında ise daimi azı dişleri kullanılmıştır (110). Tez çalışmasında süt dişi kök kanal tedavisinde; ön kesici süt dişlerinin rezorpsiyon süreci başladığında lingual yüzeylerinin rezorpsiyonundan dolayı standardizasyon sağlanamayacağından dolayı alt ikinci süt azı dişlerinin düz açığa sahip distal kökleri kullanılmıştır. Kullanılan bütün dişler kısaltılarak aynı boya getirilerek lazer irradyasyonu sırasında lazer ışığını ileten fiber ucun aynı mesafeyi katetmesi hedeflenmiştir. Mikrobiyolojik aşamasında kontaminasyonun engellenmesi ve standardizasyon amacıyla dişler akrilik bloklara gömülmüş ve çalışma kolaylığı sağlanmıştır. Sıcaklık artışının değerlendirildiği aşamada dişler bir fiksatöre sabitlenmiş ve bağımsız bir ortamda çalışan hekimin eliyle verileri etkilemesi engellenmiştir.

Nd:YAG lazerin kullanıldığı bir çalışmada dişlerin hazırlanmasından sonra kuruyup çatlamaması için nemli ve kapalı bir ortamda bekletilmesi gerektiği belirtilmiştir. Kuru bir ortamda bekletilen dişlerde çatlakların oluştuğu ve bu çatlaklardan bakteriyel penetrasyon olduğu bildirilmiştir (84). Bu sebeple tez çalışmasında dişler deneyler başlayana kadar serum fizyolojik içerisinde bekletilmiştir.

Mikroorganizmalar ve bakterisid solüsyonlar arasındaki penetrasyon derinliğinin birbirinden farklı olması geleneksel endodontide karşılaşılan tedaviye dirençli vakalar ve uzun dönem başarısızlıkların sorumlusu olarak düşünülmektedir. İrrigasyon solüsyonlarının etkinliğinin; solüsyonun kimyasal yapısının yanı sıra kullanılan miktara,

dentinle temasta kaldığı süreye, sıcaklığa, kullanılan iğnenin penetrasyon derinliğine, iğnenin tipine, solüsyonun yüzey gerilimine ve tazeliğine bağlı olduğu rapor edilmiştir (243). İrrigasyon solüsyonlarının bazı durumlarda kanal içi dezenfeksiyonda yetersiz kalabileceği düşünülerek lazerle dezenfeksiyon gibi alternatif yöntemler araştırılmaya başlanmıştır.

Mevcut dental lazer sistemleri performans ve kullanıcı özellikleri bağlamında geniş dalgaboyu ve puls genişliği farklılıklarıyla gelişmiş bilimsel ve teknik yenilikler sunmaktadırlar. Bu tür yenilikler lazer sistemlerinin direk pulpa kaplaması, kanalın kurutulması, kanal duvarlarının modifikasyonu, kanal dezenfeksiyonu, şekillendirme ve preparasyon gibi endodontik uygulamalarda kullanılmalarını sağlar. Bu tür uygulamalarda en önemli endişe kaynağı lazer ışınının kanal lümenindeki etkileşimidir. Bu bağlamda kanalın apikal üçlüsünü çevreleyen bölgede lazer ışınının emisyonu çevre dokuyu kötü yönde etkileyecek şekilde foramenin ötesine transmisyona uğrayabilir. Ancak, bugüne kadar, kök kanal sistemi ve çevreleyen dokulara iatrojenik hasar oluşturmada istenen klinik tedavi amaçlarına götürecek optimum preparasyon parametrelerinin seçimi ile alakalı bilgiler halen yetersizdir (244).

Araştırmacılar lazerlerin kanallarda her noktaya etkimelerini mine prizmaları ve dentin tübüllerinin optik fiberler gibi rol alarak, lazer ışığını kökün dentinal periferine aktarmalarına bağlamışlardır (159,160). Bu yüzden literatürde lazer irradyasyonu ile kök kanallarının dezenfeksiyonu üzerine yapılan araştırmaların sayısı artmaktadır. Geleneksel olarak Nd:YAG lazer endodonti alanında en uzun süredir araştırılmış lazerdir. Hassan tarafından yapılan histolojik bir çalışmada Nd:YAG lazerin apikal enflamasyonu azalttığı ve kanal lümeninin kurummasını hızlandırdığı bulunmuştur (245). Klink ve ark'nın buna benzer çalışmalarında Nd:YAG lazerin dentin tabakalarına penetre olurken azalan gücüne rağmen 1000µm ve ilerisinde bile bakterisidal etkisi bulunmuştur (158). Moritz ve ark da benzer sonuçlara ulaşmışlardır (246,247).

Nd:YAG lazer su ve hidroksiapatitte iyi absorbe olamadığından sert dokular tarafından iyi absorbe olamaz ve daha derin tabakalara penetre olarak sıcaklık artışına sebep olur. Nd:YAG lazerin 4 mm'ye kadar oral dokularda penetre olduğu gösterilmiştir (248,249). Bahcall ve ark da Nd:YAG lazerle köpek premolarları üzerinde 3 W 30 s boyunca gerçekleştirilen irradyasyon sonrası yapılan histolojik incelemede 30 gün sonra ankiloz, sementin lizisi ve majör kemik remodelingi gözlemlediklerini bildirmişlerdir

(216). Hardee ve ark da dişler üzerinde 3 W 1-2 dakika Nd:YAG lazerle irradyasyonu takiben *Bacillus stearothermophilus*'ta log 2 değerinde bir azalma meydana getirseler de dişlerin tutulamayacak kadar sıcak hale geldiğini rapor etmişlerdir (250).

Dental sert doku uygulamalarında en uzun süre araştırılmış olan cihaz Er:YAG lazerdir. Dalgaboyu hidroksiapatitin absorpsiyon maksimum katsayısıyla yakından alakalı olduğu için bu lazer fotoablasyon yoluyla etki eder. Aksiyon modu ve aletin kavite preparasyonunda kullanışlılığı Hibst ve Keller tarafından çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (251,252). Uzun bir süre Er:YAG lazerin kullanımı temassız modda rigid iletim sistemleriyle kısıtlı kalmıştır. Üstün ışık iletici materyallerin geliştirilmesiyle bu lazerin kullanım olasılıkları spektrumunu genişletmiştir. 1997 yılında Hibst ve ark bu lazeri endodontide kullanım için önermiştir (253). Takiben Schoop ve ark bu dalgaboyunun endodontik işlemlerde yüksek bakterisidal etkisini kanıtlamışlardır (254,255).

CO₂ lazerin kanallarda etki gösterebilmesi için direk görüş gerektirdiğinden kanal dezenfeksiyon etkinliğinin kısıtlı olduğu belirtilmiştir (256). Bu tez çalışmasında süt dişleri altında bulunan daimi diş germine zarar verme potansiyelinden dolayı bu derece penetre olabilen bir lazerlerin kullanılması uygun bulunmamıştır.

Literatürde süt dişlerinin tedavisinde lazerin kullanımı üzerine araştırmalar yapılmış olmasına rağmen kanal tedavisinde etkinliğini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Pulpa ve çevre dokuya minimal termal hasarda bulunması bununla birlikte sert dokular için güvenli olması ve süt dişlerinin altındaki germ düşünüldüğünde daha da önemli hale gelen sitotoksik etkinin en az düzeyde tutulması gerektiğinden bu tez çalışmasında Er,Cr:YSGG lazer kullanımına karar verilmiştir (214,215).

Çeşitli irrigasyon solüsyonları veya dezenfeksiyon yöntemlerinin antibakteriyel etkinliğini değerlendirmek için yapılan birçok çalışmada rezistan bir bakteri türü olan *E. faecalis* (257) ve yine inatçı enfeksiyonlarda izole edilen *C. albicans* (53) kullanılmıştır. Çalışmamızda da *E. faecalis* ve *C. albicans* kullanılmasının nedeni bu iki mikroorganizmanın lazer tarafından elimine edilmesi halinde kök kanallarında bulunabilecek diğer birçok mikroorganizmaya rahatlıkla etki edebileceğinin düşünülmesidir. *E. faecalis*'in kullanıldığı in vitro çalışmalarda 1 günden 1 aya kadar değişen inokülasyon sürelerinin olduğu göze çarpmaktadır (258,259). Davis ve ark'nın çalışmasında aerobik veya anaerobik şartlarda *E. faecalis*'in en uygun inkübasyon

süresinin 48 saat olduğu gösterilmiştir (260). Bu tez çalışmasında dişlerin içinde 48 saat boyunca üremiş ve ölüm fazına geçmiş *E. faecalis* hücreleri kullanıldı. Burada amaç kök kanalında mikroorganizmanın besin ortamının kısıtlı olduğu gerçek in vivo şartları daha iyi taklit etmesini sağlamaktır (261).

Kök kanallarında antibakteriyel etkinin sağlanıp, çevre dokular için sitotoksik etki ve sıcaklık artışının minimum düzeyde tutulmasını sağlayacak parametrelerin bulunması lazer ile kök kanal dezenfeksiyonunda çok önemli bir aşamadır. Bu hassas dengenin sağlanması süt dişlerinin altında bulunan germ de işin içine girince daha da önemli hale gelmektedir. Tek köklü maksiller ve mandibuler keserler, kanin ve premolarların kullanıldığı bir çalışmada Er,Cr:YSGG lazere özel Z2, Z3 ve Z4 uçların her biriyle 1.5 W güçte yüzey başına 6 kez sekizer saniye olmak üzere irradyasyon gerçekleştirilmiştir (240). Başka bir çalışmada 1 W 30s, 1 W 60s, 1 W 120 s, 2 W 30 s ve 2 W 60s irradyasyon uygulanmıştır (262). Bu tez çalışmasında üretici firmanın talimatlarına uyularak kök kanallarında dezenfeksiyon için önerdiği parametreler (0.75 W, %35 su, %25 hava) bir periyodu 10 saniye irradyasyonu takiben 10 saniye dinlenmeden oluşacak şekilde 3 periyot halinde uygulanmıştır. Süt dişlerinin kök dentini daimi diş kök dentininden daha ince yapıda olduğu için irradyasyon süreleri diğer çalışmalardan daha kısa tutulmuştur.

Süt dişlerinin kök kanal yapılarının düzensiz olmasından dolayı kanallarda daha rahat harekete olanak vermesi, lateral perforasyon veya apikalden taşma gibi komplikasyonların önlenmesi ve aynı zamanda lateral bölgelerin de ısıtılması için çalışmada 200µ çapındaki RFT2 (radial firing tip 2) lazer ucu kullanılmıştır.

Kök kanal tedavisi sırasında gerçekleştirilen biyomekanik preparasyonda kullanılan dezenfeksiyon solüsyonlarının çeşitli derecelerde sitotoksik etkileri bulunmaktadır. Bu durum süt dişlerinin altında bulunan diş germi dolayısıyla daha önemlidir .

NaOCl endodonti pratiğinde en sık kullanılan irigasyon solüsyonudur. Spangberg ve ark %5.25'lik NaOCl'nin oldukça sitotoksik olduğunu, antibakteriyel ve nekrotik doku çözücü olabilmesi için daha az yoğun konsantrasyonların da yeterli olabileceğini belirtmiştir. Bu yüzden bu tez çalışmasında da %2.5'lük NaOCl solüsyonu kullanılmıştır (263). Bu çalışmada kullanılan irigasyon solüsyonlarının 15 dakika uygulanmasının sebebi bu sürenin ortalama zorlukta bir kanalda biyomekanik

preparasyon için gereken ortalama süreye karşılık gelmesidir (264). Er,Cr:YSGG lazer üreticinin dezenfeksiyon için önerdiği talimatlara uyularak uygulanmıştır. Bu tez çalışmasında Er,Cr:YSGG lazerin toplam 30 saniye, sodyum hipokloritin ise 15 dakika halinde uygulanması dikkat çekicidir ancak katı bir standardizasyondan ziyade klinik koşulların taklit edilmesi amaçlanmıştır.

Klorheksidin de endodonti pratiğinde sık kullanılan irigasyon solüsyonlarından biridir. Kök kanallarında uzun süre etki gösterdiği bilinmekle beraber antibakteriyel etkisi NaOCl kadar değildir. Ancak sitotoksik etkisinin NaOCl'den daha az olduğu bilinmektedir.

Serum fizyolojik solüsyonu da endodontide kullanılan irigasyon solüsyonlarından biridir. Antibakteriyel etkiden çok kanalı yıkama etkisi mevcuttur. Biyomekanik preparasyon sırasında doku çözücü etkisi de bulunmamaktadır.

Literatürde sitotoksitenin incelenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda çeşitli hücreler kullanılmaktadır.

Literatürde CO₂ lazerin sitotoksik etkisinin incelendiği bir çalışmada normal insan deri fibroblastlarından alınan hücre dizisi kullanılmıştır. Çalışmada çekilmiş dişler daha önceden hazırlanmış bir kuyucukta lazeri ileten ucun hücrelerden 2 mm uzakta olacak şekilde irradyasyon gerçekleştirilmiştir (265).

Başka bir çalışmada Nd:YAG lazerin sitotoksik etkileri tek tabaka L-929 fibroblastları üzerinde 2 mm yukarıdan irradyasyon gerçekleştirilerek araştırılmıştır. Sitotoksiste çalışmalarında kullanılan L-929 hücrelerinin sabit, tekrarlanabilir, standardize bir yöntem olduğu düşünülmektedir (266). Ancak bu hücreler tam olarak insan hücrelerini taklit edememektedir. Bu çalışmada daimi dişin folikülünü en iyi taklit edecek ortam olarak insan periodontal ligament hücreleri çekilmiş bir diştten alınarak kullanılmıştır. Periodontal ligament hücrelerinden izole edilen fibroblastların kullanılmasının amacı ise klinik ortamı en iyi şekilde taklit etmektir. Birçok çalışmada hazır fibroblast kültürleri kullanılmıştır ancak bu hücre dizileri insandan izole edilmediklerinden toleransları farklı olabilir ve in vivo bir çalışma ile uyumlu olmayabilirler.

Bu tez çalışmasında sitotoksiste aşamasında hücrelerde irradyasyon gerçekleştirildikten sonra ölü/canlı hücrelerin incelenmesi amacıyla MTT analizinin

kullanılmış olmasının nedeni basitliği, hızlı olması ve kesinliğidir. Bununla beraber bu teknikte radyoizotoplara ihtiyaç duyulmaz (267).

Bu tez çalışmasının sitotoksiste aşamasında iradyasyon anında hücreler üzerinde vasat bulunan ve vasat bulunmayan gruplar oluşturulmuştur. Literatürde sitotoksiste testleri gerçekleştirilen kuyucukların tabanına yapışmış hücre dizileri üzerinde uygulama sırasında 0.1 ml hücre kültür vasatı bulundurulmaktadır. Vasatsız bir grup oluşturulmasının nedeni lazer ışığının 0.1 ml hacmindeki bir sıvıdan geçerken dağılıma uğrayacağı, bu yöntemin in vivo şartları taklit edemeyip lazerin hücreler üzerindeki muhtemel zararının maskeleneceği düşünülmektedir (266). Bu amaçla vasatsız grupta iradyasyondan hemen önce vasat sadece hücrelerin üzerini ıslatacak kadar bırakılıp lazer uygulanmış ve sıvı tekrar yerine konmuştur. Bu şekilde oluşturulan vasatlı ve vasatsız gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık meydana gelmiştir. Bu bulgu da literatürde yapılan sitotoksiste çalışmalarında MTT analiziyle incelenecek yöntemin uygulandığı sırada hücreler üzerinde bulundurulan vasatın çalışmanın gerçek bulgularını gizleyebileceğine bir delil teşkil edebilir. Sitotoksiste aşamasında 0.75 W, 1.5 W, 3 ve 4 W güçlerin test edilmesinin sebebi de üretici firmanın RFT 2 ucu için 4 W güce kadar kullanımına izin vermesidir.

Lazer diş hekimliğine ilk tanıtıldığında dental frezlerin yerine geçeceği ümit edilmişti. Ancak irradiye edilen bölgedeki yüksek sıcaklık artışları çevre yapıları tehlikeye sokabileceği görülmüştür (268).

Er,Cr:YSGG ve Er:YAG lazerin çürük uzaklaştırma ve kavite preparasyonu üzerine etkinliği birkaç çalışmada araştırılmıştır (168,214,215,269). Test edilen cihazlar in vivo şartlarda kullanıldığı zaman Er:YAG ve Er,Cr:YSGG lazer gibi “preparasyon dalgaboyları” kök kanal duvarlarında ablasyona yol açarak daha yüksek sıcaklık artışlarına sebep olurlar (255). Bu yüzden, bir taraftan bakterisidal etkinin gözlenmesi ve diğer taraftan periodontal dokulara termal hasar olasılığını engellemek için azami dikkat gereklidir.

Lazer iradyasyonunun termal doku etkilerinin değerlendirilmesi üç yöntemle gerçekleştirilmektedir: termokupl, kızılötesi pirometre ve kızılötesi kameralar. Literatürde yayınlanan bir çok çalışmada termokupl cihazı daha kullanışlı, daha ucuz ve güvenilir olduğu için kullanılmaktadır (270,271). Diğer taraftan termokupl ile elde edilen sonuçlara benzer sonuçlar infrared kameraların kullanıldığı termografik

çalışmalarda da elde edilmiştir. Ancak termokupl cihazı sadece temas ettiği noktadan veri alımına izin vermekte ve yanıltıcı olabileceği dūřınılmektedir. Çünkü termokupl metal çiftinin lehimlenmiş metal ucu diře bir yapıştırıcı vasıtasıyla gömülmekte ve bu iletken yapıştırıcı da mutlaka bir miktar ısı abzorbe edebilmektedir. Bu da yüzeydeki gerçek sıcaklığın ölçülememesine sebep olabilir. Termal kamera ile alınan görüntüde ise yüzeydeki istenen herhangi bir nokta ölçülebilir. İnfared termografi yöntemleri sıcaklık daha büyük bir yüzey alanında incelenemediği için sıcaklığı görüntülemede termokupllara tercih edilmektedir (272).

Termal kamera kullanımı daha gerçekçi ve bütün diř yüzeyinden istenen noktadan görüntü alımına izin vermektedir. Termal inceleme aşamasında Er,Cr:YSGG lazerin sadece 0.75 W gücünde kullanılmasının sebebi bu güçte çalışıldığında bile güvenlik eşiğinin zaten geçilmiş olması ve daha yüksek glerin test edilmesinin zararlı olabileceğinin dūřınılmasıydı.

Kök kanal preparasyonu sırasında eğeler, döner aletlerle dentin duvarlarında debris ve smear tabakası oluşmakta ve hatta bazen pulpa dokusu kalabilmektedir. Smear tabakası iriganların, kanal içi ilaçların ve kanal dolum materyallerinin dentin tübüllerine penetrasyonunu engeller. Bunlara ek olarak lazer preparasyonu veya dezenfeksiyonuyla kök kanallarında karbonizasyon, erime, perforasyon gibi istenmeyen yüzey yapıları gözlenebilir (110). Çeşitli teknik ve cihazların kök kanalları üzerinde oluşturduğu morfolojik değişimler ışık mikroskobu, SEM ve optik görüntüleme ile değerlendirilmektedir. Ancak, ışık mikroskobu ve optik yöntemler sadece debris varlığının değerlendirmesine izin verirken, SEM hem debris hem de smear tabakasının incelenmesine imkan vermektedir (273). Bu tez çalışmasında da Er,Cr:YSGG lazerin kök dentini yüzeyinde oluşturduğu değişikliklerin incelenmesi amacıyla SEM analizi gerçekleştirilmiştir. Ancak bu yöntemle bütün kök yüzeyinin incelenmesinin olanaksız olması ve genelleme yapılamaması gibi dezavantajları da vardır. Ancak yüzeysel değişiklikleri incelemek için daha etkili başka bir yöntem olmadığından SEM kullanılmıştır.

Kök kanallarında dezenfeksiyon amacıyla kullanılan lazerler üzerine yapılan çalışmalarda çeşitli bulgular rapor edilmiştir. Bir çalışmada silindir şekline getirilmiş dentin kesitlerine *E. faecalis* ekilip 3 kontrol grubu, 15 adet te Nd:YAG lazer grubu 20 Hz 15, 30, 60, 120, 240 sn ve 175 mW+hava+su spreyi, 175 mW kuru ve 350 mW kuru

olacak şekilde 15 grup halinde uygulanmıştır. Kuru/ıslak olarak karşılaştırıldığında kuru yöntemin, yüksek watt ve sürede kullanımın en yüksek bakteriyel azalmaya yol açtığı görülmektedir (274). Moshonov ve ark da Nd:YAG lazer cihazının kanal içi antibakteriyel etkisinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir (275).

Yavari ve ark enfekte kök kanallarında *E. faecalis* üzerine Er,Cr:YSGG lazer irradyasyonunun antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. Daimi maksiller orta keser dişler kemomekanik olarak genişletilmiş ve smear tabakasının uzaklaştırılmasından sonra sterilize edilip *E. faecalis* inoküle edilen kök kanallarına 2 ve 3 W gücünde Er, Cr:YSGG lazer ve %1 NaOCl uygulanıp antibakteriyel etkinlikleri karşılaştırılmıştır . Çalışmanın bulgularına göre Er,Cr:YSGG lazer *E. faecalis* üzerine antibakteriyel etkili olsa da bu etki NaOCl kadar fazla değildir (276). Bu tez çalışmasında da benzer olarak Er,Cr:YSGG etkili bulunmuş ancak bu etki NaOCl'da olduğu gibi eliminasyon düzeyine ulaşamamıştır.

Arnabat ve ark'nın (262) çalışmasında 216 adet tek kök ve tek kanallı 12-15 mm arası uzunluktaki dişler seçilip kök kanallarına *E. faecalis* ekilmiş ve %5 ve %0.5 NaOCl, Er,Cr:YSGG lazerin değişik şartlar altında bakterisidal etkisi karşılaştırılmıştır. Lazer 1 W 30s, 1 W 60 s, 1 W 120 s, 2 W 30 s ve 2 W 60 s olarak uygulandıktan sonra yapılan antibakteriyel değerlendirmelere göre %5 NaOCl ile irigasyonun en etkili, %0.5 NaOCl'in ise en az etkili yöntem olduğu bulunmuştur. Er,Cr:YSGG lazerin 2 W 60 s'de uygulandığında %5 NaOCl kadar etkili bulunduğu bildirilmiştir.

Bir başka çalışmada 1 mm kalınlığında uzunlamasına kesilmiş insan küçük azı dişleri kullanılmıştır. Dişlerden alınan kesitlere *E.coli* ve *E. faecalis* ekilip diyet lazer ve KTP lazer 1 ve 1.5 W gücünde kullanılmıştır. İki lazer de 1 devri 5 saniye irradyasyonu takiben 15 saniye dinlenmeden oluşan 5 devir halinde uygulanmıştır. İki lazer de bakterileri elimine etme yönünden eşit etkiye sahip bulunmuştur. Her iki lazer de 1 W'ta *E. faecalis*i elimine edememiştir (145).

Schoop ve ark'nın küçük azı dişlerinden longitudinal 1 mm kalınlığındaki kesitler olarak yaptıkları çalışmalarında diyet lazer (1-1.5W), Er:YAG (1W-1.5W), Er,Cr:YSGG (1W-1.5W), Nd:YAG (1W-1.5W) olacak şekilde *E. faecalis* veya *E. coli* inoküle edilmiş yüzeyin karşı tarafından optik uç 10 derece olacak şekilde bir lazer devri 5'er saniye 5 ışınlama ve 15 saniye ara olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Hava

veya su soğutması kullanılmamıştır. Ancak 1.5 W'ta bütün lazerlerin antibakteriyel etkinliği artmıştır. Genel olarak 4 lazer de *E. faecalis* elimine edememiştir (146).

Eldeniz ve ark'nın bir çalışmasında Er,Cr:YSGG lazer irradyasyonunun *E. faecalis*'e karşı bakterisid etkisi NaOCl irrigasyonu ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada apikal boyutu 0.2 mm olan birinci grup dişler kontrol grubu olarak kullanılmıştır. 0.2 mm apikal çaplı 2. gruba 15 mL %3 NaOCl solüsyonu uygulanmış, 3. grup ve 4. grupta Er,Cr:YSGG 20 Hz, 0.5 W gücünde, %20 hava ve su ile apeksten krona doğru 1.5 mm s⁻¹ olacak şekilde uygulanmıştır. İşlem sonrası elde edilen dentin talaşları değerlendirildiğinde kontrol grubunun en yüksek sayıda mikroorganizma içerdiği gözlenmiştir ($153 \times 10^3 \pm 39 \times 10^3$ cfu). Bu yapay kontaminasyon modelinde tam sterilizasyon sadece %3'lük NaOCl'de gözlenmiştir. Er,Cr:YSGG lazerin iki grubunda da bakteriler tam olarak elimine edilememiştir. Lazer grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiş ($p > 0.05$) ve NaOCl ve lazer grupları arasında ortalama canlı koloni sayıları arasında önemli bir fark bulunamamıştır ($p < 0.05$) (264).

Bir çalışmada *E. faecalis* ekilmiş düz ve eğimli kanallara sahip tek köklü daimi dişlerde 2 farklı teknikle uygulanan Er,Cr:YSGG lazer ve %6.15 NaOCl'in antibakteriyel etkinliği karşılaştırılmıştır. Düz kanallarda Er,Cr:YSGG lazer ve %6.15'lük NaOCl *E. faecalis*'in eliminasyonunu sağlamış fakat eğri kanallarda Er,Cr:YSGG lazer irradyasyonu ile *E. faecalis* eliminasyonu sağlanamamıştır (277). Tez çalışmasında da bu çalışmalarla uyumlu olarak NaOCl ile *E. faecalis* eliminasyonu sağlanmış ancak Er,Cr:YSGG lazer ile eliminasyon elde edilememiştir.

Yeni bir çalışmada Er,Cr:YSGG lazer tedavisinin 2 W gücünde 60 s boyunca uygulandığında *E. faecalis* üzerine %5 NaOCl kadar antibakteriyel etkiye sahip olduğu bulunmuştur (262). Sıcaklık artışının çok fazla olacağı düşünüldüğünden tez çalışmasında 0.75 W ve 30 saniye lazer gücü ve süresi uygulamayla sınırlı kalmıştır. Hem süt dişlerinin karmaşık kök anatomisi hem de Er,Cr:YSGG lazerin düşük modda kullanılmasından dolayı NaOCl kadar etkili bulunmamıştır.

Önay ve ark Er,Cr:YSGG lazerin *C. albicans*'a karşı antifungal etkisini değerlendirdikleri çalışmasında 90 adet tek köklü insan küçük azı dişi crowndown tekniğiyle HERO Shaper döner aletlerle hazırlanıp daha sonra 6 gruba bölünmüştür. Grup 1: NaOCl +1 W lazer, grup 2: 1 W lazer, grup 3: NaOCl+0.75 W lazer, grup 4: 0.75 W lazer, grup 5, NaOCl, grup 6, tedavi yapılmamıştır. Bütün gruplarda *C. albicans*

önemli derecede azalmış, fakat sterilizasyon sağlanamamıştır. Her grup diğerinden istatistiksel olarak önemli derecede farklı bulunmuştur. NaOCl ve 1 W lazer kombinasyonu en büyük azalmayı sergilemiş, ancak tek başına NaOCl'in *C. albicans* üzerine antifungal etkisi düşük bulunmuştur. SEM analizlerinin de mikrobiyolojik analizlerle uyum içerisinde olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmanın bulgularına göre %5.25 NaOCl ve 1-W lazer tedavi kombinasyonu *C. albicans* ile enfekte kök kanallarının temizliğinde etkili bir yöntem olduğu belirtilmektedir (278).

Bu tez çalışmasında *E. faecalis* ve *C. albicans* ekilmiş alt ikinci süt azı dişlerinin distal köklerinde Er, Cr: YSGG lazer, sodyum hipoklorit, klorheksidin ve salinin dezenfeksiyondaki etkinlikleri karşılaştırılmıştır. %2.5 NaOCl ile hem *E. faecalis* hem de *C. albicans*'ın tam eliminasyonu elde edilmiştir. Bu tez çalışmasında kullanılan irrigasyon solüsyonları ve Er,Cr:YSGG lazerin *E. Faecalis*'e karşı etkinlikleri %2.5 NaOCl $\geq$ %2 CHX glukonat $\geq$ Er,Cr:YSGG lazer > serum fizyolojik olacak şekilde sıralanabilir. *C. albicans*'a karşı antifungal etkinlikleri ise %2.5 NaOCl $\geq$ Er,Cr:YSGG lazer $\geq$ %2 klorheksidin glukonat > serum fizyolojik olarak sıralanabilir.

Literatürde lazerlerin *E. faecalis* ve *C. albicans*'ı elimine edememesi ışının yüksek dereceli odağına, bakteriyel kontaminasyon öncesi smear tabakasının kaldırılmış olup bakterilerin dentinin derin seviyelerine inmiş olmasına ve *E. faecalis*'in gram negatif spesifik hücre duvar yapısına bağlı olarak lazer irradyasyonuna duyarsız olmasına ve besinsizliğe dayanabilen *E. Faecalis*'in direncine bağlanmaktadır (264). Bu tez çalışmasında da bu bulgulara paralel olarak Er,Cr:YSGG lazer bu iki mikroorganizmayı da elimine edememiştir.

Lazer gücü ve enerji yoğunluğu sabit olduğunda periapikal dokulara gelecek olan hasarın irradyasyon alanıyla orantılı olacağı görülmüştür. Sonuç olarak, apikal foramenin genişliği büyüdükçe lazerle irradiye edilmiş alan ve dokulara gelecek hasarın artacağını bildirilmiştir (265). Süt dişlerinde rezorpsiyon süreci başladığında apikal foramenin çapı tespit edilemeyeceğinden yukarıda belirtilen endişeden dolayı alttaki germ düşünülmeli ve boy tespiti iyi yapılmalıdır.

İn vitro bir çalışmada osteoblast hücre kültürleri Nd:YAG ve HeNe lazerle 2 mm mesafeden direk olarak irradiye edilmiştir. Fakat, in vivo şartlarda lazer irradyasyonu kök kanallarına yönlendirildiği zaman, ışının büyük miktarı kök kanal duvarları tarafından absorbe edilecek ve periapikal bölgeye geçecek olan lazer enerjisi ilk çıkan

ışından daha düşük olacaktır. Bu yüzden, periapikal bölgedeki etkilerin daha az olacağı belirtilmiştir (279). Nd: YAG lazerin 20 mJ, 10 Hz, 10 s parametrelerinde uygulandığında osteoblast benzeri hücreler üzerinde proliferasyon ve stimülasyon etkisi gösterdiği görülmüştür. Atım enerjisi, atım tekrar oranı ve güç çıkışının arttırılmasının da hücre canlılığı ve proliferasyonu üzerine inhibitör etkisi tespit edilmiştir (279).

Tek tabakalı fibroblast kültürleri üzerine Nd:YAG lazerin etkisinin incelendiği bir çalışmada, 2.1 W 20 s lazerle 2 mm yukarıdan irradie edilen örneklerde herhangi bir termal hasar gözlenmezken, 30 s veya daha fazla irradasyona maruz kalan hücrelerde termal hasar gözlenmiştir. 2.0 W 30 s süreyle lazer uygulandığında ise sadece DNA metabolizma hızında ve hücre bölünme oranında bir inhibisyona sebep olmuş, ancak dejeneratif şekilde değişmiş sitomorfoloji gözlenmemiştir. Hücrelerin metabolizma aktiviteleri oldukça düşük bulunmuştur. Bu da lazer ışınının hücrelerin dış görünüşlerinden ziyade hücre içi yapılara etkilerinin daha fazla olduğuna bir delil teşkil edebilmektedir. 120 mJ, 20 Hz, 2.4 W 40s parametrelerinde çalışıldığında ise tek bir tabaka hücrenin nekroza uğraması olarak tespit edilmiştir. Bu bulgu da Nd:YAG lazerle çok hassas kesiler yapılabileceğini göstermiştir (266).

Malmström ve ark (280) 9 W lazer gücünde CO₂ lazer irradasyonu gerçekleştirdiğinde dentinde krater oluşumu bildirmiştir. Morfolojinin incelendiği bu tür çalışmaların çoğunda dentinden geçen ısı ve sıcaklık artışı üzerine oluşan histolojik değişimleri incelenmektedir. Fakat periapikal dokulara gelen termal hasar ve lazer ışın irradasyonu arası ilişkiyi değerlendiren hiç bildiri olmadığı belirtilmiştir. Kök kanal genişletmesinin apeksin ötesine geçtiğinde lazer ışınının apikal foramenden geçerek periapikal dokuları irradie edebileceği ve dokuya gelecek hasarın lazerin kök dentininden geçtiğinden daha fazla olabileceği belirtilmiştir. Çalışmada, hücreler CO₂ lazerle atımlı veya süper atımlı modda irradie edildiğinde, apikal foramenin boyutu arttıkça canlı hücrelerin oranının azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmanın bulguları apikal foramen boyutu arttıkça CO₂ lazerle irradie edilen alan daha geniş olacak ve fototermal etkinin aktif aralığı da artacaktır. Apikal foramenin açık olmadığı kapalı grupta ise canlı hücrelerin oranı atımlı ve süper atımlı modda kontrol grubundaki hücrelerin %95'i olarak bulunmuştur. Apikal foramenin bir dereceye kadar açık olduğu diğer gruplarda canlı hücrelerin oranı atımlı modda süper atımlı modda göre daha yüksek bulunmuş ve bu bulgular da atımlı modda irradasyonun periapikal dokulara

gözlenmekte ve bu durumun süt dişlerinin altında bulunan daimi dişlerin folikülleri için tehlikeli bir durum olabileceği düşünülmektedir.

Yukarıda anlatılan sitotoksik etkiler lazerler tarafından oluşturulan termal etkiden dolayı meydana gelmektedir. Bu yüzden kök kanallarında en yüksek antibakteriyel etkiyi gösterirken en az termal etki oluşturan lazer parametrelerinin bulunması için çalışmalar yapılmaktadır.

George ve Walsh, Er,Cr:YSGG ve Er:YAG lazerlerin lateral salım yapan konik fiber uçlar kullanıldığında çevreleyen periodontal dokulara zararlı termal etki vermeden intrakanal irradyasyonu için tanımlanmış koşullarda güvenle kullanılabileceğini belirtmişlerdir (286).

Ribeiro ve ark'nın diyet lazerle gerçekleştirdikleri çalışmalarında koronal, orta ve apikal üçlünden aldıkları termal kamera görüntülerini yorumlamışlardır. Araştırmalarında 2.5 W ve 1.25 W gücünde lazer irradyasyonu gerçekleştirmişler ve apikal bölgede sırasıyla 1.6 ila 8.6°C arasında ve 1.2 ila 3.3°C sıcaklık artışı kaydetmişlerdir. Deneysel gruplarında hiçbir örnekte ortalama sıcaklık güvenilir kabul edilen 10°C'lik sınır geçilmemiştir (272).

Schoop ve ark'nın bir çalışmasında endodontik olarak prepare edilmiş kökler Er:YAG lazerle 1.3 W etkili gücünde irradyasyona tabi tutulduğunda maksimum 4.5°C sıcaklık artışı meydana gelmiştir (255). Bu araştırmadan elde edilen tavsiye güç ayarı 1 W'ı geçmemektedir. Bu yüzden, preparasyon lazerleri kök kanal tedavisinde su veya hava soğutmasız olarak uygulandığında kısa dalgaboylarındaki kabul edilebilir güç ayarı aralığından yoksundurlar. Bakteriyolojik değerlendirmelerin mevcut bulguları 1 W gibi düşük bir güçte bile tatmin edici dezenfeksiyon sağlanabileceğini göstermiştir. Her iki Erbium lazer de günümüz endodontisinde değerli araçlar olarak düşünülebilir. 1.5 W'ta 8°C gibi bir sıcaklık artışı bu bağlamda klinik öneme sahip olmadığı çünkü bozulmamış bir apikal çevre yerine izole dentin kesitleri ile uğraşan bir çalışma dizaynı gerçeği tam olarak yansıtamayacağı belirtilmiştir. Daha önce de bahsedildiği gibi birkaç yazar endodontik işlemlerde lazerlerin termal etkisine yoğunlaşmıştır (131,188,253,287). Endodontik tedavi sırasında lazer uygulamasıyla alakalı çalışmaların sayısının artması kanalları dezenfekte edip temizlemede uygulanan mevcut yöntemlerin kısıtlı etkinliğinden dolayı olabilir. (288,289)

Dentin Er,Cr:YSGG lazerle iradiye edildiğinde pulpal sıcaklık sadece 2°C artmaktadır ve ne işlem sırasında ne de 30 gün sonra bile hiçbir pulpal enflamatuar cevap rapor edilmemiştir (215). Zach ve Cohen (290) lazer iradyasyonla oluşturulan sıcaklık artışı 5.6°C geçtiğinde pulpa nekrozu ihtimalinin %15 olduğunu bildirmişlerdir.

Anic ve ark (219) CO₂ lazerle kanal içi iradyasyon ile kökün dış yüzeyindeki ısı artışını 0.5 W lazer gücünde (0.5 saniye atım genişliği, 10 atımda) 19.1°C olduğunu bildirmiştir. Diğer taraftan, Kesler ve ark atımlı modda (atım süresi 50 ms., atım başına 0.25J , 350 J/cm² atım başına) kullanıldığında kök içi iradyasyondan sonra kökün dış yüzeyinde sıcaklığın 38°C'den fazla olmayacağını bildirmiştir (291). Bir dakika boyunca vücut sıcaklığının 10°C üstünde bir artış periodontal dokular için güvenlik eşiği olarak belirtilmiştir (209,270). Kemik daha düşük damarlanmaya sahip olduğu için termal hasarlara periodontal ligamentten daha hassastır. İn vivo olarak kök kanalı içinde yapılan herhangi bir işlemde olası termal hasardan dolayı kök yüzeyindeki sıcaklık bilinmelidir. Kanal içi uygulamalar için lazer iradyasyon kullanıldığında periodontal dokulara gelecek termal hasar bir endişe konusudur. Birkaç yazar lazerlerin periodontal dokulara termal hasara yol açmayacak şekilde kullanılmak üzere güvenlik sınırını bulmaya çalışmışlardır (153). Kemik dokusu 47°C seviyesine çıkan sıcaklığa hassastır. Dahası 60°C veya daha yüksek sıcaklıklar kan akışını daimi olarak durdurur ve bariz kemik nekrozu gelişir (210).

Saunders kök yüzeyi sıcaklığının 18°C'den daha fazla arttığında sementte yüzey rezorpsiyonu ile sonuçlandığını bildirmiştir (220,292).

Liu süt dişlerinde YAG lazerle pulpotomiler gerçekleştirmiş ve daimi dişlerin mine hipoplazisi ve diğer malformasyonlar olmadan sürdüğünü göstermiştir (129). Er: YAG lazerin güçlü bir lazer olduğunu düşünürsek Er,Cr:YSGG lazerle daha az zarar oluşabileceği düşünülebilir.

Bu tez çalışmasında da alt ikinci azı süt dişlerinin distal kökleri kullanılmıştır. Termal kamera görüntüleriyle bütün kök boyunca, kökün koronal, orta, apikal bölgesinden ve lazerin temas ettiği noktastan alınan görüntüler yorumlanmıştır. Su spreyi uygulanan ve uygulanmayan her iki grupta da lazer ucu temas noktasından elde edilen veriler en yüksek bulunmuş ve güvenlik sınırı geçilmiştir. Süt dişlerinin altındaki germ için en önemli bölge olan apikal bölgede ise güvenlik sınırları içinde kalınmıştır.

Kaydedilen en yüksek sıcaklık artışları irradyasyonun gerçekleştirildiği 3. periyodun son saniyesinde anlık olarak tespit edilmiştir. Anic ve ark'nın çalışmasına göre 1 dakika boyunca 10⁰C'lik bir artışın güvenlik eşiği olduğu da göz önüne alınırsa bu tez çalışmasında ulaşılan sıcaklıkların kısa süreli olmasından dolayı bu eşiğin altında kalacağı düşünülebilir (209). Lazer temas noktasında ulaşılan yüksek sıcaklıkların sebebi; süt dişlerinin düzensiz kök kanal yapısı, kök kanal dentini ve sementin daimi dişlere göre daha ince oluşu, lazeri uygulayan hekimin tecrübe eksikliğinden dolayı kök kanal yapısındaki düzensizliklere takılarak ani sıcaklık artışlarının meydana gelmiş olması olarak sıralanabilir. Buna ek olarak su spreyi kullanılan gruplarla kullanılmayan grupların sıcaklık artışı verileri arasında bölgesel karşılaştırma yapıldığında istatistiksel olarak fark bulunamamıştır. Er,Cr:YSGG lazerle ablasyonun 800⁰C'de gerçekleştiği bilinmektedir (167). Su spreyinin soğutma etkinliğinin görülememesinin nedeni ablasyonun bu kadar yüksek sıcaklıklarda meydana gelmesi olabilir.

Lazerler kök kanallarında preparasyon veya dezenfeksiyon amacıyla kullanıldıkları sırada dentin yüzeylerinde çeşitli morfolojik değişimler meydana getirirler. Uygun parametreler kullanıldığında istenen düzeyde ablasyon sağlanır. Ancak yine de lazerlerin kullanımı sırasında kanal duvarlarında perforasyon oluşabilmektedir. Lazerlerin kök kanal duvarlarında oluşturduğu morfolojik değişimleri incelemeye yönelik birçok çalışma gerçekleştirilmiştir.

Er,Cr:YSGG lazerle dentin uzaklaştırma mekanizması termomekanik bir süreçtir (293,294). Bu süreçte su sıcaklığı artar, buharlaşır ve diş dokusunun erime sıcaklığı altında diş dokusunda küçük patlamalara yol açacak şekilde yüksek basınç oluşur (yaklaşık olarak 1.200⁰C) (295). Diş yüzeyi ablasyonu beyaz bir noktadan kömürleşmeye, füzyona, kaba yüzey oluşumuna, erimeye, rekristalizasyona, kabarcık şeklinde girintilere, çok sayıda deliklere, patlamış yüzey görünümüne ve çatlak ve krater oluşumuna kadar değişebilir (251,280,296,297). Tarama elektron mikroskobu muayenesi (incelemeleri) lazer tatbik edilmiş dentin yüzeyler üzerindeki morfolojik değişimlerin erime ve resolidifikasyon içeren krater oluşumunu içerdiği görülmüştür (298,299). Dentin yüzeylerinde lazer irradyasyonunun etkinliğini değiştiren bir çok faktör vardır. Bunlar arasında lazerin dalgaboyu, enerji çıkışı, ve dentin yüzey şartlarıdır. Lan ve ark'nın çalışmasında CO₂ lazerle iradiye edilen örneklerde smear tabakası olan dentin yüzeylerinde çatlak hatlarına rastlanmıştır (226).

Nd:YAG lazerin kanalı debride etme özelliği step back preparasyonla karşılaştırıldığında daha kullanışlı bulunmuş fakat lazer kanal duvarlarında amorf bir kütle oluşturmuştur. Lazer sistemlerinin kullanımının bir dezavantajı çevre yumuşak dokulara gelecek termal hasar, sert dokuların çatlaması ve yanmasıdır (300,301).

Aranha ve ark dentin hipersensitivitesi üzerine Er,Cr:YSGG lazerin in vitro etkilerini tarama elektron mikroskop analizleri ile değerlendirmişlerdir. Enerji seviyeleri arttıkça, açık dentin tübüllerinin, karbonizasyonun ve çatlakların arttığını gözlemlemişlerdir (302). Bu tez çalışmasında da dentinde çatlaklar ve karbonizasyona rastlanmıştır. Yeni çalışmalar lazerin dentin yüzeylerinin değiştirilmesinde esas olarak değil alternatif veya yardımcı bir yöntem olarak işlem görebileceğini öne sürmüşlerdir (303).

Rahimi ve ark kök uçlarının bütünlüğü üzerine Er,Cr:YSGG lazer ve ultrasonik retrograd kök ucu kavite preparasyonunun etkilerini karşılaştırmışlardır. Bu in vitro çalışmanın bulgularına göre lazer chipping oluşumu bakımından kök ucu kavitelerinde bütünlüğü ultrasonik aletlere göre daha iyi koruduğu belirtilmiştir (304).

Lazer irradyasyonunun kök dentini üzerine olan etkilerini incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda birleşme, erime, rekristalizasyon ve krater oluşumu gibi morfolojik değişimler gösterilmiştir. Dentini eritebilme ve açık dentin tübüllerininin çapını azaltma veya tamamen kapatma yetisi lazerleri klinik kullanıma elverişli kılmaktadır (305). (306) Lin ve ark Er,Cr:YSGG lazer irradyasyonu sonrası insan dentininin faz, mikroyapı ve kompozisyonunu değerlendirmişlerdir. Su soğutmalı sprej sistemiyle Er,Cr:YSGG lazerle irradiye edilen insan dentinindeki kompozisyon, mikroyapı ve inorganik faz değişimlerinin değerlendirmişler ve X-ray difraksiyon analizi ile lazer irradyasyonu öncesi ve sonrası dentinin ana inorganik fazının yaklaşık 30 nm boyutunda hidroksiapatit yapısında olduğuna bulmuşlardır. Ancak, Atomik force mikroskop (AFM) faz imaj ve enerji dispersif spektroskop (EDS) analizi, su soğutmalı sprej sistemli Er,Cr:YSGG lazerin dentin yüzeyi üzerine termal etkilerinin organik maddenin önemli derecede azalmasını indüklemeye yetecek kadar yoğun olduğunu göstermiştir. Yapılan analizlerin sonucunda, Er,Cr:YSGG lazerin yüzey dentininin inorganik faz yapısını önemli oranda değiştirmese de organik bileşende termal ablasyon gerçekleştiği yönündedir. Dahası, irradyasyon sayesinde açılmış dentin tübülleri ve kaba ablate

edilmiş yüzey adeziv materyallerin infiltrasyonu için avantajlı olabilir ve dental restorasyonların adezyonu artmıştır (307).

Paghdiwala Er:YAG lazer irradyasyonunun organik matriksin buharlaşmasına eşlik eden erimiş, kapanmış tübüller ürettiğini, sıvı geçirgenliğini azalttığını, kontamine kök apeksinin sterilizasyonunu sağladığını ve kök rezorpsiyonuna karşı direnç geliştiğini göstermişlerdir (308). Morita (309) ve Koba (310) Nd:YAG lazerin apikal bölümde debris ve kalan pulpa dokusunu buharlaştırma yeteneğine sahip olduğunu ve postoperatif ağrı gerçekleşmeyeceğini belirtmişlerdir. Takahashi ve ark irradyasyon süresine bakılmaksızın hiçbir örnekte karbonizasyon veya çatlağa rastlamamıştır (311). Bahcall ve ark (312). smear tabakasının hem geleneksel hem de lazerle muamale edilmiş örneklerde mevcut olduğunu ancak Goodis ve ark (313) ıslak tarama elektron mikroskobu çalışmasında smear tabakasının olmadığını göstermişlerdir. Matsuoka ve ark (314) argon lazer irradyasyonunun kanal içi debris etkili bir şekilde kaldırdığını göstermiştir. Stabholz ve ark Arf-193 nm excimer lazerin SEM incelemelerinde peritübüler dentini önemli derecede kaldırdığını, erime, resolidifikasyon ve dentin smear tabakasına yol açtığını bildirmiştir (315).

Jahan ve ark'nın çalışmasına göre düz kanallar Er,Cr:YSGG lazer ile crown-down tekniği kullanılarak başarılı bir şekilde prepare edilebilmektedir. Ancak, lazerle preparasyon esnasında çalışma boyunun saptanması çok önemlidir. Elle preparasyondan farklı olarak, lazerle preparasyonda dokunma hissi sağlanmaz ve bu yüzden özellikle eğimli köklerde basamak veya kum saati, perforasyon, aşırı enstrümantasyon oluşabilir. Ayrıca eğimli kanalların çoğunda lazerle preparasyon yapıldığında örneklerin çoğunda apikal stop oluşturma başarısız olmuştur. Aynı sorunun K-file eğelerde gözlenmediği bildirilmiştir (110).

Yamazaki ve ark'nın Er,Cr:YSGG lazerle 2 W'lık çıkış gücüyle tek köklü insan dişlerinde gerçekleştirdikleri irradyasyonla, kök kanallarında hiçbir erime veya karbonizasyona rastlanmamıştır (165). Daha önce güvenli olduğu gösterilen bir değerde irradyasyon yapılması yanında bütün irradyasyon süreci sırasında su soğutması aktivasyonuna rağmen, burada elde edilen bulgular bu bölgelerin kuru ablasyonu ve karbonizasyonuna yol açmıştır. Su, lazer uygulamaları sırasında sert ve yumuşak dokuların ablasyonunda önemli bir rol oynayabilir. Bu yüzden operatorün su

damlacıklarının buharlaşıp karbonizasyonun meydana geleceği şekilde lazer fiberinin safir ucunu uzun bir süre sabit tutmuş olabileceği düşünülmektedir (112) .

Hem Er,Cr:YSGG hem de Er:YAG lazer su spreyi sayesinde ablasyon meydana getirir. Su dentin ablasyonu için önemli bir rol oynamaktadır. Meister ve ark Er:YAG lazer için dehidrate nemli dentinde ablasyon hacminin su içeren dentine nazaran önemli derecede az iken, Er,Cr:YSGG lazer su spreysiz kullanıldığında ise yüzeysel erime ve derin karbonizasyon zonu göstermiştir. Eksojen suyun Er,Cr:YSGG lazerin dentine ablasyonuna etkisi endojen sudan daha fazla olduğunu belirtmişlerdir (293,316).

Lazer sistemlerinde en büyük sorun lazer ışığının düz bir yol seyretmesidir. Aksiyel kök kanal duvarlarının da irradiye edilebilmesi için lazer uçları modifiye edilmiştir. Kon şekilli uçlar düz sonlanan fiber uçlara göre daha az morfolojik değişime sebep olmaktadır (317). Er,Cr:YSGG lazerler ablatif etkileri dolayısıyla kanallarda kum saati, basamak ve perforasyon oluşumuna neden olabilmektedir. Bu yüzden 15⁰C'den daha eğimli kanallarda dikkatli olunmalı ve uygun lazer parametreleri seçilmelidir (147).

Mevcut tez çalışmasında su spreyi kullanılan grupta dentin tübüllerinin açıldığı, smear tabakasının uzaklaştırıldığı görülmüştür. Ancak literatürle uyumlu olarak su spreyi kullanılmadığında dentin yüzeylerinde karbonizasyon, çatlaklar ve yoğun debris tabakası oluşumu gözlenmiştir. Bu yüzden Er,Cr:YSGG lazer irradyasyonu sırasında mutlaka su spreyi kullanılmalıdır. 2W'lık çıkış gücü kullanıldığında kök kanal duvarlarında hiç karbonizasyon veya erime bulgularına rastlanmamıştır (165).

Bu tez çalışmasında üretici firmanın dezenfeksiyon için önerdiği parametreler kullanıldığından herhangi bir perforasyon görülmemiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında diğer çalışmalarla uyumlu olarak NaOCl antibakteriyel etkinlik yönünden en üstün irigasyon solüsyonu olarak bulunmuştur. Bunun yanında yine literatüre paralel olarak Er,Cr:YSGG lazer irradyasyonu seçilen mikroorganizmalar üzerine tam bir eliminasyon etkisi gösterememiştir. Bu bulgular ışığında Er,Cr:YSGG lazerin NaOCl'ye bir alternatif değil, ek bir tedavi yöntemi olarak kullanılabileceği düşünülebilir. Daha yüksek antibakteriyel etkinlik elde etmek için uygulanan parametrelerin veya lazer iletim sistemlerinin geliştirilmesinin gerektiği düşünülmektedir. Ancak Er,Cr:YSGG lazerin klinik uygulamaya girmeden önce çeşitli hayvan çalışmalarında test edilmesi gerekmektedir.

Sitotoksik etkinin değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilen MTT analizi sonuçlarına göre 0.75 W'ta hücrelerde belirgin hasar gözlenmezken, doz arttıkça hasarın da arttığı gözlenmiştir. Bu bulgu hücre kültür vasatının uygulama anında uzaklaştırıldığı grupta daha belirgin hale gelmiştir. Özellikle süt dişlerinde önemli olan sitotoksik etkinin minimum düzeyde tutulması için üretici talimatlarına uyulmalı ve 0.75 W gücünde ve mutlaka dinlenme ve irradyasyonun birbirini takip ettiği periyotlar şeklinde irradyasyon yapılmalı, boy tespiti çok iyi gerçekleştirilip apikal foramenden 2 mm kısa çalışılmalı, lazer ışığını ileten fiber uç kanalda sabit tutulmamalı apikalden koronale doğru dairesel hareketler şeklinde uygulanmalıdır.

Bu tez çalışmasında literatürde önerilen parametrelerin daha altında parametreler kullanılmış olmasına rağmen sıcaklık artışının beklenenden fazla olmasının olası sebepleri arasında süt dişlerinin ince dentin yapısı, süt dişi kök kanallarının karmaşık yapısından dolayı uygulama lazer ucunun kanaldaki düzensizliklere takılması, klinisyenin lazerle kanal dezenfeksiyonu konusundaki tecrübe eksikliği sayılabilir.

Literatürde sıcaklık artışını inceleyen çalışmalarda sıklıkla kullanılan termokupllarla alınan ölçümlerde termokuplın dişe yapıştırılması sırasında kullanılan iletken materyal de bir miktar ısı abzorbe edecek ve gerçek sıcaklık artışını gizleyebilecektir. Termal kamera ise yüzeyden geri dönen sıcaklık dalgalarını kaydettiği için böyle bir durum söz konusu olmamaktadır. Bu tez çalışmasında tespit edilen sıcaklık artışlarının literatürdeki çalışmalardan daha yüksek olmasının bir sebebi de termal kamera kullanılması olabilir. Bunlara ek olarak ulaşılan en yüksek sıcaklıkların çok kısa süreli olup göz ardı edilebilir seviyede olduğu da düşünülebilir.

Sıcaklık artışlarının her iki grupta da beklenenden bu kadar yüksek olması kullanılan parametrelerin değiştirilmesi gerektiğini düşündürmektedir. Daha az sıcaklıkların elde edilmesi için dinlenme periyotları arttırılıp irradyasyon süreleri azaltılabilir. Ayrıca Er,Cr:YSGG su sprej tasarımının da geliştirilmesi gerektiği de düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında da alınan SEM görüntüleri incelendiğinde su spreysiz grupta dentin tübüllerinin kalın bir smear tabakasıyla kaplandığı görülmektedir. Su sprejinin kullanıldığı grupta ise dentin tübülleri üzerindeki smear tabakasının uzaklaştırıldığı görülmüştür. Ayrıca su sprejinin kullanılmadığı gruptaki örneklerde kök dentini yüzeyinde karbonizasyon, çatlak oluşumu, rekristalizasyona rastlanmıştır. Bu yüzden, Er,Cr:YSGG lazerin süt dişi kök kanallarında dezenfeksiyon amacıyla kullanımında su sprejinin önemi büyüktür. Bu parametrelere rağmen kök kanallarında karbonizasyon ve özellikle su spreysiz grupta kanal duvarlarında smear tabakası uzaklaştırılamamıştır. Bu tez çalışmasında fiber optik ucun kanal duvarlarında hareketsiz kaldığı alanlarda suyun buharlaştığı ve karbonizasyona yol açtığı düşünülmektedir. Her lazer gibi Er,Cr:YSGG lazer kullanımı sırasında da lazer ucu kök kanalları içerisinde hareketsiz ve uzun süre bırakılmamalı ve mutlaka su spreji eşliğinde irradyasyon yapılmalıdır.

Bu in vitro tez çalışmasının bulguları ışığında Er,Cr:YSGG lazerin henüz klinik uygulama için bir alternatif değil sadece yardımcı yöntem olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanında Er,Cr:YSGG lazerin klinik kullanıma girmesi için daha çok in vitro çalışmaya ve hayvan çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Referanslar

1. Fuks AB (2000). Pulp therapy for the primary and young permanent dentitions. *Dent Clin North Am* 44: 571-96, vii.
2. Rock WP, British Society of Paediatric D (2002). UK National Clinical Guidelines in Paediatric Dentistry. Extraction of primary teeth -- balance and compensation. *Int J Paediatr Dent* 12: 151-3.
3. Whitworth JM, Nunn JH (1997). Paediatric Dentistry: Paediatric endodontics. Hong Kong, Oxford University Press, 139-169.
4. Krakow AA, Berk H, Gron P (1981). Advanced endodontic therapy in pedodontics: Clinical oral pediatrics, Quintessence Publishing.
5. Low W, Tan S, Schwartz S (1999). The effect of severe caries on the quality of life in young children. *Pediatr Dent* 21: 325-6.
6. Chugal NM, Clive JM, Spangberg LS (2003). Endodontic infection: some biologic and treatment factors associated with outcome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 96: 81-90.
7. Ranly DM (1999). Pulp therapy at the turn of the century. *Pediatr Dent* 21: 384-6.
8. Mathewson RJ, Primosch RE (1995). Fundamentals of Paediatric Dentistry. 3 ed. Chicago, IL: Quintessence Publishing.
9. Spedding RH (1973). Root canal treatments for primary teeth. *Dent Clin North Am* 17: 105-24.
10. Andlow RJ, Rock WP (1996). A Manual of Paediatric Dentistry. Edinburgh: Churchill Livingstone.
11. Gould JM (1972). Root canal therapy for infected primary molar teeth--preliminary report. *ASDC J Dent Child*. 39: 269-73.
12. Walsh LJ (2003). The current status of laser applications in dentistry. *Aust Dent J*. 48: 146-55.
13. Soares F, Varella CH, Pileggi R, Adewumi A, Guelmann M (2008). Impact of Er,Cr:YSGG laser therapy on the cleanliness of the root canal walls of primary teeth. *J Endod* 34: 474-7.
14. Levine N, Pulver F, Torneck CD (1988) Pediatric Dentistry: Pulpal therapy in primary and young permanent teeth, Total Patient Care. Philadelphia, Lea&Febiger; 298-312.

15. Weir E (2002). Dental caries: a nation divided. CMAJ. 167: 1035.
16. Tagger E, Tagger M (1998). Endodontic treatment of primary teeth: Essential Endodontology (Prevention and treatment of apical periodontitis). First edition, Blackwell publishing, USA, P: 106.
17. Alaçam T (2000). Endodonti, Barış yayınları, Ankara, S: 495-532.
18. Bayırlı G (1998). Endodontik tedavi I-II , İ.Ü. Basımevi ve Film merkezi, İstanbul, S:399-474,
19. Orstavik D (1988). Antibacterial properties of endodontic materials. Int Endod J 21: 161-9.
20. Sukawat C, Srisuwan T (2002). A comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with *Enterococcus faecalis*. J Endod 28: 102-4.
21. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ (2003). Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. Int Endod J 36: 1-11.
22. Aydın M (2000). Endodontik mikrobiyoloji: Endodonti, Barış yayınları, Ankara; S:313.
23. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ (1965). The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 20: 340-9.
24. Moller AJ, Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Heyden G (1981). Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. Scand J Dent Res 89: 475-84.
25. Sundqvist G (1992). Ecology of the root canal flora. J Endod 18: 427-30.
26. Alaçam A (2000). Endodonti: Pedodontide endodontik yaklaşımlar, Barış yayınları, Ankara; S:693.
27. Myers DR, Battenhouse MR, Barenie JT, McKinney RV, Singh B (1987). Histopathology of furcation lesions associated with pulp degeneration in primary molars. Pediatr Dent 9: 279-82.
28. Rocha CT, Rossi MA, Leonardo MR, Rocha LB, Nelson-Filho P, Silva LA (2008). Biofilm on the apical region of roots in primary teeth with vital and necrotic

- pulps with or without radiographically evident apical pathosis. *Int Endod J*. 41: 664-9.
29. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Favieri A, Lima KC (2000). Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod* 26: 331-4.
 30. Najzar-Fleger D, Filipovic D, Prpic G, Kobler D (1992). *Candida* in root canal in accordance with oral ecology. *Int Endod J* 25:40.
 31. Gilmore MS (2002). *The Enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance*. ASM Press, Washington.
 32. Rocas IN, Siqueira JF, Jr., Santos KR (2004). Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod* 30: 315-20.
 33. Koch S, Hufnagel M, Theilacker C, Huebner J (2004). Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities. *Vaccine* 22: 822-30.
 34. Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N (2003). Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century. *Cell Mol Life Sci* 60: 2622-36.
 35. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U (1998). Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85: 86-93.
 36. Hancock HH, 3rd, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J (2001). Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 91: 579-86.
 37. Terpenning MS, Zervos MJ, Schaberg DR, Kauffman CA (1988). Enterococcal infections: an increasing problem in hospitalized patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 9: 457-61.
 38. Molander A, Reit C, Dahlen G (1990). Microbiological evaluation of clindamycin as a root canal dressing in teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 23: 113-8.
 39. Haapasalo M, Ranta H, Ranta KT (1983). Facultative gram-negative enteric rods in persistent periapical infections. *Acta Odontol Scand* 41: 19-22.
 40. Smyth CJ, Halpenny MK, Ballagh SJ (1987). Carriage rates of enterococci in the dental plaque of haemodialysis patients in Dublin. *Br J Oral Maxillofac Surg* 25: 21-33.

41. McCrary BR, Streckfuss JL, Keene HJ (1989). Oral hygiene and the prevalence of oral group D streptococci in medically-physically compromised and periodontal disease patients. *J Periodontol* 60: 255-8.
42. Rams TE, Feik D, Young V, Hammond BF, Slots J (1992). Enterococci in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 7: 249-52.
43. Soll DR (2002). Candida commensalism and virulence: the evolution of phenotypic plasticity. *Acta Trop* 81: 101-10.
44. Arendorf TM, Walker DM (1980). The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch Oral Biol* 25: 1-10.
45. Jacob LS, Flaitz CM, Nichols CM, Hicks MJ (1998). Role of dentinal carious lesions in the pathogenesis of oral candidiasis in HIV infection. *J Am Dent Assoc* 129: 187-94.
46. Hodson JJ, Craig GT (1972). The incidence of *Candida albicans* in the plaques of teeth of children. *Dent Pract Dent Rec* 22: 296-301.
47. Lynch E, Beighton D (1994). A comparison of primary root caries lesions classified according to colour. *Caries Res* 28: 233-9.
48. Slots J, Rams TE, Listgarten MA (1988). Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 3: 47-52.
49. Zambon JJ, Reynolds HS, Genco RJ (1990). Studies of the subgingival microflora in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *J Periodontol* 61: 699-704.
50. Pizzo G, Barchiesi F, Falconi Di Francesco L, Giuliana G, Arzeni D, et al. Genotyping and antifungal susceptibility of human subgingival *Candida albicans* isolates. *Arch Oral Biol* 2002;47: 189-96.
51. Reynaud AH, Nygaard-Ostby B, Boygard GK, Eribe ER, Olsen I, Gjermo P (2001). Yeasts in periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 28: 860-4.
52. Sen BH, Safavi KE, Spangberg LS (1999). Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *J Endod* 25: 235-8.
53. Waltimo TM, Orstavik D, Siren EK, Haapasalo MP (1999). In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *Int Endod J* 32: 421-9.

54. Bahcall JK, Barss JT (2000). Understanding and evaluating the endodontic file. *Gen Dent* 48: 690-2.
55. Sedgley C (2004). Root canal irrigation--a historical perspective. *J Hist Dent* 52: 61-5.
56. Barr ES, Flatiz CM, Hicks MJ (1991). A retrospective radiographic evaluation of primary molar pulpectomies. *Pediatr Dent* 13: 4-9.
57. Eick JD, Wilko RA, Anderson CH, Sorensen SE (1970). Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. *J Dent Res* 49: Suppl:1359-68.
58. Brannstrom M, Johnson G (1974). Effects of various conditioners and cleaning agents on prepared dentin surfaces: a scanning electron microscopic investigation. *J Prosthet Dent* 31: 422-30.
59. McComb D, Smith DC (1975). A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1: 238-42.
60. Lester KS, Boyde A (1977). Scanning electron microscopy of instrumented, irrigated and filled root canals. *Br Dent J* 143: 359-67.
61. Drake DR, Wiemann AH, Rivera EM, Walton RE (1994). Bacterial retention in canal walls in vitro: effect of smear layer. *J Endod* 20: 78-82.
62. Shahravan A, Haghdooost AA, Adl A, Rahimi H, Shadifar F (2007). Effect of smear layer on sealing ability of canal obturation: a systematic review and meta-analysis. *J Endod* 33: 96-105.
63. Garberoglio R, Brannstrom M (1976). Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol* 21: 355-62.
64. Outhwaite WC, Livingston MJ, Pashley DH (1976). Effects of changes in surface area, thickness, temperature and post-extraction time on human dentine permeability. *Arch Oral Biol* 21: 599-603.
65. Pashley DH (1985). Dentin-predentin complex and its permeability: physiologic overview. *J Dent Res* 64 Spec No: 613-20.
66. Madison S, Krell KV (1984). Comparison of ethylenediamine tetraacetic acid and sodium hypochlorite on the apical seal of endodontically treated teeth. *J Endod* 10: 499-503.

67. Goldberg F, Artaza LP, De Silvio A (1995). Apical sealing ability of a new glass ionomer root canal sealer. *J Endod* 21: 498-500.
68. Chailertvanitkul P, Saunders WP, MacKenzie D (1996). The effect of smear layer on microbial coronal leakage of gutta-percha root fillings. *Int Endod J* 29: 242-8.
69. Pashley DH (1984). Smear layer: physiological considerations. *Oper Dent Suppl* 3: 13-29.
70. Williams S, Goldman M (1985). Penetrability of the smeared layer by a strain of *Proteus vulgaris*. *J Endod* 11: 385-8.
71. Meryon SD, Brook AM (1990). Penetration of dentine by three oral bacteria in vitro and their associated cytotoxicity. *Int Endod J* 23: 196-202.
72. White RR, Goldman M, Lin PS (1987). The influence of the smeared layer upon dentinal tubule penetration by endodontic filling materials. Part II. *J Endod* 13: 369-74.
73. Gencoglu N, Samani S, Gunday M (1993). Dentinal wall adaptation of thermoplasticized gutta-percha in the absence or presence of smear layer: a scanning electron microscopic study. *J Endod* 19: 558-62.
74. Gutmann JL (1993). Adaptation of injected thermoplasticized gutta-percha in the absence of the dentinal smear layer. *Int Endod J* 26: 87-92.
75. Cergneux M, Ciucchi B, Dietschi JM, Holz J (1987). The influence of the smear layer on the sealing ability of canal obturation. *Int Endod J* 20: 228-32.
76. George S, Kishen A, Song KP (2005). The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 31: 867-72.
77. Mader CL, Baumgartner JC, Peters DD (1984). Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. *J Endod* 10: 477-83.
78. Violich DR, Chandler NP (2010). The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J* 43: 2-15.
79. Mohammadi Z, Abbott PV (2009). Antimicrobial substantivity of root canal irrigants and medicaments: a review. *Aust Endod J* 35: 131-9.
80. Günaydın İ (2002). Kök kanalında *E.faecalis*'in eliminasyonunda farklı yıkama yöntemleriyle kullanılan yıkama solüsyonlarının ve kanal içi kalsiyum hidroksit uygulamasının etkinliğinin in vitro olarak incelenmesi. İstanbul Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı Doktora tezi.

81. Zehnder M (2006). Root canal irrigants. J Endod 32: 389-98.
82. Koylu G (2007). Farklı irrigasyon solüsyonlarının antifungal ve yumusak dokudaki histopatolojik etkilerinin incelenmesi. Gazi Üniversitesi, Doktora tezi.
83. Chow TW (1983). Mechanical effectiveness of root canal irrigation. J Endod 9: 475-9.
84. Fegan SE, Steiman HR (1995). Comparative evaluation of the antibacterial effects of intracanal Nd:YAG laser irradiation: an in vitro study. J Endod 21: 415-7.
85. Gutknecht N, van Gogswaardt D, Conrads G, Apel C, Schubert C, Lampert F (2000). Diode laser radiation and its bactericidal effect in root canal wall dentin. J Clin Laser Med Surg 18: 57-60.
86. Bayırlı G (1998). Kök kanallarının temizlenmesi ve yıkanması. Endodontik Tedavi. İstanbul: İ. Ü. Basımevi ve Film Merkezi; 269-291.
87. Pashley EL, Birdsong NL, Bowman K, Pashley DH (1985). Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. J Endod 11: 525-8.
88. Crane A (1920). A practicable root canal technic. Philadelphia: Lea & Febiger.
89. Best M, Springthorpe VS, Sattar SA (1994). Feasibility of a combined carrier test for disinfectants: studies with a mixture of five types of microorganisms. Am J Infect Control 22: 152-62.
90. Rutala W (1990). APIC guidelines for infection control practice. Am J Infect Control 18: 99-117.
91. Sabala CL, Powell SE (1989). Sodium hypochlorite injection into periapical tissues. J Endod 15: 490-2.
92. Williams CE, Reid JS, Sharkey SW, Saunders WP (1995). In-vitro measurement of apically extruded irrigant in primary molars. Int Endod J 28: 221-5.
93. Rubin LM, Skobe Z, Krakow AA, Gron P (1979). The effect of instrumentation and flushing of freshly extracted teeth in endodontic therapy: a scanning electron microscope study. J Endod 5: 328-35.
94. Siqueira JF, Jr., Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M (1997). Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation

- methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro. Int Endod J 30: 279-82.
95. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spano JC, Marchesan MA, Pecora JD (2002). Mechanism of action of sodium hypochlorite. Braz Dent J 13: 113-7.
 96. Greenstein G, Berman C, Jaffin R (1986). Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. J Periodontol 57: 370-7.
 97. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ (2007). The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. Aust Dent J 52: S64-82.
 98. Haapasalo M (2005). Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. Endod Top 10: 71–102.
 99. Ercan E, Dalli M, Dulgergil CT (2006). In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 102: e27-31.
 100. Jenkins S, Addy M, Wade W (1988). The mechanism of action of chlorhexidine. A study of plaque growth on enamel inserts in vivo. J Clin Periodontol 15: 415-24.
 101. Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS (1983). A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: Part 3. J Endod 9: 137-42.
 102. Sen BH, Wesselink PR, Turkun M (1995). The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. Int Endod J 28: 141-8.
 103. Goldman M, Goldman LB, Cavaleri R, Bogis J, Lin PS (1982). The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a scanning electron microscopic study: Part 2. J Endod 8: 487-92.
 104. Garberoglio R, Becce C (1994). Smear layer removal by root canal irrigants. A comparative scanning electron microscopic study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 78: 359-67.
 105. Ingle JJ, Bankland LK, Peters DL, Buchanan LS, Mullaney TP (1994) Endodontic Cavity Preparation. "Endodontics" IV. Baskı, Williams ve Wilkins Inc, Baltimore: s. 166-169.

106. Pitoni CM, Figueiredo MC, Araujo FB, Souza MA (2011). Ethylenediaminetetraacetic acid and citric acid solutions for smear layer removal in primary tooth root canals. *J Dent Child (Chic)* 78: 131-7.
107. Dederich DN, Zakariasen KL, Tulip J (1984). Scanning electron microscopic analysis of canal wall dentin following neodymium-yttrium-aluminum-garnet laser irradiation. *J Endod* 10: 428-31.
108. Tewfik HM, Pashley DH, Horner JA, Sharawy MM (1993). Structural and functional changes in root dentin following exposure to KTP/532 laser. *J Endod* 19: 492-7.
109. Radatti DA, Baumgartner JC, Marshall JG (2006). A comparison of the efficacy of Er,Cr:YSGG laser and rotary instrumentation in root canal debridement. *J Am Dent Assoc* (1939) 137: 1261-6.
110. Jahan KM, Hossain M, Nakamura Y, Yoshishige Y, Kinoshita J, Matsumoto K (2006). An assessment following root canal preparation by Er,Cr: YSGG laser irradiation in straight and curved roots, in vitro. *Lasers Med Sci* 21: 229-34.
111. Ishizaki NT, Matsumoto K, Kimura Y, Wang X, Kinoshita J, Okano SM, Jayawardena JA (2004). Thermographical and morphological studies of Er,Cr:YSGG laser irradiation on root canal walls. *Photomed Laser Surg* 22: 291-7.
112. Altundasar E, Ozcelik B, Cehreli ZC, Matsumoto K (2006). Ultramorphological and histochemical changes after ER,CR:YSGG laser irradiation and two different irrigation regimes. *J Endod* 32: 465-8.
113. Ali MN, Hossain M, Nakamura Y, Matsuoka E, Kinoshita J, Matsumoto K (2005). Efficacy of root canal preparation by Er,Cr:YSGG laser irradiation with crown-down technique in vitro. *Photomed Laser Surg* 23: 196-201.
114. Coluzzi DJ (2000). An overview of laser wavelengths used in dentistry. *Dent Clin North Am* 44: 753-65.
115. Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Sperr W (1998). The CO2 laser as an aid in direct pulp capping. *J Endod* 24: 248-51.
116. Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Sperr W (1998). Advantages of a pulsed CO2 laser in direct pulp capping: a long-term in vivo study. *Lasers Surg Med* 22: 288-93.

117. Midda M, Renton-Harper P (1991). Lasers in dentistry. *Br Dent J* 170: 343-6.
118. Miller M, Truhe T (1993). Lasers in dentistry: an overview. *J Am Dent Assoc* 124: 32-5.
119. Pick RM (1993). Using lasers in clinical dental practice. *J Am Dent Assoc* 124: 37-4.
120. Harris, D.M. ve Pick, R.M. (1995) *Laser Physics: Lasers in Dentistry*, Quintessence Publishing Co, Inc. s. 27 – 38.
121. Wintner, E. ve Strassl, M. *Basic Information on Lasers*. (2006). (Ed: Moritz A). *Oral Laser Application*, Quintessenz Verlags- GmbH, Berlin. s. 1-55.
122. Cilesiz I. *Laser tissue interactions* (2004). (ed: Drigers RG). *Encyclopaedia of Optical Engineering*. London: Marcel Dekker Ltd., Taylor and Francis Books, 2004 - accessed online 1 May 2008 10.1081/E-EOE-120009714.
123. Sulewski JG (2000). Historical survey of laser dentistry. *Dent Clin North Am*. 44: 717-52.
124. Yeh S, Jain K, Andreana S (2005). Using a diode laser to uncover dental implants in second-stage surgery. *Gen Dent* 53: 414-7.
125. Cobb CM (2006). Lasers in periodontics: a review of the literature. *J Periodontol* 77: 545-64.
126. Noguchi T, Sanaoka A, Fukuda M, Suzuki S, Aoki T (2005). Combined effects of Nd:YAG laser irradiation with local antibiotic application into periodontal pockets. *J Int Acad Periodontol* 7: 8-15.
127. Rodrigues LK, Nobre Dos Santos M, Featherstone JD (2006). In situ mineral loss inhibition by CO2 laser and fluoride. *J Dent Res* 85: 617-21.
128. Hossain M, Nakamura Y, Kimura Y, Yamada Y, Kawanaka T, Matsumoto K (2001). Effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation on acid demineralization of enamel and dentin. *J Clin Laser Med Surg* 19: 105-8.
129. Liu JF (2006). Effects of Nd:YAG laser pulpotomy on human primary molars. *J Endod* 32: 404-7.
130. Stabholz A, Khayat A, Ravanshad SH, McCarthy DW, Neev J, Torabinejad M (1992). Effects of Nd:YAG laser on apical seal of teeth after apicoectomy and retrofill. *J Endod* 18: 371-5.

131. Moritz A, Gutknecht N, Goharkhay K, Schoop U, Wernisch J, Sperr W (1997). In vitro irradiation of infected root canals with a diode laser: results of microbiologic, infrared spectrometric, and stain penetration examinations. *Quintessence Int* 28: 205-9.
132. Moritz A, Gutknecht N, Schoop U, Goharkhay K, Doertbudak O, Sperr W (1997). Irradiation of infected root canals with a diode laser in vivo: results of microbiological examinations. *Lasers Surg Med* 21: 221-6.
133. Kreisler M, Kohnen W, Beck M, Al Haj H, Christoffers AB, Gotz H, Duschner H, Jansen B, D'Hoedt B (2003). Efficacy of NaOCl/H₂O₂ irrigation and GaAlAs laser in decontamination of root canals in vitro. *Lasers Surg Med* 32: 189-96.
134. Tagomori S, Iwase T (1995). Ultrastructural change of enamel exposed to a normal pulsed Nd-YAG laser. *Caries Res* 29: 513-20.
135. Cox CJ, Pearson GJ, Palmer G (1994). Preliminary in vitro investigation of the effects of pulsed Nd:YAG laser radiation on enamel and dentine. *Biomaterials* 15: 1145-51.
136. Pogrel MA, Muff DF, Marshall GW (1993). Structural changes in dental enamel induced by high energy continuous wave carbon dioxide laser. *Lasers Surg Med* 13: 89-96.
137. McCormack SM, Fried D, Featherstone JD, Glena RE, Seka W (1995). Scanning electron microscope observations of CO₂ laser effects on dental enamel. *J Dent Res* 74: 1702-8.
138. Cernavin I (1995). A comparison of the effects of Nd:YAG and Ho:YAG laser irradiation on dentine and enamel. *Aust Dent J* 40: 79-84.
139. Palamara J, Phakey PP, Orams HJ, Rachinger WA (1992). The effect on the ultrastructure of dental enamel of excimer-dye, argon-ion and CO₂ lasers. *Scanning Microsc* 6: 1061-70; discussion 1070-1.
140. Moss JP, Patel BC, Pearson GJ, Arthur G, Lawes RA (1994). Krypton fluoride excimer laser ablation of tooth tissues: precision tissue machining. *Biomaterials* 15: 1013-8.
141. Eder A (1994). [Lasers in dentistry with special reference to internal temperature in the pulp cavity using the excimer laser with 248 nm of different frequencies]. *Wien Klin Wochenschr* 106: 623-5.

142. Weichman JA, Johnson FM, Nitta LK (1972). Laser use in endodontics. II. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 34: 828-30.
143. Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, Pearson GJ (2006). Microbiological evaluation of photo-activated disinfection in endodontics (an in vivo study). Br Dent J 200: 337-41, discussion 329.
144. Peters OA, Laib A, Gohring TN, Barbakow F (2001). Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. J Endod 27: 1-6.
145. Schoop U, Kluger W, Dervisbegovic S, Goharkhay K, Wernisch J, Georgopoulos A, Sperr W, Moritz A (2006). Innovative wavelengths in endodontic treatment. Lasers Surg Med 38: 624-30.
146. Schoop U, Kluger W, Moritz A, Nedjelic N, Georgopoulos A, Sperr W (2004). Bactericidal effect of different laser systems in the deep layers of dentin. Lasers Surg Med 35: 111-6.
147. Matsuoka E, Jayawardena JA, Matsumoto K (2005). Morphological study of the Er,Cr:YSGG laser for root canal preparation in mandibular incisors with curved root canals. Photomed Laser Surg 23: 480-4.
148. Chaudhry R, Kalra N, Talwar V, Thakur R (1997). Anaerobic flora in endodontic infections. Indian J Med Res 105: 262-5.
149. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U (1998). Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 85: 86-93.
150. Kouchi Y, Ninomiya J, Yasuda H, Fukui K, Moriyama T, Okamoto H (1980). Location of Streptococcus mutans in the dentinal tubules of open infected root canals. J Dent Res 59: 2038-46.
151. Berutti E, Marini R, Angeretti A (1997). Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. J Endod 23: 725-7.
152. Coluzzi DJ (2008). What laser does your practice need? Advantages, considerations, and practice integration of laser dentistry. Alpha Omegan 101: 202-5.
153. Kimura Y, Wilder-Smith P, Matsumoto K (2000). Lasers in endodontics: a review. Int Endod J 33: 173-85.

154. White JM, Goodis HE, Cohen JN (1991). Bacterial reduction of contaminated dentine by Nd:YAG laser. *J Dent Res* 70: 412.
155. Rooney J, Midda M, Leeming J (1994). A laboratory investigation of the bactericidal effect of a NdYAG laser. *Br Dent J* 176: 61-4.
156. Gutknecht N, Moritz A, Conrads G, Sievert T, Lampert F (1996). Bactericidal effect of the Nd:YAG laser in in vitro root canals. *J Clin Laser Med Surg* 14: 77-80.
157. Varella CH, Pileggi R (2007). Obturation of root canal system treated by Cr, Er: YSGG laser irradiation. *J Endod* 33: 1091-3.
158. Klink T, Klimm W, Gutknecht N (1997). Antibacterial effects of Nd:YAG laser irradiation within root canal dentin. *J Clin Laser Med Surg* 15: 29-31.
159. Vaarkamp J, ten Bosch JJ, Verdonschot EH (1995). Propagation of light through human dental enamel and dentine. *Caries Res* 29: 8-13.
160. Odor TM, Chandler NP, Watson TF, Ford TR, McDonald F (1999). Laser light transmission in teeth: a study of the patterns in different species. *Int Endod J* 32: 296-302.
161. Primosch RE, Ahmadi A, Setzer B, Guelmann M (2005). A retrospective assessment of zinc oxide-eugenol pulpectomies in vital maxillary primary incisors successfully restored with composite resin crowns. *Pediatr Dent* 27: 470-7.
162. Moskovitz M, Sammara E, Holan G (2005). Success rate of root canal treatment in primary molars. *J Dent* 33: 41-7.
163. Mortazavi M, Mesbahi M (2004). Comparison of zinc oxide and eugenol, and Vitapex for root canal treatment of necrotic primary teeth. *Int J Paediatr Dent* 14: 417-24.
164. Carrotte P (2005). Endodontic treatment for children. *Br Dent J* 198: 9-15.
165. Yamazaki R, Goya C, Yu DG, Kimura Y, Matsumoto K (2001). Effects of erbium,chromium:YSGG laser irradiation on root canal walls: a scanning electron microscopic and thermographic study. *J Endod* 27: 9-12.
166. Wigdor H (2008). Basic physics of laser interaction with vital tissue. *Alpha Omegan* 101: 127-32.

167. Daniel Fried, John D. B. Featherstone, Steven R. Visuri, Seka WD, Joseph T. Walsh J (1996) Caries inhibition potential of Er:YAG and Er:YSGG laser radiation. Proc SPIE.
168. Eversole LR, Rizioiu IM (1995). Preliminary investigations on the utility of an erbium, chromium YSGG laser. J Calif Dent Assoc 23: 41-7.
169. Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Matsumoto N, Matsumoto K (1999). Effects of Er,Cr:YSGG laser irradiation in human enamel and dentin: ablation and morphological studies. J Clin Laser Med Surg. 17: 155-9.
170. http://www.biolase.com/products/waterlasemd/images/WaterlaseMD_TriFold_080_210_Reader.pdf [online].
171. Harris DM, Werkhaven JA (1989). Biophysics and applications of medical lasers. Adv Otolaryngol Head Neck Surg 3: 91-123.
172. Meire M, De Moor R (2007). Lasers in endodontics: laser disinfection, an added value? ENDO (Lond Engl) 3: 159-172.
173. Miserendino LJ, Miserendino CA (1995). Lasers in Dentistry, (eds: Miserendino L J, Pick RM) Quintessence Books. Chicago.
174. Beer F, Strassl M, Wernisch J (2005). Laser safety. J Oral Laser Applic 5: 71-77.
175. Beer F, Strassl M, Wernisch J (2006). Laser Safety. (ed: Moritz A). Quintessenz Verlags-GmbH. Berlin.
176. Szymanska J (2000). Work-related vision hazards in the dental office. Ann Agric Environ Med 7: 1-4.
177. Miserandino LJ, Pick RM, Blankenau RJ (1995). Lasers in Dentistry,. (Ed: Miserandino LJ, Pick RM) Quintessence Publishing Co, Inc.
178. Parker P (2006). Laser Safety. Changes to Regulations as to use. J Academy Laser Dent 14: 32-34.
179. Parker S (2007). Laser regulation and safety in general dental practice. Br Dent J 202: 523-32.
180. Piccione PJ (2004). Dental laser safety. Dent Clin North Am 48: 795-807, v.
181. Barat K (2006). Laser Safety Management. Boca Raton FL: CRC Press.
182. Laser plumes—Health care facilities.:. (2008). http://www.ccohs.ca/oshanswers/phys_agents/laser_plume.html.

183. Stabholz A, Sahar-Helft S, Moshonov J (2004). Lasers in endodontics. *Dent Clin North Am* 48: 809-32, vi.
184. Matsumoto K (2000). Lasers in endodontics. *Dent Clin North Am* 44: 889-906, viii.
185. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ (2002). Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod* 28: 689-93.
186. Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Takemura N, Ebisu S (2002). Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis. *J Endod* 28: 679-83.
187. Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K (2001). An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. *Int Endod J* 34: 300-7.
188. Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Jakolitsch S, Kluger W, Wernisch J, Sperr W (1999). The bactericidal effect of Nd:YAG, Ho:YAG, and Er:YAG laser irradiation in the root canal: an in vitro comparison. *J Clin Laser Med Surg* 17: 161-4.
189. Schmalz G (1994). Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials--advantages and limitations. *J Dent* 22 Suppl 2: S6-11.
190. Gutknecht N (1999). *Lasertherapie in der zahnärztlichen Praxis*. Quintessenz Verlag. Berlin.
191. Gutknecht N, Kaiser F, Hassan A, Lampert F (1996). Long-term clinical evaluation of endodontically treated teeth by Nd:YAG lasers. *J Clin Laser Med Surg* 14: 7-11.
192. Kreisler M, Christoffers AB, Al-Haj H, Willershausen B, d'Hoedt B (2002). Low level 809-nm diode laser-induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts. *Lasers Surg Med* 30: 365-9.
193. Kreisler M, Daublander M, Willershausen-Zonnchen B, d'Hoedt B (2001). Effect of diode laser irradiation on the survival rate of gingival fibroblast cell cultures. *Lasers Surg Med* 28: 445-50.
194. Rizoiu IM, DeShazer LG (1994). New laser-matter interaction concept to enhance hard tissue cutting efficiency. *SPIE Proc*, 309-17.

195. Denise M. Zezell, Silvia C. M. Cecchini, Pinotti M, Eduardo CdP (1996). Temperature changes under Ho:YLF irradiation. Proc SPIE 34.
196. Lipski M (2006). In vitro infrared thermographic assessment of root surface temperatures generated by high-temperature thermoplasticized injectable gutta-percha obturation technique. J Endod 32: 438-41.
197. Spangberg L (2002). Instruments, materials and devices,. (eds: Cohen S, Burns RC) Mosby. Missouri.
198. Kim S, Trowbridge H, Soda H (2002). Pulpal reaction to caries and dental procedures, (eds: Cohen S, Burns RC) Mosby. Missouri.
199. Anic I, Matsumoto K (1995). Dentinal heat transmission induced by a laser-softened gutta-percha obturation technique. J Endod 21: 470-4.
200. Yamada MK, Uo M, Ohkawa S, Akasaka T, Watari F (2004). Three-dimensional topographic scanning electron microscope and Raman spectroscopic analyses of the irradiation effect on teeth by Nd:YAG, Er: YAG, and CO(2) lasers. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 71: 7-15.
201. Goodis HE, Fried D, Gansky S, Rechmann P, Featherstone JD (2004). Pulpal safety of 9.6 microm TEA CO2 laser used for caries prevention. Lasers Surg Med 35: 104-10.
202. Turkmen C, Gunday M, Karacorlu M, Basaran B (2000). Effect of CO2, Nd:YAG, and ArF excimer lasers on dentin morphology and pulp chamber temperature: an in vitro study. J Endod 26: 644-8.
203. Berlien HP, Müller G (1989). Angewandte Lasermedizin. Ecomed, Landberg/Lech.
204. Grasser H, Ackermann K (1977). [Possibilities for the use of lasers in dental surgery]. Dtsch Zahnarztl Z 32: 512-5.
205. Groteluschen B (1976). [Surgical use of the laser]. Fortschr Med 94: 33-6.
206. Manni JG (1996) Dental Applications of Advanced Lasers. Burlington MA: JGM Associates,
207. Kato K, Nagasawa K, Nishikawa K (1981). Thermal changes of soft tissue with irradiation of CO₂, Nd: YAG and argon laser. (eds: Atsumi K., Nimsakul N).

208. Weinberg W, Kromester A, Keiditsch E (1979). Temperature Measurement in Living Tissue Obtained in Laser Application., Kaplan I. editor. Jerusalem: Proc. 3rd Int. Cong. Acad. Press.
209. Anic I, Tachibana H, Masumoto K, Qi P (1996). Permeability, morphologic and temperature changes of canal dentine walls induced by Nd: YAG, CO₂ and argon lasers. *Int Endod J* 29: 13-22.
210. Eriksson AR, Albrektsson T (1983). Temperature threshold levels for heat-induced bone tissue injury: a vital-microscopic study in the rabbit. *J Prosthet Dent* 50: 101-7.
211. Burkes EJ, Jr., Hoke J, Gomes E, Wolbarsht M (1992). Wet versus dry enamel ablation by Er:YAG laser. *J Prosthet Dent* 67: 847-51.
212. Machida T, Mazeki K, Narushima K, Matsumoto K (1996). Study on temperature raising in tooth structure at irradiating Er-YAG laser. *J Jpn Endod Assoc* 17: 38-40.
213. Rizioiu I, Kimmel AI, Eversole LR (1996). The effects of an Er,Cr:YSGG laser on canine oral hard tissues. *SPIE Proc*, 74–83.
214. Eversole LR, Rizioiu I, Kimmel AI (1997). Pulpal response to cavity preparation by an erbium, chromium:YSGG laser-powered hydrokinetic system. *J Am Dent Assoc* 128: 1099-106.
215. Rizioiu I, Kohanghadosh F, Kimmel AI, Eversole LR (1998). Pulpal thermal responses to an erbium,chromium: YSGG pulsed laser hydrokinetic system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 86: 220-3.
216. Bahcall J, Howard P, Miserendino L, Walia H (1992). Preliminary investigation of the histological effects of laser endodontic treatment on the periradicular tissues in dogs. *J Endod* 18: 47-51.
217. Gutknecht N, Franzen R, Meister J, Vanweersch L, Mir M (2005). Temperature evolution on human teeth root surface after diode laser assisted endodontic treatment. *Lasers Med Sci* 20: 99-103.
218. Viducic D, Jukic S, Karlovic Z, Bozic Z, Miletic I, Anic I (2003). Removal of gutta-percha from root canals using an Nd:YAG laser. *Int Endod J* 36: 670-3.

219. Anic I, Dzibur A, Vidovic D, Tudja M (1993). Temperature and surface changes of dentine and cementum induced by CO₂ laser exposure. *Int Endod J* 26: 284-93.
220. Saunders EM (1990). In vivo findings associated with heat generation during thermomechanical compaction of gutta-percha. 2. Histological response to temperature elevation on the external surface of the root. *Int Endod J* 23: 268-74.
221. Machida T, Wilder-Smith P, Arrastia AM, Liaw LH, Berns MW (1995). Root canal preparation using the second harmonic KTP:YAG laser: a thermographic and scanning electron microscopic study. *J Endod* 21: 88-91.
222. Nammour S, Kowaly K, Powell GL, Van Reck J, Rocca JP (2004). External temperature during KTP-Nd:YAG laser irradiation in root canals: an in vitro study. *Lasers Med Sci* 19: 27-32.
223. Sauk JJ, Norris K, Foster R, Moehring J, Somerman MJ (1988). Expression of heat stress proteins by human periodontal ligament cells. *J Oral Pathol* 17: 496-9.
224. Takeda FH, Harashima T, Kimura Y, Matsumoto K (1998). Efficacy of Er:YAG laser irradiation in removing debris and smear layer on root canal walls. *J Endod* 24: 548-51.
225. Takeda FH, Harashima T, Eto JN, Kimura Y, Matsumoto K (1998). Effect of Er:YAG laser treatment on the root canal walls of human teeth: an SEM study. *Endod Dent Traumatol* 14: 270-3.
226. Lan WH, Chen KW, Jeng JH, Lin CP, Lin SK (2000). A comparison of the morphological changes after Nd-YAG and CO₂ laser irradiation of dentin surfaces. *J Endod* 26: 450-3.
227. Schoop U, Goharkhay K, Klimscha J, Zagler M, Wernisch J, Georgopoulos A, Sperr W, Moritz A (2007). The use of the erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser in endodontic treatment: the results of an in vitro study. *J Am Dent Assoc* 138: 949-55.
228. Khan MA, Khan MF, Khan MW, Wakabayashi H, Matsumoto K (1997). Effect of laser treatment on the root canal of human teeth. *Endod Dent Traumatol* 13: 139-45.

229. Goya C, Yamazaki R, Tomita Y, Kimura Y, Matsumoto K (2000). Effects of pulsed Nd:YAG laser irradiation on smear layer at the apical stop and apical leakage after obturation. *Int Endod J* 33: 266-71.
230. Lopes MCS, Matsumoto K, Watanabe N-S, Brugnera A (1995). A comparative study of CO₂ and Nd:YAG laser on dentin layer of human root canals of permanent teeth utilizing scanning electron microscopy. *J Jpn Endod Assoc* 16: 1-5.
231. Yamazaki R, Goya C, Tomita Y, Kimura Y, Matsumoto K (1999). Study on apical leakage of the teeth after argon laser treatment and obturation. *J Clin Laser Med Surg* 17: 121-5.
232. Matsuoka E, Kimura Y, Matsumoto K (1998). Studies on the removal of debris near the apical seats by Er:YAG laser and assessment with a fiberscope. *J Clin Laser Med Surg* 16: 255-61.
233. Takeda FH, Harashima T, Kimura Y, Matsumoto K (1998). Comparative study about the removal of smear layer by three types of laser devices. *J Clin Laser Med Surg* 16: 117-22.
234. Somerman MJ, Archer SY, Imm GR, Foster RA (1988). A comparative study of human periodontal ligament cells and gingival fibroblasts in vitro. *J Dent Res* 67: 66-70.
235. Mosmann T (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65: 55-63.
236. Chang YC, Chou MY (2001). Cytotoxicity of fluoride on human pulp cell cultures in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 91: 230-4.
237. Shirazi AS, Rezaifar M, Talebi M, Mortazavi A, Malekabadi S. (2009). Application of bonding system as a sub-base material following electrosurgical pulpotomy treatment in primary teeth: a novel technique. *Irn J Med Hypotheses Ideas* 3:1-6.
238. Nadkarni U, Damle SG (2000). Comparative evaluation of calcium hydroxide and zinc oxide eugenol as root canal filling materials for primary molars: a clinical and radiographic study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 18: 1-10.

239. Holan G, Fuks AB (1993). A comparison of pulpectomies using ZOE and KRI paste in primary molars: a retrospective study. *Pediatr Dent* 15: 403-7.
240. Radatti DA, Baumgartner JC, Marshall JG (2006). A comparison of the efficacy of Er,Cr:YSGG laser and rotary instrumentation in root canal debridement. *J Am Dent Assoc* 137: 1261-6.
241. George R, Walsh LJ (2008). Apical extrusion of root canal irrigants when using Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers with optical fibers: an in vitro dye study. *J Endod* 34: 706-8.
242. Caliskan MK, Parlar NK, Orucoglu H, Aydin B (2010). Apical microleakage of root-end cavities prepared by Er, Cr: YSGG laser. *Lasers Med Sci* 25: 145-50.
243. Ingle J, Bakland L (2002). *Endodontics*, (eds: Ingle JI, Himel VT, Hawrish CE, Glickman GN, Serene T, Rosenberg L, Buchanan S, West JD, Ruddle CJ, Camp JH, Roane JB, Cecchini SCM). BC Decker Inc. Hamilton.
244. Minas NH, Gutknecht N, Lampert F (2010). In vitro investigation of intra-canal dentine-laser beam interaction aspects: II. Evaluation of ablation zone extent and morphology. *Lasers Med Sci* 25: 867-72.
245. Hassan FE (1995). A new method for treating weeping canals: clinical and histopathologic study. *Egypt Dent J* 41: 1403-8.
246. Moritz A, Doertbudak O, Gutknecht N, Goharkhay K, Schoop U, Sperr W (1997). Nd:YAG laser irradiation of infected root canals in combination with microbiological examinations. *J Am Dent Assoc* 128: 1525-30.
247. Moritz A, Jakolitsch S, Goharkhay K, Schoop U, Kluger W, Mallinger R, Sperr W, Georgopoulos A (2000). Morphologic changes correlating to different sensitivities of *Escherichia coli* and *enterococcus faecalis* to Nd:YAG laser irradiation through dentin. *Lasers Surg Med* 26: 250-61.
248. Dederich DN (1993). Laser/tissue interaction: what happens to laser light when it strikes tissue? *J Am Dent Assoc* 124: 57-61.
249. Kutsch VK (1993). Lasers in dentistry: comparing wavelengths. *J Am Dent Assoc* 124: 49-54.
250. Hardee MW, Miserendino LJ, Kos W, Walia H (1994). Evaluation of the antibacterial effects of intracanal Nd:YAG laser irradiation. *J Endod* 20: 377-80.

251. Hibst R, Keller U (1989). Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. *Lasers Surg Med* 9: 338-44.
252. Keller U, Hibst R (1989). [Ablative effect of an Er:YAG laser on enamel and dentin]. *Dtsch Zahnarztl Z* 44: 600-2.
253. Hibst R, Stock K, Gall R, Keller U (1997). Er: YAG laser for endodontics: Efficiency and safety, medical applications of lasers in dermatology, ophtalmology, dentistry, and endoscopy. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng*.
254. Schoop U, Moritz A, Goharkhay K, Rehart A, Enislidis C, Doertbudak O, Wernisch J, Sperr W (1999). Die Anwendung des Er: YAG lasers in der Endodontie-eine in vitro-Studie. *Z Stomatol* 96: 23-27.
255. Schoop U, Moritz A, Kluger W, Patruta S, Goharkhay K, Sperr W, Wernisch J, Gattringer R, Mrass P, Georgopoulos A (2002). The Er:YAG laser in endodontics: results of an in vitro study. *Lasers Surg Med* 30: 360-4.
256. Zakariasen KL, Dederich DN, Tulip J, DeCoste S, Jensen SE, Pickard MA (1986). Bactericidal action of carbon dioxide laser radiation in experimental dental root canals. *Can J Microbiol* 32: 942-6.
257. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D (2002). Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J* 35: 221-8.
258. Behnen MJ, West LA, Liewehr FR, Buxton TB, McPherson JC, 3rd (2001). Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentin. *J Endod* 27: 765-7.
259. Eddy RS, Joyce AP, Roberts S, Buxton TB, Liewehr F (2005). An in vitro evaluation of the antibacterial efficacy of chlorine dioxide on *E. faecalis* in bovine incisors. *J Endod* 31: 672-5.
260. Davis JM, Maki J, Bahcall JK (2007). An in vitro comparison of the antimicrobial effects of various endodontic medicaments on *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 33: 567-9.
261. Portenier I, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M (2005). The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments. *J Endod* 31: 380-6.

262. Arnabat J, Escribano C, Fenosa A, Vinuesa T, Gay-Escoda C, Berini L, Vinas M (2010). Bactericidal activity of erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser in root canals. *Lasers Med Sci* 25: 805-10.
263. Spangberg L, Engstrom B, Langeland K (1973). Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 36: 856-71.
264. Eldeniz AU, Ozer F, Hadimli HH, Erganis O (2007). Bactericidal efficacy of Er,Cr:YSGG laser irradiation against *Enterococcus faecalis* compared with NaOCl irrigation: an ex vivo pilot study. *Int Endod J* 40: 112-9.
265. Horiba N, Itoh A, Yamaguchi M, Matsumoto T, Senda A, Nakamura H (2005). Effects of intracanal carbon dioxide laser irradiation on cultured human fibroblasts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 100: 767-71.
266. Gutknecht N, Kanehl S, Moritz A, Mittermayer C, Lampert F (1998). Effects of Nd:YAG-laser irradiation on monolayer cell cultures. *Lasers Surg Med* 22: 30-6.
267. Huang FM, Tai KW, Chou MY, Chang YC (2002). Cytotoxicity of resin-, zinc oxide-eugenol-, and calcium hydroxide-based root canal sealers on human periodontal ligament cells and permanent V79 cells. *Int Endod J* 35: 153-8.
268. Lan WH, Liu HC, Fu SE, Yang CS. The thermal change of dentin by Nd-YAG laser-an in vitro study. *Chin Dent J* 1994;13:1-8.
269. Hadley J, Young DA, Eversole LR, Gornbein JA (2000). A laser-powered hydrokinetic system for caries removal and cavity preparation. *J Am Dent Assoc* 131: 777-85.
270. Ramskold LO, Fong CD, Stromberg T (1997). Thermal effects and antibacterial properties of energy levels required to sterilize stained root canals with an Nd:YAG laser. *J Endod* 23: 96-100.
271. Barkhordar RA, Goodis HE, Watanabe L, Koumdjian J (1990). Evaluation of temperature rise on the outer surface of teeth during root canal obturation techniques. *Quintessence Int* 21: 585-8.
272. da Costa Ribeiro A, Nogueira GE, Antoniazzi JH, Moritz A, Zezell DM (2007). Effects of diode laser (810 nm) irradiation on root canal walls: thermographic and morphological studies. *J Endod* 33: 252-5.

273. Ribeiro EM, Silva-Sousa YT, Souza-Gabriel AE, Sousa-Neto MD, Lorencetti KT, Silva SR (2012). Debris and smear removal in flattened root canals after use of different irrigant agitation protocols. *Microsc Res Tech* 75: 781-90.
274. Gordon W, Atabakhsh VA, Meza F, Doms A, Nissan R, Rizioiu I, Stevens RH (2007). The antimicrobial efficacy of the erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser with radial emitting tips on root canal dentin walls infected with *Enterococcus faecalis*. *J Am Dent Assoc* 138: 992-1002.
275. Moshonov J, Orstavik D, Yamauchi S, Pettiette M, Trope M (1995). Nd:YAG laser irradiation in root canal disinfection. *Endod Dent Traumatol* 11: 220-4.
276. Yavari HR, Rahimi S, Shahi S, Lotfi M, Barhaghi MH, Fatemi A, Abdolrahimi M (2010). Effect of Er, Cr: YSGG laser irradiation on *Enterococcus faecalis* in infected root canals. *Photomed Laser Surg* 28 Suppl 1: S91-6.
277. Dewsnap N, Pileggi R, Haddix J, Nair U, Walker C, Varella CH (2010). Comparison of bacterial reduction in straight and curved canals using erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser treatment versus a traditional irrigation technique with sodium hypochlorite. *J Endod* 36: 725-8.
278. Onay EO, Alikaya C, Seker E (2010). Evaluation of antifungal efficacy of erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser against *Candida albicans*. *Photomed Laser Surg* 28 Suppl 1: S73-8.
279. Arisu HD, Turkoz E, Bala O (2006). Effects of Nd:Yag laser irradiation on osteoblast cell cultures. *Lasers Med Sci* 21: 175-80.
280. Malmstrom HS, McCormack SM, Fried D, Featherstone JD (2001). Effect of CO₂ laser on pulpal temperature and surface morphology: an in vitro study. *J Dent* 29: 521-9.
281. Itoh A, Hara A, Sugimura N, Horiba N, Yamaguchi M, Nakamura H, al. E (2002). Preliminary study on the use of a CO₂ laser for endodontic treatment. The effect on cultured fibroblasts. *Japan J Conserv Dent* 45: 928-35.
282. Gonzalez-Mosquera A, Seoane J, Garcia-Caballero L, Lopez-Jornet P, Garcia-Caballero T, Varela-Centelles P (2011). Er,Cr:YSGG lasers induce fewer dysplastic-like epithelial artefacts than CO₂ lasers: an in vivo experimental study on oral mucosa. *Bri J Oral Maxillofac Surg* 50: 508-12.

283. Toomarian L, Fekrazad R, Sharifi D, Baghaei M, Rahimi H, Eslami B (2008). Histopathological evaluation of pulpotomy with Er,Cr:YSGG laser vs formocresol. *Lasers Med Sci* 23: 443-50.
284. Perussi LR, Pavone C, de Oliveira GJ, Cerri PS, Marcantonio RA (2012). Effects of the Er,Cr:YSGG laser on bone and soft tissue in a rat model. *Lasers Med Sci* 27: 95-102.
285. Boj JR, Poirier C, Hernandez M, Espassa E, Espanya A (2011). Case series: laser treatments for soft tissue problems in children. *Eur Arch Paediatr Dent* 12: 113-7.
286. George R, Walsh LJ (2010). Thermal effects from modified endodontic laser tips used in the apical third of root canals with erbium-doped yttrium aluminium garnet and erbium, chromium-doped yttrium scandium gallium garnet lasers. *Photomed Laser Surg* 28: 161-5.
287. Tsatsas B, Tzamouranis A, Mitsis F (1974). A bacteriological examination of root canals before filling. *J Br Endod Soc* 7: 78-80.
288. Fabricius L, Dahlen G, Sundqvist G, Happonen RP, Moller AJ (2006). Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. *Eur J Oral Sci* 114: 278-85.
289. Bystrom A, Sundqvist G (1981). Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res* 89: 321-8.
290. Zach L, Cohen G (1965). Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 19: 515-30.
291. Kesler G, Koren R, Kesler A, Hay N, Gal R (1998). Histological changes induced by CO₂ laser microprobe specially designed for root canal sterilization: in vivo study. *J Clin Laser Med Surg* 16: 263-7.
292. Saunders EM (1990). In vivo findings associated with heat generation during thermomechanical compaction of gutta-percha. 1. Temperature levels at the external surface of the root. *Int Endod J* 23: 263-7.

293. Meister J, Franzen R, Forner K, Grebe H, Stanzel S, Lampert F, Apel C (2006). Influence of the water content in dental enamel and dentin on ablation with erbium YAG and erbium YSGG lasers. *J Biomed Opt* 11: 34030.
294. Kim KS, Kim ME, Shin EJ (2005). Irradiation time and ablation rate of enamel in contact and non-contact irradiation with Er:YAG laser. *Photomed Laser Surg* 23: 216-8.
295. Serebro L, Segal T, Nordenberg D, Gorfil C, Bar-Lev M (1987). Examination of tooth pulp following laser beam irradiation. *Lasers Surg Med* 7: 236-9.
296. Aminzadeh A, Shahabi S, Walsh LJ (1999). Raman spectroscopic studies of CO₂ laser-irradiated human dental enamel. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 55A: 1303-8.
297. Corona SA, Borsatto MC, Pecora JD, De SARRA, Ramos TS, Palma-Dibb RG (2003). Assessing microleakage of different class V restorations after Er:YAG laser and bur preparation. *J Oral Rehabil* 30: 1008-14.
298. Dederich DN, Zakariasen KL, Tulip J. (1986) Effects of continuous wave CO₂ laser on canal wall dentin. *J Dent Res* 65:253.
299. Lan WH, Liu HC. (1995) Sealing of human dentinal tubules by Nd-YAG laser. *J Clin Laser Med Sug*;13:329-33.
300. Levy G (1992). Cleaning and shaping the root canal with a Nd:YAG laser beam: a comparative study. *J Endod* 18: 123-7.
301. Arrastia-Jitosho AM, Liaw LH, Lee W, Wilder-Smith P (1998). Effects of a 532 nm Q-switched nanosecond pulsed laser on dentin. *J Endod* 24: 427-31.
302. Aranha AC, de Paula Eduardo C (2011). In vitro effects of Er,Cr:YSGG laser on dentine hypersensitivity. Dentine permeability and scanning electron microscopy analysis. *Lasers Med Sci* 27: 827-34.
303. George CW. (1989) Dental laser applications: emerging to maturity. *Lasers Surg Med* 9:309-13.
304. Rahimi S, Yavari HR, Shahi S, Zand V, Shakoui S, Reyhani MF, Pirzadeh A (2010). Comparison of the effect of Er, Cr-YSGG laser and ultrasonic retrograde root-end cavity preparation on the integrity of root apices. *J Oral Sci* 52: 77-81.
305. Walsh LJ (1994). Clinical evaluation of dental hard tissue applications of carbon dioxide lasers. *J Clin Laser Med Surg* 12: 11-5.

306. Miserendino LJ, Levy GC, Rizioiu IM (1995). Effects of Nd:YAG laser on the permeability of root canal wall dentin. *J Endod* 21: 83-7.
307. Lin S, Pan D, Lin Q, Yin S, Chen D, Liu Q, Yu L, Lin Z (2011). Evaluation of phase, microstructure and composition of human dentine after Er,Cr:YSGG laser irradiation. *J Nanosci Nanotechnol* 11: 2421-6.
308. Paghdiwala AF (1993). Root resection of endodontically treated teeth by erbium: YAG laser radiation. *J Endod* 19: 91-4.
309. Morita S. (1994) Histopathological and clinical examination of an immediate canal filling after vital pulp extirpation in combination with the pulsed Nd:YAG laser. *J Jpn Soc Laser Dent* 5:91-101.
310. Koba K. (1995) Pulsed Nd:YAG laser application to one-visit treatment of infected root canals. Histopathological and clinical examinations. *J Jpn Endod Assoc* 16:20-37.
311. Takahashi K, Machida T, Kimura Y, Matsumoto K. (1996) The morphological study of root canal walls with Er:YAG laser. *J Jpn Endod Assoc* 17:197-203.
312. Bahcall JK, Miserendino L, Walia H, Belardi DW (1993). Scanning electron microscopic comparison of canal preparation with Nd:YAG laser and hand instrumentation: a preliminary study. *Gen Dent* 41: 45-7.
313. Goodis HE, White JM, Moskowitz E, Marshall SY. (1992) Root canal system preparation: conventional versus laser method in vitro [Abstract 454]. *J Dent Res* 71:162.
314. Matsuoka E, Funato A, Kimura Y, Matsumoto K. (1996) Morphological studies on structural changes of root canal wall after instrumented by files and irradiated by argon laser. *J Jpn Endod Assoc* 17:185-9.
315. Stabholz A, Neev J, Liaw LH, Stabholz A, Khayat A, Torabinejad M (1993). Effect of ArF-193 nm excimer laser on human dentinal tubules. A scanning electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 75: 90-4.
316. Fried D (2000) IR laser ablation of dental enamel. *Proc SPIE* 3910:136–138.
317. Lee BS, Jeng JH, Lin CP, Shoji S, Lan WH (2004). Thermal effect and morphological changes induced by Er:YAG laser with two kinds of fiber tips to enlarge the root canals. *Photomed Laser Surg* 22: 191-7.

KTÜ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
İLAÇ DIŞI ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	“Süt Dişleri Kök Kanallarında ER, CR: YSGG Lazer Uygulamasının Isı, Sitotoksiste ve Kanal Dezenfeksiyonu Üzerine Etkisinin Değişik Parametreler Kullanılarak İncelenmesi”			
	ARAŞTIRMANIN PROTOKOL/PLAN KODU	2012/76			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Y.Doç.Dr.Adem KUŞGÖZ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Pedodonti			
	TEZ SAHİBİ/DİĞER ARAŞTIRICILAR, UNVANI/ADI/SOYADI	Arş.Gör.Dt.Mehmet TANRIVER			
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ				
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	UZMANLIK TEZİ ☒ AKADEMİK AMAÇLI ☐			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ/PLANI			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐		
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
DİĞER:	☐			

**KTÜ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
İLAÇ DIŞI ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU**

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 5	Tarih: 21/05/2012
	Y.Doç.Dr.Adem KUŞGÖZ'un sorumluluğunda yapılması tasarlanan Arş.Gör.Dr.Mehmet TANRIVER'e ait "Sü Dişleri Kök Kanallarında ER, CR: YSGG Lazer Uygulamasının Isı, Sitotoksiste ve Kanal Dezenfeksiyonu Üzerine Etkisinin Değişik Parametreler Kullanılarak İncelenmesi" başlıklı 2012/76 no'lu ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma/tez başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına; toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	

KTÜ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU İLAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMALARI KARAR FORMU	
ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Faruk AYDIN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *	Katılım **	İmza
Prof.Dr.Faruk AYDIN Başkan:	Tıbbi Mikrobiyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Prof.Dr.Gamze ÇAN Başkan Yrd.	Halk Sağlığı	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Prof.Dr.S.Caner KARAHAHAN Üye:	Tıbbi Biyokimya	Özel Yıldızlı Güven Hastanesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Prof.Dr.Ümit ÇOBANOĞLU Üye:	Patoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Prof.Dr.Yüksel ALİYAZICIOĞLU Üye:	Tıbbi Biyokimya	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Doç.Dr.S. Murat KESİM Raportör:	Farmakoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Doç.Dr.Hülya ULUSOY Üye:	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Doç.Dr.Hafız AYDIN Üye:	Ortopedi ve Travmatoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Doç.Dr. Murat LİVAOĞLU Üye:	Plastik, Rekons. ve Estetik Cer.	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Doç.Dr. Ahmet TIRYAKI Üye:	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Doç.Dr.Gülay KARAGÜZEL Üye:	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Doç.Dr.Fatih Mehmet GÖKÇE Üye:	Fizyoloji	Rize Üniv. Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Miraç ÇELİK Üye:	Hukuk	KTÜ Hukuk Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Tufan SAĞLAM Üye:	Sağlık mesleği mensubu olmayan üye	Serbest (Tekstil Mühendisi)	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	<i>[Signature]</i>

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

T. C. Kimlik/Pasaport No : 26404470096
Soyadı, Adı : TANRIVER MEHMET
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 04/06/1984 Kastamonu/Daday
Medeni hali : Evli
Telefon : 05307898061
Faks :
E-Posta : dentistmehmedov@hotmail.com
Yazışma adresi : K.T.Ü Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	-	-
Yüksek Lisans	Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2007
Lisans	Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2007
Lise	Gönen Anadolu Lisesi	2002

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl-Yıl)
1. Araş. Gör.	KTÜ Diş Hekimliği Fakültesi	2007-2013

YABANCI DİL

İngilizce: KPDS 89, ÜDS 93,75,

UZMANLIK ALANI

Pedodonti

YAYINLAR/BİLDİRİLER

1. Kusgoz A, Ülker M, Yesilyurt C, Yoldas OH, Ozil M, Tanriver M. Silorane-based composite: depth of cure, surface hardness, degree of conversion, and cervical microleakage in Class II cavities. J Esthet Restor Dent Oct;23(5):324-35. Epub 2011 Apr 27. 2011
2. Baygin O, Korkmaz FM, Tüzüner T, Tanriver M. The effect of different enamel surface treatments on the microleakage of fissure sealants. Lasers Med Sci Jan;27(1):153-60. Epub 2011 Apr 8. 2012
3. Baygin O, Tuzuner T, Isik B, Kusgoz A, Tanriver M. Comparison of pre-emptive ibuprofen, paracetamol, and placebo administration in reducing post-operative pain in primary tooth extraction. Int J Paediatr Dent. 2011 Jul;21(4):306-13. Epub 2011 Apr 6.
4. Kusgoz A, Yildirim T, Tanriver M, Yesilyurt C. Treatment of horizontal root fractures using MTA as apical plug: report of 3 cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009 May;107(5):e68-72.

ÖDÜLLER/TEŞVİKLER/BURSLAR

HOBİLER

Yüzmek, kitap okumak