

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TEDAVİSİ PLANLANMIŞ VİTAL SÜT DIŞI PULPALARINDAKİ
ENFLAMASYONUN SİTOKİN DÜZEYLERİ YARDIMIYLA
BELİRLENMESİ**

Pedodonti Anabilim Dalı Programı

Doktora Tezi

Diş Hekimi

Yasemin ÖZDEMİR

Danışman

Prof.Dr. Cemal ERONAT

İZMİR-2012

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TEDAVİSİ PLANLANMIŞ VİTAL SÜT DİŞİ PULPALARINDAKİ
ENFLAMASYONUN SİTOKİN DÜZEYLERİ YARDIMIYLA
BELİRLENMESİ**

Pedodonti Anabilim Dalı Programı

Doktora Tezi

Diş Hekimi

Yasemin ÖZDEMİR

Danışman

Prof.Dr. Cemal ERONAT

İZMİR-2011

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan : Prof.Dr.Cemal ERONAT
(Danışman)

Üye : Prof.Dr.Gazanfer AKSAKOĞLU

Üye : Prof.Dr.Necil KÜTÜKÇÜLER

Üye : Prof.Dr.Özant ÖNÇAĞ
.....

Üye : Prof.Dr.Ali Rıza ALPÖZ

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih:

ÖNSÖZ

Diş ve diş destek dokularındaki immün reaksiyonlar ve sitokinlerin bu reaksiyonlardaki rolü son zamanlarda diş hekimliğinin ilgi çekici konularındandır. Süt dişi vital amputasyon tedavisinin prognozuna farklı bir açıdan yaklaşmak istediğim bu araştırmamın, dental literatüre katkısı olacağı kanısındayım.

Bu çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesinde en büyük katkırı sağlayan danışmanım Sayın Prof.Dr.Cemal ERONAT'a, deneyimlerini ve sabrını benden esirgemeyen Sayın Prof.Dr.Gazanfer AKSAKOĞLU'na, Tez İzleme Komitesi'ndeki katkılarından dolayı Sayın Prof.Dr.Necil KÜTÜKÇÜLER ve Sayın Prof.Dr.Özant ÖNÇAĞ'a çalışmamın her aşamasında katkıda bulunan Sayın Doç.Dr.Dilşah ÇOĞULU'ya, araştırmamızın istatistiksel değerlendirmelerini yapan Sayın Yard.Doç.Dr. Timur KÖSE'ye, katkılarından dolayı Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı çalışanlarına ve personeline, çalışmanın laboratuvar aşamasının hatasız bir şekilde yürütülmesini sağlayan Ege Üniversitesi Tıp Fak. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları İmmünoloji Laboratuvarı çalışanlarına ve tüm eğitim hayatım boyunca bana destek olan aileme teşekkürü borç bilirim.

Dt.Yasemin ÖZDEMİR

İZMİR, 2011

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	iii
ŞEKİL DİZİNİ	viii
TABLO DİZİNİ	ix
GRAFİK DİZİNİ	x

BÖLÜM I

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
1.1.İmmün Sistem	3
1.1.1.Doğal ve Edinsel İmmünite	3
1.1.2.İmmün Sistemin Hücreleri	7
1.1.2.1. Mononükleer Hücreler	8
1.1.2.2. Granülositler	9
1.1.2.3. Mast Hücreleri	11
1.1.2.4. Dendritik Hücreler	11
1.1.2.5. Lenfositler	13

1.1.3. İmmün Sistemin Mediatörleri: Sitokinler	20
1.1.3.1. İnterlökin-1 Ailesi	24
1.1.3.2. İnterlökin 6	26
1.1.3.3. İnterlökin 8 (CXCL-8)	29
1.1.3.4. Tümör Nekrosis Faktör- α (TNF- α)	30
1.2. Pulpanın Savunma Sistemi	32
1.2.1. Pulpayı Etkileyen Patolojik Gelişmeler	32
1.2.1.1. Diş Çürüğü ve Pulpanın Cevabı	32
1.2.2. Pulpada İmmün Mekanizma	43
1.2.2.1. Hücreler	44
1.2.2.2. Pulpal Enflamasyonda Sitokinlerin Rolü	55
1.3. Süt Dişlerinde Pulpa Tedavileri	62
1.3.1. Pulpa Amputasyonu	64
1.3.2. Çalışmada Kullanılan Pulpa Amputasyonu Örtüleme Materyalleri	69
1.3.2.1. Formokrezol	69
1.3.2.2. Kalsiyum Hidroksit	73
1.3.2.3. Mineral Trioksit Agregat (MTA)	76

BÖLÜM II

HASTALAR VE YÖNTEM	80
2.1. Hastalar	80
2.1.1. Hasta Seçimi	80
2.1.2. Klinik Çalışma Tekniği	82
2.1.3. Paslanmaz Çelik Kron Yapımı	87

2.2. Yöntemler	88
2.2.1. ELISA (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay)	88
2.2.2. Protein Konsantrasyonu Hesaplaması	90
2.3. Tedavilerin Klinik ve Radyografik Olarak Takibi	90
2.4. İstatistiksel Analizler	92

BÖLÜM III

BULGULAR	93
3.1. Çürük Düzeyi, Tedavi Başarısı ve Sitokin Düzeylerinin Bağıntısı	94
3.1.1. Çürük Düzeyinin Tedavi Başarısına Etkisi	94
3.1.2. Çürük Düzeyinin Sitokin Düzeylerine Etkisi	95
3.1.3. Enfeksiyon Düzeylerinin Tedavi Başarısına Etkisi	101
3.2. Amputasyon Materyalleri, Tedavi Başarısı ve Çürük Düzeyi Bağıntısı ...	103
3.2.1. Amputasyon Materyallerinin Tedavi Başarısına Etkisi	103
3.2.2. Çürük Düzeyinin Amputasyon Materyalinin Tedavi Başarısına Etkisi	108

BÖLÜM IV

TARTIŞMA

4.1. Çürük Düzeyi, Tedavi Başarısı ve Sitokin Düzeyleri Bağıntısının Tartışılması	116
4.1.1. Çürük Düzeyinin Tedavi Başarısına Etkisinin Tartışılması	116
4.1.2. Çürük Düzeyinin Sitokin Düzeylerine Etkisinin Tartışılması	116
4.1.3. Enfeksiyon Düzeyinin Tedavi Başarısına Etkisinin Tartışılması ...	121

4.2. Amputasyon Materyalleri, Tedavi Başarısı ve Sitokin Düzeyleri	
Bağıntısının Tartışılması	123
4.2.1. Amputasyon Materyallerinin Tedavi Başarısına Etkisinin	
Tartışılması	123
4.2.2. Çürük Düzeyinin Amputasyon Materyalinin Tedavi Başarısına	
Etkisinin Tartışılması	124
 BÖLÜM V	
SONUÇ ve ÖNERİLER	129
 BÖLÜM VI	
ÖZET	131
ABSTRACT	133
 BÖLÜM VII	
KAYNAKLAR	135
EK	151
ÖZGEÇMİŞ	152

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Edinsel immüitenin çeşitleri	6
Şekil 2: Lenfositlerin olgunlaşması	14
Şekil 3: Dendritik hücrelerin insan pulpasının merkezi bölümünde kan damarının etrafında dizilişleri	48
Şekil 4: Pulpal dendritik hücreler ve T lenfositlerin primer immün cevaptaki etkileşimleri	50

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Çalışmada kullanılan örneklerin gruplara göre dağılımı	93
Tablo 2: Grupların perforasyon şekline göre radyografik başarı oranlarının çürük gruplarına göre dağılımı	94
Tablo 3: Çalışma gruplarındaki pulpal perforasyon ile sitokin düzeyleri arasındaki ilişkinin karşılaştırılması	95
Tablo 4: Çürüksüz ve iatrojenik olarak perfore olan dişlerdeki sitokin düzeylerinin karşılaştırılması	97
Tablo 5: Çürük ile perfore ve irreversibl pulpitisli dişlerde sitokin düzeylerinin karşılaştırılması	99
Tablo 6: Tedavi sonucu başarılı ve başarısız olan dişlerde sitokin düzeylerinin karşılaştırılması	101
Tablo 7: 3, 6, 12 ve 18 aylarda klinik olarak başarılı ve başarısız olan dişlerin materyal gruplarına göre dağılımını gösteren tablo	103
Tablo 8: 3, 6, 12 ve 18 aylarda radyografik olarak başarılı ve başarısız olan dişlerin materyal gruplarına göre dağılımını gösteren tablo	104
Tablo 9: Materyallerdeki başarı oranlarının çürük gruplarına göre dağılımı	108

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1: Çalışma gruplarının sitokin düzeylerinin ortalama değerlerinin karşılaştırılması	96
Grafik 2: Çürüksüz ve iatrojenik olarak perfore olan dişlerdeki sitokin düzeylerinin ortalama değerlerinin karşılaştırılması	98
Grafik 3: Çürük ile perfore ve irreversibl pulpitisli dişlerdeki sitokin düzeylerinin ortalama değerlerinin karşılaştırılması	100
Grafik 4: Sitokin düzeylerinin başarılı ve başarısız dişlerde karşılaştırılması	101
Grafik 5: Amputasyon materyallerinin klinik başarı performansının aylara göre dağılım grafiği	106
Grafik 6: Amputasyon materyallerinin radyografik başarı performansının aylara göre dağılım grafiği	107

BÖLÜM I

GİRİŞ ve AMAÇ

Süt dişi çürüklerinin tedavi edilmeleri ve dişlerin tekrar sağlıklı hale kavuşturulması, hem çocuğun genel sağlığı açısından hem de erken dönemde süt dişi kayıplarının önlenmesi ve dolayısıyla oluşabilecek erken dönem ortodontik bozuklukların, nötral okluzyona geçişte olabilecek aksaklıkların önlenmesi yönünden çok önem taşır (6, 99). Bu tedavilerden özellikle vital endodontik tedavi işlemlerinde karşılaşılan çeşitli sorunlar dişhekimleri için oldukça önem taşır. Çünkü süt dişleri çürüklerinin gelişim hızları daimi dişlere göre pulpada oluşabilecek patolojik değişimler yönünden daha çok önem taşır. Çürüğün pulpaya ulaşması için kat edeceği yol süt dişlerinde, daimi dişlere oranla çok daha kısadır ve dolayısıyla pulpal sonuçlar çok daha kısa zamanda ortaya çıkabilir (61). Süt dişlerinde pulpal enfeksiyonların teşhisi, çocuk hastanın ağrı ile ilgili algısının farklılığından süt dişinde drenaj yollarının kısa olmasının semptomların silik gelişmesine neden olmasına kadar pekçok etmen nedeniyle daha zordur. Bu etmenler hekimi teşhis ve dolayısıyla tedavi seçenekleri konusunda yanılgıya sevk edebilir. Tüm bu belirsizlikler arasında yapılan vital tedavilerde prognozun kötüye gittiği durumlarda çoğunlukla sorumlu tutulan kullanılan tedavi materyali

olmaktadır. Halbuki tedavinin başarısız olduğu durumlarda öncelikle pulpanın içinde bulunduğu biyolojik durumun ve enfeksiyon düzeyinin bilinmesi, gerçeğin ortaya koyulabilmesi ihtiyacı doğar (15, 84, 129).

Bu ihtiyaç araştırmacıları pulpanın savunma sisteminin çalışma mekanizmalarını açıklamaya ve pulpadaki enflamasyon düzeyini gösteren objektif kriterler belirlemeye yönlendirmiştir. Bir dokudaki enfeksiyonun düzeyi ve şeklinin objektif ve ölçülebilir temel kriterleri, sitokin düzeylerinin saptanması ile sağlanabilmektedir.

Çalışmamızın amaçları aşağıdaki gibidir:

- Çürük ile perfore olan ve olmayan süt dişlerinde uygulanan amputasyon tedavisinin başarı oranlarının pulpadaki sitokin düzeyleri yardımı ile karşılaştırılması
- Farklı amputasyon materyallerinin başarı oranlarının karşılaştırılması

GENEL BİLGİLER

1.1.İmmün Sistem

İmmünite hastalıklara özellikle enfeksiyon hastalıklarına karşı direnç olarak tanımlanır. Enfeksiyonlara karşı savunmayı sağlayan hücreler, dokular ve moleküllerin toplamına immün sistem adı verilir, bu hücrelerin ve moleküllerin enfeksiyona yol açan mikroplara karşı düzenli olarak verdikleri tepkiye de immün yanıt denir. İmmün sistemin fizyolojik işlevi, enfeksiyonları engellemek ve yerleşmiş enfeksiyonları yok etmektir (1).

1.1.1.Doğal ve Edinsel İmmünite

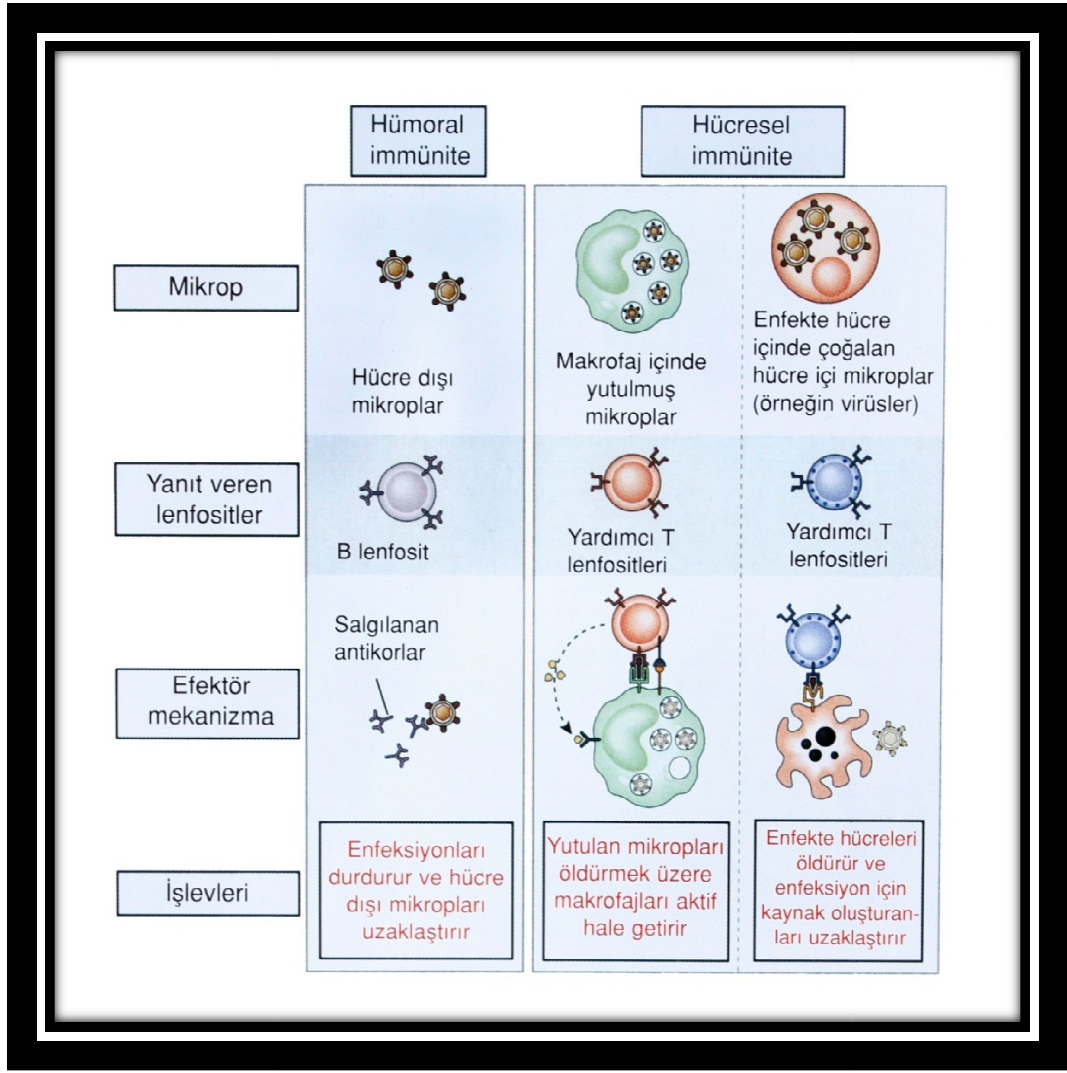
Konak savunma mekanizması, enfeksiyonlara karşı ilk koruyucu engeli oluşturan “doğal immünite” ve sonrasında daha yavaş devreye giren ancak enfeksiyonlara karşı daha etkili savunma sağlayan “edinsel (adaptif) immüniteyi” kapsar. Doğal immünite terimi, mikropların girişini engelleyen ve konak dokulara girmeyi başaran mikropları yok eden konak savunmasının sağlıklı bireylerde her zaman bulunduğunu belirtir. Edinsel immünite dokuları istila eden mikroplarla harekete geçen bir tip konak savunmasıdır, bu nedenle istilacı mikroplara göre uyarlanmaktadır (1). Doğal immünitenin major komponentleri; mikropların girişini önleyen derinin, solunum ve sindirim sistemlerinin epitelial bariyeri; fagositik lökositler (nötrofiller ve makrofajlar); doğal katil hücre (NK) denilen özelleşmiş bir hücre ve en önemlisi

kompleman proteinleri olan, dolaşan birçok plazma proteindir(1, 75). Doğal immüitenin değişik türde mikroplar tarafından üretilen moleküllere özgül başka mekanizmaları da olabilir. Doğal bağışıklık yanıtları enfeksiyonlara karşı erken savunma sağlamanın yanı sıra enfeksiyona yol açan maddelere karşı gelişen edinsel immün yanıtları güçlendirir(1).

Doğal immün cevap birçok enfeksiyonu önleyebilir ve kontrol edebilir. Ancak birçok patojen mikrop doğumsal immün savunmanın üstesinden gelebilecek şekilde değişmiştir ve bu enfeksiyonlara karşı korunma daha kuvvetli, *kazanılmış immünite* (edinsel, spesifik) mekanizmalarını gerektirir. Edinsel immünite normalde sessizdir ve enfeksiyöz mikropların varlığında aktif hale gelerek artar ve mikropları nötralize ve elimine eden etkili mekanizmalar geliştirir (75). Edinsel immün sistem lenfositler ve onların antikorlar gibi ürünlerinden oluşur. Doğal immün yanıtın mekanizmaları mikropları tanıırken, edinsel immüitenin hücreleri, yani lenfositler, mikropların ürettiği değişik maddeleri ve enfeksiyona yol açmayan moleküleri de tanıyan reseptörler taşırlar. Bu maddelere *antijen* denir (1). Özgül bir bağışık yanıt oluşturabilen maddelere genel olarak antijen denir. Sıvısal ya da hücrel bağışık yanıt oluşturabilen moleküllere genellikle antijen denilmekle birlikte, bunlar için immünojen terimi daha doğrudur. Antijen efektör T lenfositlerin reseptörleriyle veya efektör B lenfositler (plazma hücreleri) tarafından üretilen antikorlarla birleşebilir. İmmünojen olan her molekül aynı zamanda antijenik özellik gösterir, ancak tersi doğru değildir (126). Edinsel immün yanıtlar, ancak mikroplar ya da onların antijenleri epitelial bariyerleri aşp, lenfositler tarafından tanındıkları lenfoid organlara taşınırlarsa tetiklenirler. Edinsel immün yanıtlar değişik tipteki mikroplarla savaşmak üzere özel mekanizmalar

oluşturur. Örneğin antikorlar hücre dışında, T lenfositler hücre içinde yaşayan mikropları yok eder. Edinsel immün yanıtlar mikropları yok etmek için genellikle doğal immün sistemin hücreleri ile moleküllerini kullanır. Örneğin antikorlar mikroplara bağlanır, antikor ile kaplanan mikrop fagositlere kolayca bağlanarak onları harekete geçirir ve mikroplar bu yolla fagositler tarafından sindirilip yok edilirler (1).

Değişik hücre ve moleküllerin oluşturduğu, hücre dışı ile hücre içi mikroplara karşı savunma sağlayan iki türlü edinsel immünite vardır; hümoral ve hücresel immünite(*şekil 1*).



Şekil 1: Edinsel immünitenin çeşitleri (1)

Hümmoral immünite B lenfositlerin ürettiği antikor denilen proteinler tarafından oluşturulur. Antikorlar dolaşıma ve mukoza sıvılarına salgılanarak kanda, gastrointestinal ve solunum yolları gibi mukozal organların lümenlerinde mevcut olan mikrop­ları ve mikrobik toksinleri etkisiz hale getirirler. Antikorlar enfekte hücrenin içinde yaşayan ve bölünen hücrelere erişemezler. Böyle hücre içi mikrop­lara karşı savunmaya *hücreşel immünite* denir ve T lenfosit hücreleri tarafından oluşturulurlar (1, 75). T lenfositler enfekte hücreyi ya direkt öldürerek (sitotoksik T lenfositlerle sağlanır) veya

sitokin denilen (yardımcı T hücrelerin yaptığı) çözünebilir protein medyatörleri aracılığıyla makrofajları aktive ederek çalışırlar (75). B lenfositler tarafından üretilen antikorlar özellikle hücre dışı mikrobik antijenleri tanımak için tasarlanmışken, T lenfositler hücre içindeki mikropların ürettikleri antijenleri tanırırlar. T ve B lenfositler arasındaki başka bir önemli fark ise; çoğu T hücrenin sadece mikrobik protein antijenlerini tanımasına karşın, antikorların, protein, karbonhidrat ve lipid de içeren pek çok değişik mikrobik molekül tipini tanımasıdır (1).

1.1.2.İmmün Sistemin Hücreleri

İmmün sistem hücrelerini gruplar halinde inceleyecek olursak;

1. Mononükleer hücreler
 - a. Monositler
 - b. Makrofajlar
2. Granülositler
 - a. Nötrofiller
 - b. Eozinofiller
 - c. Bazofiller
3. Mast hücreleri
4. Dendritik hücreler
5. Lenfositler
 - a. B Lenfositler
 - b. T Lenfositler
 - c. Natural Killer hücreler

1.1.2.1. Mononükleer Hücreler

Bu sistem kandaki monositler ve dokulardaki makrofajlardan oluşur. Kemik iliğinde promonosit hücrelerden gelişen monositler kan dolaşımına katılarak olgunlaşır. Monositler kanda yaklaşık 8 saat dolaştıktan sonra gelişip büyür ve bir dokuya girerek makrofaj (histiyosit olarak da bilinen) şekline dönüşürler(126). Bu iki hücre tipi birbirinden ayrı düşünölemeyeceğı için birlikte değeriendirilmiştir.

Monositler ve Makrofajlar

Makrofajlar, mononükleer fagositik sistemin bir parçasıdır. Bu sistemi oluşturan hücreler kemik iliğı kaynaklı ve öncelikli fonksiyonu fagositoz olan heterojen bir popölasyondur (50, 75). Mononükleer fagositik sistem (MPS) tamamı kemik iliğınden kaynaklı, yüksek fagositik aktiviteye sahip mononükleer hücreler ve onların prekürsörlerini kapsar. Mononükleer fagositlerin differansiasyonu sırasında morfolojik, fenotipik ve fonksiyonel özellikleri, bulundukları mikro çevreden etkilenir. Böylece ortamda uygun spesifik hücre popölasyonları oluşur. Bu nedenle MPS'ye ait hücreler çok geniş heterojenite gösterir (48, 67). Makrofajlar bağ dokusunun genelinde çoğunlukla diffüz dağılım gösterirken, bazı spesifik dokularda o dokuların özelliklerine göre spesifikite kazanmış ve özel isimle adlandırılmışlardır. Örneğın; karaciğerde Kupffer hücreleri, dalak ve lenf düğümlelerinde sinüs histiyositleri, merkezi sinir sisteminde mikrogli hücreleri ve akciğerlerde alveolar makrofajlar gibi (75). Makrofajlar yüksek fagositik kapasiteleri ile temizleyici hücreler gibi davranırlar. Aynı zamanda mikrobisidal enzimler,

reaktif oksijen ürünleri, *IL-1*, *IL-6*, *TNF* gibi birçok sitokin ve yara iyileşmesini sağlayan fibroblast ve endotelial hücreler için büyüme faktörleri gibi birçok biyolojik aktif ürün üretir. Sınıf II molekül taşıyan makrofajlar T lenfositleri aktive eden antijen sunan hücre (APC) görevi yapabileceği için kritik öneme sahiptir (50, 67, 75). Normalde dinlenme durumunda olan makrofajlar uyarı geldiği zaman aktiflenirler. Enflamasyon ürünü olan kompleman faktörlerinden C5a, LTB4 (Lökotrien B4), NCP (Nötrofil Cationic Proteins), bakteri antijenleri, çeşitli mediatörler ve yardımcı T hücre sitokinleri yoluyla gelen sinyallere cevap verirler(126). Eğer fagositoz yapılması gereken parça kendinden büyük ise birkaç tanesi bir araya gelerek çok büyük tek bir makrofaj haline gelirler ve fagositozu gerçekleştirirler. Böyle hücrelere çok çekirdekli dev hücreler denir (6). Dev hücre meydana getirmelerini sağlayan *IFN-γ* gibi sitokinler aktive olan lenfositler tarafından salgılanır (50, 67, 75). Makrofajlar, lenfositler tarafından salınan *IFN-γ* dışında bakteriyel endotoksinler, diğer mikrobiyal ürünler, akut enflamasyon sırasında oluşan çeşitli medyatörler ve fibronektin gibi ekstrasellüler matriks proteini gibi etkenler ile de aktive olabilir(75).

1.1.2.2. Granülositler

Sitoplazmaları bol granüllü olan bu hücreleri çekirdekleri lobüler olduğundan polimorf lökositler olarak da bilinirler. Kendi içlerinde morfolojik ve granüllerin boyanma özelliklerine göre nötrofil, bazofil ve eozinofil olmak üzere üçe ayrılırlar.

Nötrofiller

Lökositlerin %90'ını oluşturlar. Multilobüler çekirdekleri nedeniyle polimorf nüveli lökositler (PNL) olarak da bilinirler ve yaşamları kısadır. İçlerine aldıkları materyali etkisiz duruma getirdikten sonra genelde ölürler(126). Enfeksiyon durumlarına yanıt olarak koloni stimüle eden faktörler (CSF) olarak isimlendirilen sitokinlerin kemik iliğindeki öncül nötrofilleri uyarması ve bunların çoğalmaları ve olgunlaşmaları sonucunda nötrofil sentezi oluşur. Enfeksiyon sonucunda dolaşımda oluşan bu geçici nötrofil artışı lökositoz olarak adlandırılır (1).

Genellikle enflamasyon bölgesine ilk giden hücrelerdir. Dolaşımdaki mikroorganizmaların yanı sıra, damar dışındaki enfeksiyon odağına doğru süratle hareket ederek orada bulunan mikroorganizmaları sindirirler (1). Yüzeylerinde her tip kemoatraktana özgül çok sayıda reseptör bulunur. Kemotaktik faktörleri algılayıp dolaşımdan dokulara geçerler(126)

Eozinofiller

Dolaşımdaki lökositlerin %1-2'sini oluşturlar. Nötrofiller gibi hareketli ve fagositik hücrelerdir. Parazitlere karşı savunmada özelleşmişlerdir(126). Fagosit edilmesi mümkün olmayan büyük parçalara yaklaşarak sitoplazmasındaki granülleri bunun üzerine boşaltır (ekstrasellüler lizis). Enfeksiyon alanına yaklaşması ancak T hücre, bazofil ve mast hücrelerinden salgılanan ECF (Eosinophil Chemotactic Factor) ile olanaklıdır. Mast hücrelerini aktive, PAF ve histamini inaktive edebilirler. Kompleman sistemin proteinlerinden C3b'ye duyarlı reseptörlere sahiptir (126).

Bazofiller

Dolaşımdaki lökositlerin %0,5-1'ini oluştururlar. Fagositik olmayan granülositlerdir. Granülleri histamin, SRS-A (Slow reacting substance of anaphylaxis) ve heparin içerir (126). Bazofiller mast hücrelerinin dolaşan eşdeğerleridir. IgE ile reaksiyon verirler (1).

1.1.2.3. Mast Hücreleri

Mast hücreleri deri, bağ dokusu, solunum, sindirim ve ürogenital sistemin mukozal epiteli gibi çok değişik organ ve dokuda bulunabilir. Dolaşımdaki bazofiller gibi, histamin ve farmakolojik olarak aktif maddeler içeren büyük granülleri bulunur (126). IgE tipi antikorlar ile reaksiyon vererek histamin, SRS salarlar ve Tip 1 aşırı duyarlılık (anaflaksi) reaksiyonuna neden olurlar. Mast hücreleri C3a, C5a ve IgE ile uyarılabilirler (75).

1.1.2.4. Dendritik Hücreler

Dendritik hücreler (DH), immün cevabın düzenlenmesinde önemli rol oynayan, beyin, testis ve göz haricinde tüm dokularda bulunan antijen sunan hücrelerdir. DH'lerin öncelikli fonksiyonu antijen sunmak olduğundan bu hücrelere *profesyonel antijen sunan hücreler* de denilmekte ve özellikle henüz farklılaşmamış T lenfositleri uyararak primer immün yanıtın oluşmasına yol açmaktadır. Aynı zamanda DH'ler B hücre fonksiyonlarının oluşumunda da etkili olduklarından humoral immünitinin gelişiminde de önemli rol oynamaktadırlar (113).

Bu hücreler lokalizasyonlarına göre şu şekilde sınıflandırılabilir:

(1) Bağ dokusuna yayılmış interstisyel DH'ler de dahil olmak üzere lenfoid olmayan organlardaki DH'ler ve deri ve mukoza epitelinde bulunan Langerhans hücreleri

(2) Timik medulla, lenf nodları ve dalakta T hücreye bağlı alanlarda bulunan interdigitating DH'ler de dahil olmak üzere lenfoid organlardaki DH'ler

(3) Kanda ve afferent lenfoid damarlarda bulunan DH'ler.

Her kompartımanındaki DH'ler arasındaki çeşitliliğin, hücrelerin farklı maturasyon ve diferansiyasyon basamaklarında olmalarına bağlı olduğu düşünülmektedir (116).

DH'lerin fonksiyonları başlıca üç grupta toplanır: a) Antijen sunumu ve T lenfosit aktivasyonu b) İmmün toleransın oluşumu ve devamı c) Özellikle folliküler DH'de olmak üzere B lenfositler üzerinden humoral immünitinin oluşturulması (113)

DH'ler yüksek miktarda sınıf II MHC (Doku Uyum veya Major Histokompatibilite Kompleksi) ve T hücre kostimulatörü eksprese eden non-fagositik hücrelerdir (75). Fagositik aktiviteleri düşük olmasına rağmen iyi gelişmiş uzantıları ile antijenleri etkin bir şekilde endositoz ile hapsederler. Endosite edilmiş olan proteinler işlenir ve peptid fragmanlarına ayrılır (1, 67).

İmmatür DH'ler stratejik olarak giren mikropların yakalanacağı bölgelerde epitelde yer alır. Bunlara örnek epidermisteki Langerhans hücresidir (75). İmmatür DH antijeni yakalar, matürasyon sürecinde dokudan

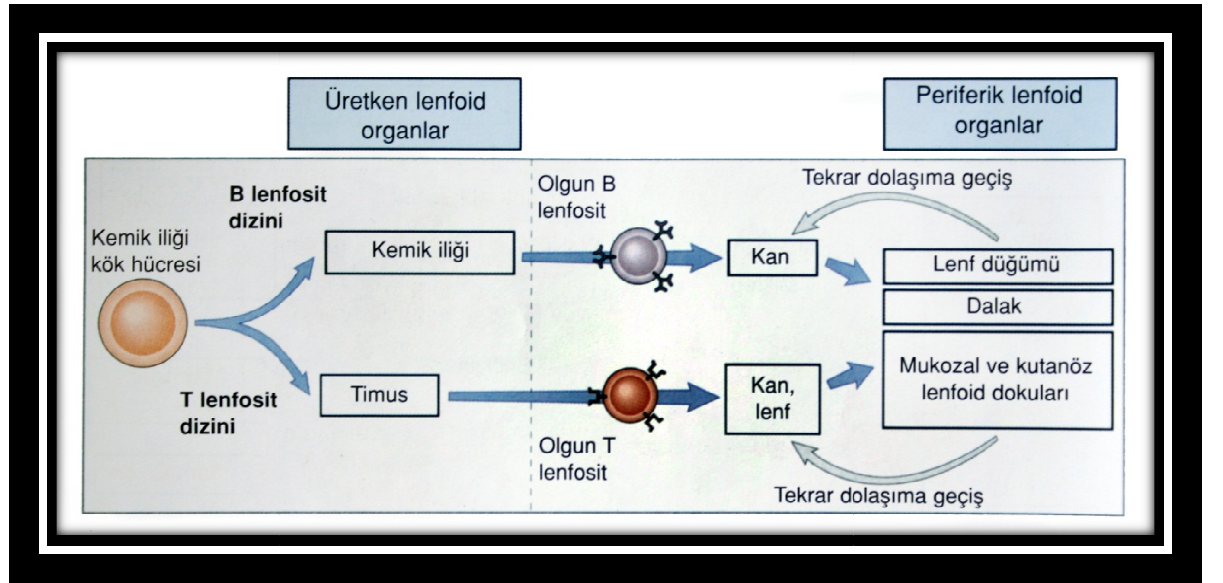
drene olduğu lenf nodlarına gelir, burada matur DH'ye döner ve henüz farklılaşmamış T hücrelerini uyarır (6, 113). Dalak ve lenf nodüllerinin lenfoid foliküllerin germinal merkezlerinde yerleşmiş DH'lere foliküler dendritik hücre (FDH) denir. Bu hücreler lenfoid foliküllerindeki B lenfositlere antijenleri sunar ve sekonder antikor cevapları uyandırır (75). FDH'ler bakteriyel veya viral antijenleri ağ gibi yakalar ve tutarlar. Aylar hatta yıllar sonra bile bellek hücreleri bu bakteri veya virüslerle nasıl baş edileceği bilgisini almak üzere buraya geri döner. DH'lerin B lenfosit belleğinin gelişimde çok önemli rolü vardır (113, 124).

1.1.2.5. Lenfositler

Lenfositler antijenlere özgül reseptörler taşıyan tek hücre grubudur, yani edinsel immüniteyi düzenleyen anahtar hücrelerdir. Lenfositler morfolojik olarak birbirlerine çok benzemelerine ve hatta birbirlerinden ayırt edilememelerine karşın, işlevsel anlamda, köken aldığı dizi ve fenotip olarak birbirlerinden farklıdır. Bu nedenle kompleks biyolojik yanıtlara neden olurlar (1, 75). Dolaşımdaki lenfositlerin dokuya geçişleri kapillerlerin HEV (High Endotelial Venules) adı verilen özel bölgelerinden olur. Bunlar antijene özgül cevap verebilen sınırlı sayıda uzman hücrelerdir. Kapiller permabilitenin elverdiği her noktada dokuya dağılmaları HEV koordinasyonu ile düzenlenmiştir. Ancak iltihap bulunan dokularda yoğunlaşırlar (6). Lenfositlerin morfolojik olarak birbirlerine benzemeleri, buna karşın birbirlerinden fonksiyonel olarak farklı olmaları nedeniyle günümüzde bu hücreler, ancak monoklonal antikor panelleri yardımıyla tanınabilen yüzey

proteinleri aracılığı ile birbirlerinden ayırt edilmektedir. Bu proteinlerin standart adlandırması “CD” (ayırım kümesi- cluster of differentiation) kısaltması ve ardından sayısal tanımlama ile belirtilir. Bunlar belli bir hücre tipi veya hücre başkalaşım evresi tanımlamak için kullanılırlar ve bir antikör kümesi veya grubu tarafından tanınırlar (1).

Tüm lenfositler kemik iliğindeki kök hücrelerden gelişir. B lenfositleri kemik iliğinde olgunlaşırken, T hücreleri timus adlı organda olgunlaşırlar. Olgun lenfositlerin üretildiği bu bölgelere “üretken lenfoid organlar” denilmektedir(1) (Şekil 2).



Şekil 2:Lenfositlerin olgunlaşması

T Lenfositler

Kemik iliğindeki kök hücrelerinden gelişir. Pre-T hücreleri kemik iliğini terk ettikten sonra olgunlaşmak üzere timusa gider. Olgun lenfositler, yüzeylerinde taşıdıkları antijene özgül reseptörü tanıyan antijen ile karşılaştıklarında üretken lenfoid organları terk ederek, dolaşıma geçer ve periferik lenfoid organa göç eder. T hücre gelişiminin final fazı boyunca hücreler timustan kan ve lenfatik dolaşıma göçerler. Dolaşımdaki lenfositlerin çoğunluğunu T hücreleri oluşturur (%60-70) ve kan dolaşımından lenfatiklere resirküle olurlar. Kan dolaşımından dokulara geçerler ve burayı kontrol altında tutarlar. Olgun T hücreleri periferik lenfoid dokularda, özellikle lenf nodüllerinin parakortikal bölgesine ve dalağa yerleşirler(1, 75, 124).

CD4 ve CD8 farklı T hücre subgruplarında eksprese edilir ve T hücre aktivasyonu için koreseptör görevi yapar. CD4 eksprese eden T hücreler (CD4+) *yardımcı T hücrelerdir(Helper, T_h)*. MHC sınıf II ile sunulan antijeni tanıdıktan sonra aktive olurlar ve bölünerek uyarıldıkları antijene yönelik efektör lenfosit klonu oluştururlar. Uyarılmış T_h hücreleri sitokin salgılayarak, B hücreleri, sitotoksik T lenfositleri (T_c), makrofajları ve Natural Killer (NK-Doğal Öldürücü) hücreleri aktive eder. T_h hücrelerinin T_{h1} ve T_{h2} olmak üzere iki alt grubu vardır. T_{h1} ve T_{h2} hücrelerinin gelişimi rastlantısal değildir. Naif CD4+ T hücrelerinin mikrobiyal antijenlerle karşılaştığı zaman aldığı uyarıya göre oluşurlar. T_{h1} hücreleri interferon-gama (*IFN-γ*) ve *IL-2* üreterek T_c hücrelerini ve makrofajları aktive ederler. Ayrıca bu lenfositler opsonizasyon yapan antikorların yapımını düzenler (1, 50, 67, 124, 126). T_{h2} hücreleri, IgE antikor üretimini stimüle eden interleukin-4 (*IL-4*) ile eozinofilleri uyaran *IL-5* ve *IL-6* üretirler. Bu nedenle T_{h2} hücreleri özellikle helmintik parazitlere karşı

eoziñofil aracılı, fagosit-bağımsız immüniteyi stimüle eder ve ayrıca B lenfosit proliferasyonu ve diferansiyasyonunu da etkiler (1, 50, 67, 126). Ayrıca T_{h2} tarafından salgılanan bazı sitokinler makrofaj aktivasyonunu inhibe eder ve T_{h1} hücre aracılı immüniteyi baskılar. Bu nedenle, bir mikroba karşı hücre aracılı immün yanıtın etkisi bu mikroba yanıtta T_{h1} ve T_{h2} hücrelerinin aktivasyonu arasındaki denge ile sağlanabilir (1). T_{h1} ve T_{h2} arasındaki denge immün cevabın erken fazında *IL-12* ve *IL-4* arasındaki denge ile sağlanır. *IL-1* T_{h1} yapımını, *IL-4* T_{h2} yapımını destekler (124).

$CD8^+$ T hücreleri sitotoksik veya supresor hücrelerdir. *Supresor hücreler* spesifik antijenlere veya immün hücrelere karşı olan immün cevabı inhibe eder, diğer antijenik determinantlara karşı gelişen cevabı etkilemez. Böylece immün sistem üzerine düzenleyici etki gösterirler. Yardımcı T hücreleri proliferasyon ve diferansiyasyonu sağlarken, baskılayıcılar proliferasyonu inhibe eder (124). *Sitotoksik T hücreleri* (CTL), tümör hücreleri veya virüsle enfekte hücreler gibi antijen taşıyan hücreleri öldürebilir. $CD8^+$ T hücreleri hedeflerini direkt temas ile öldürür. Bu da hedef hücre ve sitotoksik hücre membranlarının direkt teması ile gerçekleşir (75, 124).

Sitotoksik T hücreleri *TNF- β* 'yı oluşturarak bazı hücrelerin apoptozis yolu ile ölmesini sağlarlar(124). $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücreler hücre içi mikropların uzaklaştırılmasında işbirliği içinde hareket ederler (1). Bu nedenle immün dengenin sağlanması için $CD4/CD8$ oranı önemlidir. Periferik T hücrelerinin %60'ını $CD4$, %30'unu $CD8$ hücreleri oluşturur. Sağlıklı bir insanda $CD4$ 'lerin $CD8$ 'lere oranı 2:1'dir (75, 124).

T lenfositler hücresel immüitenin efektör hücreleridir ve protein antijenlere antikor cevabı için önemli uyarı oluşturlar. T lenfositler, antijen sunan hücrelerin dahil olduğu protein antijenlerini tanır. Bu hücreler protein antijenlerini içine alır, peptid fragmanlarına dönüştürür, peptidleri MHC için kodlanmış proteinler ile birleştirir ve birleşimi yüzeyinde sunar. T lenfositler antijenleri tek başına tanıyamaz, fakat bu birleşimi tanır (50, 75). MHC (doku uyum veya major histokompatibilite kompleksi) greft reddi veya kabulü çalışmaları temelinde keşfedilmiştir. Günümüzde MHC moleküllerinin normal fonksiyonunun antijenik peptidleri T hücrelerine tanınmaları için sunmak olduğu bilinmektedir. Sistem, T hücreleri MHC-bağı proteinleri tanımaya zorlayarak, T hücrelerin diğ er hücrelerdeki antijenleri tanımasını sağlar ve böylece T lenfositlerin enfekte hücreleri öldürme, fagositleri veya protein antijenleri yutan B lenfositleri aktive etme fonksiyonlarını gerçekleştirir (75). Sınıf I MHC molekülü CD8, sınıf II MHC molekülü CD4 ile birleşir ve T lenfosit cevabına katılır. Sınıf I molekülü human leukocyte antigen (HLA) –A, -13 ve –C olarak adlandırılır. Vücuttaki hemen hemen tüm hücrelerde sunulur ve CD8+ T hücrelerin aktivasyonuna katılır. Sınıf II MHC molekülü (HLA-DR, -DP, -DQ) sınırlı hücre tipinde sergilenir; dendritik hücre ve B lenfosit bu molekülü esas olarak sunarken makrofajlar, endotelial hücreler ve diğ er bazı hücre tipleri bu molekülü sunması için indüklenbilir. ASH'ler ve CD4+ T lenfositler arasındaki etkileşim MHC sınıf II molekülü ile ilişkili peptid ve T hücre reseptörü arasında olur. Bu sinyal T lenfositlerin aktive olması için gereken ilk sinyaldir. ASH üzerindeki birçok ko-stimülatör moleküllerin T lenfositteki ligandlara bağlanması da aktivasyon için gereklidir (50).

B Lenfositler

B lenfositler, dolaşan lenfosit nüfusunun %10-20'sini oluşturur. B lenfositlerin gelişimi olgunlaşma, aktivasyon ve farklılaşma olmak üzere 3 evreye ayrılabilir. Olgunlaşma dönemi kemik iliğinde geçer ve bu dönemde antijenle karşılaşma yoktur. Buradan ayrılırken yüzeylerinde, membrana bağlı tek bir antijene özgül immunglobulinler (mIgM, mIgD) bulunur. Dolaşımdan özellikle dalak ve lenf bezleri olmak üzere sekonder lenfoid dokulara geçerler. B lenfositleri antijene özgül olduklarından makrofaj ve dendritik hücreler göre 100-10000 kat daha düşük antijen konsantrasyonlarında bile MHC sınıf II molekülleriyle T_h lenfositlere antijen sunabilirler. Membranlarındaki antikora özgül antijen ile ilişkiye girdiklerinde çoğalma (klonal genişleme) ve farklılaşmaya başlayarak, antikor salgılayan *plazma hücrelerine* ve *bellek B lenfositlere* dönüşürler (126). Bellek hücreleri antijen uyarısı ile çoğalan lenfositlerden gelişen hücrelerdir, antijenin yokluğunda dahi uzun süre yaşamlarını sürdürürler. İşlevsel olarak bellek hücreleri sessizdir ve antijen ile uyarılmadıkça işlevlerini yerine getirmezler. Bellek hücresi, gelişimi uyaran ve daha önce tanıdığı aynı antijen ile karşılaştığında hücreler ikincil immün yanıtı vermek üzere hızla harekete geçer (1).

B hücreler antikor sentez eden tek hücre soyudur, yani bunlar humoral bağışıklığı düzenleyen hücrelerdir (1, 75, 124). B hücreler, antijenin B hücre reseptörüne bağlanması veya B hücrenin T hücre sitokinleri ile uyarılması ile aktive olurlar. Çözünür antijenler ve mikropların veya diğer hücrelerin yüzeylerindeki antijenler, B hücre yüzeylerindeki bu antijen bağlayan reseptörlere bağlanabilir ve humoral immüniteyi aktive edebilirler. B hücreler uyarıdan sonra büyük miktarda antikor ve humoral immünite medyatörleri

salgılayan plazma hücrelerine differansiye olur. Herhangi bir antijen genellikle hem B hem de T hücreyi aktive eder. Birçok durumda T ve B hücreleri immünolojik reaksiyonlarda beraber çalışır (1, 124). T hücreler sadece peptit antijeni tanırırlar, B hücreler proteinler, lipitler, polisakkaritler, nükleik asitler ve küçük kimyasallar dâhil daha fazla kimyasal yapıyı tanır ve cevap verir (75). Plazma hücreleri, periferik lenfoid organda karşılaştığı antijene yanıt olarak B lenfositlerinden gelişir, fakat daha sonra kemik iliğine göç ederek, antijen tamamen yok edildikten sonra bile çok az miktarda antikor yapımını sürdürür (1).

Doğal Katil (Natural Killer) Hücreler

NK hücreler, hücre içi mikroorganizmalara karşı, enfekte hücreleri öldürerek ve makrofajları aktive eden sitokini, *IFN- γ* 'yı salgılayarak mücadele veren özel bir lenfosit serisi hücrelerdir. NK'ler dolaşımda ve periferik lenfoid organlardaki lenfositlerin %10'unu oluşturur. Yoğun sitoplazmik granüllere sahip bu hücreler kendilerine özgü yüzey antijenlerine sahiptirler, ancak immünglobulin veya T hücre reseptörleri gibi B ve T hücrelerine özgü antijen reseptörleri taşımazlar (1). NK hücreler doğumsal immünite hücreleridir ve antijenler için çok değişken reseptörler ifade etmez. Bu nedenle T ve B hücreler gibi çeşitli spesifitelere sahip değildir. NK hücreler stres altındaki veya enfekte hücrelerde veya DNA hasarlı hücrelerde ifade edilen molekülleri tanımda, sınırlı reseptör seti kullanır ve bu hücreleri öldürür. Böylece geri dönüşsüz hasarlanmış hücreleri potansiyel virüs kaynaklarını elimine eder (75). NK hücreleri antijeni tanımaz. Bu nedenle aktivasyonu için ne antijenin işlenmesine ne de sunumuna ihtiyacı vardır. Böylece daha spesifik T hücre cevabı oluşmadan günler önce çabucak harekete geçerler. Çeşitli hedef

hücrelerini doğrudan öldürebilirler. Aynı zamanda antikora bağımlı hücrel sitotoksisteyi de yönlendirirler. Bu hücrelerin Fc reseptörü vardır ve bu reseptör aracılığı ile antikora bağlanırlar (124).

NK hücreleri duyarlı hale gelmeden veya MHC antijenleri olaya dahil olmadan hedef hücreyi lizise uğratabildiği için immün denetimde anahtar rol oynarlar (124).

1.1.3.İmmün Sistemin Mediatörleri: Sitokinler

Sitokinler, birçok hücre tipinin (öz. Lenfosit ve makrofaj) iltihap ve immün cevapların aracıları olarak fonksiyon gören polipeptid ürünleridir (75). Günümüzde ikiyüzün üzerinde insan sitokini olduğu bilinmektedir. Sitokinler hücrel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilemektedirler (74). Her ne kadar sitokin grupları farklı etkilere ve fonksiyonlara sahip olsalar da, bazı ortak özellikleri hepsi taşımaktadır. Sitokinler mikrobik ürünler, antijen tanıma ve diğer sitokinler gibi dış uyarılara cevap olarak sentez ve sekrete edilir. Geçici olarak salgılanırlar ve salgılanmaları transkripsiyon ve “post-translasyonel” mekanizmalarla kontrol edilir (75). Sitokinlerin etkileri otokrin (sitokini meydana getiren hücrede), parakrin (komşu hücreye) ve daha az sıklıkla endokrin (meydana geldiği yerden uzakta) olabilir (11).

Sitokinler, hematopoetik sistemin de içinde bulunduğu, hedef hücrelerin aktivitelerini değiştiren veya düzenleyen protein ve/veya glikoprotein yapıll immunomodölatörlerdir. Sitokinler hedef hücrelerdeki kendilerine ait spesifik

ligandlara bağlanarak etki etmektedirler. Bağlanma ile başlayan sinyal transdüksiyonu ve ikinci haberci iletimi, gen aktivasyonu, mitotik bölünme, büyüme ve farklılaşma, migrasyon veya apoptozise neden olur (17).

Bir sitokin çeşitli hücreler tarafından farklı dokularda salgılanabilir fakat aynı biyolojik etkiyi gösterir. Sitokinler sistemik veya lokal olarak etki gösterirler. Belli hücreler tarafından kana veya çeşitli hücresel sıvılara salgılanıp vücudun diğer bölgelerindeki hücresel reseptörlere bağlanırlar (74).

Sitokinler hücre bölünmesi ve farklılaşmasının kontrolü, hematopoez ve bağışıklık sisteminin regülasyonu, yaraların iyileşmesi, kemik formasyonu ve hücresel metabolizmanın değiştirilmesi gibi biyolojik olaylarda rol oynamaktadır (17).

Sitokinler çok değişik hücre tipleri tarafından üretilir. Genel olarak monokinler (monosit zincirinden üretilen) ya da lenfokin (lenfositler tarafından üretilen) şeklinde sınıflandırılır. Bu sınıflandırma fazla basit olması nedeniyle tartışmaya açıktır. Diğer sınıflandırmalar fonksiyonlarına ve yapılarına göre yapılmaktadır. Sitokinler diğer sitokinleri olduğu kadar kendi üretimlerini de indükledikleri veya baskıladıkları çok karmaşık bir yapı içinde hareket ederler. Buna ek olarak, birçok sitokin pleiotropik (bir sitokinin birçok hücre tipine etkili olması) ve redundant (aynı etki birçok proteinle oluşabilir) etki gösterir ve birçok sitokinin fonksiyonu örtüşür. Bu özellikler nedeniyle tek tek sitokinlerin etkilerinin ve sitokin gen polimorfizmlerinin etkilerini incelemek zorlaşır (17, 75).

Lenfokin, monokin, interlökin, interferon olarak da adlandırılan sitokinlerin ortak karakteristik özellikleri;

1. Sitokinler doğal ve spesifik immunitenin efektör fazında yapılırlar.
2. Bir sitokin değişik tip hücreler tarafından yapılabilir.
3. Bir sitokin değişik tip hücreler üzerine etki gösterebilir.
4. Düşük moleküler ağırlıktadırlar.
5. Bir sitokinin aynı hedef hücre üzerinde farklı etkileri olabilir. Bu etkilerin bazıları aynı anda, bazıları ise dakikalar saatler hatta günler sonra oluşabilir.
6. Birden fazla sitokin aynı etkiyi gösterebilir.
7. İki sitokin birbirlerinin etkisini ortadan kaldırabilir (antagonizm), arttırabilir (sinerji) hatta değişik bir etkiye yol açabilir.
8. Sitokin sentez ve sekresyonu kısa süreli olaylardır. Sentezleri genellikle yeni gen transkripsiyonu ile başlar, hücrede önceden yapılmış halde bekletilmezler.
9. Sitokinler, hedef hücre yüzeyinde bulunan her sitokine veya sitokin grubuna spesifik reseptörlere yüksek afinite ile bağlanarak etkilerini başlatırlar.
10. Belli bir biyolojik etkiyi sağlamak için gereken sitokin miktarı genellikle çok düşüktür.

11. İmmünite ve enflamasyon reaksiyonlarında vücut cevabının amplitud ve süresini regüle ederler.

12. Genellikle geçici süre ile ve lokal olarak sentezlenirler.

13. Son derece potanttirler. Genellikle pikomolar düzeyde bile etkindirler(11).

Sitokinler biyolojik aktivileri ve fonksiyonlarına dayanan birçok sınıfta gruplanabilir (75).

• **Doğal immünite ve iltihapta yer alan sitokinler:** Mikrop ve ölü hücrelere en erken konak cevabıdır. Bu gruptaki ana sitokinler *TNF* ve *IL-1*, kemokinler denilen kemoatraktan sitokinler, *IL-12* ve *IFN-gama*'dır. Bu sitokinlerin major kaynağı aktif makrofajlar, dendritik hücre, endotelyal hücreler, lenfositler, mast hücreleri ve diğer hücre tipleridir.

• **Lenfosit regülasyonunda ve kazanılmış immünitede efektör fonksiyonlu sitokinler:** Farklı sitokinler ve lenfositlerin çoğalma ve farklılaşmasında (*IL-2* ve *IL-4* gibi) ve çeşitli efektör hücrelerin (makrofajları aktive eden IFN-γ ve eozinofilleri aktive eden *IL-5* gibi) aktivasyonunda yer alır. Bu sitokinlerin major kaynağı antijenler ve kostimülatörler ile uyarılan CD4+ yardımcı T lenfositlerdir. Bu sitokinler kazanılmış sellüler immün cevapların uyarılmasında ve efektör fazlarının anahtar sitokinleridir.

• **Hematopoezi uyaran sitokinler:** Bunların çoğuna koloni-uyaran faktörler denir. Lökositlerin kemik iliği içinden çıkışını artırma ve böylece immün ve iltihabi reaksiyonlarda kullanılmış lökositleri yenileme fonksiyonları vardır (75).

Sitokinler immün ve inflamatuvar cevabın etki mekanizmalarının  o una katılırlar. *IL-2* ve *IFN* gama gibi yardımcı T lenfosit T helper-1 grubundan salınan sitokinler hücresel immunitede, *IL-4*, *IL-5*, *IL-10* ve *IL-13* gibi T helper-2 tip sitokinleri humoral immün cevaplarda etkilidirler (16). Imm n sistem hücrelerinin sitokin üretimi antijene ba lı veya bağlı olmayan yollardan gerçekleşebilir. Örneğin monositler LPS gibi hücre duvarı ürünlerine maruz kaldıklarında *IL-12* ve diğer sitokinleri üretir. Bu diğer hücreleri de sitokin salgılamak üzere indükler. Antijene ba lı cevaplar B ve T hücreler, özellikle T hücre reseptörleri tarafından gerçekleştirilir. B hücre aktivasyonu *IL-6* ve başka sitokinlerin üretimi ile sonuçlanır (17).

Çalışmamızda pulpa enflamasyonu ile ilişkilerini irdeledi imiz sitokinlerin daha ayrıntılı bilgileri aşağıdaki gibidir.

1.1.3.1. İnterlökin-1 Ailesi

IL-1 doğal ve kazanılmış immün sistemi aktive ederek konak defansında akut ve kronik enflamasyonu indükleyen pleiotropik bir proenflamatuvar sitokindir. İnsanlarda *IL-1 *, *IL-1 *, *IL-1resept r antagonisti* ve *IL-18*'e ek olarak en az 11 adet *IL-1 ailesi*  yesi tanımlanmıştır. Klasik *IL-1/IL-1R* sisteminde ikisi agonist (*IL-1 * ve *IL-1 *) biri antagonist (*IL-1ra*) 3 adet ligand ve iki reseptörden (*IL-1R1* ve *IL-1R2*) oluşur. *IL-1 *, *IL-1 * ve *IL-18*'in üç boyutlu yapısı aynıdır. *IL-1ra*, *IL-1 *'ya daha yakın bir yapıya sahiptir (121). Minimalsekans benzerliğine rağmen (%25 amino asit benzer) *IL-1 * ve *IL-1 * farklı afinitelerle aynı reseptörlere (*IL-1R1* ve *IL-1R2*) ba lanır; *IL-1 *'nın *IL-1 *'ya göre *IL-1R1*ere bağlanma afinitesi daha güçlüdür. *IL-1 * da

bağlanır fakat reseptörde sinyal iletimini başlatmaz. *IL-1 α* ve *IL-1 β* 'nin yanı sıra *IL-1 α* 'nın prekürsör formu da biyolojik olarak aktiftir, fakat *IL-1 β* 'nin prekürsör formu aktif değildir(26, 91).

IL-1 ile ilişkili biyolojik aktiviteleri arasında;

- Hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunda artma ile vasküler endotelyal hücrelerin aktivasyonu,
- Bağ dokusu hücreleri ve polimorfonükleer lökositlerden (PNL) prostoglandin sentezinin uyarılması,
- Kondrosit ve osteoklastların uyarılması ve kemik ve kıkırdak rezorpsiyonu ile proteoglikan yıkımı, proteoglikan sentezinin inhibisyonu, kollajenaz sentezi ve kemikten kalsiyum salınımı sayılabilir(30).

IL-1 ve aynı aileden olan *IL-18* enflamasyon ve otoimmün hastalıklarla ilişkili genlerin ekspresyonunu stimüle etme özelliğine sahip primer proenflamatuar sitokinlerdir. *IL-1* için en belirgin özelliklerden biri COX-2, fosfolipaz A ve iNOS'un (inducible Nitric Oxide Syntase) başlatılmasıdır. *IL-1*'e maruz kalan bağ dokusu hücreleri ve PNL hücrelerinden yüksek miktarda prostoglandin E₂, PAF ve NO üretilmesine yol açar (27, 30, 121).

IL-1 ve *IL-18* mezenşimal hücreler üzerinde bulunan ICAM ve endotelyal hücrelerde bulunan VCAM gibi adezyon molekülü ekspresyonunu ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ekspresyonunu arttıran anjiojenik faktörlerdir (27, 121). Bu özellik enflamatuar infiltratın ve immünokomponent hücrelerin ekstravasküler alana geçmesini sağlar.

IL-1 monosit/makrofaj, B hücresi, T_{h1} ve T_{h2} hücreleri, nötrofiller, endoteliyal hücreler, epiteliyal hücreler, hava yolu düz kas hücreleri ve vasküler düz kas hücreleri gibi birçok hücreden üretilmektedir *IL-1 α* prekürsörü birçok hücrenin yüzeyinde bulunabilir, özellikle monositler ve B lenfositlerde bulunur. Bunlara *IL-1 α* membranı denir ve *anti-IL-1 α* ile inaktive edilir (121).

IL-1 β 'nin primer kaynağı kandaki monositler, doku makrofajları ve dendritik hücrelerdir. B lenfositler ve NK hücreleri de kaynak oluşturur. Fibroblastlar ve epitelyum hücreleri genelde *IL-1 β* üretmezler. Sağlıklı durumda kandaki monositler ve kemik iliği aspiratında devamlı *IL-1 β* sunumu yoktur. Hemen hemen her mikrobiyal ürün toll-like reseptör aracılığıyla *IL-1 β* 'yi uyarabilir. *IL-1 β* özellikle endotoksinin çok az miktardaki konsantrasyonlarına (1-10 pg/ml) duyarlıdır (121).

1.1.3.2. İnterlökin 6

IL-6 lenfoid ve lenfoid olmayan dokulardan üretilen ve immün reaksiyonları, akut faz cevabı, enflamasyonu, onkogenezi ve hematopoezi yöneten pleiotropik bir sitokindir (121, 122). İlk olarak “B hücre diferansiyasyon faktörü” olarak adlandırılmıştır ve B hücrelerinin antikör üreten hücrelere dönüşmesini sağlar. Daha sonra yapılan rekombinant *IL-6* ve *IL-6* antikör çalışmaları ile sadece B hücreleri değil T hücreler, hepatositler, hematopoetik progenitör hücreler ve hatta nöronal hücreleri de diferansiye ettiği bulunmuştur (69). *IL-6* üretimi çeşitli stimülanlar ile kontrol edilir. T hücrelerde veya T hücre klonlarında *IL-6* üretimi T hücre mitojenleri

veya antijenik stimölasyon ile indüklenir. LPS, monosit ve fibroblastlar da *IL-6* sentezini uyarır. Birçok virüs fibroblastlarda veya santral sinir sistemi hücrelerinde *IL-6* üretimini indükler (121).

IL-6, *IL-2* gibi diğer faktörler hazır olduğunda normal veya lösemik B hücrelerini, immünglobulin üretimi için indükler. Aktive edilmiş B hücrelerini *IgM*, *IgG* ve *IgA* üretimi için indükler, fakat aktive olmayanları uyaramaz. *IL-6* ve *IL-1*, sıçan B hücrelerinin büyümesi ve gelişmesinde sinerjestik çalışır. Araştırmalar *IL-6*'nın mukozal immün yanıtta önemli bir rol oynadığını göstermektedir (121).

IL-6, T hücre aktivasyonuna da katılır. *IL-6*'nın etkisi *IL-1* ve *TNF* ile sinerjestiktir. *IL-1*'in timosit proliferasyonu etkisi muhtemelen *IL-6*'nın etkisi altındadır. *IL-6* sitotoksik T hücrelerinin diferansiyasyonu ve ekspresyonunda rol oynar (121).

IL-6'nın in vitro uygulamalarında ateş, genel halsizlik ve anoreksia gibi sistemik enflamasyon semptomlarını indüklediği görülmüştür. Laboratuvar testlerinde akut-faz proteinleri olan C reaktif protein, serum amiloid A ve fibrinojende artış, serum albumin konsantrasyonunda azalmaya yol açar. Enflamatuvar organlarda adezyon moleküllerinin gelişimini arttırarak immünkomponent hücrelerin lokal infiltrasyonunu arttırır. Ayrıca VEGF üretimini arttırarak anjiogenezi indükler. Bu büyüme faktörü vasküler permabiliteyi arttırarak enflamatuvar ödeme yol açar (30, 92, 121). *IL-6* eksikliği oluşturulan fare deneyinde, bu farelerin normal gelişim göstermesine rağmen doku hasarı veya enfeksiyon karşısında akut faz cevabını oluşturamadıkları görülmüştür (73).

IL-6'nın birçok antienflamatuar özelliği de bilinmektedir. *IL-6*'nın dolaşımdaki *IL-1ra* seviyesini arttırdığı ve *TNF* seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir. Bu şekilde akut ve kronik enflamatuar süreçlerin rezolüsyonunu sağladığı düşünülmektedir (122). *IL-6*, *IL-1* ve *TNF* etkilerini baskılar, glukokortikoid salınımını indükler, ve *IL-1* (*IL-1ra*), *TNF* (soluble *TNFR* p55) doğal antagonistlerini indükler(50).

IL-6'nın pleiotropik etkileri (69):

B hücreleri için;

- Ig üretimi
- Myeloma hücrelerinin proliferasyonu
- Epstein-Barr virüs ile enfekte B hücrelerinin proliferasyonu

T hücreleri için;

- T hücrelerinin proliferasyonu ve diferansiyasyonu
- Sitotoksik T hücrelerinin diferansiyasyonu
- *IL-2* üretiminin ve *IL-2R* sunumunun indüklenmesi
- NK aktivitesinin artırılması

Hematopoetik progenitör hücreler için;

- Multipotansiyel hematopoetik koloni formasyonunun artırılması

Hepatositler için;

- Akut faz proteinlerinin üretimi

1.1.3.3. İnterlökin 8(CXCL-8)

Kemokinler yapısal olarak sitokinlere benzeyen ve lökosit hareketlerini ve enflamatuvar hücrelerin enflamatuvar alana doğru kemotaksisini düzenleyen güçlü sitokinlerdir(50). Kemokin kelimesi “kemotaktik sitokin” tamlamasının kısaltmasıdır. Moleküler ağırlığı 8-10kD olan kemokinler sistein gruplarının dizilimine göre ikiye ayrılır:

CC kemokinleri, bitişik sistein yapısına sahiptir. Monositler, CD4+ T hücreleri ve eozinofiller için kemotaktik olan proteinler bu gruba dâhildir.

CXC kemokinleri, korunmuş sisteinleri ayıran bir aminoasite sahiptir ve primer olarak nötrofiller üzerine etkilidir. *IL-8* bu grubun tipik bir örneğidir(75).

CXCL8, LPS ile stimüle edilmiş periferik mononükleer hücre kültüründen nötrofil kemoatraktan faktör olarak izole edilmiştir. Lökositik hücrelerden (T hücreler, nötrofiller ve NK), mikrobik ürünlere ve *IL-1* ve *TNF* gibi diğer sitokinlere yanıt olarak aktive olmuş makrofajlarda, lökositik olmayan somatik hücrelerden (endotel hücreleri, fibroblastlar ve epitelium hücreleri) ve tümör hücrelerinden üretilir (75, 121).

CXCL8 nötrofillerin birçok aktivitesi üzerine etkilidir. LTB_4 salınımı ile 5-lipoxigenase aktivitesini sağlar, nötrofillerde PAF sentezini indükler. Nötrofillerin endotelden migrasyonunu stimüle eder.

CXCL8 üretimi proenflamatuvar sitokinler (*IL-1*, *TNF α*), bakteriler, bakteri ürünleri ve viral ürünleri ile tekrar tekrar indüklenebilir. Bu stimülanlar birçok hücreyi *CXCL8* üretimini aktive eder. *CXCL8* nötrofillerin birçok aktivitesi üzerine etkilidir. *CXCL8* bazofil kemotaksisini indükler, endotel hücrelerine

adezyonunu sağlar ve intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu artırır. *IL-3*'ün yüksek konsantrasyonunda bazofillerden histamin ve lökotrien salgılanmasını indükler, düşük konsantrasyonda ise inhibe eder(27, 50).

1.1.3.4. Tümör Nekrosis Faktör- α (*TNF- α*)

TNF- α , birçok hücre tipi tarafından salgılanan ve kanserli hücrelerin yıkımını sağlayan bir sitokindir. Kanser kaşeksisi ve endotoksik şokta yer alır. α ve β olmak üzere iki tipi vardır. α tip; *TNF- α* (kaşektin), β tip; *TNF- β* (lenfokin) olarak bilinir (72). Yüksek sekans ve yapısal benzerliğe rağmen iki farklı reseptör ile etkileşirler; tip I (TNFRp55) ve tip II (TNFRp75) (119). *TNF- α* , makrofajlar ve bazı diğer hücreler tarafından üretilir. *TNF- β* ise T hücre lenfositleri tarafından üretilir. *IL-1* ile birçok özellik paylaşmaktadır. *TNF*, *IL-1* ile birlikte ya da ayrı ayrı sistemik enflamasyonu tetiklemekte ve bununla ilgili belirtilerin (örn., ateş) ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Gram-negatif bakterilerin hücre duvarı yapısında bulunan ve aynı zamanda bir endotoksin olan lipopolisakkarid (LPS), *TNF- α* üretimini tetikler. Ayrıca *TNF*, nötrofil ve monositler için kemotaktiktir ve nötrofil aktivitesini artırır (72).

TNF- α , *IL-8* gibi kuvvetli kemoatraktif mediatör olup nötrofillerin kemotaksisi ve aktivasyonuna neden olur (76).

TNF- α , immünoinflamatuvar reaksiyonlarda düşük konsantrasyonlarda (10^{-9} M) lokal etki gösteren güçlü parakrin ve otokrin düzenleyicilerdir. Aynı zamanda birçok hücre tipinde büyüme ve farklılaşmayı düzenler. Özellikle *IFN- γ* ile kombinasyonu sitotoksiktir. Çalışmalar, *TNF- α* 'nın akut inflamasyonda ve antitümoral immünitede en önemli sitokin olduğunu göstermektedir. Nötrofil ve endotel hücrelerini uyarak adezyon ve kemotaksisi yönetir. *TNF- α* , aktive monositler, makrofajlar ve daha fazla

çoğunlukla aktive T hücreler, B hücreler, mast hücreler, fibroblast, keratinosit, Kupffer hücreleri, düz kas, sinovial örtü hücreleri ve bazofil gibi birçok hücre tipinden salgılanmaktadır. Fibroblastların ve endotel hücrelerinin *TNF- α* aracılıklı proliferasyonu yara iyileşmesinde önemli bir elementtir. Ayrıca *TNF- α* , endotelyal vasküler hücre adezyon molekülü'nün (VCAM) sentezinde önemli uyarandır. *TNF- α* üretimi, *IL-10*, *TGF- β* , *PGE*, siklosporin A, deksametazon, ibuprofen, metilprednizolon ve pentoksifilin tarafından inhibe edilir (76).

1.2. Pulpanın Savunma Sistemi

Bir tür bağ dokusu olan diş pulpası vücuttaki diğer bağ dokularından farklı olarak diş sert dokuları ile çevrilmiştir. Bu rijit yapı dışarıdan gelecek olan patojenlere ve iatrojenik yaralanmalar karşı fiziksel bir bariyer oluşturur. Bariyerin bütünlüğü bir kez bozulunca dış kaynaklı zararlı elementler dişin içyapılarına nüfuz edebilir. Bu da çeşitli biyolojik cevaplara yol açar (67).

1.2.1.Pulpayı Etkileyen Patolojik Gelişmeler

1.2.1.1.Diş Çürüğü ve Pulpanın Cevabı

Diş çürüğü pulpada bakteriyel provokasyona en sık yol açan etkindir. Diş dokuları yıkıma uğradıkça enflamatuvar olayları tetikleyen çeşitli yan ürünler açığa çıkar. Çürük, dentin ile sınırlıysa genellikle pulpa savunması irritasyonu durdurma kapasitesine sahiptir. Çürük pulpaya ulaştığı zaman ise pulpanın canlılığını da tehlikeye düşürecek enflamatuvar olaylar devreye girer (15).

Bakteriler mine ve dentine penetre oldukça, dentinin altındaki odontoblastlar etkilenir, kollagen yapımı için indüklenirler ve metabolik ve enzimatik aktivitede artış olur. Bunun hemen ardından pulpada enflamatuvar değişiklikler başlar.

Çürük karşısında pulpanın temel reaksiyonları;

- Dentin permabilitesinde azalma (dental skleroz)
- Yeni dentin yapımı (reaksiyoner/ reparatif dentin)
- Enflamatuar ve immunolojik reaksiyonlar olarak özetlenebilir (124)

Dental Skleroz

Hafif ve kısa süreli yaralanmalarda dentin kanallarında skleroz oluşur. Alttaki pulpa dokusu da ilk olarak subodontoblastik zonda ve daha sonra santral zonda progressif iltihabi tepki gösterir. Bu durum çoğu defa yavaş ilerleyen çürük, kavite preparasyonunun irritasyonu, abrazyon, erozyon, atrisyon gibi patolojik, yaşlanma gibi fizyolojik etkenlerle meydana gelir (6).

Antijenik ve diğer iritan ajanlar pulpaya dentin tübüllerinden diffüzyon yoluyla ulaşır. Bu nedenle, dentin tübüllerinin permabilitesi pulpal yaralanmanın boyutunun belirlenmesinde kritik rol oynar. Çürüğe karşı en sık görülen reaksiyon dental sklerozdur. Skleroz olayında, pulpa cevabı sonucu peritübüler dentinde kalınlaşma ve hipermineralizasyon olur. Bu reaksiyonda, dental tübüller karbonat apatit ve whitlockite kristallerinden oluşan mineral depolanması ile kısmen veya tamamen tıkanır. Bu tür dentin transparan camsı görünüme sahiptir (6, 15, 124).

Peritübüler dentin odontoblast uzantısının kalsifiye sekresyonudur. Odontoblast uzantısında gözlenen çok sayıda veziküller olasılıkla peritübüler dentinde matriks haline gelen sekretuar ürünlerdir. Bu ürünler odontoblast

hücre gövdesinde endoplazmik retikulumda hazırlanır, golgi kompleksinden geçer ve odontoblast uzantısının veziküllerinde ortaya çıkar ve peritübüler dentin matriksine sekrete edilir. Devamlı biriken kalsiyum tuzları peritübüler dentinin intertübüler dentinden daha yüksek derecede kalsifiye olmasına neden olur (6, 15, 124).

Dentinal skleroz hemen hemen bütün çürüklerin periferinde görülür. Sklerozun gerçekleşmesi için dentin tübüllerinde vital odontoblast varlığının devam etmesi gerekir. Bazen aşırı irritan kimyasal maddeler, soğutmasız olarak uygulanan yüksek devirli turlar, hızlı ilerleyen çürükler sonucu odontoblastlar sklerozu oluşturan maddeyi yiğacak yeterli zamanı bulamaz ve bir grup odontoblast uzantılarıyla dejenerasyona gider ve sonuç olarak dentin boyunca ölü yollar oluşur. Ölü yolların olması pulpayı reparatif dentin yapmak üzere indükler (6, 15, 124).

Sonuç olarak hem peritübüler dentin oluşumu ve hem de intratübüler kalsifikasyon, kanalların daha dar hale gelmesine ve tamamen tıkanmasına neden olur (skleroz). Çürüklü dişlerin %95'inde oluşmaktadır. Sklerotik dentin, pulpa dentin kompleksinin defans mekanizmasıdır. Skleroz sonucu oluşan tıkanma irritasyonların pulpaya ulaşmasını engeller (6, 15, 124).

Tersiyer Dentin

Tersiyer dentinin, dentin üretimi yapan hücre tipine göre iki çeşidi vardır. *Reaksiyoner dentin*, görece hafif şiddetteki stimulus sonrası sağ kalan odontoblastlar tarafından yapılır, *reparatif dentin* ise yeni jenerasyon

odontoblast-benzeri hücreler tarafından yapılır. Böyle bir cevap daha güçlü bir uyarandan sonra ortaya çıkar (54).

Odontoblastların yaralanmaya yanıt verme yeteneği ve sekretuar aktivitelerini arttırarak **reaksiyoner dentin** depoladığı bilinmektedir. Bu çeşit yanıtta özellik hücre yenilenmesi olmamasıdır. Odontoblastlar zararlayıcı etken nedeniyle ölmemişlerdir.

Reaksiyoner dentin yapımında dinlenme halindeki fizyolojik sekonder dentinogenez hücrelerinin odontoblast aktivitelerinde stimulus nedeniyle artış vardır. Bu stimulusun sinyal oluşturma süreci oldukça çeşitlidir ve büyüme faktörlerinin salınımını indüklediği düşünülmektedir. Birçoğu tanımlanmamış olmakla birlikte *TGF-β* (Transforming Growth Factor) gibi çeşitli bioaktif moleküller sinyalizasyon sürecine katılır (43). Bir büyüme faktörü ailesi olan *TGF-β* süper-ailesi birçok bağ dokusundaki mezenşimal hücreleri etkiler. *TGF-β* mezenşimal hücrelerde kollagen ve proteoglikanlar dahil birçok ekstrasellüler matriks komponentinin sentezlenmesinde etkilidir. Yara iyileşmesinde de etkili olan *TGF-β* izoformlarının ekstrasellüler matriks biyosentezinde diferansiyal etkisi görülmektedir. Dentin-pulpa kompleksindeki *TGF-β*'nın üretimi otokrain olarak odontoblastların davranışları üzerine etkili olabilir. Yeni differansiye olmuş odontoblastların gelişimi sırasında, mature insan dişindeki odontoblastlar tarafından sunulan *TGF-β* izoformları transkripsiyonel ve protein olarak sunulmaya başlar. Odontoblastlardan *TGF-β* salınımı çürük gibi herhangi bir doku dağılımı sonucunda dentin matriksinden kopmaları ile gerçekleşebilir. *TGF-β*'ların dentin matriksinde bulunması, *in vivo* çalışmalarda izole edilmiş dentin matriks komponentlerinin reaksiyoner dentinogenezisi başlatması durumuna da

açıklık getirmektedir. Çalışmalarda bone morphogenetic protein-7'nin (BMP-7 veya OP-1) dentin yoluyla uygulanmasının odontoblastlarda reparatif dentin yapımını daha fazla stimüle ettiği gösterilmiştir. Diş kavitesine izole edilmiş dentin matriksi komponentlerinin uygulandığı çalışmalarda, odontoblastların hayatta kalıp reaksiyoner dentin yapımının arttığı gözlenmektedir. Bu durumda odontoblastlar dentin matriks komponenti veya matriksin içinde bulunan büyüme faktörleri tarafından stimüle ediliyor olabilir (127).

Reaksiyoner dentin yapımında orijinal odontoblastlar ölmediği için tübüler yapıda devamlılık vardır ve tübüller primer dentin matriksi ile bağlantı halindedir (127).

Diş daha büyük ve yoğun yaralanmalara maruz kaldığı zaman veya pulpa ekspozite olursa, odontoblastlarda lokal ölü sahalar oluşur. Eğer ortam koşulları uygunsa pulpadaki progenitor hücrelerden yeni jenerasyon *odontoblast-benzeri hücreler* diferansiye olur ve **reparatif dentin** matriksi salgılanmaya başlar. Yaralanmanın pulpanın ekspozisyonuna yol açtığı durumlarda bu reparatif dentin yapımı dentin köprüsü oluşumu ile sonuçlanır (6,44, 43, 124). Reparatif hücreler pulpadan köken alır. Tamir sürecine katılmak için pulpa hücrelerinde ancak belli bir subpopulasyon elverişlidir. Pulpadaki kök hücrelerini tanımlayan hipotezlere göre reparatif dentin progenitörleri kök hücrelerdir. Fakat bu henüz kesin olarak kanıtlanmamıştır (44).

Maymun çalışmalarında pulpa ekspozisyonunun hücreden zengin tabakadaki fibroblastlarda mitotik aktiviteyi başlattığı gösterilmiştir. Bu hücreler dentin yüzeyine doğru göç ederler ve önce pre-odontoblastlara

sonra replasman odontoblastlarına dönüşürler. Bu yeni hücrelerin gövdesi düz veya küboidaldir ve odontoblast tabakası orijinal odontoblast tabakasına göre daha az yoğunlukta hücre içerir(38, 50).

Odontblast-benzeri hücreler tarafından üretilen dentin, irregüler ve amorf yapıdadır ve daha az tübül içerir. Bu tübüller primer dentinin tübüllerinin devamı niteliğinde düz bir hatta olmaz (15, 50,127). Sonuçta primer ve reparatif dentinden oluşan kompleks dış uyaranlara karşı daha az geçirgendir. Bu yeni dentin dokusunun kalitesi her zaman primer dentin kadar iyi olmaz. Pulpanın durumu göreceli olarak iyi ise yapılan tersiyer dentin matriksi sağ kalan odontoblastlar tarafından salgılandığı için kalitelidir. Pulpa enfekte ise veya dejenerasyon başlamışsa dentin kalitesi daha değişkendir. “İsviçre peyniri” görünümü kalitesiz dentine örnektir. Boşluklarda yumuşak doku matriks ile sarılarak sıkışmış ve aniden nekroza gitmiştir (43, 50).

Çürüğün mineden pulpa-dentin kompleksine doğru ilerlemesi bakteri yan ürünlerinin difüze olmasıyla alttaki pulpada enflamatuar ve immünolojik olayların başlamasına neden olur. Önce sklerotik dentin, daha sonra da reaksiyoner veya reparatif dentin yapılıncı bu olayların önüne geçilir, enfeksiyonun yayılma yolu kesilir ve bakteriyel istila elimine edilmiş olur. Odontoblast reaksiyonu olmadığı zaman veya odontoblastların öldüğü durumda, bakteriyel invazyonunu takiben irreversibl pulpitis, pulpa nekrozu ve kök kanallarının enfeksiyonu ve periapikal hastalıklar görülür (44).

Pulpa Patolojileri

Pulpada görülen patolojik olayları dört grup altında toplayabiliriz (20):

1. Pulpa dejeneresansları
2. Pulpa iltihapları
3. Pulpa nekrozu
4. Pulpa neoplazileri

Pulpa dejeneresansları geriye dönüşlü yapı değişimleri ve normal doku elemanlarından birinin pulpada birikmesi şeklinde görülebilir.

Amiloid Dejeneresans: Pulpada amiloid birikme vardır (amiloid madde: %80 su, geri kalanı proteinler ve karbonhidratlar). Amiloidin birikme yerlerinin etrafındaki pulpa hücreleri ortadan kaybolur.

Hyalinli Dejeneresans: Hyalin, beta ve gamma globulinlerin çoğunluğunu teşkil ettiği protein yapısında bir maddedir. Şeffaf, amorf ve kütleler halinde kapiller damarlar civarında başlar. Kök kanallarında yaygın şekilde görülebilir. Çoğunlukla kronik bir pulpitisi izleyerek ortaya çıkar.

Fibrotik Dejeneresans: Pulpada, kollagen fibrillerinin, uzunluk ve kalınlıklarının ve sayısının pulpanın diğer elemanlarının aleyhine çoğalmasdır. Fibrotik bir pulpada hücre sayısı, kapiller ve substantia fundamentaliste azalma ve regresyonlar görülür.

Yağlı Dejeneresans: Pulpa hücrelerinde, özellikle odontoblastlarda görülen yağ damlacıkları ile karakterizedir. Yağın birikmesi damarlara yakın kısımlarda görülür.

Vakuollü Dejeneresans: Yaşlanma veya dış etkenler nedeniyle odontoblast tabakasında hücrelerin kaybı ile ortaya çıkan boş alanlardan ibarettir.

Kireçli Dejeneresans: Kireçlenme bazen bütün pulpayı kaplayabilir ve yaygın kireçlenme adını alır (pulpa taşları, pulp stones, pulpo lithe, dentikül, dentikel). Kimyasal yapıları bakımından biriken kireç, kalsiyum karbonat ve hidroksilapatitten oluşmuştur(20).

Pulpa İltihapları

Pulpada gelişen enflamatuvar cevabın belirlenmesinde pulpayı etkileyen stimulusun şiddeti, etkime süresi ve frekansı etkenin cinsinden daha önemlidir. Fiziksel, kimyasal ya da mikrobiyal bir etkene verilen cevap hemen hemen aynıdır. Kısa süreli şiddetli stimuluslara genelde akut, düşük şiddetli fakat uzun süren stimuluslara kronik cevap oluşur (20, 124). Çürüğün altında gelişen enflamasyonun seviyesini klinik olarak saptamak zordur. Çürük proçesini etkileyen birçok faktör vardır. Pulpanın cevabı çürüğün hızlı, yavaş veya durgunlaşmış olmasına göre değişir. Dental çürük lezyonunun yıllara yayılan bir süreci vardır. Genelde akut enflamasyondan çok, düşük düzeyli kronik pulpa enflamasyonu gelişir. Çürüğün altındaki pulpa enflamasyonunun şiddetini etkileyen iki faktör vardır:

1. Bakteriyel penetrasyonun derinliği
2. Dentinal skleroz ve/veya reparatif dentin yapımı ile dentin permabilitesini ne kadar azaltabildiği (124).

Pulpa patolojisi ve semptomlarıyla histolojik bulgular arasında kesin ilişkiler bulunmaması nedeniyle sınıflandırmalar klinik belirtilere göre yapılmaktadır. Buna göre pulpa iltihapları üç grup altında toplanabilir:

1. Akut Pulpitisler (İrreversibl)
2. Hiperemik Pulpitis (Reversibl)
3. Kronik Pulpitisler (İrreversibl) (20)

Hiperemik (Reversibl Pulpitis):

Dentin hipersensitivitesiden pulpanın erken veya hafif iltihabına kadar değişen bir dizi reaksiyonun genel sınıflamasıdır. Reversibl pulpitis pulpanın fazla şiddetli olmayan iltihabıdır. Etken ortadan kaldırıldığında iltihap geriler ve pulpa normale döner. Pulpa hiperemisi, pulpanın sınırlı bir bölgesinde kan hacminin ve pulpa içi basıncın artmasıdır. Uzun süreli vazodilatasyon sonucunda vasküler kan toplanması mikrobiyal, fiziksel veya kimyasal ajanlar tarafından indüklenmiş olabilir (6).

Akut Pulpitisler:

Pulpanın iritanlara karşı klinik olarak gözlenebilen iltihabi cevabıdır. Etken ortadan kaldırılrsa bile iltihabın çözülmediği tablodur. Pulpa yavaş veya hızlı olarak nekroza gider. İrreversibl pulpitis hiperemiyi takiben gelişir ve etiyolojisi reversibl pulpitis ile aynıdır. Önceden mevcut asemptomatik ve kronik iltihaplı bir pulpanın akut alevlenmesinden de kaynaklanabilir. Pulpası açık bir çürük kavitesinin tıkanması sonucu pulpa içi basıncın artması ağrılı semptomlara neden olur.

Bölgesel hiperemi sırasında pulpa kan damarlarında uzun süreli dilatasyon görülür. Vasküler permabilitenin artışı ile beraber eksudasyon ve lökosit infiltrasyonu gerçekleşir. Bu durum periferik ağrı reseptörlerinin uyarı eşiğinin düşmesine yol açar ve eksternal bir uyaran olmadan spontan ağrılar hissedilir. Ağrıyı eksternal bir uyaran başlatıyorsa, irritan ortadan kaldırılrsa bile ağrı devam eder (6).

Pulpanın çürük ile ekspozite olması nötrofillerin kitle halinde göçüne ve sonunda *süpürasyona* neden olur. Nötrofillerin proteolitik enzimlerinin serbest kalmasıyla beraber doku yıkımı, cerahat oluşumu ve likefaksiyon nekrozu görülür. Doku yıkımının olduğu alanda çevre dokudan çok daha büyük bir osmotik basınç oluşur. Bu basınç duyu siniri sonlanmalarının duyarlılığını değiştirir ve şiddetli bir ağrı duyulur. Bu nedenle pulpal **abse** varlığında drenaj rahatlamayı sağlar (124).

Kronik Pulpitisler

Kronik Hiperplastik Pulpitis (pulpa polibi): Bu durum daha çok süt dişlerinde ve apeksi kapanmamış genç daimi dişlerde görülür. Diş gelişiminin bu aşamasında geniş apeks nedeniyle pulpayı destekleyen damar sayısı fazladır. Kanlanmanın fazla olması genç daimi dişlerin enfeksiyona daha dirençli olmasını sağlar. Çürük pulpaya ulaştığında pulpa ekspozite olur ve akut enflamasyon başlar. Pulpa ne kadar geniş açılırsa enflamatuar eksuda için o kadar geniş bir drenaj yolu olur. Akut enflamasyonun drenajı sağlandığında akut enflamasyon yatışır ve pulpanın açılım bölgesinden kronik enflamatuar doku proliferasyonu başlar. Bu proliferasyon pulpa polibi ile sonuçlanır. Zamanla polip oral mukoza epitelinin karakterini alır (124).

Kronik Ülseratif Pulpitis: Pulpa çürük nedeniyle ekspoz olduğunda, lezyon ülseratif pulpitis haline gelir. Kapalı pulpitislerin açılması veya açık pulpitislerin kronikleşmesi ile ortaya çıkar. Enflamasyon lokalize ve asemptomatik olarak kalır, çünkü açık olan pulpanın drenajı söz konusudur ve basınç artışı olmaz. Pulpanın üzerinde bir yara yüzeyi vardır. Lezyonun tabanında ise nekrotik debris ve nötrofil akümülasyonu gözlenir.

Uzun süren kronik enflamasyonda pulpada yeni kılcal damarlar, fibroblastlar ve kollagen fibriller oluşmuştur. Ortamda birçok makrofaj, lenfosit ve plazma hücresi vardır. Enflamasyon uzun süre devam ederse diferansiye olmamış mezenşimal hücreler veya fibroblastların ürettiği dentin matriksi nedeniyle kök kanalları daralmıştır (124).

Pulpa Nekrozu:

Pulpa nekrozu, pulpanın akut ya da kronik iltihabı veya travma nedeniyle dolaşımın aniden kesilmesi sonucu oluşur. Pulpa dejenerasyonlarının ileri aşamasında da pulpa nekrozu gelişebilir. Nekroz pulpa dokusunda yayılma miktarına göre parsiyel veya total olabilir. Pulpada iki tip nekroz görülebilir:

Likefaksiyon nekrozu klinikte giriş kavitesinden pü akışı ile belirlenir. İyi kanlanma vardır. Bu nekroz tipi iltihabi süreç ile ilişkilidir.

Koagülasyon nekrozu iskemik nekroz olarak da bilinir. Bölgede kan akışı kesilmiş veya azalmıştır. Doku yumuşak bir kitle görünümünde, genellikle peynir kıvamında, protein, yağlar ve su karışımı bir yapıdadır. Nekroz ürünleri periapikal dokular için toksiktir ve mikroorganizmalar olmaksızın iltihabi cevabı başlatabilir ve sonuçta abse oluşturabilirler (6).

Proteinlerin anaerobik dekompozisyonu putrefikasyon olarak adlandırılır. Enfekte canlı pulpanın iltihabi olaylar sonucu ölmesi veya önceden başka bir nedenle canlılığını kaybetmiş pulpanın sonradan enfekte olması ile ortaya çıkan tabloya *pulpal gangren* denir. Histolojik olarak yıkılmış bir doku ve akümüle olmuş mikroorganizma kitleleri görünümündedir (6, 20).

Pulpa Neoplazileri

Diş pulpasında tümör metastazları ender olarak görülür. Civar kemikte bazı tümörler büyüme sırasında foramen apikale yolu ile pulpaya ilerleyebilir. Diş pulpasında epitelyomlar, Burkitt lenfomaları ve sarkomalar görülmüştür (6, 20).

1.2.2. Pulpada İmmün Mekanizma

Çürük henüz başlangıç aşamasında iken, bakteriler pulpaya ulaşmadan pulpada enflamatuvar yanıt başlar. Çürüğün gelişimi sırasında mikroorganizmalardan serbestlenen ürünler çeşitli mekanizmalarla pulpal cevabı indükler (15).

Pulpadaki immün mekanizma kısaca iki ana başlık altında toplanacak olursa;

1. Hücreler
2. Pulpal enflamasyonda sitokinlerin rolü

1.2.2.1.Hücreler

Odontoblastlar

Odontoblastlar pulpanın periferinde lokalize olduğu için enfeksiyonun yan ürünlerini ve demineralizasyonda ortaya çıkan dentin matriks içeriğini ilk algılayan hücrelerdir. Odontoblastlar bariyer oluşturarak alttaki dokuyu invaze olan bakteriden koruduğu gibi immünkomponent de özelliği vardır ve enflamatuvar cevapta yönetici rol oynar. Çürük enfeksiyonunun derinleşmesi ile bakteriyel biyofilmin kompozisyonu değişir ve konak hücrelerinde yıkıcı etki oluşur. Bakteri ve pulpanın çekirdeğindeki hücreler arasındaki moleküler etkileşim enflamasyon olaylarının alevlenmesine neden olur (22).

Odontoblastlar, dentin tübüllerine uzanan hücresel uzantıları ile çürük bakteriyel antijenleri ile ilk karşılaşan yapıdır. Düşük seviyede *IL-8*, gene bağlı kemokinler (*CCL2*, *CCL6*, *CXCL4*, *CXCL14*) ve kemokin reseptörleri (*CXCR2*, *CCRL1*, *CCRL2*) salgırlar. Bu kemokinler olgun olmayan DHler için aktraktandır. Normal pulpadan elde edilen odontoblast kültüründe hücre yapılarında çeşitli bakteri ürünlerini tanımaya yönelik Toll-like reseptörler (TLR) (TLR1'den 6'ya ve TLR9) taşıdıkları görülmüştür. Odontoblastlar Lipoteikoik asit (LTA) ile karşılaştığı zaman TLR2, TLR3, TLR5 ve TLR9 sekresyonu yaptığı gözlenmiştir (35).

Durand ve arkın *vitro* koşullarda LTA ile muamele edilmiş odontoblastların CCL2 ve CXCL10 kemokin ürettiği ve olgun olmayan DH'lerin migrasyonuna neden olduğunu göstermiştir. Büyük ihtimalle bakteriyel invazyon odontoblastlarda bazı değişikliklere yol açarak pulpadaki

yerleşik dendritik hücreleri (CD11c+F4/80⁺) çeken sitokin ve kemokinlerin salgılanmasına neden olmaktadır (31).

Vasküler endotelial growth factor (VEGF) vasküler permabilite ve anjiogenezin güçlü bir indükleyicisidir ve odontoblast benzeri hücreler ve pulpal hücreler LTA ile mücadele ederken indüklenir. Bu bulgular odontoblastların çürüğe karşı pulpanın doğal immün sisteminde önemli rolü olduğunu destekler(120).

Dommisch ve ark sağlıklı pulpada odontoblastların belirgin olarak epitelial hücrelere benzer şekilde güçlü beta-defensin-1 (BD-1), zayıf beta-defensin-2 sunduğunu rapor etmişlerdir. Defensinler antimikrobiyal aktiviteye sahip bir grup küçük molekül ağırlıklı (3-5kDa) katyonik peptidlerdir. Bu peptidler mikroorganizmaların membranlarında kanallar ve mikroporlar oluşturarak fonksiyon gösterirler. BD-2 odontoblast differansiyasyonu stimüle eder, *S.mutans* ve *L.casei*'e karşı bakterisidal, NK, CD4⁺ hafıza T hücreleri ve olgun olmayan DH hücreleri için kemoatraktandır. Oral epitelyum hücrelerinde bakteri ile karşılaşması sonucunda BD-2 upregulasyonu indüklenir. Odontoblastlardan BD-2 salgılanması, odontoblastların spesifik olmayan, doğal ve hızlı defansta önemli rol oynadığını göstermektedir (28).

Sağlıklı pulpada odontoblastlardan salınan *TGF-β*'nin irreversibl pulpitiste ekspresyonu artar. *TGF-β* matrix metaloproteinaz sekresyonunu ve dentin mineralizasyonunu arttırdığı için dentinogenesis ve tamirde çok önemli bir faktördür. *TGF-β* enflamasyonun başlangıç aşamasında proenflamatuardır ve DH'ler gibi immün hücreleri enflamasyon bölgesine toplar. Enflamasyonun ilerleyen safhalarında lenfosit proliferasyonunu, TLR

sinyalizasyonunu ve DH ve makrofajları baskılayarak antienflamatuar etki gösterir(48).

Dentin sıvısının pozitif pulpal basınç nedeniyle dışarı akışının artması pulpanın çürüğe verdiği ve zararlı stimulanların dentin tübüllerine girmesini yavaşlatan ilk koruyucu cevabıdır.

Dentin sıvısı içeriği tam olarak bilinmemektedir, fakat serum proteinleri ve Ig'leri içeren serum benzeri bir doku sıvısı olduğu düşünülmektedir. Çürüğe komşu ve enfekte olmayan dentindeki Ig depozisyonun değişken bir yoğunluğu ve lokalizasyonu olduğu ve enflamasyon sırasında vasküler permabilite ile değiştiği görülmektedir. Sağlıklı pulpanın doku sıvısında ve predentine yakın dentin tübüllerinde IgG lokalize olurken, sıg çürük varlığına rağmen enfekte olmamış dentin tübüllerinde IgG1, IgA1 ve IgM bulunur, IgA2 saptanamaz. Buna karşın derin çürüklü olup dentin tübüllerinin enfekte olmaması, dentin sıvısı içinde IgG1, IgA1, IgA2 ve IgM'nin yüksek oranda bulunması ile açıklanabilir. Bu Ig'ler damar sisteminden doku sıvılarına geçmiş ve doku sıvısından dentin kanalları yoluyla dentin sıvısına katılarak bakterilerle antijen-antikor reaksiyonuna girip enfeksiyon ile mücadeleye katılmış olabilir(48).

Dendritik Hücreler

Sınıf II MHC molekülü sunan yüksek dendritik hücrelerin hem insan hem rat pulpa dokusunda varlığı iyi bilinmektedir (64, 66,80, 95, 132). Bu hücreler özellikle pulpanın periferinde, yani odontoblast tabakasının hemen altında yoğunlaşır. Bazen uzantıları dentin tübüllerine kadar uzanır. Pulpa dokusunun iç kısımlarında ise damarlar boyunca dizilirler (64, 66, 67, 93,94, 132). İnsan pulpasında sınıf II MHC molekülü sunan (HLA-DR+) hücreler tüm pulpayı kaplayan retiküler bir ağ oluşturur. Bu hücreler yüksek dendritik morfolojidedir. Üç boyutlu rotasyon ile incelendiğinde, sınıf II molekül sunan hücrelerin endotelial hücreler ile temasta olduğu ve dendritlerin damar çevresinde sarmalandığı görülmektedir(*Şekil 3*).

Bu hücrelerin çoğunluğu dermisin antijen sunan hücreleri için belirleyici olan koagülasyon faktörü XIIIa ve makrofaj belirleyicilerini (CD14 ve CD68) de sunar, fakat Langerhans hücrelerinin fenotipinde sunulan CD1a negatiftir (67, 93).

Pulpanın sınıf II MHC molekülü sunan hücreleri çoğunlukla makrofajlar ve “gerçek” dendritik hücrelerden oluşur, fakat ışık mikroskopunda bu iki hücreyi kesin olarak birbirinden ayırmak güçtür. Gerçek dendritik hücreler transmisyon elektron mikroskobu ile ultrastrüktürel olarak da tanımlanmıştır. Bu hücreler baskın olarak koronal pulpada odontoblast tabakasının hemen altında lokalize olur. Yapılan çalışmalarda insan pulpasında makrofaj belirleyicisi sunmayan ve sınıf II MHC molekülü sunan hücre sayısı HLA-DR+ hücrelerin yaklaşık %13’ünü oluşturur (93).



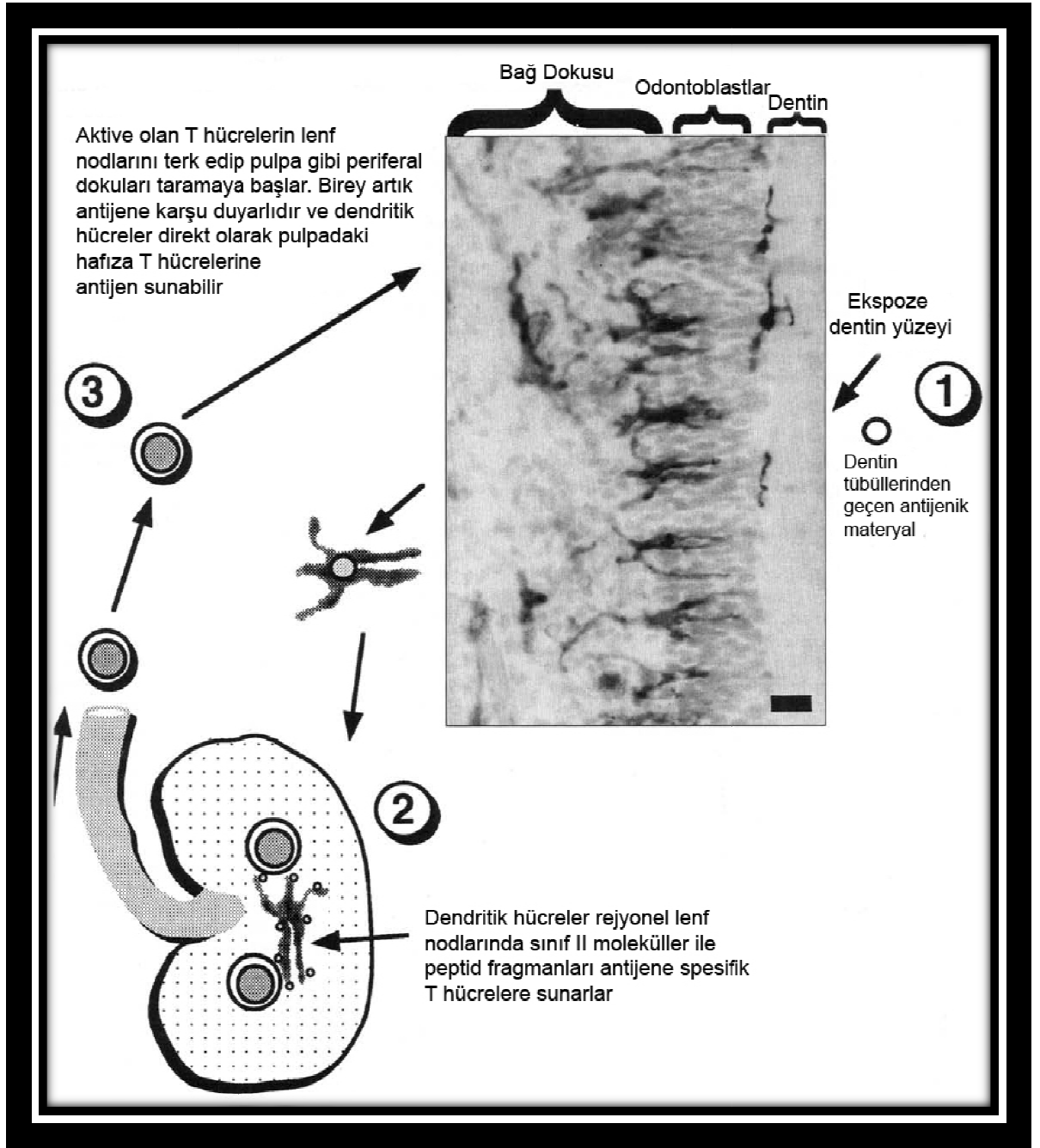
Şekil 3: Sınıf II molekül sunan dendritik hücrelerin insan pulpasının merkezi bölümünde kan damarının etrafında dizilişleri(67)

Derideki dendritik hücreler (Langerhans hücreleri) dokudaki immün dengenin sağlanması için görev yapar. Dental pulpa diğer bağ dokularından farklı olarak hücresel bir ektoderm tabakası ile çevrili değildir ve immün dengenin devamı sınıf II MHC sunan hücreler ile sağlanır. Yapılan çalışmaların bulguları dendritik hücrelerin pulpanın periferinde lokalize olması ve sınıf II MHC antijeni sunması, bu hücrelerin pulpa-dentin kompleksinde antijeni ilk olarak tanıma görevini üstlendiğinin güçlü bir kanıtıdır (51, 64, 66, 80). Diğer dokulardaki profesyonel DH'ler gibi pulpal DH'ler de birincil immün cevabın başlamasında anahtar rol oynarlar. Antijeni yakalar, işler ve olgunlaştıkları ve naif CD4+ T lenfositlere antijen sundukları bölgesel lenf nodlarına göç ederler (67) (Şekil 4). Ayrıca rat pulpasında yapılan

Çalışmalarda da sınıf II molekül sunan pulpal DH'lerin T lenfositlerin proliferasyonuna yardımcı olan profesyonel ASH olduğu gösterilmiştir (65).

Rat pulpasında yapılan çalışmada paraodontoblastik pulpal DH'lerin sinir lifleri ile yakın komşulukta olduğu ve SP ve CGRP gibi nropeptitlere reaksiyon gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgular ışığında pulpal DH'ler ile sinirlerin parakrin ve nrokrin etkileşim içinde olması yüksek ihtimaldir (94).

zet olarak, pulpada küçük fakat belirgin bir sınıf II MHC molekülü sunan hücrelerin alt grubu vardır. Primer fonksiyonları antijen girişini moniterize etmektir. İnvaze olan antijenleri sindirdikten sonra iki şekilde davranırlar; hem bölgesel lenf nodlarına gerek naif T lenfositlere antijen sunar ve primer immün cevabın başlamasını sağlar, hem de antijen tekrar pulpaya girdiğinde lokal olarak gezgin hafıza T lenfositlere antijen sunar (sekonder immün cevap). Sınıf II MHC molekülü sunan makrofajlar sadece hafıza T lenfositleri ile etkileşime girerek sekonder immün cevabın başlamasını sağlar. En belirgin özellikleri, dış etkenleri tespit edebilecekleri bölgelere konumlanmalarıdır (50).



Şekil 4: Pulpal dendritik hücreler ve T lenfositlerin primer immün cevaptaki etkileşimleri. Dendritik hücreler immünohistokimyasal boyalar ve anti-HLA-DR antikorları ile boyanmıştır. Bar=20µm (67)

Mast Hücreleri

Mast hücreleri enflame pulpada fazla sayıda bulunur, buna karşın normal pulpada çok az sayıdadır (48, 49). Mast hücrelerinde proenflamatuar sitokinler (*TNF- α* ve *IL-1*) bulunur ve potent immünoregulator medyatörler salgılar. Mast hücrelerinden salınan *IL-4* DH'lerin olgunlaşmasını kolaylaştırır ve akut enflamasyondan kroniğe geçişi sağlar (49). Nörojenik enflamasyondaki akut faz sonrasında mast hücrelerinden salınan histamin ve 5-hidroksitriptamin vazodilatasyon ve protein eksudasyonunda görev alır. Bu hücrelerin granülleri kuvvetli bir enflamatuar medyatör olan histamin ve heparin içerir. Bu hücreler granüllerini enflamasyon sırasında çevre doku sıvısına salgılar. Mast hücreleri genellikle kan damarlarının çevresinde yerleştiği için damar düz kaslarının yakınında histamin salgılanması vazodilatasyona yol açar. Bu durum damar geçirgenliğini artırır, lökositlerin ve sıvıların kaçışına olanak verir (61). Enflame pulpada mast hücrelerinin sayısı yüksek olmakla beraber IgE titresi düşük olduğu için, IgE ve mast hücreleri ile yönetilen klasik tip 1 hipersensitivite reaksiyonunun pulpa patogenezinde önemli olmadığı düşünülmektedir (61).

Lenfositler

T lenfositler

İmmünohistokimyasal çalışmaların artması ile Jontell ve ark 1987 yılında normal pulpada ilk kez CD4+ ve CD8+ hücreleri tespit etmişlerdir (66). Artık T lenfositler normal pulpanın yerleşik elemanları olarak nitelendirilmektedir (9, 50, 62, 64, 66, 79, 81, 104). Rat pulpasında yapılan çalışmalarda da CD4+ ve CD8+ T hücrelerin normal rat pulpasında

bulunduğu gösterilmiştir (64). Normal pulpa dokusunun flow sitometrik analiz ile lenfositik popölasyonu incelendiğinde pulpal hücrelerin %1-2'sinin T lenfositler olduğu görölmüştür (79). T lenfositler pulpal hücrelerin küçöğ bir kısmını oluşturmakla beraber, bakteri ve bakteri antijenlerine karşı defansta önemli rol oynar ve pulpanın iç kısımlarında kan damarları boyunca yayılırlar (50, 81, 104). Çürök, atrisyon, süt dişlerindeki fizyolojik köğ rezorpsiyonu gibi etkenler ile pulpada T lenfosit sayısının arttığı gösterilmiştir (9, 47, 62, 81, 118). Daimi diş pulpasında baskın T hücre tipi CD8+ T hücresi olduğu bildirilirken (47, 66, 81), süt dişi çalışmasında Angelova ve ark CD4+ T hücrelerin sayısını CD8+ hücrelerine göre fazla olduğunu bildirmiştir (9). CD8+ T hücrelerinin normal pulpadaki fonksiyonu tam olarak bilinmez. Bu hücrenin bilinen fonksiyonu virüs ile enfekte olmuş veya değişikliğe uğramış konak hücrelerini apoptosis veya perforin üretimiyle öldürmek ve fagositozu desteklemek için *IFN-γ* üretmektir (47). Normal pulpada CD45Ro proteini sunan hafıza T hücreleri sıklıkla tespit edilir ve bu hücrelerin enflamasyon ile beraber arttığı görölür (62, 81). CD4/CD8 oranı Jontell ve Hahn'ın monoklonal antikor kullanarak ışık mikroskopunda yaptığı çalışmalarda 1:2 ve 0,26 olarak bulunmuştur (47, 66). Mangkornkarn ve ark flow sitometrik analiz ile yaptıkları çalışmada ise CD4+ hücreleri CD8+ hücrelerden fazla ve bu oran 1,2:1 olarak bulmuştur (79).

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda normal süt dişi pulpasında daimi dişe göre daha fazla sayıda lökosit olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacıların görüşün göre, süt dişi pulpasında daha fazla sayıda yerleşik lökosit olması nedeniyle enflamatuvar hücreler daha hızlı yanıt veriyor olabilir (104).

B lenfositler

T lenfositlerin aksine B lenfositler normal pulpada çok az tespit edilebilmiştir. Monoklonal antikor çalışmaları ile bazı araştırmacılar normal pulpada B lenfosit olmadığını bildirirken (9, 57, 66, 79), Hahn ve Izumi'nin çalışmalarında az sayıda B lenfosit olduğu bildirilmiştir (47, 62). Bu çalışmalarda normal pulpa örneklerindeki B lenfosit sayısı çok düşük olduğu ve çürüğün derinliği arttıkça pulpada B hücre ve plazma hücresi sayısında artış olduğu gözlenmiştir. Çürüğün pulpaya uzaklığı 0,5-1,5 mm'ye ulaştığında bu hücrelerin sayıları istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmaktadır (62). Benzer durum süt dişlerinde fizyolojik rezorpsiyon başladığında da görülür (9, 118).

T hücreler pulpanın başlangıç immün cevabında rol alır. Çürükten gelen antijenler T hücrelerin proliferasyonuna ve vazodilatasyona yol açan lenfokinler salgılanmalarına neden olurlar. Sirkülasyondaki B hücrelerin pulpaya girip buradaki T hücreler ile etkileşmesi muhtemeldir. Bunlar daha sonra proliferer olur ve pulpal enflamasyonun ileri aşamalarında antijenlere karşı lokal olarak antikor üreten plazma hücrelerine diferansiye olabilirler. Pulpada T hücrelerin bulunması ve B hücrelerin olmaması dental pulpanın immün devamlılığında hücresel immünitenin birincil rol oynadığını düşündürmektedir (50, 62, 79).

Makrofajlar

Sağlıklı dental pulpada kalıcı makrofajların (histiyosit) varlığı ışık mikroskobu ve elektron mikroskop çalışmalarında ortaya koyulmuştur. Bu hücreler normal pulpada az miktarda ve değişik morfolojilerde görülmektedir,

yuvarlak, oval, kısa iğ şeklinde veya dendritik olabilir (50,66, 80, 81, 104, 132). Dinlenme konumunda genellikle uzamış ve perivasküler alana dizilmiş şekilde görülür (67, 81). Sağlıklı süt dişinin araştırıldığı çalışmada Angelova ve ark CD68+ (insan monosit/makrofaj) hücrelerini çeşitli morfolojideki makrofaj benzeri hücreler olarak tanımlamışlardır. Dendritik görünümdeki makrofaj hücrelerin paraodontoblastik alanda odontoblastlar ile sıkı ilişki halinde olduğu, yuvarlak, oval ve düzensiz şeklindeki hücrelerin pulpanın santralinde kök rezorpsiyon sahasına yakın olduğu bildirilmiştir. Manolea ve ark.nın yaptığı çalışmada da anti-CD68 antikoru makrofaj belirleyicisi olarak kullanılmış ve pulpanın santral kesiminde perivasküler olarak lokalize olduğu tespit edilmiştir. İzumi ve ark.nın daimi dişlerde yaptığı çalışmasında sağlıklı ve mine çürüğü olan diş grubunda makrofaj tespit edilmemiştir. Bununla beraber çürük seviyesi artıkça makrofaj sayısı artmaktadır(62).

Sınıf II MHC molekülü sunan pulpal makrofajların T lenfositleri aktive etme kapasitesi gerçek dendritik hücrelerden daha düşüktür ve bölgesel lenf nodlarına gidip naif T lenfositlere antijen sunamazlar. Buna karşın bu hücreler lokal olarak dolaşan CD4+ hafıza T lenfositler ile etkileşebilir. Bu etkileşim ile T lenfositlerin ikincil aktivasyonu gerçekleşir ve birçok immün hücre aktive olur (67).

Makrofajlar, enflamasyon süreci boyunca aktive ve deaktive edilirler. CD4+ Th1 ve CD8+ T hücreleri makrofajları *IFN-γ* ve CD40L-CD40 etkileşimi ile aktive ederler. Aktive olan makrofajlar *TNF-α*, *IL-1*, *IL-12*, *IL-10*, kemokinler ve PAF, prostoglandinler ve lökotrienler gibi kısa ömürlü lipid medyatörler üreterek lokal enflamasyonu yönetirler. İzumi ve ark çürüğün her aşamasında makrofaj değerlerini DLH'lerden daha fazla olduğunu tespit

etmiştir (63). İrreversibl pulpitiste *TNF-α* ve *IL-1* titrelerinin belirgin şekilde arttığı ve çoğunlukla makrofaj ve pulpa dokusu stromasında lokalize olduğu rapor edilmiştir (49).

1.2.2.2. Pulpal Enflamasyonda Sitokinlerin Rolü

İmmün sistemin regülatörleri olan sitokinler pulpanın savunma mekanizmasında da belirleyici rol oynar. *IL-1α*, *IL-1β* ve *TNF-α* gibi proenflamatuvar sitokinlerin pulpanın enfeksiyona cevabında anahtar rol oynadığı bilinmektedir. Bu sitokinlerin üretimi bakteri varlığında doğrudan TLR bağlanması ile artabildiği gibi bakteriyel asitlerin demineralize ettiği dentin matriks komponentlerinin de makrofajlardan *IL-1β* ve *TNF-α* üretimini arttırdığı *in vivo* olarak gösterilmiştir. Özellikle nötrofil akümüasyonu ve aktivasyonu için önemli olan *IL-8*'in, *IL-1β* ve *TNF-α* varlığında veya bakteriyel LPS stimülasyonu ile indüklendiği ve hastalıklı pulpada upregüle edildiği gösterilmiştir (22).

Dental literatürde pulpal ve periapikal hastalıkların mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesi amacıyla, sitokinleri araştıran birçok çalışma vardır. Bu çalışmalarda; *IL-1*, *IL-2*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-10*, *IFN-γ* ve *TNF-α* gibi birçok sitokin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda incelendiği görülmektedir.

Silva ve ark düzenledikleri *in vitro* çalışmada pulpa fibroblastlarını *E.coli* LPS'si ile muamele ederek *IL-1β* ve *IL-8* salgılandığını göstermişlerdir. *IL-1β*'nin pulpal immün sistemdeki rolünün incelendiği 2002 yılında yayınlanan çalışmada pulpitisli dişlerde seviyenin sağlıklı dişlere göre yaklaşık 3 kat

daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Sağlıklı ve pulpitisli dişlerden elde edilen pulpal ve gingival fibroblastlar hũcre kũltũrũnde, ELISA yũntemi ile *IL-1β* seviyeleri ve *IL-1β*'nin kollagen sentezi ũzerine etkisi araştırılmıştır. Pulpitisli dişlerde dışarıdan *IL-1β* eklenmesine bağlı olmaksızın normalden %80 daha fazla kollagen ũretildięi, sağlıklı dokularda ise *IL-1β*'nin kollagen sentezini indũkledięi gũsterilmiřtir(110). Hosoya ve ark 1997 yılında yayınlanan hũcre kũltũrũ çalışmalarında *Porphyromonas endodontalis* LPS'nin insan pulpa fibroblastlarından *IL-1β* salınımını indũkledięini gũstermiřlerdir(58). Buna karşın, sağlıklı dişlerden elde edilen pulpa hũcrelerinin kullanıldığı bir başka kũltũr çalışmasında, çeşitli bakteriyel ũrũnler ile stimũle edilen pulpa fibroblast hũcrelerinden *IL-6* salgılanırken *IL-1β* ve *TNF-α* ũretimi olmamıştır. Araştırmacılar bu durumu *IL-1β* ve *TNF-α* salınımının mononũkleer hũcre grubundan yapılmasına bağlamışlardır. Bu alışmalar ile bakterilerin veya yan ũrũnlerinin pulpa hũcrelerini sitokin salınımını için indũkledięi ve fonksiyonlarını etkilediği anlaşılmaktadır (21).

IL-8 *in vitro* olarak endodontik patojenler, substans P, lipopolisakkarit ve *TNF* ile muamele edilen pulpal fibroblast ve insan pulpa kũk hũcrelerinden salgılanmıştır. Bununla beraber, immũnohistokimyasal çalışmalarda enflame pulpada *IL-8* endotelial hũcrede, odontoblastlarda, lenfositlerde ve makrofajlarda tespit edilmiş, fakat fibroblastlarda tespit edilmemiştir. Bu bulgular, *IL-8*'in pulpitisin başlangıç aşamasında çok ũnemli yer tutmadığını gũsteriyor. Pulpitiste *IL-8*'in fazla olması nũtrofiller için atraktif değildir. Yazarlar, kemoatraktanların endotelial hũcreler tarafından intravaskuler olarak salgılanması, nũtrofillerin transmigrasyonunu baskılayıcı etkisi olabileceğini belirtmişlerdir (49).

Odontoblastlar kararlı durumda iken de düşük düzeyde *IL-8* salgılar. *IL-8* anjiogenezisi ve keratinosit proliferasyonunu ve migrasyonunu stimüle ettiği için iyileşme sürecinde de önemlidir (48).

Çalışmalarda genellikle enflame durumdaki pulpa ile sağlıklı pulpa farkını ortaya koyan incelemeler yapılmış ve incelenen sitokinin enflame pulpada sağlıklıya göre daha yüksek çıktığı görülmüştür. Bu çalışmalarda *IL-1 β* , *IL-6*, *IL-8*, *IL-18*, *TNF- α* , *CXCL-10*, *PGE₂* gibi sitokinler enflame pulpada sağlıklı pulpaya göre daha yüksek bulunmuştur (2, 14, 59,71, 85, 98,110, 129, 133).

IL-1 diş dokularının hastalıklarında da konak cevabını belirleyen etkenlerden biridir. Çürükten etkilenmiş dişlerden elde edilen pulpalarda *IL-1* seviyesinin sağlıklı pulpalara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (29). Sağlıklı ve enflame daimi diş pulpalarının karşılaştırıldığı immünohistokimyasal ve ELISA çalışmalarda, *IL-1 β* 'nin enflame pulpada daha yüksek olduğu, aynı zamanda pulpitis teşhisi koyulmuş olan dişlerden elde edilen pulpal fibroblast kültüründe sağlıklılara göre yüksek seviyede *IL-1 β* üretildiği tespit edilmiştir (13, 110).

Horst ve ark çürüksüz ve çürüklü dişlerin odontoblast tabakası ve pulpasını ayrı ayrı inceledikleri RT-PCR çalışmasında, sağlıklı durumda *IL-8*'in odontoblastlardan, *TNF- α* 'nın pulpadan belli bir seviyede salgılandığını göstermişlerdir. Çürüklü dişlerin odontoblast tabakasında proenflamatuar sitokinlerden *IL-1 α* , *IL-1 β* ve *TNF- α* 'nın beraber bir enflamatuar sinyal oluşturduğunu ve *IL-1 β* 'nin odontoblastlarda antimikrobiyal peptid üretimini arttırdığını ortaya koymuşlardır (57).

IL-1 α , *IL-1 β* , *IL-18*, *IL-6* ve *IL-8*'in RT-PCR yöntemiyle incelendiği bir çalışmada tüm sitokinlerde enflame pulpadaki değerlerin daha yüksek olduğu görülmüştür. Bununla beraber *IL-1 α* ve *IL-1 β* 'daki artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Çalışmada *IL-1 α* ile *IL-1 β* arasında ve *IL-6* ve *IL-8* arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Yazarlar *IL-1* ile *IL-6* ve *IL-8* seviyelerinin aynı anda yükselmemesini *IL-1*'in *IL-6* ve *IL-8* salgılanmasını düzenlemesine bağlamıştır (133).

McLachlan ve ark.nın 2004 yılında yayınlanan sağlam ve çürüklü çekilmiş dişlerin incelendiği çalışmasında, *IL-1 β* , *IL-6*, *IL-8* ve *TNF- α* 'nın yanı sıra enflamatuvar hastalıklarla ilişkili olan S100 molekül ailesinin gen ekspresyonundaki artış RT-PCR ile incelenmiştir. Çalışmada çürük dişlerdeki tüm gen ekspresyonlarının sağlam dişlere göre arttığı gözlenmiştir. Çürük diş grubu çürük lezyonunun pulpaya mesafesine göre iki gruba ayrıldığında ise, pulpaya 2mm'den daha yakın olan derin çürüklü dişlerde *IL-1 β* , *IL-6*, *IL-8* ve *TNF- α* gen ekspresyonlarının arttığı saptanmıştır(85).

IL-6'nın hem enflame pulpada hem de periapikal lezyonda incelendiği çalışmada *IL-6*'nın her iki durumda da gömük dişlerden elde edilen sağlıklı pulpa dokusuna göre daha yüksek seviyede olduğu gösterilmiştir (14). Benzer bir çalışmada *IL-6* ve *TNF- α* 'nın beraber değerlendirilmiştir ve periapikal lezyonlarda her iki sitokinin seviyesinin sağlıklı periodontal dokulara göre yüksek olduğu gösterilmiştir (100). Bununla beraber *IL-6*'nın anti-enflamatuvar etki gösterdiğini belirten çalışmalar da vardır. *IL-6* eksikliği olan farelerde yapılan çalışmada, *IL-6*'nın periapikal kemik yıkımını azalttığı gösterilmiştir (12).

Çürük lezyonunun boyutu ile pulpadaki immün cevabın ilişkisini inceleyen Hahn ve ark.nın 2000 yılında yayınlanan çalışmalarında sığ ve derin çürüklü dişlerin pulpalarını inceleyerek baskın olan sitokini tespit etmeye çalışmışlardır. Sığ çürüklü diş pulpasında tip 1 sitokinlerden *IFN-γ*'nin daha baskın olduğunu, derin çürüklü dişlerde ise *IL-4* ve *IL-10*'un (tip 2 sitokinler) da seviyesinin arttığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada *S.mutans*'ın PBMC (Periferel kan mononükleer hücre) kültüründe *IFN-γ* üretimini indüklediği, *L.casei*'nin ise indüklemediği gösterilmiştir (46).

TNF-α'nın çürük immünolojisindeki rolü tam olarak açıklanamasa da Pezelj-Ribaric ve ark.nın daimi diş pulpalarında yaptığı ELISA çalışmasında irreversible pulpitis teşhisi koyulmuş olan dişlerde *TNF-α* seviyesinin anlamlı şekilde yüksek olduğu bulunmuştur (98). Kokkas ve ark. nın çalışmasının sonuçları da benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada aynı zamanda reversibl pulpitisli dişler de incelenmiş ve irreversible pulpitisli dişlerde *TNF-α* seviyesinin anlamlı şekilde sağlıklı ve reversibl pulpitisli dişlerden daha fazla olduğu saptanmıştır(71). Paula-Silva ve ark.nın *TNF-α*'nın pulpa ve periodontal ligament hücrelerine etkisini inceledikleri *in-vitro* çalışmalarında *TNF-α*'nın mineralizasyon ile ilişkili proteinlerin salgılanmasını indüklediği tespit edilmiş ve *TNF-α*'nın reparatif dentin cevabının başlamasını sağlayabileceği sonucuna varılmıştır (97).

TNF-α dental literatürde en sık periodontal kemik kaybı ile ilişkilendirilmiştir. *TNF-α* periodontal hastalıklarda görülen adezyon moleküllerinin ve diğer proenflamatuar sitokinlerin indüklenmesi, enflamatuar yanıtın artması, matriks metaloproteinaz ve kemik rezorpsiyonunun stimüle edilmesi olaylarında rol oynar. Generalize agresif periodontitis hastalarında

yapılan genetik mutasyon araştırması ve deneysel periodontitis çalışmaları *TNF* nin periodontal kemik kaybı ile ilişkisi gösterilmiştir (33, 45).

TNF- α 'nın periapikal kemik kayıplarında da rol oynadığını gösteren çalışmalar vardır. *IL-1- α* , *IL-1 β* , *TNF- α* , *TNF- β* , *IL-6* ve *IL-11* kemik rezorpsiyonu aktivitesinden sorumludur ve toplu olarak osteoklast aktive edici faktör olarak adlandırılır. Kemirgen modellerinde *IL-1 α* öncü interlökin olarak görülmektedir. Periapikal lezyonlarda da olmak üzere enflamasyon sahasında *IL-1* ve *TNF- α* enfeksiyona erken cevapta görülür ve hemen *IL-6* ve *IL-8* gibi “downstream” medyatörlerin salınmasını indükler. *IL-1* ve *TNF- α* büyük miktarda makrofajlardan ve keratinosit, fibroblast, osteoklastlar gibi birçok hücre tipinden üretilir. Kemik rezorpsiyonun yanı sıra *IL-1* ve *TNF- α* 'nın periapikal doku yıkımı ile uyumlu birçok ortak aktivitesi vardır. *PGE₂* ve matrix metaloproteinaz üretiminin indüklenmesi ve kemik formasyonunun inhibisyonu bu aktivitelerdendir (115).

TNF süper ailesinin üyeleri olan *RANKL* (Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand) ve *TNF- α* gibi proenflamatuar sitokinlerin pulpitis ve apikal periodontitis patogeneğinde yer aldığı belirlenmiştir. Menezes ve ark.nın periapikal lezyonlardan alınan örneklerle yapılan çalışmasında SOC (Suppressors of Cytokine Signaling) moleküllerinin koruyucu potansiyeli ve *TNF- α* , *RANKL* ve *IL-10* sitokinlerinin etkisi incelenmiştir. Tüm parametrelerde mRNA ekspresyonunun hastalıklı dokularda sağlıklılara göre daha fazla ve yoğun olduğu görülmüştür. *TNF- α* ile *RANKL* arasında pozitif, *RANKL* ile *IL-10* arasında negatif korelasyon olduğu saptanmıştır. Çalışmada *TNF- α* ve *RANKL* seviyeleri SOC molekülleri ile ve SOC molekülleri lezyon boyutu ile negatif korelasyon göstermiştir (86).

TNF- α 'nın zayıflamış olan süt dişi periodontal ligament hücrelerinden salgılanarak *RANK/RANKL* reseptör ligand sisteminin devreye girmesini sağladığı çalışmalarda gösterilmiştir(52). *TNF* süper ailesi  yesi olan *RANKL*, fizyolojik kök rezorpsiyonu olan süt dişlerinin periodontal ligament (PDL) ve pulpa hücrelerinden de izole edilmiştir. Rezorbe olmamış süt dişi PDL hücrelerine veya kalıcı diş pulpa ve PDL hücrelerine göre anlamlı şekilde yüksek değerde olduğu saptanmıştır (41, 131)

1.3. Süt Dişlerinde Pulpa Tedavileri

Süt dişi ve genç daimi dişler için pulpa tedavisinin birincil amacı diş ve destek dokuların bütünlüğünün ve sağlığının korunmasıdır. Çürük, travma veya diğer nedenlerle etkilenmiş olan pulpanın canlılığının korunması tedavinin hedefidir (7). Bu hedefteki en önemli noktalardan biri, süt dişi pulpa dokusunun tamiri ve iyileşmesini sağlayarak dişin normal sürme zamanına kadar fonksiyonel bir şekilde ağızda kalmasıdır (15). Çene gelişiminde dental ark boyunu en sık etkileyen çevresel faktörler süt dişinin çürüğü ve erken kaybıdır. Özellikle 2. süt molar dişlerin tedavi edilmemesine bağlı olarak erken kaybı dental ark boyunun önemli ölçüde ksalmasına yol açar (84).

Çocuklarda uygulanan endodontik tedavilerin amacı;

- Süt dişinin erken kaybını önleyerek çiğneme fonksiyonunun sağlanması,
- Süt dişlerinin eksfoliasyona kadar tutularak daimi dentisyonda çapraşıklığın önlenmesi, özellikle daimi 1. moların okluzyona gelmesinin sağlanması,
- Çiğneme kaslarının fonksiyonunun korunması ve kötü dil alışkanlıklarının önlenmesi,
- Estetik ve psikolojik nedenler olarak sayılabilir(6, 15).

Endodontik tedaviler ikiye ayrılır:

- Pulpanın enfekte olmayan kısmının korunduğu konservatif tedaviler: İndirekt pulpa örtülmesi, direkt pulpa örtülmesi ve pulpa amputasyonu
- Pulpanın tamamının çıkarıldığı radikal tedavi: Kanal tedavisi (99)

İndirekt pulpa örtülmesi Pulpal dejenerasyonun herhangi bir belirtisini göstermeyen semptomsuz, fakat derin çürük lezyonlu dişlerde önerilir. Tedavide çürüğe karşı doğal savunma mekanizmalarının harekete geçmesinin sağlanması hedeflenir. Çürük dentinin altında renk değiştirmiş ve enfekte olmadığı düşünülen dentin bırakılarak kalsiyum hidroksit veya çinko oksit öjenol ile örtülür. Bu tedavide amaç dentin sklerozunun ve tersiyer dentin yapımının indüklenmesi ile pulpanın vitalitesinin korunmasıdır. Kavitenin mikrosızıntıya neden olmayan bir restorasyon ile kapatılması tedavinin başarısı yönünden önemlidir (6, 19, 99).

Direkt pulpa örtülmesi Sadece vital ve enflame olmayan dişlerde, çürüğün temizlenmesi sırasında pulpanın travmatik veya iatrojenik olarak açıldığı durumlarda önerilir (19, 99). Bu tedavide perforasyonun büyüklüğü, lokalizasyonu, kanamanın durumu ve bakteriyel kontaminasyon önem kazanır (6). Tedavide perforasyon bölgesinin kalsiyum hidroksit ve sızdırmaz bir restorasyon ile örtülünerek pulpanın dentin formasyonu stimüle edilmeye çalışılır. Pulpanın örtülmesi için kalsiyum hidroksite alternatif olarak dentin bağlayıcı ajanlar, rezin kompozitler, portland sement ve MTA gibi farklı materyaller denenmiştir. Direkt pulpa örtülmesi süt dişlerinde pulpanın çürükle perfore olduğu durumlarda tavsiye edilmemesine rağmen yüksek

başarı gösteren çalışmalar da mevcuttur (18, 99,125). Modena ve ark.nın direkt pulpa örtülmesi materyallerinin sitotoksiteleri ile ilgili derlemelerinde kalsiyum hidroksit ve MTA örtüleme materyali olarak tavsiye etmişlerdir (87).

1.3.1.Pulpa Amputasyonu

Ekspoze olan pulpanın amputasyonu ve kalan pulpa dokusunun korunması fikri ilk kez 1866 yılında WH Atkinson tarafından savunulmuştur. Kavitenin dolgu yapılmadan önce kreozot ile sature edilmesinin kalan pulpa dokusunun vitalitesini korumasına yardımcı olacağını belirtmiştir. 1921 yılında C Davis, aseptik bir teknik kullanılarak pulpanın iritan olmayan bir materyal ile örtülenmesi gerektiğini bildirmiştir. BW Hermann 1930'da kalsiyum hidroksiti iyileşmeyi sağlayan bir materyal olarak tanıtmıştır (42).

Amputasyon, çürükle ekspozе süt ve genç daimi dişlerde uygulanan en sık tedavi yöntemidir. Amputasyon tanımı, parsiyel veya total olarak enflame olan ve enfekte olmasından şüphe edilen koronal pulpanın cerrahi olarak çıkarılması ve sağlıklı vital radiküler pulpanın kanallarda bırakılmasıdır. Bu prosedür radiküler pulpanın iyileşmesi ve vital kalması amacıyla yapılır (61).

Vital amputasyon tedavisinden beklenen süt dişinin fizyolojik düşme yaşına kadar semptomsuz olarak fonksiyon görmesidir (54). Amaç reversibl pulpa hasarının tedavi edilmesi ve şişlik, ağrı olmadan radiküler pulpanın korunması ve sonunda dişin ağızda tutularak normal ekfoliasyon dönemine kadar ark bütünlüğünün sağlanmasıdır (7, 19, 40, 127).

Pulpa amputasyonu tedavisi uygulanabilmesi için gerekli kriterler şunlardır:

1. Klinik olarak semptomsuz gelişmiş çok derin çürük lezyonu olabilir, ancak yaygın pulpa dejenerasyonu olmamalı
2. Diş restore edilebilmeli
3. Radyografik olarak internal ve eksternal patolojik kök rezorpsiyonu olmamalı
4. Kök kanallarının boyutlarını daraltan veya transvers köprü görünümünde olan kalsifiye kümeleşmeler görülmemeli
5. Hızlanmış ya da gecikmiş kök rezorpsiyonu olmamalı
6. Lamina dura, periodontal aralık, apeks ve alveoler kemik görüntüsü ile alttaki diş germinin konumu normal olmalı
7. Apse ya da fistül olmamalı
8. Kökler arası bölgede kemik kaybı olmamalı
9. Amputasyon bölgesinde oluşan kanama hafif kırmızı ve 3-4 dakika içinde kontrol edilebilir olmalıdır (6)

Radiküler pulpa için ideal örtüleme materyali; 1) bakterisidal olmalı 2) pulpa ve çevre dokulara zararsız olmalı 3) radiküler pulpanın iyileşmesini indüklemeli 4) fizyolojik kök rezorpsiyonunu bozmamalı. İdeal amputasyon ajanı konusunda henüz bir fikir birliğine varılamamıştır (15, 39).

Ranly, amputasyon prosedürünün tarihsel gelişimine rehber olan medikamentlerin çeşitleri ve kullanım gerekçelerine göre 3 gruba ayırmıştır(102). Devitalizasyon kullanılan ilk yaklaşımdır ve amaç radiküler pulpa dokusunun mumufiye edilmesidir. Mumufiye terimi kimyasal olarak

tedavi edilen pulpanın sağlam, steril, metabolik olarak baskılanmış ve otoliz yapma kapasitesi olmadığını ifade eder. Radiküler pulpa tamamen fikse olduğuunda teorik olarak enfeksiyon ve internal rezorpsiyonun önüne geçilmiş olur. Bu yaklaşımın orijinalinde Sweet tarafından 4 seansta formokrezol uygulanmaktayken zaman içerisinde önce 2 seansta daha sonra 5dk uygulama tanımlanmıştır. Bununla beraber orijinal uygulamadaki tamamen mumufiye etme avantajı kaybolmuştur. Kısa süreli tedavide pulpada ancak parsiyel bir devitalizasyon sağlanabilmektedir. Kısa süreli veya 1:5 dilüe formokrezol uygulamalarında çoğunlukla pulpa yarı devital, yarı vital ve kronik enflamasyonludur. Karbonizasyon ve ısı ile pulpayı denatüre eden elektrocerrahi uygulaması ve kalan pulpa dokusunda yüzeyel bir koagölasyon nekrozu oluşturan LASER uygulaması da Ranly tarafından devitalize edici yöntemler arasında tarif edilmiştir. Elektrocerrahi kimyasal bir yöntem olmaması ile formokrezolden biraz daha üstün olduğu düşünölmektedir ve formokrezol ile benzer başarı oranları tespit edilmiştir (10, 25). Fakat bu teknikte de patolojik kök rezorpsiyonu, periapikal/furkal lezyonlar, fibrozis ve diffüz nekroz görölmektedir (102) ve formokrezol uygulanan dişlerde pulpanın histolojik görünüümü elektrocerrahiye göre daha üstün bulunmuştur (96). Amputasyon tekniği olarak lazer kullanımı, kansız temiz bir görüş sağlaması, dokuları buharlaştırması ve koagüle etmesi ve küçük kan damarlarını tıkaması ile avantajlıdır. Aynı zamanda tedavi edilen pulpa yüzeyi sterilize olmaktadır (68). Lazer irradyasyonu ile yüzeyde koagölasyon nekrozu oluşur ve böylece alttaki dokuyu izole ederek kaide materyalinin etkilerinden korumuş olur (102).

Koruyucu yaklaşımda kanal ağzındaki dokunun minimum zarar görmesi, vitalitesini devam ettirmesi ve histolojik olarak tüm radiküler pulpada normal görünüm olması amaçlanır. Rarly bu gruba gluteraldehit, ferrik sülfat ve çinko oksit ojenol uygulamalarını dahil etmiştir. Gluteraldehit amputasyonu yapılan pulpanın histolojik görüntüsünde yüzeyel fiksasyon zonunun altında hafif düzeyde enflamasyon görülmektedir. Gluteraldehit mükemmel antibakteriyel özelliği ve krezol barındırmaması nedeniyle potansiyel bir amputasyon örtüleme materyalidir. Gluteraldehit şu özellikleri nedeni formaldehite alternatif olarak sunulmuştur: Formaldehitin proteinler ile reaksiyonu stabil değildir ve geri dönüşebilir, gluteraldehitinkiler geri dönüşümlü değildir. Formaldehit apikal foramenden penetre olabilen küçük boyutlu bir moleküldür. Glutaraldehitin moleküler boyutu daha büyüktür, diffüzyon periodontal dokularda irritasyonu önleyecek şekilde sert dokular ile sınırlıdır. Formaldehitin dokuyu fikse edebilmesi için fazla miktarda solüsyonun uzun süre uygulanması gerekir, bu durum periapekte istenmeyen etkilere yol açabilir. Glutaraldehitte ise fiksasyon hemen gerçekleşir. Glutaraldehit pulpal dokuda daha az nekroz ve pulpa kanallarında daha az distrofik kalsifikasyon yapar (6, 61,84, 102).

Nonaldehit bir kimyasal olan ferrik sülfat hemostatik özelliği ile pıhtı oluşumunu engeller, böylece enflamasyon ve internal rezorpsiyon ihtimalini azaltır. Ferrik sülfat ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) ilk olarak kalsiyum hidroksit amputasyonunu geliştirmek için hemostatik ajan olarak kullanılmıştır. Burada amaç kalsiyum hidroksit amputasyonunun başarı oranını düşürdüğü düşünülen kalın pıhtı oluşumunu engellemektir (101, 108). Bu materyal doku ile temas ettiğinde amputasyon bölgesindeki kapillerleri mekanik olarak tıkayan ferrik iyon-

protein kompleksi oluşturur. Böylece altındaki pulpa dokusu iyileşme olanağı bulur (61). Dişhekimliğinde çok kullanılan bir malzeme olan çinko oksit öjenol vital amputasyonda örtüleme materyali olarak da kullanılmıştır. Yöntem kullanılış amacı olarak koruyucu uygulamalarda sayılabilir.

Rejenerasyon yaklaşımı hücre indüklemeye kapasitesi olan, kaybolan hücrelerin replasmanını veya sert doku üreten hücrelere diferansiye olmayı sağlayan ajanları içerir. Radiküler pulpa tamamen sağlıklı, vital ve odontoblast tabakası ile sınırlı dentin ile çevrelenmiştir. Kalsiyum hidroksit bu yaklaşımda sert doku bariyeri oluşturma kapasitesi nedeniyle kullanılan ilk materyaldir. Kalsiyum hidroksit amputasyonu dentin bariyerinin altındaki pulpanın iyileşmesine dayanır. Son zamanlarda kalsiyum hidroksitin doku cevabının indükleyiciden çok reaktif olması nedeniyle rejenerasyon kapasitesi sorgulanmaktadır. Gerçek doku indükleyici ajanlara örnek BMP formundaki *TGF-β* (transforming growth factor-beta), dondurulmuş-kurutulmuş kemik ve MTA'dır. Bu materyaller rejenerasyon kategorisine daha uygundur ve vital pulpa tedavilerinin geleceğini şekillendirecektir (61).

Srinivasan ve ark 2006 yılında yaptıkları literatür taramasında ise amputasyon tedavilerinde kullanılan örtüleme materyallerini kullanılış amaçlarına göre şöyle sınıflandırmıştır (114):

- Devitalizasyon: Formokrezol, glutaraldehit, elektrocerrahi
- Koruyucu: Ferrik sülfat, kalsiyum hidroksit, mineral trioksit agregat, LASER
- Remineralizasyon: Bone morfogenezik protein, kollagenler

Srinivasan sınıflamayı bu şekilde yaparken glutaraldehitin hem devitalizasyon hem koruyucu, kalsiyum hidroksitin de hem koruyucu hem reminalizasyon sağlayıcı yöntemlerden sayılabileceğini belirtmiştir.

1.3.2.Çalışmada Kullanılan Pulpa Amputasyonu Örtüleme Materyalleri

1.3.2.1.Formokrezol

Formokrezol 1904 yılında Buckley tarafından tanıtılmıştır. Eşit miktardaki formalin ve trikrezolün, pulpa enflamasyonunun ara ve son ürünleri ile kimyasal reaksiyona girdiğini ve “yeni, renksiz ve zarar görmemiş enfekte olmayan bir forma dönüştürdüğünü iddia etmiştir (61). Formokrezolün orijinal bileşimi (Buckley’in formokrezolü) %19 formaldehit, %35 krezol ve %7 gliserinden oluşur. Etken madde formaldehittir. Günümüzde Buckley formülü 1’e 5 oranında dilüe edilerek kullanılmaktadır (15). Bugün kullanılan formokrezol amputasyonu tekniği 1930’da Sweet tarafından kullanılan orijinal metodun modifikasyonudur(117). Sweet 1955’te 16651 vakada %97 başarı elde ettiğini iddia etmiştir (61).

Uzun yıllardır süt dişleri için standart amputasyon materyali olarak kullanılmaktadır. FK muhtemelen etkilenmiş ve enfekte radiküler pulpayı fikse ederek akut enflamasyonu kronik enflamasyon haline getirmektedir. FK amputasyonu ile bu şekilde dişin eksfoliasyon zamanına kadar stabil kalması sağlanmaktadır (101).

Örtüleme materyali olarak FK kullanıldığı zaman en sık görülen histolojik bulgular, pulpa dokusunun üst kısımlarında devitalizasyon, orta kısımda internal kök rezorpsiyonu ve apozisyonu ile beraber enflamatuar değişiklikler, en apikal kısımda ise normal pulpa görünümüdür. Bu nedenle FK kullanımından sonra histolojik olarak iyileşme ve tamir veya örtülemenin altında sert doku oluşumu görülmez. Bu durum dişi bakteriyel kontaminasyona karşı daha duyarlı hale getirir ve üst restorasyonun bakteri sızıntısını önleyecek nitelikte olması daha da önem kazanır (15).

Formaldehitin konsantrasyonuna ve uygulama süresine göre kök pulpasının bir kısmı devitalize olur. Tam konsantrasyondaki formokrezolün uzun süre uygulanmasından sonra bile pulpanın tamamının devitalize olmadığı gösterilmiştir (15).

Formokrezolün içindeki devitalize edici etken formaldehittir. Formaldehitin sıvı formu histolojik çalışmalarda doku fiksasyonu için kullanılır. *In vivo* kullanımında da aynı süreç işler. Bu tür bir örtüleme materyali kullanımının mantığı medikamentin uygulandığı bölgede uzun süre stabil kalacak kimyasal bir değişiklik sağlamaktır. Daha derindeki tedavi edilmeyen pulpa vital ve non-enflame halde bırakılır. Çalışmalar formaldehit penetrasyonunun zamana ve doza bağlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca klinik-histolojik çalışmalarda bırakılan pulpada kronik enflamasyon hatta nekroz olduğu görülmüştür (70).

Formokrezol alttaki pulpayı fikse ettiği için tedavi sonuçları pulpanın durumu veya iyileşmesi ile ilişkili değildir. Birçok çalışmada belirtilen kronik enflamasyon veya nekroz durumu zamanla klinik veya radyografik

komplikasyonlara yol açabilir. Tedavi sonrasındaki 2-3 yıl içinde komplikasyon görülmesi çok nadirdir. Az sayıda çalışmada alttaki daimi diş germine negatif etkisi olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak formokrezol pulpada iyileşme sağlamaz, patolojik değişimlere yol açar. Klinik olarak çok nadir komplikasyon gelişir, fakat sistemik etkileri nedeniyle kullanımı mümkün olduğunca sınırlandırılmalıdır (70).

Örtüleme materyali olarak FK kullanılan birçok çalışmada klinik başarı KH kullanılanlara göre daha yüksektir. FK konsantrasyonu 1:5 olan çalışmalarda da başarı KH'e göre daha yüksek çıkmıştır. Fuks ve Bimstein çalışmalarında 2 yıllık gözlem sonunda %94'lük başarı sağladıkları dilüe formülün kullanımını Buckley formülünün yerine önermektedirler (15).

Yüksek başarının sebebi muhtemelen devitalize olan dokunun tekrar enfekte olmadığı sürece asemptomatik kalmasıdır. Ayrıca FK, KH'e göre çok daha geniş bir alanı devitalize ettiği için preoperatif dönemde pulpanın enflamasyon düzeyinin doğru belirlenmesi KH'e göre daha az önemlidir. Klinik belirtileri total pulpiti gösteren molar dişlerde Buckley formokrezolü 1,5 yıl sonra %82, 3 yıl sonra %50 başarı göstermektedir (15).

Loos ve Han, Loos, Straffon, Han ve Straffon ve Han çalışmalarında Buckley formokrezolü yerine 1:5 dilüe formülün kullanılmasının beklenen hücresel cevabı oluşturduğunu, hatta hücrelerde daha hızlı bir iyileşme gerçekleştiğini göstermişlerdir. Araştırmacılar postoperatif problemleri daha az olan, daha güvenli ve eşit derecede iyi sonuç veren 1/5 dilüasyonu önermektedir. Orijinal Buckley formülü formaldehit ve krezolün eşit oranda

karıştırılmasından oluşuyordu. 1:5 dilüsyonu 3 kısım gliserin, 1 kısım distile su ve 1 kısım Buckley formokrezolünün karıştırılması ile elde edilir (84).

1:5 dilüe formokrezol emdirilmiş pamuk peletin 5dk kanal ağızlarında bekletilmesi önerilse de bu süre keyfi belirlenmiş bir süredir. Optimum uygulama süresini belirten çok az sayıda çalışma vardır (84).

Klinik ve radyografik çalışmalar formokrezol amputasyonunun %70-97 arasında başarılı olduğunu göstermiştir. Birçok araştırmacı daha toksik etki riski olan ve orijinal formül ile aynı başarıyı gösteren dilüe edilmiş formunun kullanılmasını önermektedir (84).

Yayınlanan birçok hayvan ve insan çalışmasında uçucu organik bileşen olan formaldehitin özellikle kontakt noktasında toksik ve koroziv etkisi olduğu kanıtlanmıştır. İngiltere Sağlık ve Güvenlik Yönetimi (HSE) iş yerlerinde olması gereken formaldehit seviyesini 2ppm veya mm³'te 2,5mg olarak belirtilmiştir. Formokrezol uygulanan çocuğun maruz kaldığı buhar miktarı ve hekimde birikim sonucunda görülebilecek potansiyel etki bilinmemektedir. Formaldehitin deriden emilimi zayıftır, fakat mukozadan çok hızlı geçer. Doku içine girdikten sonra etkisini direkt olarak protein ve nükleik asitler üzerinde gösterir (53, 130).

Birçok çalışma formokrezol amputasyonunun klinik başarısını bildirirse de, giderek artan sayıda literatürde formokrezolün toksik etkisi sorgulanmaktadır. Rolling ve Thylstrup klinik başarının zamanla azaldığını göstermiştir(105). Formokrezolün süt dişi radiküler pulpasına etkisinin histolojik incelemeleri aleyhte sonuçlar vermektedir. Bazı yazarlar formokrezol uygulamasının radiküler pulpanın koroner üçlüsünde fiksasyon,

orta üçlüsünde kronik enflamasyon ve apikal üçlüsünde vital doku oluşturduğunu iddia ederken, kimi araştırmacılar parsiyel veya total nekroz oluştuğunu bildirmiştir. 90'lı yıllar boyunca formokrezolün güvenliği ve etkinliği araştırılmıştır. Birçok araştırmacı formokrezolün mutajenik ve immünojenik olduğu konusunda hemfikirdir. Bu nedenle araştırmalar formokrezole alternatif olabilecek bir materyal bulmaya yönelmiştir (39).

1.3.2.2.Kalsiyum Hidroksit

Kalsiyum hidroksit Hermann tarafından tanıtıldığından beri (1920, 1930) birçok klinik durumun tedavisinde kullanılmaktadır. Materyal Hermann'ın (1936) çalışmaları ve ABD'de tanıtılması ile beraber 1390'larda daha çok bilinir hale gelmiştir. Literatürde pulpanın iyileştiğini gösteren başarılı çalışmalarda kalsiyum hidroksit sert doku oluşumunu indükleyen ve pulpal ve periapikal iyileşme sağlayan en iyi materyal olarak bilinmektedir (37, 42).

Kalsiyum hidroksit 12 civarındaki pH'ı nedeniyle kostik etki gösteren güçlü bir alkalendir. Vital pulpa üzerinde kimyasal hasar ile nekroz tabakası oluşturur. Vital pulpanın buna cevabı yaralanmış bağ dokusu karakteristiğindedir. İrritan ajanı kontrol edebilmek için vasküler ve enflamatuvar reaksiyonlar başlar. Arkasından hücre proliferasyonu ve yeni kollajen sentezi ile beraber tamir süreci başlar. Pulpa irritandan korunmayı başardığında yeni odontoblastlar diferansiye olur ve dentine benzer doku yaparlar. Bu durum pulpanın fonksiyonlarını geri kazandığının göstergesidir. Yeni oluşan kollajen nekroz tabakasında distrofik kalsifikasyon başlatarak aynı zamanda yeni oluşan kollajende de mineral birikmesine neden olur.

Benzer doku reaksiyonları hafif irritasyon yapan başka örtüleme materyallerinde de gösterilmiştir. Bu nedenle kalsiyum hidroksitin doku reaksiyonunu spesifik bir reaksiyondan ziyade pulpanın hafif düzeydeki irritana verdiği yanıt olarak değerlendirmek daha uygun olabilir (70).

Kalsiyum hidroksit pulpa dokusuna uygulandığında pH'ı 11-12 olduğundan, bir yandan kostik etki yaparken, bir yandan da enzimleri bloke eder. Bu alkali ortamda fosfataz enzimi kandan inorganik fosfat salınımını aktive etmekte ve kalsiyum fosfat çökelmektedir (6). Kostik olması nedeniyle vital pulpa üzerine koyulduğunda reaksiyon nedeniyle yüzeysel nekroz oluşur (84). Bu nekroza alttaki dokudaki akut enflamasyon değişiklikleri eşlik eder. 4 hafta sonra yeni bir odontoblastik tabaka ve sonunda da dentin köprüsü gelişir. Çalışmalar KH'in altında 4-9 gün içinde üç histolojik tabaka oluştuğunu tespit etmiştir:

1-koagülasyon nekrozu

2- osteodentin ile beraber derin boyanan bazofilik tabaka

3-odontoblastik tabakanın altında göreceli olarak normal pulpa dokusu, hafif hiperemi(61).

Kalsiyum hidroksitin yararlı etkileri şu olayların sonucunda oluşmaktadır:

- Hidroksil iyonlarının neden olduğu kimyasal harabiyet (OH^- iyonları plazma proteinlerini nötralize eder ve apikal zonda daha zayıf kimyasal bir etkiye neden olur)
- Vital dokuya komşu sıkı, sınırlı bir nekroz oluşturmaları
- Kalsiyum iyonlarının doku tarafından iyi tolere edilmesi (6)

Kalsiyum hidroksitin asıl etkinliği Ca^{++} ve OH^- iyonlarına ayrışması ile gerçekleşir. Bu iyonların ayrışması ile beraber vital dokuda sert doku yapımı indüklenir, bakteriler üzerine ise antibakteriyel etki gösterir (37).

Kesin ve sınırlı nekroz, pulpada hafif bir irritasyona neden olur. Bu da pulpa hücrelerinin savunma ve tamir reaksiyonlarını stimüle eder. Sınırlı ve keskin nekroz sahası doku sıvılarındaki kalsiyumu cezbeder ve bölge kalsifiye olur. Bu işlemle $CaCO_3$ granüllerinin çökmesi yeni oluşan kollagenin mineralizasyonunu ve yeni odontoblastların diferansiyasyonunu başlatarak çift tabakalı bir sert doku bariyerini oluşturur. Çift tabakalı bariyerin koronal bölümü irregülerdir ve pulpa bölümü bir tarafında odontoblastların bulunduğu, irregüler kanalcıkları olan dentin benzeri bir dokudur (6).

Pulpanın üzerinde kan pıhtısı kalması kalsiyum hidroksitin örtüleme materyali olarak kullanıldığı durumlarda önemlidir, çünkü pıhtının varlığı pulpanın iyileşmesini önler (15). İnternal rezorpsiyon kalsiyum hidroksitin aşırı alkali yapısının pulpayı aşırı uyarması nedeniyle olabilir. Bu alkali yapıyı aşırı stimülasyon pulpa dokusunda odontoklastlar oluşumu ile takip eden metaplazilere yol açabilir. Ek olarak, tespit edilemeyen bir mikrosızıntı nedeniyle büyük sayıda mikroorganizma pulpaya ulaşabilir ve kalsiyum hidroksitin faydalarını sıfırlayabilir. Schröder kalsiyum hidroksit amputasyonu yapılan 33 hastayı takip etmiştir. 2 yılın sonunda başarı oranı %59 ve başarısızlık nedeni internal rezorpsiyondur. Histolojik çalışmalarda amputasyon sahasındaki ekstra kan pıhtılarının olması Schröder tarafından pulpa iyileşmesi ve dentin köprüsü oluşumunu önlediği düşünölmektedir(61).

Diğer örtüleme materyalleri gibi kalsiyum hidroksit de kronik enflame pulpada iyileşme sağlamaz. Başarılı bir sonuç alınması için kalsiyum hidroksit kullanımı sağlıklı veya parsiyel kronik pulpitisli dişler ile sınırlandırılmalı (70).

1.3.2.3.Mineral Trioksit Agregat (MTA)

Dental literatüre ilk kez 1993 yılında Lee ve ark tarafından tanıtılan MTA, 1998 yılında FDA tarafından insanda kullanımı için onaylanmıştır. MTA; trikalsiyum silikat, trikalsiyum alüminat, trikalsiyum oksit ve silikat oksitin saf hidrofilik partiküllerinden oluşmuş, gri toz halinde bir materyaldir. Aynı zamanda kimyasal ve fiziksel özelliklerini arttıran eser miktarda başka mineral oksitleri de içerir. Bizmut oksit MTA'nın radyopak görünmesi için eklenmiştir. Elektron prob mikro analizleri MTA tozunun esas olarak kalsiyum ve fosfor iyonlarından oluştuğunu göstermiştir. Bu iyonlar diş sert dokularının da ana komponentleri olması MTA'nın hücre ve dokularla temasında biouyumluluğunu arttıran bir özelliktir (77, 109, 123). MTA cerrahi ve cerrahi olmayan birçok klinik uygulamada kullanılmaktadır. MTA tozu gri ve beyaz olmak üzere 2 renkte üretilmiştir. Ticari olarak satılan ProRoot MTA (Dentsply, Tulsa, OK, USA) beyaz tozdan oluşmaktadır ve yapılan çalışmalarda beyaz ve gri MTA tozu arasında biyolojik olarak bir fark bulunamamıştır (56).

MTA tozunun su ile karıştırılması koloidal bir jel haline dönüşmesini sağlar. MTA ilk karıştırıldığında pH=10,2'dir ve 3 saat sonra 12,5'e yükselerek sabit kalır. Ortalama sertleşme zamanı 2 saat 45 dakikadır.

MTA'nın hazırlandıktan sonra kalsiyum hidrokside benzer bir pH'a sahip olması materyale antimikrobiyal özellik vermektedir. Aynı zamanda kalsiyum hidroksit gibi pH'ının yüksek olması sert doku oluşumunu indüklemesini sağlayabilir (109, 123).

MTA'nın atomik spektroskopik incelemelerine göre, sentetik doku sıvılarına tüm majör katyonik bileşenlerini salmaktadır. Tüm salınan iyonlar içinde Ca^{+2} en yoğundur. Ca^{+2} varlığı hidroksilapatit çökmesine neden olmaktadır. MTA'nın poröz yapısından dolayı çökme ile dentin duvarına komşu MTA'nın kompozisyonunda değişiklikler olmaktadır. MTA'nın dentine tutunması önceleri fiziksel iken daha sonra apatit tabakası ve dentin arasındaki diffüzyon kontrollü reaksiyon ile kimyasal bağlanma gerçekleşir. Materyalin örtülemedeki başarısı, biyouyumluluğu ve dentinojenik aktivitesinin bu fizikokimyasal özelliklerine bağlı olduğu düşünülmektedir (107).

Materyalin hidrofilik karakterinden dolayı çevre dokulardan gelen nem, materyalin donma reaksiyonunda aktivatör gibi davranır. Bu nedenle nem varlığı sorun oluşturmaz (77).

Lee ve ark. 1993 yılında yaptığı in vitro çalışmada MTA molar dişlerde perforasyon tamirinde kullanılmış ve boya penetrasyonu ile sızdırmazlığı araştırılmıştır. Çalışmada MTA, bu tedavide rutin olarak kullanılan amalgam ve IRM patı ile karşılaştırılmıştır. MTA'nın sızdırmazlığının Ag ve IRM'den anlamlı düzeyde daha az olduğu bulunmuştur (77).

MTA ile ilgili hayvan çalışmalarında biyouyumluluk ve sert doku oluşumunu indüklemesi araştırılmıştır. Holland ve arkadaşlarının rat sırt bağ dokusunda yaptıkları çalışmasında MTA ile dolu olan dentin tübüllerinin

ağızlarında polarize ışık altında kalsiyum granülleri ve bu granüllerden sonra irregüler köprü benzeri bir oluşum görmüşlerdir. Bu durum kalsiyum hidroksit ile dolu olan dentin tübüllerinin kullanıldığı grup ile benzerdir. Araştırmacılar bu nedenle her iki materyalin etki mekanizmalarının benzer olabileceğini belirtmiştir. MTA'nın yapısında kalsiyum hidroksit olmamasına rağmen, içeriğindeki kalsiyum oksit doku likitleri ile reaksiyona girdiğinde kalsiyum hidroksite dönüşebilir (56).

MTA'nın pulpaya etkisini incelemek üzere Faraco ve ark tarafından yapılan amputasyon çalışmasında köpek dişlerine MTA ve kalsiyum hidroksit uygulanmıştır. Dişlerin histolojik olarak incelenmesi sonucu, MTA'nın kalsiyum hidroksite göre daha üstün bir örtüleme materyali olduğu ve etki mekanizmasının kalsiyum hidroksit ile aynı olabileceği sonucuna varmışlardır (34).

Salako ve ark. 2003 yılında rat molar dişlerine amputasyon uygulayarak 2. ve 4. haftalardaki histolojik görüntüyü incelemişlerdir. Uyguladıkları biyoaktif cam, MTA, ferrik sülfat ve formokrezol materyallerinden MTA'nın ideal amputasyon ajanı olduğunu bildirmişlerdir. MTA uygulanan dişlerde 2. haftada köprü formasyonuna benzer kalsifik alanlar, normal odontoblast tabakası ve enflamasyon, 4. haftada ise dentin köprüsü oluşumu ve normal pulpa görünümü tespit edilmiştir (106).

MTA'nın pulpa örtüleme materyali olarak insanda *in vivo* uygulaması ilk olarak Aeinehchi ve ark tarafından 2002 yılında yapılmıştır. MTA ve donan kalsiyum hidroksit (Dycal) uygulanan 3. molar dişler çekildikten sonra histolojik olarak incelenmiştir. Çalışmada örnek sayısı az olmakla birlikte, MTA grubunda kalsiyum hidroksit grubuna göre daha az enflamasyon ve

nekrotik alan olduğu, dentin köprüsünün ise daha erken dönemde ve daha kalın oluştuğu gösterilmiştir (4).

MTA süt dişi amputasyon tedavisinde, toksik etkileri bulunan formokrezolün yerine alternatif bir örtüleme materyali olarak düşünölmüştür. Formokrezol ve MTA'nın kullanıldığı birçok klinik çalışmada, MTA ile formokrezolün klinik başarısının benzer veya MTA'nın daha üstün olduğu sonucuna varılmıştır (3, 36, 88, 89). Bu sonuçlar nedeniyle MTA yazarlar tarafında formokrezole alternatif olarak tavsiye edilmiştir.

MTA'nın uzun dönem klinik uygulamalarında da başarılı bir amputasyon materyali olduğu gösterilmiştir. Maroto ve ark.nın 42 ay süren klinik ve radyolojik takip sonucu, amputasyon tedavisi uygulanan süt molar dişlerde bir adet internal rezorpsiyon vakasına rastlanmıştır. Çalışmada klinik başarı %100, radyografik başarı %98,5 olarak bildirilmiştir. Örneklerin %84'ünde kanallarda stenoz, %83'ünde dentin köprüsü oluşumu gözlenmiştir. Dentin köprüsü oluşumunun zaman ile arttığı bildirilmiştir (82).

BÖLÜM II

HASTALAR VE YÖNTEM

2.1. Hastalar

Çalışma, Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Kliniği'ne başvuran, herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 5-10 yaş arası (ort 7 yıl 9 ay) 28 kız ve 31 erkek toplam 59 hastada 76 diş ile gerçekleştirilmiştir. Kliniğe başvuran hastaların en az bir dişinde derin dentin çürüğü olan hastalar çalışma grubuna alınmıştır. Çalışma grubu pulpanın iatrojenik olarak ve çürükle perfore olduğu iki gruba ayrılmış ve toplam 47 adet alt süt 2. molar diş kullanılmıştır. 14 adet çürüksüz alt süt 1. ve 2. molar diş pozitif kontrol grubu olarak, 15 adet kanal tedavisi endikasyonu olan alt süt 2. molar diş negatif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Çalışmanın etik onayı E.Ü. Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Karar no: 08-9/5).

2.1.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya katılan hastaların taşımaması gereken özellikler;

- Sistemik bir hastalığı bulunması

- Son üç ay içerisinde antienflamatuar veya antibiyotik kullanmış olması
- Hastanın uyumsuz olması

Çalışmaya alınma kriterleri:

Çürüksüz süt dişi grubu (pozitif kontrol grubu) için;

- Süt dişinde herhangi bir çürük, kırık veya pulpayı etkileyen başka bir sorun olmaması
- Fizyolojik kök rezorpsiyonunun kökün 1/3'ünü geçmemiş olması

Amputasyon grubu (reversibl pulpitis) için;

- Alt süt ikinci molar dişinde pulpaya çok yakın veya pulpayı perforasyon etmiş aktif çürüğün bulunması
- Dişin restore edilebilir durumda olması
- Perküsyon ve palpasyonda ağrı şikayeti olmaması
- Sıcak uyaran ağrısı, uzayan provake veya spontan ağrının olmaması
- Periodontal dokularda patolojik bulgu ve fistül olmaması
- Lüksasyon olmaması
- Radyografide lamina dura kaybı olmaması
- İnternal ve eksternal rezorpsiyon olmaması
- Fizyolojik rezorpsiyon varsa kökün 1/3'ünü geçmemiş olması
- Pulpanın perforasyon bölgesinde koyu renkli, eksudalı kanama olmaması

- Koroner pulpa uzaklaştırıldıktan sonra kanamanın tamponlanınca en geç 5 dk içinde durması (18, 60, 88)

Kanal tedavisi (İrreversibl pulpitis) grubu için;

- Koronal pulpası ampute edilen dişteki pulpanın kanamasının tamponlanınca durmaması
- Süt dişinde çürüğe bağlı spontan ağrı, uzayan provoke ağrı, perküsyon hassasiyeti şikayetlerinden biri olması
- Radyografik olarak periodontal ligamentte genişleme veya lamina dura kaybı olması
- Patolojik kök rezorpsiyonu veya bifurkasyo bölgesinin 1/3'ünü geçen lezyon olmaması (6)

2.1.2. Klinik Çalışma Tekniği

Çalışmada, pulpa örnekleri alınmadan önce, 2mL'lik eppendorf tüplerine 0,5mL PBS (phosphat buffered saline) eklenerek elektronik hassas terazide ağırlığı ölçüldü ve kaydedildi.

Sağlıklı pulpa (pozitif kontrol) grubu:

Ortodontik seri çekim tedavisi gören 9-11 yaş arası (10 yıl 1 ay) 8 hastadan çekilen toplam 14 adet alt süt molar diş kullanıldı.

1. Her bir dişin çekimini takip eden 2 dk içinde dişe su soğutması altında piyasamen ve elmas separe yardımı ile mezyo-distal ve

korono-apikal yönlerinde yaklaşık 1-1,5mm derinliğinde çentikler açıldı.

2. Açılan çentiklerden ince bir elevatör yardımıyla diş iki eşit parçaya ayrıldı.
3. Tüm pulpa keskin bir ekskavatör yardımıyla alındı ve önceden tartılmış PBS içeren eppendorf tüpüne koyuldu.
4. Eppendorf tüpü içinde pulpa örneği ile tekrar tartıldı ve pulpanın mg cinsinden ağırlığı tespit edildi. Örnek daha sonra ELISA testi ile incelenmek üzere -80°C 'de depolandı (8).

İrreversibl pulpitis (negatif kontrol) grubu:

Klinik ve radyografik inceleme sonucunda kanal tedavisi yapılmasına karar verilen, 5-10 yaş arası (ort. 7 yıl 3 ay) 14 hastadaki 15 adet alt süt molar diş kullanıldı. Sırasıyla şu işlemler uygulandı;

1. Önce topikal (Xylocaine %10 sprey, Astra, Södertälje, İsveçre) sonra 20mg/mL lidokain HCl ve 0,0125mg/mL epinefrin içeren lokal anestezik ile (Jetokain Ampul®; Adeka İlaç Sanayi ve Ticaret AŞ, Samsun, Türkiye) ile rejonel anestezisi sağlandı.
2. Giriş kavitesi koroner pulpaya mümkün olduğunca zarar vermeyecek şekilde su soğutması altında aerotör ile kavite prensiplerine uygun şekilde açıldı. Pulpa odasının tavanı #6 tungsten karbid rond frez yardımıyla giriş kavitesi şeklinde inceltildikten sonra keskin bir ekskavatör ile kaldırıldı.

3. Koroner pulpa steril ve keskin bir ekskavatör yardımıyla alınarak daha önce tarif edildiği şekilde eppendorf tüpüne yerleştirildi, ağırlığı ölçüldü ve incelenmek üzere -80°C'de depolandı.

Amputasyon grubu (Çalışma grubu):

Gruba 5-10 yaş arası (ort. 7 yıl 6 ay) 37 hasta alındı. Bu hastaların alt süt 2. molar dişlerinden, pulpası çürük ile perfore olan ve kavite preparasyonu sırasında çürük nedeniyle değil iatrojenik olarak perfore olan dişler iki ayrı alt grup altında değerlendirildi. Klinik ve radyografik inceleme sonucu amputasyon tedavisi endikasyonu koyulan dişlerin;

1. Adrenalin içermeyen 20mg/mL lidokain HCl ile rejyonel anestezileri sağlandı (Jetokain Simplex Ampul®; Adeka İlaç Şanayi ve Ticaret AŞ, Samsun, Türkiye).
2. Diş pamuk peletler ve tükürük emici ile izole edildi.
3. Çürük kavitesi, kavite prensiplerine uygun şekilde aerotör-elmas rond frez ve mikromotor-çelik rond frez yardımı ile temizlendi
4. Kavite preparasyonu sırasında çürük temizlendikten sonra iatrojenik olarak perfore olan dişlerin perforasyon alanının genişliğine bakılarak (~1mm²'den geniş açılımlarda) amputasyon tedavisi yapılmasına karar verildi. Pulpaları çürük ile perfore olan dişlerde kanamanın rengi ve kıvamı değerlendirildi. Açık renkli, tamponlanınca duran kanamalarda diş amputasyon tedavisi yapılmasına karar verildi.

5. Yeni bir steril elmas rond frez ile pulpa odasının tavanı giriş kavitesine uygun olacak şekilde zayıflatıldı.
6. Steril ve keskin bir ekskavatör ile pulpa odasının tavanı kaldırıldı.
7. Koroner pulpa keskin ekskavatör yardımı ile kanal ağızlarından itibaren uzaklaştırıldı.
8. Elde edilen pulpa örneği daha önce tartılmış olan eppendorf tüpüne yerleştirildi.
9. Yeni bir steril #16 çelik rond frez ile kanal ağızlarındaki pulpa yaklaşık 1mm kanal ağızlarından içeri girerek kaldırıldı.
10. Serum emdirilmiş steril pamuk pelet ile kanama tamponlandı.
11. Kök pulpasından gelen kanama tamponlanmasına rağmen 5dk. içinde durmadıysa dişe kanal tedavisi yapılmasına karar verildi ve çalışma grubundan çıkartıldı.
12. Kanamanın tamponlanmasına göre amputasyon tedavisi yapılmasına karar verilen dişlerde uygulanacak olan amputasyon materyaline göre farklı teknikler kullanıldı:
 - a. Ca(OH)_2 amputasyonu için, kalsiyum hidroksit tozu (Kalsin, Aktu Ticaret, Türkiye) steril distile su ile karıştırılarak elde edilen macun kıvamındaki pat kanal ağızlarına yerleştirildi. Kuru bir pamuk pelet ile hafifçe bastırılarak Ca(OH)_2 patının iyice yerleştirilmesi sağlandı. Kök pulpasından kanama gelmediği tekrar kontrol edildikten sonra kavite cam iyonomer siman (KetacTM Molar Easymix, 3M ESPE Dental Products, Seefeld, Almanya) ile kapatıldı.

- b. MTA amputasyonu uygulaması için beyaz MTA (Proroot MTA, Dentsply-Maillefer, Ballaigues-İsviçre) üreticinin tarifine göre 3:1 oranında steril distile su ile karıştırıldı. Elde edilen pat ağız spatülü ile kaviteye taşındı ve 3-4 mm kalınlığında MTA olacak şekilde kanal ağızları ve kavite tabanı örtüldü. Kuru bir pamuk pelet ile patın iyice yerleşmesi sağlandı. Gerekli ise temiz bir ekskavatör ile kavite duvarlarındaki fazla pat temizlendi. MTA'nın donma reaksiyonunu tamamlaması amacı ile patın üzerine nemli bir pamuk pelet yerleştirildi ve CIS ile geçici olarak örtüldü. 1 gün sonra pamuk pelet çıkarıldı, MTA'nın tam olarak sertleştiği kontrol edildi ve tekrar CIS ile örtüldü.
- c. Tek seansta formokrezol amputasyonu yapmak üzere kanama tamponlandıktan sonra 1:5 oranında dilüe edilmiş formokrezol (19% formaldehide, 35% cresol, 17.5% glycerin, Buckley's Formo Cresol, Sultan Healthcare Inc, Englewood, NJ) emdirilen pamuk pelet kanal ağızlarındaki pulpaya temas edecek şekilde yerleştirildi. Hafifçe bastırılarak 5dk beklendi. Kanal ağızlarındaki pulpanın siyahlaştığı gözlemlendi ve kanal ağızlarından kanama gelip gelmediği kontrol edildi. Kavite çinko oksit öjenol (ZOE) patı ile dolduruldu (Alganol, Associated Dental Products Ltd, Kemdent Works, Wiltshire-UK) (60, 82, 88)

13. Kavite örtüldükten sonra, içinde PBS ve pulpa örneği olan eppendorf tüpü hassas terazide tartılarak pulpanın ağırlığı elde edildi

ve kaydedildi. Örnek daha sonra ELISA testi uygulanmak üzere - 80°C'de depolandı.

14. İkinci seansta dişlerin mezyo-distal çapına uygun olarak seçilen paslanmaz çelik kron (3M ESPE Dental Products, Seefeld, Almanya) dişe adapte edildi ve Tip I yapıştırıcı cam iyonomer siman (RelyX™ Luting, 3M ESPE Dental Products, Seefeld, Almanya) ile simante edildi.

2.1.3. Paslanmaz Çelik Kron Yapımı

1. Uca doğru incelen sarı kuşak #14 elmas frez ve aerotör ile su soğutması altında mezyal ve distal kontakları kaldırıldı. Sond iki diş arasından zorlanmadan geçecek şekilde gingival seviyede preparasyon yapıldı. #20 lobut frez ile tüberkül konturlarını takip edecek şekilde okluzal seviyede 1-1,5 mm bizotaj yapıldı. Keskin kenarlar ve sırtlar yuvarlatıldı. Dişin bukkal ve lingual yüzeylerinde, paslanmaz çelik kronun retansiyonunu sağlamak amacıyla preperasyon yapılmadı.
2. Preparasyonu tamamen örten mümkün olan en küçük kron seçildi. Gerekli ise kronun seviyesi okluzalde yükseklik yapmayacak şekilde, gingivalde ise serbest dişeti kenarının 0,5-1mm altına girecek şekilde kole bölgesinden kısaltılarak indirildi. Prepare edilen kron kenarlarına paslanmaz çelik kron pensi ile tekrar kurvatür verildi. Kenarlar taş ve lastikler ile düzeltildi.
3. Kron Tip I yapıştırıcı cam iyonomer siman ile simante edildi (84).

2.2. Yöntemler

Çalışma ve kontrol gruplarındaki dişlerin enflamasyon düzeyinin belirlenmesi amacıyla elde edilen pulpa örneklerindeki *IL-1α*, *IL-6*, *IL-8* ve *TNF-α* sitokinlerinin düzeyleri EÜ Tıp Fakültesi Çocuk İmmunolojisi Bilim Dalı İmmünoloji Laboratuvarı'nda ELISA yöntemi ile incelenmiştir.

Amputasyon tedavisi yapılan çalışma grubu hastalarının tedavileri, EÜ Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti AD Kliniği'nde klinik ve radyografik olarak takip edilmiştir.

2.2.1. ELISA (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay)

İncelemede katı faz sandviç ELISA kiti (Invitrogen Immunoassay Kit, #KAC1192/KAC1191, #KHC0061, #KHC0081, #KHC3011, Invitrogen Corporation, USA) kullanılmıştır. Bu analiz sonrası alınan pulpa örneklerindeki sitokin miktarları pg/mL düzeyinde saptanmıştır.

1. -80°C'de saklanan pulpa örneklerin 15dk. süreyle oda sıcaklığında erimeye bırakıldı.
2. İncelenecek olan sitokinlerin pulpa dokusundan ayrışmasını sağlamak için dokular steril cam çubuk ile 50 darbe vurularak ezilip homojenize edildi (83, 103).
3. Örnekler 30dk. 24°C'de karıştırıcıda bekletildi.
4. 6dk. 17000 RCF'de santrifüje edildi.
5. Örneklerin değerlendirilmesinde katı faz sandviç ELISA tekniği kullanıldı.
6. Her bir örnekten santrifüj sonucu elde edilen süzülen faz ELISA kiti çalışma kuyucuklarına aktarıldı. Araştırma için toplanan pulpa

örnekleri ve kitin standartlarıyla beraber toplam 96 kuyucuk incelemede kullanıldı.

7. Kromojen renksiz olarak ayrılan kuyucuklar boş bırakıldı.
8. Uygun kuyucuklara her kitin talimatına uygun miktarda (*Hu IL-1 α* için 50 μ l, *Hu IL-8* için 50 μ l, *Hu IL-6* için 100 μ l, *Hu TNF- α* için 100 μ l) standart, çalışma veya kontrol grubu örnekleri konuldu.
9. Kromojen boş kuyucuklar hariç her kuyucuğa 50 μ l inkübasyon tamponu eklendi. 50 μ l konjuge biyotin eklendikten sonra hafifçe vurularak karışması sağlandı.
10. Plaka, plaka örtücü ile örtülerek uygun sürelerde (*Hu IL-1 α* için 2 saat, *Hu IL-8* için 1,5 saat, *Hu IL-6* için 2 saat ve *Hu TNF- α* için 2 saat) oda sıcaklığında enkübe edildi.
11. 4 kez yıkama işlemi uygulandı. 100 μ l Streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklendi ve 30dk oda ısısında enkübe edildi.
12. 4 kez yıkama işlemi gerçekleştirildikten sonra her kuyucuğa 100 μ l stabilize kromojen eklendi. Plakalar hafifçe sallanarak rengin oluşması sağlandı ve 30dk oda sıcaklığında enkübe edildi.
13. Enkübasyon işleminden sonra her kuyucuğa 100 μ l stop solüsyonu eklendi.
14. Örnekler ELISA okuyucuda 450nm dalga boyunda okundu. Değerlendirme, standartların optik dansitelerine karşılık gelen pg/mL değerleri kullanılarak Point to point programında yapıldı.

Çalışılan örneklerde kullanılan bu yöntem ile saptanabilen minimum *IL-1α*, *IL-6*, *IL-8* ve *TNF-α* konsantrasyonları sırasıyla, 1pg/mL, <2pg/mL, <5.0pg/mL ve 1.7pg/mL idi.

2.2.2. Protein Konsantrasyonu Hesaplaması

ELISA testinin sonucunda pg/mL düzeyinde elde edilen total pulpaya ait sitokin düzeylerinin standardize edilebilmesi amacıyla pg/mg düzeyine çevirilebilmesi için protein konsantrasyonu hesaplaması işlemi yapılmıştır (98,103).

Standart dilüsyonlarının OD (optik dansite) değerlerine göre standart eğri oluşturuldu. Her kuyucuktaki sitokinin pg/mL cinsinden miktarı hesaplandı. Örneklerde her pulpa kütlesi birimine (mg) düşen sitokin miktarı (pg) şu şekilde hesaplandı:

$$\frac{\text{Pulpa ağırlığı(mg)}}{0,5\text{mL (PBS hacmi)}} = \text{PBS içindeki pulpanın konsantrasyonu (mg/mL)}$$

$$\frac{\text{IL konsantrasyonu (pg/mL)}}{\text{pulpa konsantrasyonu(mg/mL)}} = \text{IL (pg/mg)}$$

2.3. Tedavilerin Klinik ve Radyografik Olarak Takibi

Amputasyon tedavisi yapılan dişler 3, 6, 12 ve 18. aylarda klinik ve radyografik olarak takip edilmiştir.

Klinik takip kriterleri:

1. Dişte spontan veya provake ağrı varlığı,
2. Dişte lüksasyon varlığı,
3. Dişin perküsyon ve palpasyon testlerine duyarlı olması,
4. Mukozada şişlik, kızarıklık ve fistül varlığı,

Radyografik takip kriterleri:

1. Lamina dura kaybı olup olmadığı,
2. Periapikal ve/veya furkasyon bölgesinde radyolusensi olup olmadığı,
3. İnternal ve/veya eksternal patolojik kök rezorpsiyonu olup olmadığı
4. Fizyolojik kök rezorpsiyonunun seviyesi (7, 57)

Belirtilen kriterlerden herhangi birinin varlığı başarısızlık olarak kabul edilmiştir. İnternal rezorpsiyon olan dişlerde klinik olarak semptom yoksa ve rezorpsiyon perforasyona neden olmamışsa diş ağızda bırakılmış ve takip edilmiştir (54).

Belirtilen kriterlerin dışında kanallarda kalsifikasyon meydana gelmesi canlı odontoblast aktivitesi olduğunu gösterdiği için başarısızlık olarak değerlendirilmemiştir (24, 57).

2.4. İstatistiksel Analizler

Araştırmada;

- İatrojenik perfore olan dişler ile çürükle perfore olan,
- İatrojenik perfore olan dişler ile çürüksüz,
- Çürükle perfore olan dişler ile kanal tedavisi endikasyonu konan,

dişlerin sitokin düzeyleri aracılığıyla enflamasyon düzeyleri ikili olarak karşılaştırılmıştır. Her bir gruptaki nümerik ölçümler normal dağılıma uyumları Shapiro-Wilk Testi ile kontrol edildi ve normal dağılıma uymadığı belirlendi. Gerek gruplardaki örnek sayısının yetersiz olması gerekse Shapiro-Wilk Testi ile normal dağılıma uymadığı görülmesi nedeniyle gruplar arası karşılaştırmalarda non-parametrik yöntemler, ikili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi uygulandı.

Gruplar arası kategorik verilerin karşılaştırılması için yerine göre Ki-Kare veya Fisher'ın Kesin Testi kullanılmıştır.

Analizler bilgisayar ortamında SPSS 19.0 kullanılarak yapılmıştır.

BÖLÜM III

BULGULAR

Çalışmaya alınan dişlerin gruplara dağılımı aşağıdaki gibidir (*Tablo 1*).

Tablo 1.Çalışmada kullanılan örneklerin gruplara dağılımı

			Toplam
Çalışma Grupları (Amputasyon tedavisi yapılan dişler)	Perfore olmayan (iatrojenik perforasyon) n=23	Ca(OH) ₂ n=9	47
		Formokrezol n=8	
		MTA n=6	
	Perfore olan n=24	Ca(OH) ₂ n=8	
		Formokrezol n=7	
		MTA n=9	
Pozitif kontrol grubu	Çürüksüz dişler		14
Negatif kontrol grubu	İrreversibl pulpitisli dişler		15
Toplam			76

Sitokin düzeyleri ile ilgili değerlendirmeler ELISA testi uygulanan 76 örnek üzerinden yapılmıştır. 1 adet çürük ile perfore olan FK uygulanan ve 1 adet iatrojenik perfore olan MTA uygulanan hasta kontrollere gelmediği için çalışma dışı bırakılmıştır. 1 adet çürük ile perfore olan ve MTA uygulanan hasta ise kontrollere 12 ay boyunca gelmiş ve daha sonra katılmadığı için çalışma dışı bırakılmıştır. Bu nedenle amputasyon tedavilerinin başarı değerlendirilmesi 18. ayda 44 diş üzerinden yapılmıştır.

3.1. Çürük Düzeyi, Tedavi Başarısı ve Sitokin Düzeylerinin Bağıntısı

3.1.1. Çürük Düzeyinin Tedavi Başarısına Etkisi

Tablo 2. Grupların perforasyon şekline göre radyografik başarı oranlarının çürük gruplarına göre dağılımı

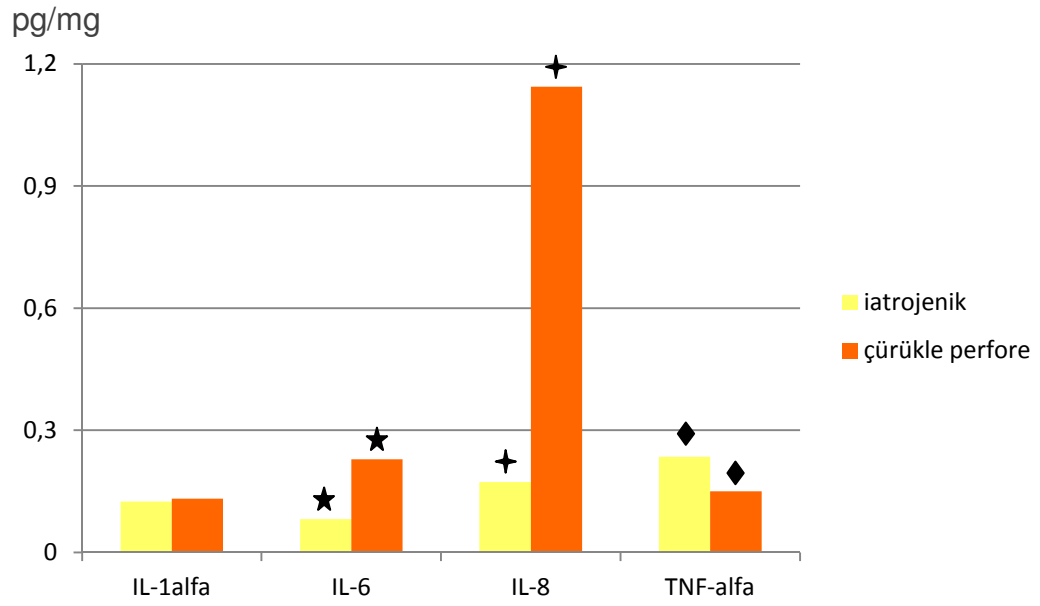
	Başarılı	Başarısız	Toplam (n)
İatrojenik perforasyon	17 %77.3	5 %22.7	22 %100.0
Çürük ile perforasyon	13 %59.1	9 %40.9	22 %100.0
Toplam	30 %68.2	14 %31.8	44 %100.0

Amputasyon tedavisi uygulanan dişlerde, tedavi sırasında pulpanın çürük ile veya iatrojenik olarak perfore olmasının tedavi başarı oranına etkisini değerlendirmek amacıyla, örnekler tedavide kullanılan materyal gözetilmeksizin iki gruba ayrılmış ve Ki Kare Testi uygulanmıştır. İatrojenik olarak perfore olan dişlerde başarı %77.3 çürük ile perfore olan örneklerde başarı %59.1 olarak bulunmuştur. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber, çürük ile perfore olan dişlerde başarıda belirgin bir düşüş vardır ($p=0.332$) (*Tablo 2*).

3.1.2. Çürük Düzeyinin Sitokin Düzeylerine Etkisi

Tablo 3. Çalışma gruplarındaki pulpal perforasyon ile sitokin düzeyleri arasındaki ilişkinin karşılaştırılması

	Sitokin Düzeyleri Ortanca / (Min.-Max.)			
	IL-1 α (pg/mg)	IL-6 (pg/mg)	IL-8 (pg/mg)	TNF- α (pg/mg)
İatrojenik perforasyon (n=23)	0.125 (0.045-2.362)	0.082 (0-0.652)	0.173 (0-5.138)	0.235 (0.053-0.825)
Çürük ile perforasyon (n=24)	0.132 (0.029-1.602)	0.229 (0.006-28.587)	1.144 (0-71.428)	0.150 (0.05-0.775)
$p \leq 0.05$	$p=0.489$	$p=0.011^*$	$p=0.025^*$	$p=0.038^*$



Grafik 1. Çalışma gruplarının sitokin düzeylerinin ortalanca değerlerinin karşılaştırılması ★ p=0.011 ✚ p=0.025 ◆ p=0.038

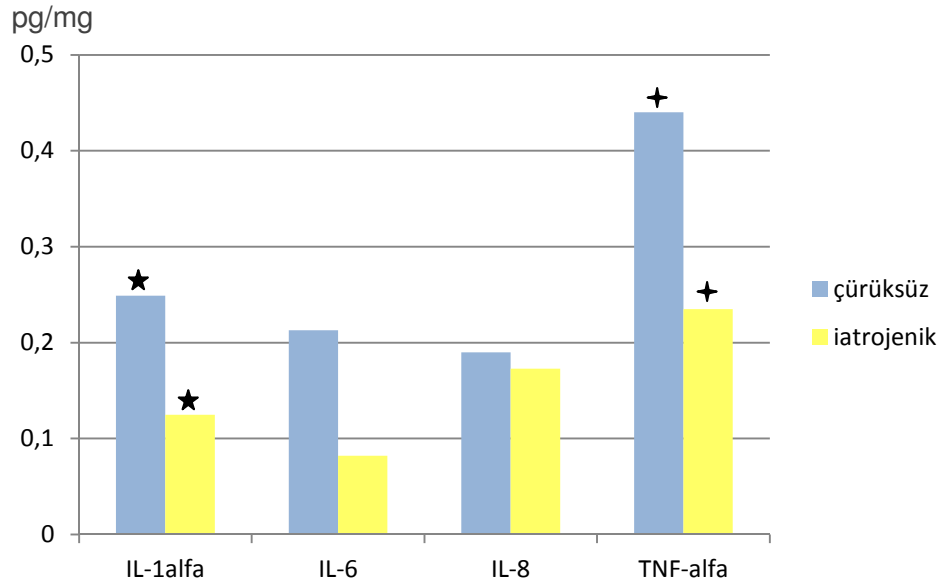
İatrojenik perforasyon ve çürük ile perforasyon gruplarından oluşan çalışma gruplarındaki dişlerin, pulpalarındaki sitokin düzeylerinin, pulpaların açılım şekli açısından karşılaştırılması amacıyla Mann-Whitney U Testi ile analizleri yapıldı.

IL-6 ve *IL-8* düzeyleri çürük ile perfore olan grupta, *TNF-α* düzeyi ise iatrojenik olarak perfore olan grupta anlamlı şekilde yüksektir. *IL-1α* düzeylerinde iki grup arasındaki fark anlamlı değildir (Tablo 3 ve Grafik 1).

İatrojenik açılmış olan dişlerin pulpalarındaki sitokin düzeylerinin anlamları hakkında sağlıklı yorum yapılabilmesi için, tedavi yapılmamış olan çürüksüz dişlerin pulpalarındaki sitokin düzeyleri ile ikili analizler yapılarak karşılaştırıldı (*Tablo 4 ve Grafik 2*).

Tablo 4. Çürüksüz ve iatrojenik olarak perforasyonlu dişlerdeki sitokin düzeylerinin karşılaştırılması

	Sitokin Düzeyleri Ortanca / (Min.-Max.)			
	IL-1 α (pg/mg)	IL-6 (pg/mg)	IL-8 (pg/mg)	TNF- α (pg/mg)
Çürüksüz (n=14)	0.249 (0.077-2.724)	0.213 (0-0.758)	0.190 (0-1.56)	0.440 (0.222-0.983)
İatrojenik perforasyon (n=23)	0.125 (0.045-2.362)	0.082 (0-0.652)	0.173 (0-5.138)	0.235 (0.053-0.825)
p < 0.05	p=0.005*	p=0.186	p=0.546	p=0.004*



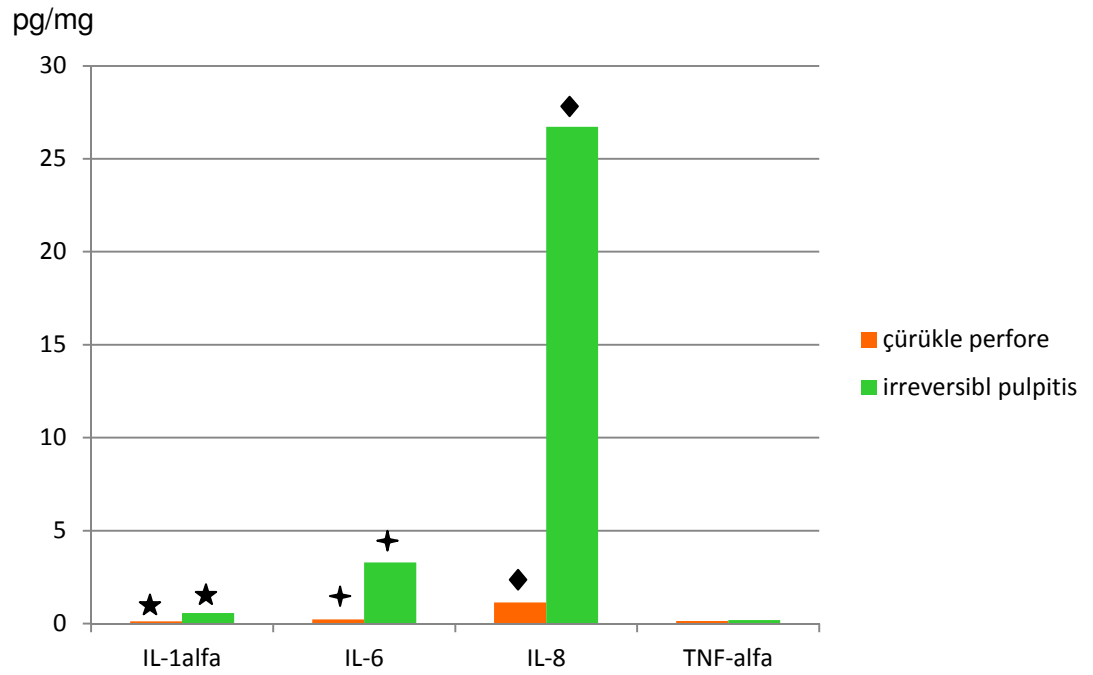
Grafik 2. Çürüksüz ve iatrojenik olarak perfore olan dişlerde sitokin düzeylerinin ortanca değerlerinin karşılaştırılması
 ★ p=0.005 + p=0.004

Sitokin düzeyleri karşılaştırılırken Mann-Whitney U Testi uygulandı. Çürüğü olmayan süt dişlerinde *IL-1α* ve *TNF-α* düzeyleri iatrojenik perfore olan gruba göre istatistiksel olarak yüksektir. *IL-6* ve *IL-8* düzeylerinde iki grup arasında anlamlı fark yoktur (Tablo 4 ve Grafik 2).

Çürük ile perfore olmuş pulpalardaki sitokin düzeylerinin yorumlanmasına katkı sağlaması amacıyla irreversibl enfeksiyon olduğu bilinen pulpalardaki sitokin düzeyleri ile Mann-Whitney U Testi ile karşılaştırılmıştır (*Tablo 5 ve Grafik 3*).

Tablo 5.Çürük ile perfore ve irreversibl pulpitisli dişlerde sitokin düzeylerinin karşılaştırılması

	Sitokin Düzeyleri Ortanca / (Min.-Max.)			
	IL-1 α (pg/mg)	IL-6 (pg/mg)	IL-8 (pg/mg)	TNF- α (pg/mg)
Çürük ile perforasyon (n=24)	0.132 (0.029-1.602)	0.229 (0.006-28.587)	1.144 (0-71.428)	0.150 (0.05-0.775)
İrreversibl pulpitis (n=15)	0.569 (0.071-3.641)	3.287 (0.003-34.416)	26.718 (0-166.666)	0.192 (0.073-0.77)
p$\leq$0.05	p=0.022*	p=0.015*	p=0.003*	p=0.076



Grafik 3.Çürük ile perfore ve irreversibl pulpitisli dişlerde sitokin düzeylerinin ortanca değerlerinin karşılaştırılması

★ p=0.022

+ p=0.015

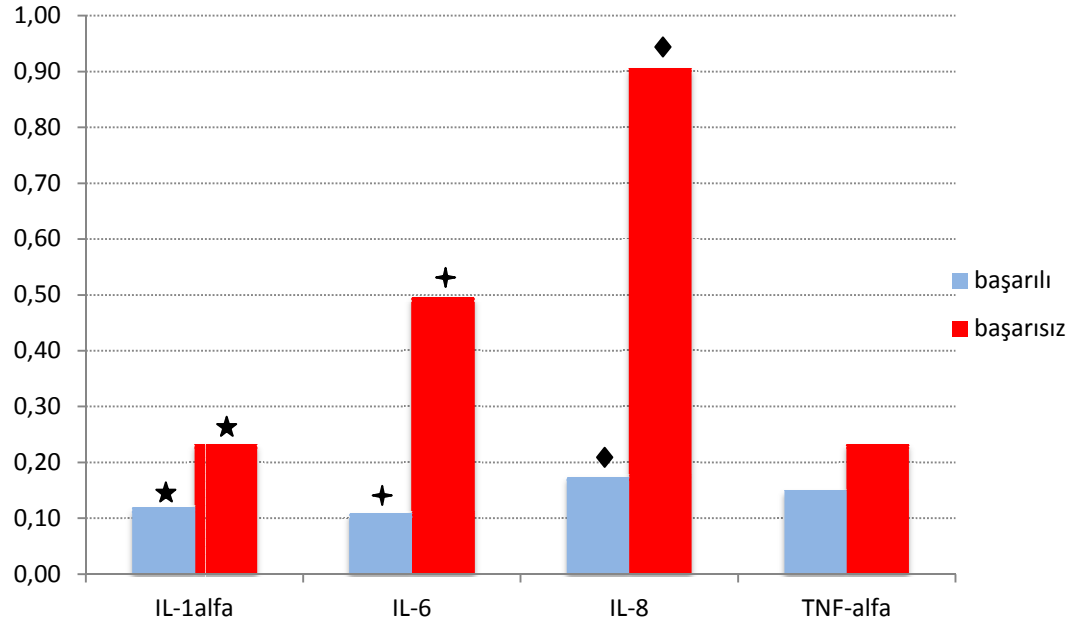
♦ p=0.003

IL-1α, *IL-6* ve *IL-8* düzeyleri irreversibl pulpitisli dişlerde çürük ile perfore olan dişlere göre anlamlı olarak yüksektir. *TNF-α* düzeyinde iki grup arasında anlamlı fark yoktur (Tablo 5 ve Grafik 3).

3.1.3. Enfeksiyon Düzeylerinin Tedavi Başarısına Etkisi

Tablo 6. Tedavi sonucu başarılı ve başarısız olan dişlerde sitokin düzeylerinin karşılaştırılması

	Sitokin Düzeyleri Ortanca / (Min.-Max.)			
	IL-1 α (pg/mg)	IL-6 (pg/mg)	IL-8 (pg/mg)	TNF- α (pg/mg)
Başarılı (n=30)	0.118 (0.029-0.384)	0.106 (0-28.587)	0.173 (0-59.861)	0.15 (0.05-0.78)
Başarısız (n=14)	0.232 (0.053-2.362)	0.496 (0.006-15.969)	0.906 (0-71.429)	0.231 (0.12-0.83)
p<0.05	p=0.031*	p=0.020*	p=0.049*	p=0.064



Grafik 4. Sitokin düzeylerinin başarılı ve başarısız dişlerde karşılaştırılması

★ p=0.031 + p=0.020 ♦ p=0.049

Amputasyon tedavisi yapılmış iki gruptan elde edilen sonuçlardaki başarılı (n=30) ve başarısız (n=14) olan dişler, kullanılan materyal veya tedavi öncesi çürük lezyonunun seviyesi gözlemlenmeden sitokin düzeylerinin belirlenmesi yoluyla karşılaştırılmıştır. Elde edilen sitokin düzeylerinin ortanca değerleri Mann-Whitney U Testi ile analiz edilmiştir (Tablo 6). *IL-1 α* , *IL-6* ve *IL-8* sitokinlerinin düzeyleri tedavisi başarısız olan dişlerde başarılı olan dişlere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0.031$, $p=0.020$ ve $p=0.049$). *TNF- α* düzeyinde başarısız grupta daha yüksek olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.064$) (Tablo 6 ve Grafik 4).

3.2. Amputasyon Materyalleri, Tedavi Başarısı ve Çürük Düzeyi Bağlantısı

3.2.1. Amputasyon Materyallerinin Tedavi Başarısına Etkisi

Amputasyon tedavisi yapılan dişlerin klinik ve radyografik takipleri *Tablo*

7 ve 8'de verilmiştir.

Tablo 7. 3, 6, 12 ve 18 aylarda klinik olarak başarılı ve başarısız olan dişlerin materyal gruplarına göre dağılımını gösteren tablo

	KLİNİK DEĞERLENDİRME							
	3 ay		6 ay		12 ay		18 ay	
	başarılı	başarısız	başarılı	başarısız	başarılı	başarısız	başarılı	başarısız
KH	15 %88.2	2 %11.8	10 %58.8	7 %41.2	7 %41.2	10 %58.8	7 %41.2	10 %58.8
FK	14 %100	-	14 %100	-	14 %100	-	14 %100	-
MTA	14 %100	-	14 %100	-	14 %100	-	13 %100	-
p<0.05	p=0.178		p=0.001*		p=0.000*		p=0.000*	

KH: Kalsiyum Hidroksit, **FK:** Formokrezol, **MTA:** Mineral Trioksit Aggregat

Tablo 8. 3, 6, 12 ve 18 aylarda radyografik olarak başarılı ve başarısız olan dişlerin materyal gruplarına göre dağılımını gösteren tablo

RADYOGRAFİK DEĞERLENDİRME								
	3 ay		6 ay		12 ay		18 ay	
	başarılı	başarısız	başarılı	başarısız	başarılı	başarısız	başarılı	başarısız
KH	13 %76.5	4 %23.5	9 %52.9	8 %47.1	7 %41.2	10 %58.8	7 %41.2	10 %58.8
FK	13 %92.9	1 %7.1	13 %92.9	1 %7.1	11 %78.6	3 %21.4	11 %78.6	3 %21.4
MTA	13 %92.9	1 %7.1	13 %92.9	1 %7.1	13 %92.9	1 %7.1	12 %92.3	1 %7.7
p<0.05	p=0.293		p=0.008*		p=0.008*		p=0.005*	

KH: Kalsiyum Hidroksit, **FK:** Formokrezol, **MTA:** Mineral Trioksit Agregat

3. ayda, klinik olarak KH grubunda 2 diş başarısız bulunmuştur. FK ve MTA gruplarında başarısız olan diş rastlanmamıştır (Tablo 7). Radyografik değerlendirmede KH grubunda 4, FK ve MTA'da birer diş başarısızdır (Tablo 8). Ki Kare testi ile yapılan analize göre materyaller arasında 3. ayda klinik ve radyografik başarı açısından anlamlı fark yoktur (klinik $p=0.178$, radyografik $p=0.293$).

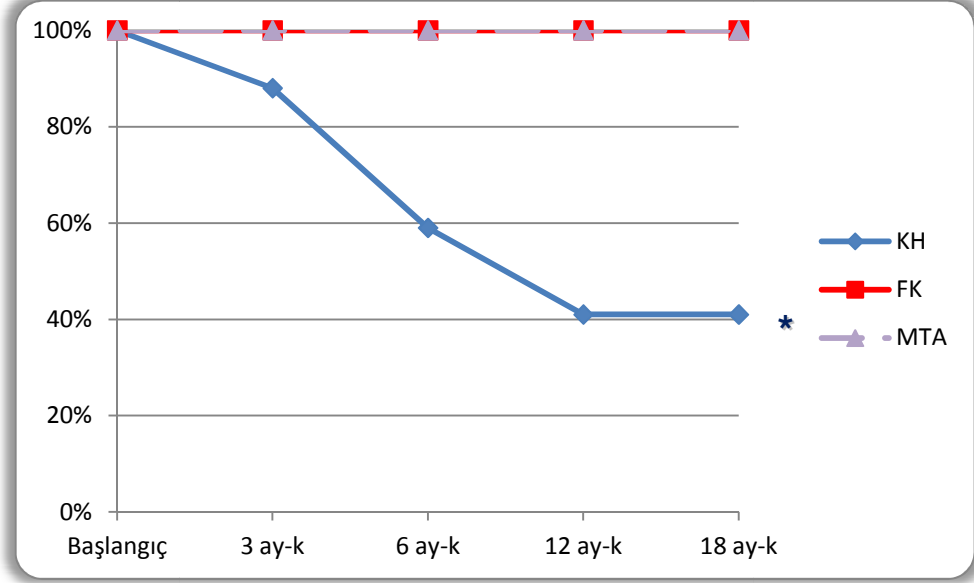
6. ayda, klinik başarı değerlendirildiğinde KH grubunun başarı %58.8'e düşmüştür. Diğer iki grupta klinik olarak başarısız olan diş bulunmamaktadır (Tablo 7). Radyolojik kriterlere göre, KH grubunda 8, FK ve MTA'da birer diş başarısızdır (Tablo 8). Gruplararası başarı oranlarında FK ve

MTA grupları KH grubuna göre istatistiksel olarak daha başarılıdır(klinik $p=0.008$, radyografik $p=0.001$).

12. ayda, klinik olarak KH grubunda 10 adet başarısız diş olduğu, diğer iki grupta başarısızlık olmadığı görülmüştür(*Tablo 7*). Radyografik değerlendirmede FK grubunda başarının düştüğü görülmektedir(%78.6). KH grubunun başarısı istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür(klinik $p=0.000$ radyografik $p=0.005$). MTA ve FK başarısı arasında anlamlı fark yoktur(*Tablo 8*).

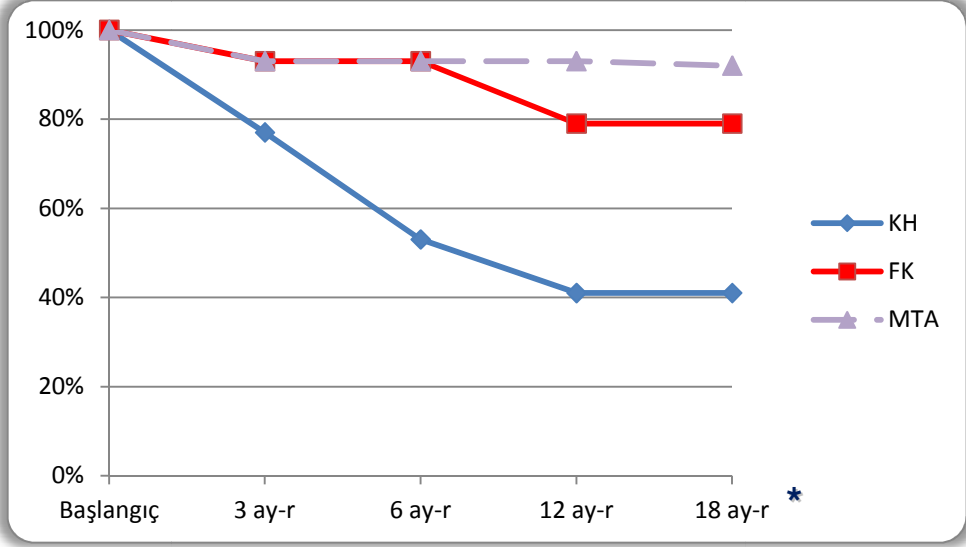
18. ayda, KH grubunun klinik ve radyografik bulgularında değişiklik olmadığı görülmüştür. MTA grubundan 1 hasta kontrole gelmemesi nedeniyle değerlendirilememiştir. 18. ayın sonunda klinik olarak FK ve MTA gruplarında tüm dişler asemptomatiktir (Başarı %100)(*Tablo 7*). Radyolojik kriterlere göre en başarılı materyal MTA (%92.3), ikinci başarılı materyal formokrezol (%78.6), en başarısız materyal kalsiyum hidroksittir (%41.2)(*Tablo 8*).

Amputasyon materyallerinin klinik ve radyografik zaman-başarı performansları şöyledir:



Grafik 5. Amputasyon materyallerinin klinik başarı performansının aylara göre dağılım grafiği* $p=0.000$

Klinik olarak KH grubunun zamanla başarı oranı düşerken, diğer iki materyalin performansında zaman bağlı değişiklik olmamaktadır (*Grafik 5*).



Grafik 6. Amputasyon materyallerinin radyografik başarı performansının aylara göre dağılım grafiği * $p=0.005$

Radyografik olarak materyallerin performansında en belirgin yine KH grubunda görülmektedir. MTA grubunda zaman-başarı performansında 3. aydan sonra bir değişiklik gözlenmezken, FK grubunda performansta 3. aydan sonra 12. ayda ikinci bir düşüş eğilimi görülmektedir (*Grafik 6*).

3.2.2. Çürük Düzeyinin Amputasyon Materyalinin Tedavi Başarısına Etkisi

Materyallerin 18. aydaki radyografik başarı oranları çürük gruplarına göre dağıtılıp Fisher'ın Kesin Testi ile tek yönlü incelenmiştir (*Tablo 9*).

Tablo 9. Materyallerdeki başarı oranlarının çürük gruplarına göre dağılımı

		Başarılı	Başarısız	p
KH	iatrojenik perfore	6 %66.7	3 %33.3	p=0.036*
	çürük ile perfore	1 %12.5	7 %87.5*	
FK	iatrojenik perfore	7 %87.5	1 %12.5	p=0.385
	çürük ile perfore	4 %66.7	2 %33.3	
MTA	iatrojenik perfore	4 %80	1 %20	p=0.385
	çürük ile perfore	8 %100	- %0	

KH: Kalsiyum Hidroksit, **FK:** Formokrezol, **MTA:** Mineral Trioksit Agregat

KH grubunda çürük ile perforasyon durumunda başarının düştüğü görülmektedir. Başarısızlık oranı iatrojenik perforasyonda %33.3 iken çürük ile perfore olan grupta bu oran %87.5'tir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.036$) (*Tablo 9*). FK grubunda çürük ile perforasyonda amputasyon tedavi başarısı iatrojenik perforasyona göre daha düşük

olmakla beraber bu fark anlamlı değildir. MTA grubunda dişin çürük ile perfore olmasının tedavi başarısına etkisi görülmemiştir.

BÖLÜM IV

TARTIŞMA

Çalışmamızın bu bölümünde, araştırmamız ile ilgili genel bilgiler, materyal ve metot tartışıldıktan sonra, bulguların tartışması konunun takibinin kolaylaştırılması amacıyla alt bölümler halinde sunulacaktır.

Derin dentin çürüklü süt dişlerine uygulanan ve başarıya ulaşmış vital pulpa tedavileri, özellikle karışık dişlenme döneminde süt dişlerinin erken kaybının önlenmesine bağlı olarak çenelerin fizyolojik gelişiminde ve genç daimi dişlerin apeksogeneze devam edebilmesi açısından oldukça önem taşır.

Süt dişlerinde vital pulpa tedavilerinin amacı dişin düşme zamanına kadar semptomsuz ve fonksiyonel olarak ağızda kalmasıdır (15). Bu amaçla uygulanan indirekt/direkt kuafaj, parsiyel ve koroner amputasyon tedavilerinin hangisinin tercih edileceğine klinik belirtiler ve radyografik bulgulara göre karar verilir. Literatürde pulpal durumun teşhisi amacıyla tedaviye başlamadan önce, ağrı hikayesi ve ağrının niteliği, klinik muayene bulguları (perküsyon/palpasyon hassasiyetinin, kızarıklık, şişlik ve fistül varlığının olup olmamasına, vitalite testlerine) ve radyografik incelemelerin (lamina dura devamlılığının, interradiküler/periapikal radyolusensinin ve fizyolojik/patolojik kök rezorpsiyonunun olup olmamasına göre değerlendirilmesi) kullanıldığı, tedavi sırasında ise pulpa perforasyonu gerçekleşirse perforasyonun nedeni,

büyüklüğü, kanamanın rengi, kıvamı ve süresi gibi kriterlerin değerlendirildiği görülmektedir (3, 7, 10, 18, 36, 39, 99, 129).

Çocuk hastada ağrı, hassasiyet gibi subjektif kriterlerin kesin teşhis için yeterli olmadığı bilinmektedir. Çocuğun perküsyon muayenesine veya vitalite testlerine yanıltıcı reaksiyon göstermesi, “erken çocukluk dönemi çürüğü” olan hastanın dişi ile ilgili durumu normal kabul etmesi, semptomu tanıyamaması veya arayüz çürüklerinde olduğu gibi septal ağrının pulpal ağrılar ile karıştırılması sık rastlanan durumlardır (6, 99, 129). Süt dişi kron ve kök boylarının kısa olması, koruyucu mine-dentin kalınlığının az olması gibi nedenlerle pulpal ve periapikal abseler çürük kavitesinden ve/veya dişeti cebinden drene olabilmektedir. Bu nedenle süt dişinde derin dentin çürüğü irreversibl pulpal hastalıklara neden olurken kayda değer bir ağrı şikâyeti oluşturmayabilir.

Sitokinler ve kemokinler enfeksiyon ve travma gibi hücrel streslere yanıt olarak hem immün hem de doku hücrelerinden salgılanan güçlü sinyal proteinleridir. Bu moleküller immün ve enflamatuvar yanıtları yönetirler ve özel membran reseptörlerine bağlanarak hedef hücrenin biyokimyasal yanıtlarını ve gen ekspresyonlarını düzenler(22). Yapılan çalışmalarda saptanan sitokinlerin, pulpada gelişmekte olan enflamasyonların karakterleri ve gidişatı hakkında önemli bilgiler edinilmesinde rolü olduğu belirlenmiştir (8, 22, 59, 71, 98, 103). Bu çalışmalar ile klinik olarak semptomatik olan dişlerde pulpal enflamasyonun belirleyicileri saptanmaya çalışılmıştır. Biz de çalışmamızda, incelendiği dokunun enflamasyon düzeyi ile ilgili bilgi veren bazı sitokinlerin seviyeleri ile dişin biyolojik durumu arasındaki ilişkiyi inceledik.

Pulpal enflamasyon patogenezi host defansı ile yaralayıcı stimulanın etkileşimine bağlı olarak çeşitli aşamalardan oluşur. Klinisyenin, tedavi prosedürünü seçerken pulpanın enflamasyondan etkilenme düzeyini reversibl/irreversibl veya parsiyel/total olarak tayin edebilmesi gerekir. Vital pulpa tedavileri uygulanabilmesi için pulpada enflamasyonun reversibl veya parsiyel düzeyde olması istenir (15). Waterhouse'a göre tedavinin başarısı tedavi yapılacak olan dişin doğru seçimine bağlıdır (129).

Özellikle süt dişlerinde, klinik koşullarda reversibl ve irreversibl enflamasyon arasındaki sınırın tespit edilmesi çok zordur ve pulpa enflamasyonunun hangi seviyesine kadar vital pulpa tedavisinin başarılı olacağı kestirilememektedir (15).

Dental literatürde pulpal ve periapikal hastalıkların mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesi amacıyla, sitokinleri araştıran birçok çalışma vardır. Bu çalışmalarda; *IL-1*, *IL-2*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-10*, *IFN-γ* ve *TNF-α* gibi birçok sitokin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda incelendiği görülmektedir. Çalışmamızda, pulpadaki biyolojik durumu objektif ölçümlerle ortaya koyabilmek amacıyla daha önce pulpa patogenezinde rolü olduğu gösterilmiş sitokinlerden *IL-1α*, *IL-6*, *IL-8* ve *TNF-α* seviyeleri incelendi (14, 21, 29, 57, 59, 71, 85, 90, 98, 133). Bu işlemler için pozitif kontrol amacıyla çürüksüz sağlam dişler, deney gruplarında pulpaya ulaşmayan dentin çürüğü olan ve pulpaya ulaşan dentin çürüğü olan fakat irreversibl pulpitis semptomları taşımayan dişler kullanıldı. Negatif kontrol için ise klinik olarak irreversibl pulpitis olduğu tespit edilen süt dişi pulpaları kullanıldı. Tedavi edilen süt dişlerinin 18 ay takibi sonucu tedavi başarısı ile pulpanın biyolojik durumu arasındaki ilişki incelendi.

Çalışmaya dahil edilen dişler, literatürde belirtilen süt dişi vital amputasyon tedavisine uygun kriterler dikkate alınarak, bu kriterlere uygun hastalardan seçildi (18, 60, 88). Aynı zamanda hastaların sitokin seviyelerinin etkilenebileceği düşüncesi ile sistemik bir hastalığı olmaması ve uzun süreli antienflamatuvar kullanmamış olmasına da dikkat edildi (59).

Endodontik tedavilerde dişi tükürükten izole etmek için rubber-dam kullanımı önerilmektedir. Ancak çocuk hastanın diş tedavisi sırasında bu tür komplike aletlerin kullanımı her zaman mümkün olmamaktadır. Literatürde rubber-dam kullanılmayan hastalarda izolasyonun pamuk rulo ve tükürük emici ile gerçekleştirilebileceği belirtilmektedir (111, 129). Bizim çalışmamızda da yaşı küçük hastalarda uyum sağlanamayabileceği düşüncesiyle standardizasyonu sağlayabilmek için izolasyon pamuk rulo ve tükürük emici ile sağlandı.

Pulpal sitokinlerin incelenmesi amacıyla doku örneği almak için literatürde değişik yöntemlerin kullanıldığı görülmektedir. Bu araştırmalardan yaptığımız çalışmaya en benzer çalışma olarak saptayabildiğimiz Waterhouse ve ark.nın amputasyon tedavisi yapılarak tedavi başarısının takip edildiği ve pulpal PGE_2 seviyesinin değerlendirildiği araştırmada, strip emici ile pulpal kan örneği toplanmıştır(129). Bir başka yöntem olarak, pulpa örneğinin incelenmesi amacıyla çekilen dişlerden, dişte vertikal oyuklar açıp keskin bir elevatörle dişin kırılması sonucu pulpa dokusunun elde edildiği görülmektedir (8, 59, 78, 103, 104). Bu yöntemi biz de çalışmamızın ortodontik amaçla çekilmiş çürüksüz dişlerin incelendiği grupta kullandık. Diğer bir yöntem ise, kanal tedavisi yapılması planlanmış dişlerden pulpa örneklerinin elde edilebilmesi amacıyla, giriş kavitesinden ulaşılan koroner

pulpanın ekskavatör ile çıkarılmasıdır (59, 83). Çalışmamızda örnek hacmini arttırabilmek ve koroner pulpanın sitokin seviyelerini tayin edebilmek amacıyla, pulpal tavan kaldırıldıktan sonra keskin bir ekskavatör ile mümkün olduğu kadar atravmatik çalışarak koroner pulpa örneği yukarıdaki araştırmacıların yöntemine uygun şekilde alınmıştır.

Pulpanın biyolojik durumu ile sitokin seviyelerinin ilişkisini inceleyen çalışmalar literatürde geniş yer bulmuştur. Bu çalışmaların bazılarını gerçekleştiren araştırmacılardan Coil, Adachi, Paula-Silva ve Lu sağlıklı diş dokularından elde edilen hücrelerden oluşturulan kültür ortamlarını kullanırken, çalışmaların çoğunda Huang, Pezelj-Ribaric, Kokkas, Rauschenberger, Anderson, McClahan ve McLachlan gibi araştırmacılar kanal tedavisi yapılan veya çekilen dişlerden elde edilen pulpa dokusunu veya pulpal kanı doğrudan incelemişlerdir (2,8, 21, 59, 71, 78,83, 85, 97, 98, 103). Bu çalışmalarda kültür ortamındaki pulpa hücrelerine gerekli muamele yapıldıktan sonra bu hücreler, doğrudan elde edilen pulpa dokusu veya pulpal kan ELISA, RT-PCR veya immünohistokimyasal boyama yöntemlerinden biri ile incelenmiştir. Zhou ve ark.nın enflamatuvar olaylarda sitokin düzeylerinin ölçümü için kullanılan yöntemlerin karşılaştırıldığı gözden geçirmede, ELISA testinin performansının antijen kalitesine, üretici firmanın kitine ve operatörün deneyimine önemli derecede bağlı olması dezavantajına rağmen, ilgili sitokin antijenini yeterli ve güvenilir bir şekilde tespit etmesi nedeniyle standart sitokin ölçüm metodu olarak kabul edildiğini belirtmektedirler (134). Biz de çalışmamızda birçok çalışmada olduğu gibi ELISA yöntemini kullandık. Çift antikor sandviç tekniğinde, kuyucuğun tabanına tutunan antikor hem antijen yakalamayı hem de immün spesifikliği

sağlarken, bir enzime bağlı başka bir antikor tespit etme ve amplifikasyon faktörü olarak görev alır.

FK uzun yıllardır standart amputasyon materyali olarak kullanılmaktadır. Doku fiksasyonu özelliği nedeniyle akut enflame durumdaki radiküler pulpayı kronik enflame halde stabilize eder ve uzun süre semptomsuz kalmasını sağlar (101). Bununla beraber bileşenlerinin kanserojen etkisi bilinmektedir ve bu nedenle alternatif örtüleme materyali arayışı devam etmektedir (40). Alternatif bir örtüleme materyali olan KH'in başarı oranı FK'ün başarı oranına göre düşük olmasına rağmen kalan pulpa dokusunun vitalitesini koruması ve toksik olmaması avantajlarıdır. Araştırmacılar tarafından başarılı bir sonuç alınması için kalsiyum hidroksit kullanımı sağlıklı veya parsiyel kronik pulpitisli dişler ile sınırlandırılması ve internal rezorpsiyonun önlenmesi için pıhtı oluşumunun önüne geçilmesi gerektiği belirtilmektedir (70). MTA son yıllarda sızdırmazlık ve biyouyumluluk özellikleri ile öne çıkan bir materyaldir (107). Yapılan klinik çalışmalarda başarı oranlarının yüksek olması nedeniyle yazarlar tarafından FK'e de alternatif olarak önerilmiştir (82, 88, 89). Çalışmamızda amputasyon tedavisinde kullandığımız örtüleme materyalleri FK, KH ve MTA günümüzde sıklıkla kullanılan ve üzerinde araştırmaların devam ettiği materyallerdir.

4.1. Çürük Düzeyi, Tedavi Başarısı ve Sitokin Düzeyleri Bağıntısının Tartışılması

4.1.1. Çürük Düzeyinin Tedavi Başarısına Etkisinin Tartışılması

Çalışmamızda süt dişi vital amputasyon tedavisi başarısına pulpanın perforasyon şeklinin etkisi, tedavi edilen dişlerin pulpalarındaki sitokin düzeyleri de incelenerek araştırılmıştır. Çalışma gruplarımızdan iatrojenik perforasyon grubunda tedavi başarısı %77.3, çürük ile perforasyon grubunun tedavi başarısı %59.1 olarak bulunmuştur (*Tablo 2*). Her iki çalışma grubuna alınan dişlerin vital amputasyon tedavisi gereksinimleri, literatürde genel olarak kabul gören klinik ve radyografik kriterlere göre belirlenmesine rağmen (7, 18, 60, 88, 89, 99), çürük ile perforasyon grubunun başarı oranında belirgin bir düşüş olduğu görülmektedir. Her ne kadar iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, çürük ile perfore olduğunda pulpanın çoğunlukla enflame olduğu ve enflamasyonun seviyesini belirlemenin zor olduğu görüşüne uygun bir bulgudur (39, 84, 103, 104, 111).

4.1.2. Çürük Düzeyinin Sitokin Düzeylerine Etkisinin Tartışılması

Yukarıda belirtilen görüşü objektif veriler ile sınamak amacıyla bu iki gruptaki dişlerden alınan pulpa örnekleri ELISA testi ile *IL-1 α* , *IL-6*, *IL-8* ve *TNF- α* yönünden incelenmiştir. *TNF- α* düzeyi iatrojenik perforasyon grubunda yüksektir, *IL-1 α* düzeyinde iki grup arasında anlamlı fark yoktur. *IL-6* ve *IL-8* düzeylerinin çürük ile perfore olan grupta anlamlı şekilde yükseldiği saptanmıştır (*Tablo 3* ve *Grafik 1*). Bu iki sitokin ile ilgili çalışmaları göz önünde bulundurarak bizim bulgularımızı değerlendirecek olursak; *IL-6* genel olarak akut faz reaksiyonlarını ve lenfositler dâhil birçok hücre tipinin

diferansiyasyonunu regüle eden bir proenflamatuar sitokindir (121, 122). *IL-6*'nın pulpadaki görevinin anlaşılması amacıyla yapılan dental pulpa kültürü çalışmasında, çeşitli bakteriyel ürünler ile stimüle edilen pulpa fibroblast hücrelerinden *IL-6* salgılandığı, çürüklü veya enfekte pulpalarda yapılan çalışmalarla da enflamatuar durumlarda *IL-6* düzeyinin arttığı gösterilmiştir (14, 21, 85, 133). Özellikle nötrofil akümüasyonu ve aktivasyonu için önemli olan *IL-8*'in, *IL-1 β* ve *TNF- α* varlığında veya bakteriyel LPS stimülasyonu ile indüklendiği ve hastalıklı pulpada upregüle edildiği gösterilmiştir (22). Enfekte ve kanal tedavisi gereksinimi olan dişlerin pulpalarının incelendiği çalışmalarda da *IL-8* düzeyinin sağlıklı pulpalara göre arttığı saptanmıştır (59, 110, 133). McLachlan'ın çürük derinliğine göre pulpal sitokin düzeylerini incelediği çalışmasında, pulpaya 2mm'den daha yakın olan çürüklü dişlerde 2mm'den daha uzak olan çürüklere göre *IL-6*, *IL-8*, *IL-1 β* , *TNF- α* ve başka enflamatuar moleküllerin gen ekspresyonunun anlamlı şekilde yükseldiği gösterilmiştir. Her ne kadar McLachlan'ın çalışmasında çürük ile pulpa perforasyonu söz konusu değilse de, çürük lezyonunu pulpaya yaklaştıkça sitokin düzeylerinin artıyor olması sitokinin enflamasyon ile yakından ilgili olduğunun önemli bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir (85). Çürüğün pulpaya olan mesafesinin pulpanın histolojik görünümü ile ilişkisine bakılan bir başka çalışmada İzumi ve ark, pulpaya 2mm mesafedeki çürüklü dişlerde tüm savunma hücrelerinde özellikle T ve B lenfositlerde anlamlı artış olduğunu göstermişlerdir (62). Bulgularımızda, lenfosit aktivasyonunu arttıran *IL-6*'nın ve nötrofiller için kemoatraktan olan *IL-8*'in çürük ile perfore olan dişlerde iatrojenik perfore olan dişlere göre daha yüksek çıkmasını, pulpal enflamasyonun etkili bir şekilde arttığı şeklindeki yorumumuz, Barkhordar ve

ark, Huang ve ark, İzumi ve ark, ve McLachlan ve ark, Silva ve ark ve Zehnder ve ark.nın çalışmalarındaki sonuçlarla ve yaptıkları yorumlarla uyumlu olduğu görülmüştür (14, 59, 62, 85, 110, 133). Bu bulgular, artış gösteren sitokinler dikkate alındığında çürüğün pulpayı perfore ettiği durumlarda pulpada akut faz reaksiyonlarının başlamış olduğunun önemli bir göstergesi olabilir. *TNF- α* 'nın birçok enflamatuvar olayı tetiklediği, özellikle anti-tümoral immünitede önemli rol oynadığı bilinmektedir. *TNF- α* diş ile diş destek dokularının hastalıklarında ise daha çok periapikal ve periodontal kemik kayıpları ile ilişkilendirilmiştir (33, 45, 100, 115). Literatürde *TNF- α* 'nın pulpadaki seviyesini araştıran, çürüklü dişlerde (57, 85) ve irreversibl pulpitisli dişlerde daha yüksek seviyede olduğunu gösteren çalışmalar vardır (71, 98). Bununla beraber, Nakanishi ve ark.nın 1995 yılında yayınlanan çalışmasında spontan ağrılı enflame dişler ile çürüksüz dişler karşılaştırılmış ve *TNF- α* düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (90). Kokkas ve ark.nın çalışmasında *TNF- α* düzeyinde irreversibl pulpitiste anlamlı artış bulunurken, reversibl pulpitis ile sağlıklı dişler arasında anlamlı fark bulunmamıştır (71). Horst ve ark, McLachlan ve ark ile Kokkas ve ark.nın çalışmaları ve Nakanishi ve ark.nın yaptıkları çalışmaların sonuçlarının *TNF- α* yönünden birbirleriyle uyumsuz olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda da iatrojenik perfore olan dişler ile çürük ile perfore olan dişlerin karşılaştırılmasında *TNF- α* iatrojenik olarak açılan dişlerde daha yüksek bulunmuştur. Literatür sonuçları ve bizim sonuçlarımıza bağlı olarak *TNF- α* ile ilgili bulgular hakkında, bu sitokin pulpa patogenezinde oynadığı rol için kesin bir yorum yapmanın, başka çalışmaların yapılması gerekliliğine bağlı olacağı fikrindeyiz.

Elde edilen sitokin düzeyleri hakkında daha sağlıklı yorum yapabilmek amacıyla; iatrojenik perfore olan grup çekilmiş çürüksüz süt dişleri ile, çürükle perfore olan dişler ise irreversibl pulpitis teşhisi koyulmuş dişler ile ikili olarak karşılaştırılmıştır.

Çürüksüz süt dişleri grubunda ortodontik nedenle çekilen fizyolojik kök rezorpsiyonu 1/3'ten fazla olmayan dişler kullanılmıştır ve iatrojenik perforasyon grubu ile karşılaştırıldığında *IL-1 α* ve *TNF- α* düzeylerinin çürüksüz diş grubunda anlamlı şekilde yüksek olduğu, buna karşın *IL-6* ve *IL-8* düzeylerinin fark göstermediği görülmüştür (Tablo 4). McLachlan ve ark. da çalışmalarında sığ çürüklü dişlerle *IL-6* ve *IL-8* düzeylerinde değişiklik olmadığı görülmüştür (85). Yaptığımız çalışmada *IL-1 α* ve *TNF- α* düzeylerinin çürüksüz diş grubunda yüksek olması, Horst ve ark, Kokkas ve ark, McLachlan ve ark, Nakanishi ve ark ve Zehnder ark.nın yaptıkları çalışmalarda gösterdikleri bulgularla uyumlu değildir (57, 71, 85, 90). Ancak bu çalışmalarda kullanılan çürüksüz dişlerin daimi diş olması, bizim çalışmamızda ise kökün 1/3'ü düzeyinde fizyolojik kök rezorpsiyonu olan süt dişlerinin kullanılmış olmasının bu sonuçlarda etkili olmuş olabileceği düşüncesindeyiz. *IL-1* ve *TNF- α* büyük miktarda makrofajlardan ve keratinosit, fibroblast, osteoklastlar gibi birçok hücre tipinden üretilir. Kemik rezorpsiyonun yanı sıra *IL-1* ve *TNF- α* 'nın periapikal doku yıkımı ile uyumlu birçok ortak aktivitesi vardır. *IL-1 α* , *IL-1 β* , *TNF- α* , *TNF- β* , *IL-6* ve *IL-11* kemik rezorpsiyonu aktivitesinden sorumludur ve toplu olarak osteoklast aktive edici faktör olarak adlandırılır(115). *IL-1 α* 'nın birçok fonksiyonunun yanı sıra özellikle endotel hücrelerinde hücre yaşlanması ile ilişkisini gösteren çalışmalar da vardır. Genelde dolaşımda ve vücut sıvılarında bulunmayan *IL-*

1α ölmekte olan hücreler tarafından da salgılanabilmektedir (26). *IL-1α* ve *TNF-α* süt dişlerinde fizyolojik rezorpsiyon mekanizmalarında da etkilidir. Süt dişi fizyolojik rezorpsiyonunun erken aşamasında bile pulpadaki immüno-komponent hücrelerinde artış olduğu histolojik olarak gösterilmiştir (9). Fizyolojik rezorpsiyon dönemindeki süt dişi periodontal dokularında yapılan çalışmalarda ise, *IL-1α*, gelişmekte olan daimi dişin folikül epitelinden salgılanarak monositleri harekete geçirdiği, *TNF-α*'nın da zayıflamış olan süt dişi periodontal ligament hücrelerinden salgılanarak RANK/RANKL reseptör ligand sisteminin devreye girmesini ve monosit ve makrofajların aktive odontoklastlara dönüşmesini tetiklediği gösterilmiştir (52). Yıldırım ve ark. *TNF* süper ailesinden *RANKL* molekülünün kök rezorpsiyonu olan süt dişi pulpalarında mRNA ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir (131). *TNF-α* ve *RANKL* molekülleri periapikal lezyonlu dişlerden alınan örneklerde sağlıklı örneklere göre daha yüksek seviyede bulunmuştur ve birbirleri ile pozitif korelasyon göstermektedirler (86). Tüm bu çalışmalarda *IL-1α* ve *TNF-α* düzeylerinin fizyolojik kök rezorpsiyonu ile ilişkisi olduğunun belirtilmesi, bizim çalışmamızdaki fizyolojik kök rezorpsiyonlu çürüksüz dişlerde *IL-1α* ve *TNF-α* düzeylerinin yüksek bulunmasını açıklayan bulgulardır.

Çürükle perfore olan dişler irreversibl pulpitis teşhisi koyulmuş olan dişlerle karşılaştırıldığında, *IL-1α*, *IL-6* ve *IL-8* düzeyleri irreversibl pulpitis grubunda yüksek bulunmuştur. *TNF-α* düzeyinde iki grup arasında anlamlı fark yoktur (Tablo 5). Literatürde sitokinlerin pulpal patogeneze yönelik çalışmalarda genellikle irreversibl pulpitisli dişler ile sağlıklı dişlerin pulpaları karşılaştırılmaktadır. Bu çalışmalarda *IL-1β*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-18*, *TNF-α*, *CXCL-10*, *PGE₂* gibi sitokinler enflame pulpada sağlıklı pulpaya göre daha yüksek

olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (2, 14, 59, 71, 85, 98, 110, 129, 133). Bu çalışmalardan Barkhordar, Huang, Silva ve Zehnder enfekte pulpalar ile sağlıklı pulpaları karşılaştırarak *IL-6* ve *IL-8* düzeylerinin enfeksiyon durumunda arttığını göstermişlerdir (14, 59, 110, 133). Araştırmacıların bu bulguları *IL-6* ve *IL-8*'in pulpal enfeksiyonların gösterilmesinde önemli bir gösterge olduğu düşüncesini desteklemektedir. Bizim çalışmamızdaki irreversibl pulpitisli dişler ile çürükle perforasyon olan dişlerin karşılaştırılmasında *IL-6* ve *IL-8* düzeylerinin yüksek bulunması, literatürdeki araştırmacıların bulguları ile uyumludur. Dental literatürde *IL-1α* ile ilgili çalışmalar genellikle kemik rezorpsiyonu ve periodontal hastalıklar ile ilişkilidir. Az sayıdaki pulpa çalışmalarında Nakanishi ve Zehnder enflamasyon pulpalarda *IL-1α* düzeyini daha yüksek bulmalarına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptayamamışlardır (90, 133). D'Souza ve ark 1989 yılında yaptıkları çalışmada pulpadaki enflamatuar olaylardan *IL-1*'i sorumlu tutmuşlardır (29). *IL-1α*'nın lokal enflamasyon olaylarında damarsal adezyonu arttırdığı, makrofajlara etki ederek lökosit aktivasyonunu artırıcı kemokinlerin salgılanmasını sağladığı, yüksek konsantrasyonda ateşe yol açtığı bilinmektedir. Çalışmamızda *IL-1α* düzeyinin irreversibl pulpitisde yüksek bulunması *IL-1α*'nın bu özellikleri ile de uyumludur.

4.1.3. Enfeksiyon Düzeyinin Tedavi Başarısına Etkisinin Tartışılması

Enfeksiyon düzeyinin, süt dişlerine yapılan vital amputasyon tedavisinin başarı oranına etkisini incelemek amacıyla, çalışma gruplarımızda tedavi edilen tüm dişlerden, tedavisi başarılı olanlar ile başarısız olanların

pulpal sitokin düzeyleri karşılaştırıldı. Bu karşılaştırmada dişlerin hangi materyal ile tedavi edildiği dikkate alınmadan, pulpanın biyolojik durumunun tedavi sonucuna etkisi araştırılmaya çalışılmıştır. Başarısız olan dişlerdeki *IL-1α*, *IL-6* ve *IL-8* düzeyleri başarılı dişlere göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (*Tablo 6*). Literatürde amputasyon tedavisi uygulanan dişlerden örnek alınarak inceleme yapılan ve bu incelemenin sonucu ile tedavi başarı sonucunu karşılaştıran bir adet çalışmaya rastlanmıştır. Waterhouse ve ark.nın 2002 yılında yayınladıkları süt dişi vital amputasyon çalışmasında, bizim çalışmamıza benzer şekilde amputasyon tedavisi başarı oranı ile pulpal *PGE₂* düzeyi arasındaki ilişki araştırılmıştır (129). Araştırmacıların çalışmasında tedavi sırasında koroner pulpası çıkarılan dişlerin radiküler pulpalarından gelen pulpal kandan örnek alınarak EIA (Enzyme Immunoassay) yöntemi ile inceleme yapılmıştır. KH veya FK ile tedavi edilen dişler 24 ay takip edilmiş ve tedavi başarısı ile *PGE₂* seviyesinin ilişkisi değerlendirilmiştir. Başarısız olan dişlerde *PGE₂* seviyesinin başarılı dişlere göre anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar yapılacak ileri çalışmalar ile *PGE₂* için bir eşik değer saptanabilmesi halinde, süt dişlerinde irreversibl olarak enfekte olmuş pulpanın teşhisinde kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda da tedavide başarısız olan dişlerdeki *IL-1α*, *IL-6* ve *IL-8* düzeylerindeki anlamlı yükseklik, pulpada başlamış ve irreversibl enflamatuar gelişmeye doğru giden biyolojik durumun, tedaviyi başarısızlığa yönlendirmesinin ana nedeni olduğu kanısındayız.

4.2. Amputasyon Materyalleri, Tedavi Başarısı ve Sitokin Düzeyleri Bağıntısının Tartışılması

4.2.1. Amputasyon Materyallerinin Tedavi Başarısına Etkisinin Tartışılması

Çalışmamızda amputasyon materyali olarak kullanılan KH (%41,2), FK (%78,6) ve MTA'nın (%92,3) başarıları literatür ile uyumlu sonuçlar vermiştir(*Tablo 8*). Moretti ve ark.nın pulpal dejenerasyon belirtisi göstermeyen çürükle perfore vital pulpalı süt molar dişlerde MTA, FK ve KH kullanarak amputasyon tedavisi uyguladıkları çalışmalarında MTA ve FK'ün başarı oranları aynı (%100), KH'in başarı oranı ise 5/15 (%33) olarak tespit edilmiştir (88). Farsi ve ark.nın çalışmasında MTA uygulanan dişlerde amputasyon başarıları %100 iken, FK %86.8 başarı göstermiştir ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (36). Literatürde genellikle MTA, FK ile benzer veya daha üstün başarı göstermektedir. Buna ek olarak, FK'ün toksisitesi hakkındaki şüpheler nedeniyle MTA, FK'e alternatif amputasyon materyali olarak gösterilmektedir (3, 32, 36, 54, 89). Bizim çalışmamızda da MTA, FK'e göre daha başarılı bulunmuştur.

KH, vital amputasyon tedavisinde pulpanın canlılığını korumak ve sert doku yapımı indüklemek amacıyla kullanılan ilk materyaldir. Süt dişi vital amputasyon tedavilerinde başarı oranının %33 ile %88 arasında değiştiği görülmektedir (5, 60, 111, 112, 128). KH amputasyonunun başarısında, kalan pulpa dokusunun enflamasyon düzeyi ve amputasyon alanında kalın pıhtı oluşumunun yanı sıra, oluşan dentin bariyerindeki tünel defektleri başarıyı etkileyen faktörler olarak belirtilmektedir(23, 108). Cox ve ark.nın 1996

yılında maymun dişleri üzerine yaptığı histolojik çalışmada, BI V kavitesi açılan sağlıklı, çürüksüz dişler $\text{Ca}(\text{OH})_2$ preparatı ile örtülenmiş ve 14 gün, 5 hafta, 1 ve 2 yıl sonra incelenmiştir. İnceleme sonucunda oluşan dentin köprülerinin %89'unda tünel defektleri olduğu ve materyalin çoğunun 6 ay sonra restorasyonun altında boşluk kalacak şekilde uzaklaştığı görülmüştür. Araştırma sonucuna göre dentin köprüsü oluşumu pulpanın hermetik bir şekilde kapanmasını sağlamamaktadır (23). Faraco ve ark da benzer bir çalışmayı köpek dişlerinde gerçekleştirmiş ve benzer sonuçlara ulaşmıştır. MTA ve KH'in karşılaştırıldığı histolojik çalışmada, MTA uygulanan tüm dişlerde dentin köprüsünün olduğu ve bazı örneklerde ince bir nekrotik tabaka olduğu gözlenmiştir. Nekrotik tabaka varlığının aynı KH'te olduğu gibi materyalin bazik pH'ından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (34). Yapılan rat çalışmalarında bağ dokusunda MTA ve KH'in benzer yapıda kalsiyum granülleri oluşumunu sağladığı gösterilmiştir (56). Bu çalışmalar, MTA'nın etki mekanizmasının KH ile aynı olduğu düşüncesini güçlendirmektedir. Aynı etki mekanizmasına sahip olmasına rağmen MTA'nın daha üstün klinik sonuçlar vermesinin, MTA'nın çok iyi olan örtüleme özelliği ile bakteri geçişine engel olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (34). Bu da MTA'nın süt dişi vital amputasyon tedavilerinde tercih edilebilecek bir materyal olduğunu düşündürmektedir.

4.2.2. Çürük Düzeyinin Amputasyon Materyalinin Tedavi Başarısına Etkisinin Tartışılması

Yaptığımız çalışmada materyal başarısı, pulpanın açılım şekline göre incelendiğinde ise KH başarısında iatrojenik açılan dişler ile çürükle açılan dişler arasında anlamlı fark olduğu görülmektedir (*Tablo 9*). Bu sonuç

Sönmez ve Durutürk'ün çalışmasının sonuçları ile uyumludur. 2008 yılında yayınlanan çalışmada, KH amputasyonu yapılan süt molar dişler üç gruba ayrılmıştır (Grup I: mekanik olarak perfore olan, Grup II: çürük ile iğne ucu kadar açılan ve Grup III: çürük ile geniş açılım olan dişler). 12 ay takip sonunda mekanik olarak perfore olan dişler ile çürük ile geniş açılım olan dişlerin başarı oranları arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür (%88,5 ve %65,5). Başarı oranları arasındaki farklılığın, pulpadaki geniş çürük teması sonucu gelişen enfeksiyona bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında daha küçük açılım olan grubun başarısı ile diğer gruplar arasında fark yoktur, küçük açılım olan grubun başarısı çürük ile geniş açılım olan gruba göre daha yüksektir. Araştırmacılar bu sonuçlara göre çürük ile perforasyon boyutu azaldıkça pulpal enflamasyonun koronalde sınırlı olma ihtimalinin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızın gerek klinik ve radyografik başarı yüzdeleri gerekse grupların sitokin seviyeleri göz önüne alındığında, Sönmez ve Durutürk'ün çalışması ile uyumlu olduğu görülmektedir (111).

Çalışmamızda KH amputasyonu yapılan dişlerden iatrojenik açılım grubunda olanlarda başarı %66,7 iken, çürükle perfore olan dişlerde başarı %12,5'tir. Bu oranlar FK'de %87,5 ve %66,7, MTA'da ise %80 ve %100 olarak bulunmuştur. KH ile yapılan amputasyon tedavisinde vital pulpa dokusunda reparatif dentin yapımını indüklediği ve pulpanın canlılığını koruduğu bilinmektedir. Kalsiyum hidroksit bazik pH'ı nedeniyle pulpa dokusunda yüzeysel bir nekroz oluşturur ve alttaki pulpa dokusunda hafif düzeyde bir akut enflamasyon başlatır (61). KH'in terapötik etki göstermesi için geride kalan dokunun kronik enflame olmaması gerektiği bildirilmiştir (70). Materyallerden sadece KH'in enfeksiyon durumundan etkilenmesi KH'in

pulpaya olan biyolojik etkisi ile açıklanabilir. Ingle ve Koch'un belirttiği gibi kalan radiküler pulpada klinik olarak tespit edilemeyen bir kronik enflamasyon olması KH başarısını düşürüyor olabilir. Başarı oranlarındaki bu farklılıklarda en önemli kriterlerden birinin materyallerin pulpayı örtülemelerindeki stabilizasyon farklılığı olduğu kanısındayız. Başarı oranı en yüksek olan MTA'nın pulpayı örtülmesi ve dayanıklılığı KH'e göre çok daha başarılıdır. Bizim çalışmamızda FK uygulanan grupta başarı oranı çürükle perfore olan grupta iatrojenik perfore olan grubu göre daha düşük olmasına rağmen farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olmasını FK amputasyonunun çürüğün pulpaya olan etkisinden düşük düzeyde etkilendiği şeklinde yorumladık. FK'ün etken maddesi olan formaldehit güçlü bir fiksatif ve uygulandığı dokunun metabolik olarak uzun süre stabil kalmasını sağlar (70). Formokrezol pulpada var olan akut enflamasyonu kronik hale getirir ve pulpa tekrar enfekte olmadığı sürece asemptomatik kalır (15, 70, 111). Çalışmamızda iatrojenik açılım ve çürükle açılım gruplarında MTA grubunda görülen yüksek başarı oranı, çürükle perfore olan pulpanın belli düzeye kadar enfekte olmuş olma olasılığına rağmen, ortamın iyi korunarak tekrar enfekte olmasının önlenmesine bağlanmıştır. Çürükle perfore olan ve MTA uygulanan dişlerde başarısızlık görülmemiştir. Buna ek olarak MTA uygulanan ve başarısız olduğu görülen tek olgu iatrojenik perforasyon grubuna dahildir. Aeinehchi ve ark'nın MTA ile KH'in pulpal reaksiyonlarının histolojik olarak araştırılması ile ilgili çalışması da göstermektedir ki; MTA, uygulandığı pulpa dokusunda KH'e göre daha hafif ve kısa süreli enflamasyon meydana getirmektedir (4). Bu durum, pulpada oluşan enflamasyonun geriye dönüşümünde MTA'ya avantaj sağlıyor anlamına gelebilir. Bu avantajın,

materyalin dentin dokusuna uyumunun iyi olması ve sızdırmazlığın iyi sağlanmasına bağlı olduğunu düşünüyoruz. Bu düşüncelerimiz, Aeinehchi ve ark, Holland ve ark ve Lee ve ark.nın çalışmalarında belirttikleri MTA'nın üstün sızdırmazlık özelliği sekonder enfeksiyonların eklenmesine engel olduğu ve KH'e benzer etki mekanizması ile sert doku oluşumunu indüklediği düşünceleri ile paraleldir (4, 56, 77).

Çalışmamızın bulguları genel olarak değerlendirildiğinde, çürük ile perfore olan pulpanın enflame olma olasılığının arttığı, pulpanın biyolojik durumunun klinik semptomlar ile tam olarak belirlenebilmesinin zor olduğu görülmektedir. Pulpadaki biyolojik durum ancak proenflamatuar sitokinlerin incelenmesi ile değerlendirilebilmiştir. *IL-6* ve *IL-8*'in, iatrojenik perforasyona göre çürükle perfore olan dişlerde, çürükle perfore olan dişlere göre irreversibl pulpitisli dişlerde ve tedavisi başarılı olan dişlere göre başarısız olan dişlerde yüksek çıkması, bu iki sitokinin lokal enflamatuar olayların belirteci olabileceğini göstermektedir. *IL-1 α* ise irreversibl pulpitisli dişler ile tedavisi başarısız olan dişlerde yüksek bulunmuştur. Bu durum *IL-1 α* 'nın pulpal enflamasyonlarda enfeksiyonun ileri düzeylerinde etkili olduğunu düşündürmektedir. Bununla beraber, *IL-1*'in enflamasyonun başlangıcında vasküler adezyonu arttırdığı ve prekürsör formunun da enflamasyonun çeşitli aşamalarında rol aldığı bilinmektedir. Ayrıca enflamatuar olaylarda pek çok kontrol edilemeyen faktörün de rolünün olduğu dikkate alınmalıdır. Literatürdeki pulpal enfeksiyon ve sitokin düzeyleri ilişkisi çalışmalarında, pulpal patogeneze ile ilgili immün mekanizmalar açıklanmaya çalışılmaktadır. Bu çalışmalar, pulpal immün mekanizmalar ile ilgili pekçok bilgi elde edilmesine imkan sağlamakla beraber henüz klinikte teşhis koymaya yardımcı bir araç haline gelememiştir.

Pulpada gerçekleşen enflamatuar ve immünolojik olayların açıklanmasında daha çok örnek sayısı ve farklı sitokinlerle yapılacak olan bu tür çalışmaların faydalı olacağı g r ş ndeeyiz.

Günümüzde vital amputasyon tedavisinde kullanılacak materyal seçimi tartışmaları henüz sonuçlanmamıştır. Pekçok alışma gibi bizim alışmamızda MTA ve FK birbirlerine yakın başarı performansı sergilemişlerdir. Bu iki materyalden MTA, pulpanın canlılığını koruması, biyoyumluluğu ve toksik olmaması ile öne çıkmaktadır. MTA'nın tedavi yapılacak olan dişin perforasyon çeşidinden etkilenmediği görülmektedir. Aynı durum FK için de söz konusu olsa da, FK' n bu özelliği literatürde doku fiksatif olması ile ilişkilendirilmektedir. KH'in başarısı için pulpada ancak çok sınırlı bir enflamasyon olması gerektiği bizim çalışmamızda da görülmüştür.

BÖLÜM V

SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Pulpada oluşan enfeksiyonun düzeyi amputasyon tedavisinin başarı düzeyini etkilemektedir. Bu durum tedavisi başarısız olan dişlerde *IL-1 α* , *IL-6* ve *IL-8* düzeylerinin yüksek olduğunun gösterilmesi ile ortaya konmuştur.
2. Çürükle perfore olan süt dişlerinde pulpal *IL-6* ve *IL-8* düzeylerinin iatrojenik perfore olan dişlere göre anlamlı düzeyde daha yüksek olması çürükle perfore olan dişlerde enflamasyon daha ileri aşamada olduğunu gösterir.
3. Çürükle perfore olan dişlerde tedavi başarısı, örtüleme materyaline bağlıdır.
4. İrreversibl pulpitisli dişlerde *IL-1 α* , *IL-6* ve *IL-8* düzeyleri yükselmektedir. *IL-6* ve *IL-8* irreversibl pulpal enflamasyonun belirteci olarak kullanılabilir.
5. *TNF- α* 'nın fizyolojik kök rezorpsiyonun ile ilgisini değerlendiren çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. Süt dişlerine uygulanan vital amputasyon tedavisinde örtüleme materyali olarak kullanılan MTA ve FK'ün başarı oranları benzer ve KH'e göre daha iyidir.
7. MTA en başarılı materyal olarak bulunmuştur. MTA, pulpal enflamasyonun koronalde sınırlı olduğu düşünölen çürökle perfore olmuş dişlerde de güvenle kullanılabilir.
8. MTA'nın kimyasal özellikleri KH'e benzer olmasına rağmen, üstün fiziksel özelliklerine bağlı olarak daha başarılıdır.
9. KH amputasyon tedavisinde çürökle perfore olan dişlere uygulandığında başarısız olmaktadır.

BÖLÜM VI

ÖZET

Tedavisi Planlanmış Vital Süt Dişi Pulpalarındaki Enflamasyonun Sitokin Düzeyleri Yardımıyla Belirlenmesi

Vital amputasyon tedavisi sonrası görülebilen bazı olumsuzlukların ortaya çıkmasının nedenlerinden biri tedavi sırasında pulpadaki biyolojik durum ve pulpanın enfeksiyondan etkilenme derecesidir. Son yıllarda çeşitli biyolojik durumlardaki pulpalarda sitokinler incelenerek sitokin seviyeleri ile klinik teşhis arasında objektif verilere dayanan bir ilişki kurulmaya çalışılmaktadır.

Çalışmamızda üç farklı vital amputasyon tedavisi (Ca(OH)_2 , Formokrezol, MTA) uyguladığımız, çürüğün pulpaya ulaşmadığı (iatrojenik perforasyon) ve ulaştığı (çürükle perforasyon) toplam 47 süt dişinden alınan pulpa örneklerindeki *IL-1 α* , *IL-6*, *IL-8* ve *TNF- α* düzeylerini saptayarak, tedavinin başarısıyla olan ilişkisini göstermeye çalıştık. Çürüksüz ve irreversibl pulpitisli süt dişlerini pozitif ve negatif kontrol grubu olarak kullandık. Toplam 76 diştten elde edilen pulpa örnekleri eppendorf tüplerindeki PBS içinde -80°C'de saklandı. Örnekleri sitokin düzeyleri ELISA testi yardımıyla belirlendi. Çalışma gruplarındaki amputasyon tedavisi yaptığımız dişler 18 ay boyunca klinik ve radyografik olarak takip edildi.

Bulgularımıza göre, çürükle perfore olan grupta başarı düzeyi iatrojenik perfore olan gruba göre düşük olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Kullanılan materyaller başarı sırasına göre MTA (%92,3), Formokrezol (%78,6) ve Ca(OH)_2 (%41,2) olarak bulunmuştur. Ca(OH)_2 başarısı çürükle perfore olan dişlerde anlamlı olarak düşüktür. Çürükle perfore olan dişlerin *IL-6* ve *IL-8* düzeyleri iatrojenik perfore olan gruba göre yüksektir. *TNF-α* düzeyi iatrojenik olan dişlerde yüksektir. Materyal çeşidi gözetilmeksizin başarısız olan dişler değerlendirildiğinde, *IL-1α*, *IL-6* ve *IL-8* düzeylerin başarılı olan dişlere göre yüksektir.

Sonuç olarak, çürükle perforasyon pulpadaki enflamasyon düzeyini arttırmakta ve bu durum özellikle Ca(OH)_2 amputasyonu uygulandığında başarısızlığa yol açmaktadır. MTA, FK'e göre daha başarılıdır ve alternatif bir amputasyon materyali olabilir.

Anahtar Kelimeler: Vital amputasyon, MTA, Formokrezol, Kalsiyum hidroksit, *IL-1α*, *IL-6*, *IL-8*, *TNF-α*, sitokinler

ABSTRACT

Evaluation of Inflammation by Cytokine Levels on Vital Primary Teeth Pulps

Dental pulp's biological status and the interference of infection to pulp are some of the failure causes of vital pulp therapy. In recent years, the researchers are investigating the relationship between pulp status and clinical symptoms via detecting pulpal cytokine levels.

In our study, we've performed three different vital pulp therapy methods ($\text{Ca}(\text{OH})_2$, Formocresol, MTA) to mechanically(MExp) and cariously(CExp) exposed primary molar teeth. We've harvested pulp samples from these teeth, intact primary molars (positive control) and irreversible infected primary molars (negative control). Totally 76 pulp sample have stored at -80°C until ELISA analysis to detect the *IL-1 α* , *IL-6*, *IL-8* and *TNF- α* levels. The teeth with vital pulp therapy have followed up clinically and radiographically for 18 months. We've investigated the relationship between the success rates of pulpotomy treatment and cytokine levels.

After 18 months follow-up the success rates of materials were 92.3%, 78.6% and 41.2% for MTA, formocresol and $\text{Ca}(\text{OH})_2$ respectively. According to our results, the success rate of CExp teeth was lower than the MExp teeth. However the difference wasn't statistically significant. The difference was significant when the pulpotomy agent is considered. The difference between

CExp and MExp teeth were significant in Ca(OH)_2 pulpotomy treatment group. The *IL-6* and *IL-8* levels were significantly higher in CExp teeth than MExp teeth without any consideration to pulpotomy materials. *TNF- α* level was higher in MExp teeth. The *IL-1 α* , *IL-6* and *IL-8* levels in unsuccessful teeth were higher than the successful teeth.

As a result, the pulpal inflammation increases when the carious lesion expose the pulp and that situation effects the success rate of treatment especially in Ca(OH)_2 pulpotomy treatment. MTA can be used as an alternative pulpotomy agent to Formocresol.

Keywords: Pulpotomy, MTA, Formocresol, Calcium Hydroxide, *IL-1 α* , *IL-6*, *IL-8*, *TNF- α* , cytokines

BÖLÜM VII

KAYNAKLAR

1. Abbas AK, Lichtman AH. Temel İmmünoloji. 1. baskı. İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2007; sf:1-20, 21-32, 41-45, 95-99.
2. Adachi T, Nakanishi T, Yumoto H, Hirao K, Takahashi K, Mukai K, et al. Caries-related bacteria and cytokines induce CXCL10 in dental pulp. J Dent Res. 2007;86(12):1217-22.
3. Aeinehchi M, Dadvand S, Fayazi S, Bayat-Movahed S. Randomized controlled trial of mineral trioxide aggregate and formocresol for pulpotomy in primary molar teeth. Int Endod J. 2007;40(4):261-7.
4. Aeinehchi M, Eslami B, Ghanbariha M, Saffar AS. Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp-capping agents in human teeth: a preliminary report. Int Endod J. 2002;36:225-231.
5. Alaçam A, Odabaş ME, Tüzüner T, Baygın Ö. Clinical and radiographic outcomes of calcium hydroxide and formocresol pulpotomies performed by dental students OOOOE. 2009;108(5):e127-33.
6. Alaçam T. Endodonti. 2. baskı Ankara. Barış Yayınları. 2000; sf: 35, 45-56, 134, 387-393, 693-714.

7. American Academy of Pediatric Dentistry, Guideline on pulp therapy for primary and immature permanent teeth. *Pediatr Dent*. 2008-2009;30(7 Suppl):170-4.
8. Anderson LM, Dumsha TC, McDonald NJ, Spitznagel JK Jr. Evaluating IL-2 levels in human pulp tissue. *J Endod*. 1997;23(6):366-70.
9. Angelova A, Takagi Y, Okiji T, Kaneko T, Yamashita Y. Immunocomponent cells in the pulp of human deciduous teeth. *Arch Oral Biol*. 2004;49(1):29-36.
10. Bahrololoomi Z, Moeintaghavi A, Emtiazi M, Hosseini G. Clinical and radiographic comparison of primary molars after formocresol and electrosurgical pulpotomy: a randomized clinical trial. *Indian J Dent Res*. 2008;19(3):219-23.
11. Balkwill FR, Burke F. The cytokines network. *Immunol Today*. 1989;10(9): 299-304.
12. Balto K, Sasaki H, Stashenko P. Interleukin-6 deficiency increases inflammatory bone destruction. *Infect Immun*. 2001;69(2):744-50.
13. Barkhordar RA, Ghani QP, Russell TR, Hussain MZ. Interleukin-1beta activity and collagen synthesis in human dental pulp fibroblasts. *J Endod*. 2002;28(3):157-9.
14. Barkhordar RA, Hayashi C, Hussain MZ. Detection of interleukin-6 in human dental pulp and periapical lesions. *Endod Dent Traumatol*. 1999;15(1):26-7.

- 15.** Bergenholtz G, Horsted-Bindslev P, Reit C, editors. Textbook of Endodontology. 1st ed. UK: Blackwell Munksgaard; p:32-35, 92-104; 2003.
- 16.** Beutler B, Cerami A. The Biology of cachectin/TNF- α primary mediators of the host response. *Annu Rev Immunol.* 1998;7:625-655.
- 17.** Bidwell J, Keen L, Gallagher G, Kimberly R, Huizinga T, McDermott MF, et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes Immun.* 1999;1(1):3-19.
- 18.** Caicedo R, Abbott PV, Alongi DJ, Alarcon MY. Clinical, radiographic and histological analysis of the effects of mineral trioxide aggregate used in direct pulp capping and pulpotomies of primary teeth. *Aust Dent J.* 2006;51(4):297-305.
- 19.** Carrotte PV, Waterhouse PJ. A clinical guide to endodontics--update part 2. *Br Dent J.* 2009;206(3):133-9.
- 20.** Cengiz T. Endodonti. 4. baskı. Barış Yayınları 1996; sf: 138-148.
- 21.** Coil J, Tam E, Waterfield JD. Proinflammatory cytokine profiles in pulp fibroblasts stimulated with lipopolysaccharide and methyl mercaptan. *J Endod.* 2004;30(2):88-91.
- 22.** Cooper PR, Takahashi Y, Graham LW, Simon S, Imazato S, Smith AJ. Inflammation-regeneration interplay in the dentine-pulp complex. *J Dent.* 2010;38(9):687-97.
- 23.** Cox CF, Sübay RK, Ostro E, Suzuki S, Suzuki SH. Tunnel defects in dentin bridges: their formation following direct pulp capping. *Oper Dent.* 1996;21(1):4-11.

24. Çehreli ZC, Çetingüç A, Cengiz SB, Altay AN. Clinical performance of pulpotomized primary molars restored with resin-based materials. 24-month results. *Am J Dent*. 2006;19(5):262-6.
25. Dean JA, Mack RB, Fulkerson BT, Sanders BJ. Comparison of electrosurgical and formocresol pulpotomy procedures in children. *Int J Paediatr Dent*. 2002;12(3):177-82.
26. Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:519-50.
27. Dinarello CA. The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clin Exp Rheumatol*. 2002 Sep-Oct;20(Suppl 27):S1-13.
28. Dommisch H, Winter J, Açil Y. Human β -defensin (hBD-1, -2) expression in dental pulp. *Oral Microbiol Immunol*. 2005;20:163-6.
29. D'Souza R, Brown LR, Newland JR. Detection and characterization of interleukin-1 in human dental pulps. *Arch Oral Biol*. 1989;34(5):307-13.
30. Duff GW. Cytokines and anticytokines. *Br J Rheumatol*. 1993;32(suppl 1):15-20.
31. Durand SH, Flacher V, Rome'as A. Lipoteichoic Acid Increases TLR and Functional Chemokine Expression while Reducing Dentin Formation in In Vitro Differentiated Human Odontoblasts. *J Immunol*. 2006;176(5):2880-7.
32. Eidelman E, Holan G, Fuks AB. Mineral trioxide aggregate vs. formocresol in pulpotomized primary molars: a preliminary report. *Pediatr Dent*. 2001;23(1):15-8.

33. Erciyas K, Pehlivan S, Sever T, Igci M, Arslan A, Orbak R. Association between TNF-alpha, TGF-beta1, IL-10, IL-6 and IFN-gamma gene polymorphisms and generalized aggressive periodontitis. Clin Invest Med. 2010 Apr 1;33(2):E85.
34. Faraco IM Jr, Holland R. Response of the Pulp of Dogs to Capping with MTA or a Calcium Hydroxide Cement. Dent Traumatol. 2001;17(4):163-6.
35. Farges JC, Keller JF, Carrouel F, Durand SH, Romeas A, Bleicher F, et al. Odontoblasts in the dental pulp immune response. J Exp Zool B Mol Dev Evol. 2009;312B(5):425-36.
36. Farsi N, Alamoudi N, Balto K, Mushayt A. Success of mineral trioxide aggregate in pulpotomized primary molars. J Clin Pediatr Dent. 2005;29(4):307-11.
37. Fava LRG, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. Inter Endod J. 1999;32:257-82.
38. Fitzgerald M, Chiego DJ Jr, Heys DR. Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. Arch Oral Biol. 1990;35(9):707-15.
39. Fucks AB. Pulp Therapy for the Primary and Young Permanent Dentition. Dent Clin North Am. 2000 Jul;44(3):571-596 vii.
40. Fucks AB. Vital pulp therapy with new materials for primary teeth: new directions and treatment perspectives. Pediatr Dent. 2008 May-Jun;30(3):211-9.
41. Fukushima H, Kajiya H, Takada K, Okamoto F, Okabe K. Expression and role of RANKL in periodontal ligament cells during physiological

- root-resorption in human deciduous teeth. *Eur J Oral Sci.* 2003;111(4):346-52.
- 42.** Gelbi S. 125 years of developments in dentistry, 1880–2005 Part 3: Dental equipment and materials. *Br Dent J.* 2005;199(8):536-9.
- 43.** Goldberg M, Smith AJ. Cells and Extracellular Matrices of Dentid and Pulp: a Biological Basis for Repair and Tissue Engineering. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004 Jan;15(1):13-27.
- 44.** Goldberg M. Inflammatory and immunological aspects of dental pulp repair. *Pharmacol Res.* 2008;58(2):137-47.
- 45.** Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2003;4(3):391-401.
- 46.** Hahn CL, Best AM, Tew JG. Cytokine induction by *Streptococcus mutans* and pulpal pathogenesis. *Infect Immun.* 2000;68(12):6785-9.
- 47.** Hahn CL, Falkler WA Jr, Siegel MA. A study of T and B cells in pulpal pathosis. *J Endod.* 1989;15(1):20-6.
- 48.** Hahn CL, Liewehr FR. Innate immune responses of the dental pulp to caries. *J Endod.* 2007;33(6):643-51.
- 49.** Hahn CL, Liewehr FR. Update on the adaptive immune responses of the dental pulp. *J Endod.* 2007;33(7):773-81.
- 50.** Hargreaves KM, Goodis HE, editors. Seltzer and Benders: Dental pulp. 3th ed. Chicago, QuintessencePublishing Co. 2002;p:110-116,232,233,264-269.

- 51.**Harmon MA, Tew JG, Best AM, Hahn CL. Mature dendritic cells in inflamed human pulps beneath deep caries. OOOOE. 2009;107(5):727-32.
- 52.**Harokopakis-Hajishengallis E. Physiologic root resorption in primary teeth: molecular and histological events. J Oral Sci. 2007 Mar;49(1):1-12.
- 53.**Health and Safety Executive [Internet]. <http://www.hse.gov.uk/pubns/iacl88.htm> İngiltere. erişim tarihi 04.07.2011
- 54.**Holan G, Eidelman E, Fuks AB. Long-term evaluation of pulpotomy in primary molars using mineral trioxide aggregate or formocresol. Pediatr Dent. 2005;27(2):129-36.
- 55.**Holan G, Fuks AB, Ketlz N. Success rate of formocresol pulpotomy in primary molars restored with stainless steel crown vs amalgam. Pediatr Dent. 2002; 24(3):212-6.
- 56.**Holland R, De Souza V, Nery MJ. Reaction of Rat Connective Tissue to Implanted Dentin Tubes Filled with a White Mineral Trioxide Aggregate. Braz Dent J. 2002;13(1):23-6.
- 57.**Horst OV, Horst JA, Samudrala R, Dale BA. Caries induced cytokine network in the odontoblast layer of human teeth. BMC Immunol. 2011 Jan 24;12:9.
- 58.**Hosoya S, Matsushima K. Stimulation of interleukin-1 beta production of human dental pulp cells by Porphyromonas endodontalis lipopolysaccharide. J Endod. 1997;23(1):39-42

59. Huang GT, Potente AP, Kim JW, Chugal N, Zhang X. Increased interleukin-8 expression in inflamed human dental pulps. OOOOE. 1999;88(2):214-20.
60. Huth KC, Paschos E, Hajek-Al-Khatat N, Hollweck R, Crispin A, Hickel R, et al. Effectiveness of 4 pulpotomy techniques--randomized controlled trial. J Dent Res. 2005;84(12):1144-8.
61. Ingle JI, Bakland LK. Endodontics. 5th ed. London; BC Decker Inc, Hamilton. 2002; p:32-7,861-84.
62. Izumi T, Kobayashi I, Okamura K. Immunohistochemical study on the immunocomponent cells of the pulp in human non-carious and carious teeth. Arch Oral Biol. 1995;40(7):609-14.
63. Izumi T, Kobayashi I, Okamura K, Sakai H. An immunohistochemical study of HLA-DR and alpha 1-antichymotrypsin-positive cells in the pulp of human non-carious and carious teeth. Arch Oral Biol. 1996;41(7):627-30.
64. Jontell M, Bergenholtz G, Scheynius A, Ambrose W. Dendritic Cells and macrophages Expressing Class II Antigens in the Normal Rat Incisor Pulp. J Dent Res. 1988;67(10):1263-6.
65. Jontell M, Eklöf C, Dahlgren U, Bergenholtz G, (1994) Difference in capacity between macrophages and dendritic cells from rat incisor pulp to provide signals to concanavalin-A-stimulated T lymphocytes, J Dent Res 73:1056-1060
66. Jontell M, Gunraj MN, Bergenholtz G. Immunocompetent cells in the normal dental pulp. J Dent Res. 1987;66(6):1149-53.

- 67.**Jontell M, Okiji T, Dahlgren U, Bergenholtz G. Immune defense mechanisms of the dental pulp. Crit Rev Oral Biol Med. 1998;9(2):179-200.
- 68.**Kimura Y, Wilder-Smith P, Matsumoto K. Lasers in endodontics: a review. Int Endod J. 2000;33(3):173-85.
- 69.**Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. Blood. 1995;86(4):1243-54.
- 70.**Koch G, Poulsen S, editors. Pediatric Dentistry-a clinical approach. 1st ed. Copenhagen, Munksgaard. 2001; p:219-23
- 71.**Kokkas AB, Goulas A, Varsamidis K, Mirtsou V, Tziafas D. Irreversible but not reversible pulpitis is associated with up-regulation of tumour necrosis factor-alpha gene expression in human pulp. Int Endod J. 2007 Mar;40(3):198-203.
- 72.**Konukoğlu D, Turhan MS. Anjiogenezin Temel Moleküler Mekanizmaları ve Tümör Anjiogenezi. Cerreehpaşa Tıp Dergisi. 2005;36(1):42-8.
- 73.**Kopf M, Baumann H, Freer G, Freudenberg M, Lamers M, Kishimoto T. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. Nature. 1994;368(6469):339-42.
- 74.**Kuby J. Immunology. W.H. Freeman and Company (1992). p:245
- 75.**Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. Robbin's Temel Patoloji 8.baskı İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi; 2008 sf:49,108-19.
- 76.**Kurallar F, Çavdar Z. İnflamatuvar Medyatörlere Toplu Bir Bakış. Genel Tıp Dergisi. 2006;16(3):143-52.

77. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod.* 1993;19(11):541-4.
78. Lu HX, Xiao MZ, Niu ZY, Guo XM, Zhao SL, Wang HG, et al. Effect of IL-1ra on human dental pulp cells and pulpal inflammation. *J Dent Res.* 2009;88(4):339-44
79. Mangkornkarn C, Steiner JC, Bohman R, Lindemann RA. Flow cytometric analysis of human dental pulp tissue. *J Endod* 1991;17(2):49-53.
80. Manolea H, Deva V, Bogdan F, Moraru I, Panca OA, Caraivan O. Considerations on the ultrastructural particularities of the dental pulp cells. *Rom J Morphol Embryol.* 2008;49(2):195-201.
81. Manolea H, Mogoantă L, Mărgăritescu C, Deva V, Șurlin P, Caraivan O. Immunohistochemical aspects of the evaluation of the inflammatory answer of the dental pulp. *Rom J Morphol Embryol.* 2009;50(2):207-12.
82. Maroto M, Barbería E, Vera V, García-Godoy F. Mineral trioxide aggregate as pulp dressing agent in pulpotomy treatment of primary molars: 42-month clinical study. *Am J Dent.* 2007;20(5):283-6.
83. McClanahan SB, Turner DW, Kaminski EJ, Osetek EM, Heuer MA. Natural modifiers of the inflammatory process in the human dental pulp. *J Endod.* 1991;17(12):589-93.
84. McDonald RE, Avery DR, Dean JA. *Dentistry for the Child and Adolescend.* 8th ed. St. Louis: Mosby; 2002 p:379-382,397-410,635.

- 85.** McLachlan JL, Sloan AJ, Smith AJ, Landini G, Cooper PR. S100 and cytokine expression in caries. *Infect Immun.* 2004 Jul;72(7):4102-8.
- 86.** Menezes R, Garlet TP, Trombone AP, Repeke CE, Letra A, Granjeiro JM, et al The potential role of suppressors of cytokine signaling in the attenuation of inflammatory reaction and alveolar bone loss associated with apical periodontitis. *J Endod.* 2008;34(12):1480-4.
- 87.** Modena KC, Casas-Apayco LC, Atta MT, Costa CA, Hebling J, Sipert CR, et al. Cytotoxicity and biocompatibility of direct and indirect pulp capping materials. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(6):544-54.
- 88.** Moretti AB, Sakai VT, Oliveira TM, Fornetti APC, Santos CF, Machado MAAM, et al. The effectiveness of mineral trioxide aggregate, calcium hydroxide and formocresol for pulpotomies in primary teeth. *Int Endod J.* 2008;41(7):547-55.
- 89.** Naik S, Hegde AM. Mineral trioxide aggregate as a pulpotomy agent in primary molars: An in vivo study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2005;23(1):13-6.
- 90.** Nakanishi T, Matsuo T, Ebisu S. Quantitative analysis of immunoglobulins and inflammatory factors in human pulpal blood from exposed pulps. *J Endod.* 1995;21(3):131-6.
- 91.** Nambu A, Nakae S. IL-1 and Allergy. *Allergol Int.* 2010;59(2):125-35.
- 92.** Nishimoto N. Interleukin-6 as a therapeutic target in candidate inflammatory diseases. *Clin Pharmacol Ther.* 2010 Apr;87(4):483-7.
- 93.** Okiji T, Jontell M, Belichenko P, Bergenholtz G, Dahlström A. Perivascular dendritic cells of the human dental pulp. *Acta Physiol Scand.* 1997;159:163-9.

94. Okiji T, Jontell M, Belichenko P, Dahlgren U, Bergenholtz G, Dahlström A. Structural and functional association between substance P and calcitonin gene-related peptide-immunoreactive nerves and accessory cells in the rat dental pulp. *J Dent Res.* 1997;76:1818-24.
95. Okiji T, Kawashima N, Kosaka T, Matsumoto A, Kobayashi C, Suda H. An immunohistochemical study of the distribution of immunocompetent cells, especially macrophages and Ia antigen-expressing cells of heterogeneous populations, in normal rat molar pulp. *J Dent Res.* 1992;71(5):1196-202.
96. Oztas N, Ulusu T, Oygür T, Cokpekin F. Comparison of electrosurgery and formocresol as pulpotomy techniques in dog primary teeth. *J Clin Pediatr Dent.* 1994;18(4):285-9.
97. Paula-Silva FW, Ghosh A, Silva LA and Kapila YL. TNF-alpha promotes an odontoblastic phenotype in dental pulp cells. *J Dent Res.* 2009;88(4):339-44
98. Pezelj-Ribaric S, Anic I, Brekalo I, Miletic I, Hasan M, Simunovic-Soskic M. Detection of tumor necrosis factor alpha in normal and inflamed human dental pulps, *Arch Med Res.* 2002;33(5):482-4.
99. Pinkham JR, Casamassimo PS, Fields HW, Nowak AJ. Çev. Ed. Tortop T, Tulunoğlu Ö. Çocuk Diş Hekimliği Bebeklikten Ergenliğe. 4. baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2008 sf:376-87.
100. Prso IB, Kocjan W, Simić H, Brumini G, Pezelj-Ribarić S, Borčić J, et al. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin 6 in human periapical lesions. *Mediators Inflamm.* 2007;2007:38210.

101. Ranly DM, Garcia-Godoy F. Current and potential pulp therapies for primary and young permanent teeth. *J Dent.* 2000;28(3):153-61.
102. Ranly DM. Pulpotomy therapy in primary teeth: new modalities for old rationales. *Pediatr Dent.* 1994;16(6):403-9.
103. Rauschenberger CR, Bailey JC, Cootauco CJ. Detection of human IL-2 in normal and inflamed dental pulps. *J Endod.* 1997;23(6):366-70.
104. Rodd HD, Boissonade FM. Immunocytochemical investigation of immune cells within human primary and permanent tooth pulp. *Int J Paediatr Dent.* 2006;16(1):2-9.
105. Rölling I, Thylstrup A. A 3-year clinical follow-up study of pulpotomized primary molars treated with the formocresol technique. *Scand J Dent Res.* 1975;83(2):47-53.
106. Salako N, Joseph B, Ritwik P, Salonen J, John P, Junaid TA. Comparison of bioactive glass, mineral trioxide aggregate, ferric sulfate, and formocresol as pulpotomy agents in rat molar. *Dent Traumatol.* 2003;19(6):314-20.
107. Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R, Kawashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2005;31(2):97-100.
108. Schröder U. A 2-year follow-up of primary molars, pulpotomized with a gentle technique and capped with calcium hydroxide. *Scand J Dent Res.* 1978;86(4):273-8.

109. Schwartz RS, Mauger M, Clement D, Walker WA. Mineral Trioxide Aggregate: A new Material For Endodontics. JADA. 1999;130(7):967-75.
110. Silva AC, Faria MR, Fontes A, Campos MS, Cavalcanti BN. Interleukin-1 beta and interleukin-8 in healthy and inflamed dental pulps. J Appl Oral Sci. 2009;17(5):527-32.
111. Sönmez D, Durutürk L. Ca(OH)₂ pulpotomy in primary teeth. Part I: internal resorption as a complication following pulpotomy. OOOOE. 2008;106(2):e94-8.
112. Sönmez D, Sarı S, Çetinbaş T. A Comparison of four pulpotomy techniques in primary molars: a long-term follow-up. J Endod. 2008;34(8):950-5.
113. Sönmez M. THD Temel Moleküler Hematoloji Kursu, Kurs Kitabı, "Dendritik Hücre İmmünobiyolojisi". Mersin; 2005 sf. 87-92.
114. Srinivasan V, Patchett CL, Waterhouse PJ. Is there life after Buckley's Formocresol? Part I: a narrative review of alternative interventions and materials. Int J Paediatr Dent. 2006;16(2):117-27.
115. Stashenko P, Teles R, D'Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. Crit Rev Oral Biol Med. 1998;9(4):498-521.
116. Steinman RM. The Dendritic Cell and Its Role in Immunogenicity. Annu Rev Immunol. 1991;9:271-96.
117. Sweet C. Procedure for Treatment of Exposed and Pulpless Deciduous Teeth. JADA. 1930;17:1150-3.

- 118.** Şimşek S, Durutürk L. A flow cytometric analysis of the biodefensive response of deciduous tooth pulp to carious stimuli during physiological root resorption. *Arch Oral Biol.* 2005;50(5):461-8.
- 119.** Tartaglia LA, Goeddel DV. Two TNF receptors. *Immunol Today.* 1992 May;13(5):151-3.
- 120.** Telles PD, Hanks CT, Machado MA, Nör JE. Lipoteichoic acid up-regulates VEGF expression in macrophages and pulp cells. *J Dent Res.* 2003;82(6):466-70.
- 121.** Thomson AW., Lotze MT. *The Cytokine Handbook.* 4th ed. London:Academic Press; 2003 p:281-304,643-68,1049-81.
- 122.** Tilg H, Dinarello CA, Mier JW. IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunol Today.* 1997;18(9):428-32.
- 123.** Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod.* 1995;21(7):349-53.
- 124.** Trowbridge HO, Emling RC. *Inflammation A Review of the Process.* 5th ed. Chicago:Quintessence Publishing Co Inc; 1997 p:77-88,171-6.
- 125.** Tuna D, Olmez A. Clinical long-term evaluation of MTA as a direct pulp capping material in primary teeth. *Int Endod J.* 2008;41(4):273-8.
- 126.** Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. *Mikrobiyoloji* 2000. 1. baskı. Asya Tıp Yayıncılık;1998 sf: 481,486-97.

- 127.** Tziafas D, Smith AJ, Lesot H. Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. *J Dent.* 2000;28(2):77-92.
- 128.** Waterhouse PJ, Nunn JH, Whitworth JM. An investigation of the relative efficacy of Buckley's Formocresol and calcium hydroxide in primary molar vital pulp therapy. *Br Dent J.* 2000;188(1):32-6.
- 129.** Waterhouse PJ, Nunn JH, Whitworth JM. Prostaglandin E₂ and treatment outcome in pulp therapy of primary molars with carious exposures. *Int J Paediatr Dent.* 2002;12(2):116-23.
- 130.** Waterhouse PJ. "New age" pulp therapy: personal thoughts on a hot debate. *Pediatr Dent.* 2008;30(3):247-52.
- 131.** Yıldırım S, Yapar M, Sermet U, Sener K, Kubar A. The role of dental pulp cells in resorption of deciduous teeth. *OOOOE.* 2008;105(1):113-20.
- 132.** Yoshida K, Yoshida N, Iwaku M. Class II antigen-presenting dendritic cell and nerve fiber responses to cavities, caries, or caries treatment in human teeth. *J Dent Res.* 2003;82(6):422-7.
- 133.** Zehnder M, Delaleu N, Du Y, Bickel M. Cytokine gene expression--part of host defence in pulpitis. *Cytokine.* 2003;22(3-4):84-8.
- 134.** Zhou X, Fragala MS, McElhaney JE, Kuchel GA. Conceptual and methodological issues relevant to cytokine and inflammatory marker measurements in clinical research. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2010;13(5):541-7.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında İzmir’de doğdum. Liseyi Bornova Anadolu Lisesi’nde okuduktan sonra 1999 yılında Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi’ni kazandım. 2005 yılında fakülte 4.sü olarak mezun oldum ve aynı yıl Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı’nda doktora eğitime hak kazandım. 2006 yılında aynı bölüme Araştırma Görevlisi olarak atandım. 2008 yılında “TEDAVİSİ PLANLANMIŞ VİTAL SÜT DİŞİ PULPALARINDAKİ ENFLAMASYONUN SİTOKİN DÜZEYLERİ YARDIMIYLA BELİRLENMESİ” isimli doktora tezini üzerine çalışmaya başladım.

Dt. Yasemin ÖZDEMİR