

TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNSANDAN ELDE EDİLEN DENTAL PULPA ÖRNEKLERİNİN REOLOJİK
KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burak ÖZCAN

Mikro ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Cevat ERİŞKEN

Nisan 2017

Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

.....
Prof. Dr. Osman EROĞUL
Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans derecesinin tüm gereksinimlerini sağladığını onaylarım.

.....
Prof. Dr. Murat ALANYALI
Anabilimdalı Başkan Vekili

TOBB ETÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 141611017 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Burak ÖZCAN**'ın ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**İNSANDAN ELDE EDİLEN DENTAL PULPA ÖRNEKLERİNİN REOLOJİK KARAKTERİZASYONU**” başlıklı tezi **10 Nisan 2017** tarihinde aşağıda imzaları olan jüri tarafından kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Cevat ERİŞKEN
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Dilek ÇÖKELİLER SERDAROĞLU
(Başkan)
Başkent Üniversitesi

Doç. Dr. Gökhan Barış BAĞCI
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, alıntı yapılan kaynaklara eksiksiz atıf yapıldığını, referansların tam olarak belirtildiğini ve ayrıca bu tezin TOBB ETÜ Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını bildiririm.

Burak ÖZCAN

ÖZET

Yüksek Lisans

İNSANDAN ELDE EDİLEN DENTAL PULPA ÖRNEKLERİNİN REOLOJİK

KARAKTERİZASYONU

Burak ÖZCAN

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Cevat ERİŞKEN

Tarih: Nisan 2017

Dental pulpa enfeksiyonları, kendiliğinden iyileşme yeteneğine sahip olmadığından klinik yöntemlerle probleme çözüm aranmaktadır. Güncel klinik uygulama, kanal tedavisi olup bu yöntemin sonunda diş damarsız ve sinirsiz bir organ haline dönüşmekte ve daha kırılğan hale gelmektedir. Rejeneratif mühendislik yaklaşımıyla bu problemin çözülebileceği önerilmekle birlikte, literatürde bu yaklaşımın önemli bir parçası olan biyomateryal seçimi ile ilgili önemli bilgi eksikliği bulunmaktadır. Güncel araştırma çalışmalarında diş pulpa dokusu için kullanılan biyomateryaller ve biyolojik taşıyıcılar, diş pulpası dokusu materyal özellikleri hakkında yeterli veri olmaması sebebiyle deneme yanılma yöntemiyle seçilmektedir. Bu verilere dayanarak, bu çalışmanın amacı insan yirmi yaş dental pulpa dokusunun biyomekanik ve viskoelastik özelliklerinin araştırılması olarak belirlenmiştir. Bu çalışma, insan dental pulpa materyal özelliklerini ilk defa değerlendiriyor olması bakımından özgün bir nitelik taşımaktadır. Pulpa dokusu, doğrusal viskoelastik özellikler (kayıp ve depolama modülüsleri) ve stres-gevşeme ile tek eksenli basma mukavemeti bakımından değerlendirilmiştir. Bulgulara göre, diş pulpası %0,1 ile %10 aralığındaki açısız yer değiştirmelerde doğrusal viskoelastik özellik göstermektedir. Bu verilere dayanılarak, %10 yer değiştirme değerinde yapılan

analizler, pulpa dokusunun 0,1-100 rps frekans aralığında jelimsi bir yapıya sahip olduğunu ortaya koymaktadır. İnsan pulpa dokusunun depolama modülüsünün (G') 2000 ve 7000 Pa arasındaki değerlere, kayıp modülüsünün de (G'') 1000 Pa civarında değerlere sahip olduğu görülmüştür. Diş pulpasının %10 sıkıştırma altındaki normal stres değeri ve Young modülüsü, sırasıyla, $39,1 \pm 20,4$ kPa ve $5,5 \pm 2,8$ kPa olarak ölçülmüştür. Elde edilen bulgular ışığında, insan diş pulpası rejenerasyonu çalışmalarının gerçekleştirilmesi sürecinde bu özelliklerin göz önünde bulundurulmasının doğru biyomateryal seçimi açısından faydalı olacağı değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diş, Pulpa, Rejenerasyon, Viskoelastik, Biyomateryal.

ABSTRACT

Master of Science

RHEOLOGICAL CHARACTERIZATION OF HUMAN DENTAL PULP TISSUE

Burak ÖZCAN

TOBB University of Economics and Technology
Institute of Natural and Applied Sciences
Micro and Nanotechnology Programme

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Cevat ERİŞKEN

Date: April 2017

Dental pulp tissue, once infected, demonstrates limited self-healing capacity, and root canal procedure remains as the best option to remedy this clinical problem. Unfortunately, this procedure requires removal of native pulp tissue, and filling the canal with a polymer. This results with a devascularized and devitalized tooth with no nerves, potentially leading to a brittle structure. Regenerative engineering, by definition, may be able to solve this problem, however, there is a lack of knowledge for the selection of appropriate biomaterials. Availability of material properties as well as biological properties of native tissues are critical for biomaterial design and synthesis for regenerative engineering purposes. Until recently, selection of biomaterials and biomolecule carriers for dental pulp regeneration has been done randomly or based on experience mainly due to the absence of benchmark data for dental pulp tissue. This study, therefore, for the first time, characterizes the linear viscoelastic material functions under oscillatory shear and compression as well as compressive properties of human dental pulp tissues harvested from wisdom teeth. The results revealed a gel-like behavior of the pulp tissue over the frequency range of 0.1–100 rps. Human dental pulp tissue possessed storage modulus (G') values changing between 2000-7000Pa, and loss modulus (G'') values of around 1000Pa on average. Uniaxial compression tests generated peak normal stress and compressive modulus values of 39.1 ± 20.4 kPa and 5.5 ± 2.8 kPa, respectively. Taken collectively,

the linear viscoelastic and uniaxial compressive properties of the human dental pulp tissue reported here should enable the better tailoring of biomaterials or biomolecule carriers to be employed in dental pulp regeneration.

Keywords: Tooth, Pulp, Regeneration, Viscoelastic, Biomaterial.



TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren tez danıőmanım Cevat Erişken'e, kıymetli tecrübelerinden faydalandığım TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Malzeme Bilimi ve Nanoteknoloji Mühendisliği Bölümü ile Biyomedikal Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerine ve destekleriyle her zaman yanımda olan aileme ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
ÇİZELGE LİSTESİ	xi
SEMBOLE LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1 Biyomekanik ve Reoloji Kavramları.....	1
1.2 Dental Pulpa Dokusu.....	6
1.2.1 Dental pulpa bileşenleri	7
1.2.2 Dental pulpanın fonksiyonları.....	9
1.3. Klinik Problemin Tanımı ve Çözüm Yaklaşımları	10
2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	13
2.1 Dental Pulpa Hazırlanması.....	13
2.2 Vizkoelastik Özelliklerinin Karakterizasyonu	13
2.3 Düşük Amplitüt Salınımlı Kayma.....	14
2.4 Sıkıştırılmaya Karşı Tepkisi	15
2.5 İstatistiksel Analiz	15
3. DENEYSEL BULGULAR	17
3.1 Açısız Gerinim Taraması	17
3.2 Doğrusal Viskoelastik Fonksiyonların Frekans Bağımlılığı	18
3.3 Tek Eksenli Sıkıştırma Karşılığında Relaksasyon	20
3.4 Sıkıştırma Stres Davranışı.....	21
4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	23
KAYNAKLAR	29
ÖZGEÇMİŞ	31

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1: Sürüklenme akışı ve genişleme akışının şematik gösterimi.....	2
Şekil 1.2: Paralel levhalarda açısız stres ve gerinim hesaplamasının şematik gösterimi.....	4
Şekil 1.3: Elastik ve viskoz davranış sergileyen malzemelerin salınımlı deneyde stres ve gerinim davranışları.....	5
Şekil 1.4: Dişin yapısı ve bileşenleri.....	7
Şekil 2.1: İnsan pulpası görüntüsü ve karakterizasyonu.....	14
Şekil 3.1: İnsan dental pulpa dokusunun açısız gerinim taraması, G' , G'' ve tan delta değerleri.....	17
Şekil 3.2: İnsan dental pulpa dokusunun depolama modülüs parametresinin frekans bağımlılığı.....	18
Şekil 3.3: İnsan dental pulpa dokusu kayıp modülüs parametresinin frekans bağımlılığı.....	19
Şekil 3.4: İnsan dental pulpa dokusu tan delta parametresinin frekans bağımlılığı.....	19
Şekil 3.5: İnsan dental pulpa dokusunun sıkıştırma-gevşeme davranışı.....	20
Şekil 3.6: İnsan dental pulpa dokusunun stres-gerinim davranışı.....	21

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1: Sürünme, salınım ve stres gevşeme testlerindeki tipik stres gevşeme grafikleri.....	3
Çizelge 1.2: Bazı reolojik terimlerin anlamları ve hesaplanması.....	5
Çizelge 1.3: Diş pulpasının ve dentinin bileşenleri.....	8
Çizelge 3.1: İnsan pulpa dokusunun biyomekanik özellikleri.....	21
Çizelge 4.1: Hidrojellerin ve pulpa dokusunun reolojik değerleri.....	27
Çizelge 4.2: Pulpa dokularının ve hidrojellerin biyomekanik özelliklerinin karşılaştırması	27

SEMBOL LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış olan simgeler açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

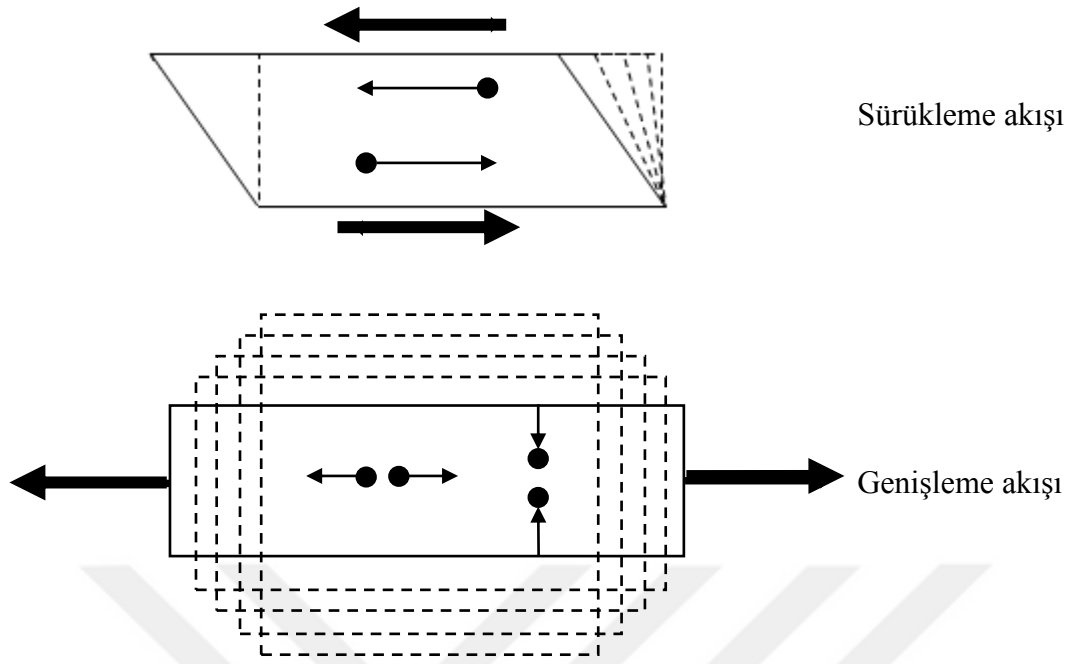
Simgeler	Açıklama
D	Disk çapı
$G'(\omega)$	Kesme depolama modülüsü
$G''(\omega)$	Kesme kayıp modülüsü
γ	Kesme gerinim büyüklüğü
γ_0	Sıfır kesme gerinim büyüklüğü, $\theta D/h$
h	Diskler arasındaki mesafe
λ	Gevşeme zamanı
M	Tork
N	Kuvvet
Pa	Kesme stresi ve dik basınç birimi
δ	Faz açısı
t	Zaman
$\tan \delta$	Kesme kayıp modülüsünün kesme depolama modülüsüne oranı
τ	Kesme stresi: $G'(\omega) \gamma_0 \sin(\omega t) + G''(\omega) \gamma_0 \cos(\omega t)$
θ	Açısal yer değiştirme
ω	Dalgalanma frekansı

1. GİRİŞ

1.1 Biyomekanik ve Reoloji Kavramları

Biyomekanik, statik, dinamik ile katı ve akışkanlar mekaniğinin prensiplerini kullanarak biyolojik ve fizyolojik sistemlerin yük veya yer değiştirmeye maruz kaldıkları durumdaki davranışlarını inceleyen bilim dalı olarak tanımlanmaktadır. Reoloji ise kısaca materyallerin akış ve deformasyonunun incelenmesi olarak tanımlanır. Akış ya da gerinim, reoloji bilimi kapsamında malzemenin deformasyona uğraması ve malzeme elementlerinin birbirine göre hareket etmesi anlamına gelir. Temelde, sürüklenme akışı ve genişleme akışı olarak iki farklı akış kavramı vardır. Sürüklenme akışında elemanlar birbirinin üstünden akarken, genişleme akışında elemanlar birbirine doğru yaklaşır veya birbirinden uzaklaşır (Şekil 1.1). Sürüklenme akışı, materyalin içinde bulunan varsayımsal katmanların birbiri üzerinde kayması olarak da açıklanabilir. Bu katmanların birbirlerine göre kayma hızına ise sürüklenme oranı ya da gerinim oranı adı verilir. Birim alan başına akış tarafından üretilen kuvvet sürüklenme gerilimi ya da stres olarak adlandırılır.

Elastikiyet ve viskoz davranış malzemelerin davranışını tanımlayan reolojinin iki temel bileşenidir. Bütün akışkanlarda, mikro yapının doğal bir dinlenme durumu vardır ve bu minimum enerjili bir durumu temsil eder. Bu akışkanlar deforme olduğunda, termodinamik kuvvetler bu dinlenme durumunu düzeltme eğilimi gösterirler, tıpkı gerilmiş elastik bir yayın her zaman ilk uzunluğuna dönmeye çalıştığı gibi. Bu tür enerji, yapılandırılmış akışkanlardaki elastikiyetin kaynağıdır. Yay, Hooke yasasına uyan doğrusal elastik elemanın bir temsilidir. Basit akış deformasyonunda stres ile gerinim arasındaki oran modülüdür. Zamanın bu denkleme girmediği gözükmektedir, böylece bozunmamış modele bir deformasyon uygulanırsa, oluşan stres aniden ortaya çıkar ve sonra, stresi kaldırdığımızda model bozunmamış haline geri döner.



Şekil 1.1: Sürüklenme akışı ve genişleme akışının şematik gösterimi [1].

Viskozite bir materyalin akış karşısında gösterdiği direnç olarak tanımlanır. Elastikiyet ise malzemenin deformasyona uğradıktan sonra orjinal haline geri dönebilme kabiliyetidir. Doğada bulunan materyaller genellikle tamamen elastik yada tamamen viskoz olmayıp viskoelastik davranış gösterirler. Doğrusal viskoelastik yanıt ölçmenin birkaç yolu vardır (Çizelge 1). En basit olanlarından birisi, test edilen akışkana sabit bir stresin ani olarak uygulanması ve sonuçta oluşan gerininin zamana bağlı olarak izlenmesidir. Buna sürünme (creep) testi denir. Sıkça kullanılan diğer bir yöntem osilasyon (salınım) testidir, yani salınımlı stres veya gerinim akışkana bir girdi olarak uygulanır ve elde edilen osilasyon gerinimi veya stres izlenir. Bir diğer yöntem ise, sabit gerininin ani bir şekilde uygulanmasıdır ve daha sonra da bunun sonucunda ortaya çıkan stresin zamanla izlenmesidir. Bu teste stres-gevşetme testi denir.

Bu tez kapsamında, insan dental pulpası için salınımlı kesme gerinimi altında doğrusal viskoelastik bölge belirlenmiş olup, salınımlı frekans süpürmeleriyle de kayıp ve depolama modülüsleri ölçülmüştür. Ayrıca sabit gerinim uygulanarak stres gevşeme davranışı incelenmiştir.

Çizelge 1.1: Sürünme, salınım ve stres gevşeme testlerindeki tipik stres gevşeme grafikleri [1].

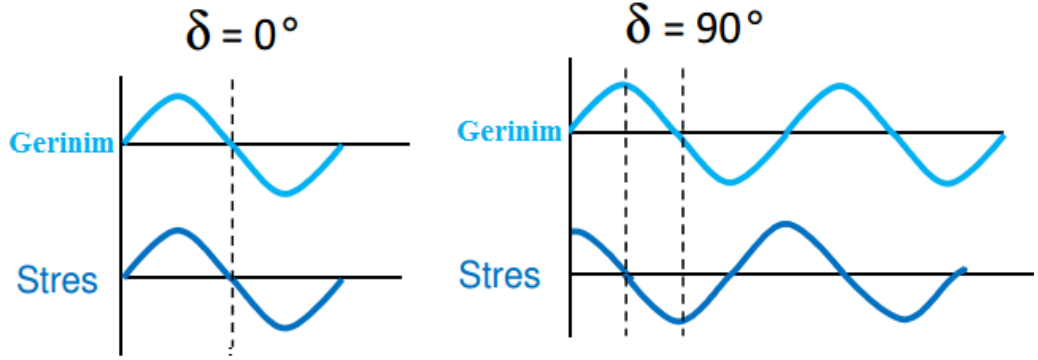
Sürünme	Sabit bir stres sonucu oluşan gerinim davranışı izlenir	
Salınım	Salınımlı bir stres/gerinim uygulanır, gerinim/stres davranışı izlenir	
Stres Gevşeme	Sabit bir gerinim sonucu ortaya çıkan stres davranışı izlenir	

Materyal özelliklerden viskoelastisite, reometre ile ölçülür. Genellikle, karakterizasyonu yapılan malzemenin kullanım alanına bağlı olarak, kullanılan reometrenin tipi değişebilir. Bu anlamda reometreler koni ve levha (plaka), silindirik, boru veya kılcal olmak üzere çeşitli sınıflara ayrılabilir. Bu çalışmada, pulpa dokusu karakterizasyonu için en uygun reometre tipi, benzer çalışmalar bazında, paralel levhalı reometre olarak belirlenmiş ve kullanılmıştır. Paralel levhalarla viskoelastisite parametreleri Şekil 1.2’de gösterilen yöntemle hesaplanır.

Hooke yasasına göre stres uygulanan bir materyal aynı anda gerinmeye başlar. Bu durum tamamen elastik materyaller için geçerlidir. Tamamen viskoz bir materyalin tepkisi ise uygulanan stres altında ani gerinme göstermeyip stres ile gerinme arasında belirli bir zaman farkı oluşur. Bu fark faz açısı olarak adlandırılır ve salınımlı deney sonrasında oluşan gerinim-gerilme grafiğinde tamamen viskoz materyaller için bu açı 90° ’dir. Faz açısı, tamamen elastik materyaller için 0° , viskoelastik materyaller içinse 0 ile 90° arasında değişmektedir (Şekil 1.3).

Tamamen Elastik Davranış
(Hooke katısı)

Tamamen Viskoz Davranış
(Newton Sıvısı)



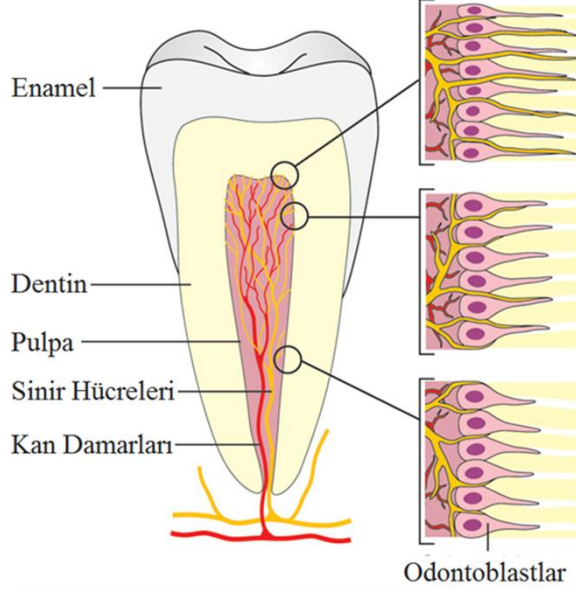
Şekil 1.3: Elastik ve viskoz davranış sergileyen malzemelerin salınımlı deneyde stres ve gerinim davranışları [Url-1]. δ faz açısını temsil etmektedir.

Çizelge 1.2: Bazı reolojik terimlerin anlamları ve hesaplanması.

Modülüs (G)	Malzemelerin deformasyon karşısında gösterdiği direnç	$G = \text{Stres}/\text{Gerinim}$
Elastik (Depolama) Modülüsü (G')	Malzemenin elastikiyet ölçüsü. Malzemenin enerji depolama kabiliyeti	$G' = (\text{Stres}/\text{Gerinim}) \cos \delta$
Viskoz (kayıp) Modülüsü (G'')	Malzemenin enerjiyi dağıtabilme kabiliyeti. Enerji ısı olarak kaybedilir.	$G'' = (\text{Stres}/\text{Gerinim}) \sin \delta$
tan delta	Malzemenin viskoelastisitesi.	$\tan \delta = G''/G'$

1.2 Dental Pulpa Dokusu

Dental pulpa, apikal bölgeden gelen kan damarları ve sinir demetlerini barındıran, aynı zamanda odontoblastlar ve sert mineralize doku ile çevrelenmiş mezenkimal bir dokudur [2]. Doku, sert tabakalarla çevrili olduğundan (Şekil 1.4), mekanik olarak kuvvetli ve geçirgenliği düşük bu ortam dış pulpasını ağız içinde bulunan mikrobik ortamdan koruyabilmektedir. Ancak, mine tabakasında biriken ajanlar, zamanla bu tabakayı tahrip ederek pulpa dokusuna kadar ilerleyen enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Enfeksiyona maruz kalan pulpa dokusundaki tahrip edici ajanlar, tahribatı ilerleterek tüm pulpa enfeksiyonuna ve nihai olarak da nekrozuna sebep olabilirler. Daha da ilerleyen aşamalarda enfeksiyon, çevresindeki alveolar kemiğe kadar ulaşabilir [3]. Bu durumda, başvuru klinik uygulama kanal tedavisi olup, tedavi sonunda diş normal görünümüne kavuşurken, ağrılı durum giderilmekte ancak kanal içine doldurulan polimer esaslı malzeme sebebiyle pulpa dokusu sinirleri alınmış olduğundan hissiyatını kaybetmiş, damarlardan yoksun, kırılğan bir yapıya dönüşmektedir [4]. Kanal tedavisi görmüş dişin diş kökü ve kanalında yeniden enfeksiyon oluşması uzun vadede mümkün olup, kırılğanlığın artması sebebiyle de dişin tamamının kaybı söz konusu olabilmektedir [5, 6]. Bu sebeple, kanal tedavisine alternatif olarak rejeneratif mühendisliği yaklaşımı önerilmektedir. Rejeneratif mühendislik, biyomalzeme, hücreler ve biyomoleküllerin tek başına ya da kombine olarak kullanılması ile uygulamaya konulabilen bir disiplin olup, verimli bir biçimde uygulanabilmesi için dokunun yapısı, fonksiyonu ve bileşenlerinin çok detaylı bilinmesi gerekmektedir. Ne var ki, rejeneratif mühendisliğin temellerinden olan biyomalzeme seçiminin doğru yapılabilmesi için yeterli bilgi birikimi bulunmamaktadır. Özellikle pulpa dokusunun materyal özelliklerini taklit edebilecek bir biyomalzeme seçiminin sağlıklı yapılabilmesi, dokunun materyal özellikleri bilinmediğinden, pek mümkün olmamaktadır. Bu çalışmada, insandan elde edilen pulpa dokusunun materyal özelliklerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.



Şekil 1.4: Dişin yapısı ve bileşenleri [Url-2]

1.2.1 Dental pulpa bileşenleri

Dental pulpa bileşenleriyle ilgili detaylı derlemeler mevcuttur [7, 8]. Hücresel bileşenler olarak fibroblastlar, damar hücreleri, perisitler, sinir hücreleri, histiositler/makrofajlar, dendritik hücreler, lenfositler ve mast hücrelerinden oluşur. Yetişkin pulpa hücreleri, çoğunlukla hücre içi desmosome benzeri bağlantı noktalarıyla birbirine bağlanır. Hücre gövdeleri birçok farklı morfolojide olabilir. Hücrelerin genişliğinin 9-22 µm aralığında olduğu bilinmektedir ve bu hücreler tip I kolajen, fibronektin, osteonektin ve kemik sialoproteinleri sentezlerler. Temel hücre dışı matris bileşenleri nanometre ve mikrometre ölçekteki tip I ve III kolajen fibril ve fiberleri ile fibronektin, tenasin, osteonektin, osteokalsin, glikozaminoglikanlar (hiyaluronik asit, kondroitin sülfat, heparan sülfat) ve fosfolipidler gibi kolajen içermeyen proteinlerdir. Dipeptidil peptidaz I, kathepsinler B ve D aynı zamanda pulpada görülen ve doğal tip I kolajenin parçalanmasına katkıda bulunan büyük fukosilatlanmış glikoprotein fibronektinlerdir. Diş pulpasının temel hücresi olan fibroblastların aynı zamanda sert diş dokularının mineralizasyonuna da katkıda buldukları bilinmektedir. Diş pulpasının ve hemen bitişiğindeki doku olan dentinin bileşenleri Çizelge 1.3'te detaylı olarak verilmiştir.

Çizelge 1.3: Diş pulpasının ve dentinin bileşenleri [8].

Dentin		Pulpa
Hücreler		
	Odontoblastlar	Fibroblasts, damar hücreleri, perisitler, sinir hücreleri, makrofajlar, dendritik hücreler, lenfositler
Kolajenler		
	Tip I ve tip I trimer (98%) Tip III (1-2%) ve V (1%) (Dentin hücre dışı matriksinin %90'ı)	Tip I (56%) Tip III (41%) ve V (2%); Tip VI (0.5%)
Kolajen Olmayan Proteinler		
(Dentin hücre dışı matriksinin %10'u)		
Fosforillenmiş matriks proteinleri:	DSPP > DSP ve DPP DMP-1, BSP, OPN, MEPE	BSP, OPN
Fosforillenmemiş matriks proteinleri:	Matriks GLA protein, osteokalsin, osteonektin	Fibronektin Osteonektin
Proteoglikanlar (SLRPs)	CS/DS PGs: dekorin-biglikan (CS-4 81%, CS-6 14%, CS/DS 2%) KS PGs: lumikan, fibromodülün, Osteoadherin	Versikan CS-4 and -6, 60%; DS, 34%; KS, 2% Hyaluronik asit
Amelogenin Büyüme faktörleri:	TGF-, ILGF-I and -II, FGF-2, VEGF, PDGF	BMPs Tip IA ve II; TGF-, aktivin, ve BMP reseptörleri
Metaloproteinazlar:	Kolajenaz (MMP-1), jelatinaz (MMP-2 and -9), sitromelisin- 1 (MMP-3), enamelisin (MMP-20), MT1-MMP, TIMP-1 to -3	MMPs: kolajenaz, jelatinaz, sitromelisin-1 TIMPs
Alkalin fosfataz, Serum-kökenli proteinler:	HS2-glikoprotein, albümin, lipoproteinler	Serum orijinli fibronektin
Fosfolipidler:	Membran fosfolipitleri (66%) Hücre dışı mineral bağlantılı fosfolipitler (33%)	Membran ve hücre dışı matriks fosfolipitleri

1.2.2 Dental pulpanın fonksiyonları

Dental pulpanın hücreleri ve hücre dışı matris bileşenleri yukarıda anlatılmıştır. Pulpanın bu bileşenleri bir araya geldiğinde ve eş zamanlı olarak çalıştıklarında pulpa fonksiyonel hale gelebilmektedir. Dental pulpa olmadan veya endodontik tedavi sonrası pulpa çıkarıldıktan sonra dişin pulpasız bir şekilde de fonksiyonunu yerine getirebileceği düşünülebilir. Nitekim, endodontik tedavide pulpa kanaldan çıkarılmakta ve yerine polimer esaslı bir biyomateryal (Gutta Percha) yerleştirilmektedir. Böyle bir durumdaki diş, dişi çevreleyen dokular tarafından desteklenir. Dentinal tübüller içine bakteri enfeksiyonuna ilişkin yeni bir araştırma, pulpalı dişlerin pulpasız dişlere göre daha dayanıklı olduğunu göstermiştir [3]. Bu nedenle, pulpa dokusu bu savunma sürecinde önemli bir rol oynamaktadır. Pulpa dokusu bulunduran dişlerde dentinal tübüller dentinal sıvı ile doludur ve odontoblast aktivitesi görünür. Bu sıvı pozitif yüklü hidrojel gibi davranır. Bu hidrojel, diş pulpasına giren çok sayıda bakteriyi tutma özelliğine sahiptir [3]. Dentinal sıvının dışa akışı, zararlı maddelerin girişine karşı pulpanın savunmasında önemlidir çünkü ağızdan gelen toksik maddelerin dentin tübüllerine sızma oranını etkiler. Dahası, dentinin bakteriyel enfeksiyonuna tepki olarak dentin sıvısı içinde antikorlar veya diğer antimikrobik maddeler de salgınır[3]. Endodontik tedavide, dentinal tübüller de kapatıldığından savunma mekanizmasının önü kesilmiş olur. Bu sebeple, dental pulpa yokluğunda dişin fonksiyonlarının tamamını yerine getiremeyeceği açıktır.

Dental pulpanın fonksiyonlarını aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür:

- Diş organına canlılık sağlamak
- Mikrobiyal saldırı karşısında veya yaralanma meydana geldiğinde savunma mekanizmasını devreye sokmak
- Bileşenleriyle birlikte embriyolojik gelişim esnasında, o dönemde dental papilla olarak adlandırılır, diş oluşumunu başlatmak için çevre dokularla etkileşime girmek
- Pulpa dış tabaka odontoblastları aracılığıyla dentini (birincil ve ikincil) oluşturmak
- Dentinal tübüllerin tıkanma sürecinde sklerotik dentinin oluşumu ile pulpaya koruyuculuk sağlamak

1.3. Klinik Problemin Tanımı ve Çözüm Yaklaşımları

Pulpa dokusu dişte bulunan tek yumuşak dokudur ve görevi kendi fizyolojik faaliyetlerine ilave olarak kan yolu ile sinir hücrelerini beslemektir. Bünyesinde, başta kan damarları arasındaki fibroblastlar ve odontoblastlar olmak üzere birçok farklı hücre tipi barındırmaktadır. Diş pulpasında hücre dışı matrikste tip I (%56) ve tip III (%41) kolojen ve kolojen dışı proteinler (sülfatlar %34, kondrotin 4 ve 6 sülfat %60, keratin sülfat %2 oranlarında) bulunmaktadır [8]. Bu organik bileşenler hep birlikte yapı ve fonksiyon bakımından pulpa dokusunun temelini oluşturmaktadır. Kolojen tip I pulpa dokusunun viskoelastik [9] ve biyomekanik özelliklerine, aynı dayanıklılık ve sertlik gibi [10], katkıda bulunurken, proteoglikanlar viskoelastik özelliklerini sağlamaktadır [8]. Pulpa dokusu mineralize olmamış yumuşak dokudur. Mineralizasyondan yoksun olması, bazı özel molekküllerin pulpada değil hemen bitişiğindeki dentin tabakasında yoğunlaşmış olmasından kaynaklanmaktadır. Daha önceki çalışmalar, mineralizasyondan sorumlu molekküllerin (dentin fosfoprotein, dentin matriks protein-1, ve osteokalsin) odontoblastlarda yoğunlaşmış olduğunu göstermektedir [8].

Dental pulpa enfeksiyonları kendiliğinden iyileşme yeteneğine sahip olmadığından klinik yöntemlerle probleme çözüm aranmaktadır. Güncel klinik uygulama endodontik kanal tedavisi olup bu yöntemin sonunda diş damarsız ve sinirsiz bir organ haline dönüşmekte ve bu nedenle dişlerde yapısal bozukluklar oluşmaktadır. Bunun sonucu olarak dişler daha kırılğan hale gelebilmektedir. Ayrıca, bu bozukluklar diş kaybına ve hassaslığına sebep olmaktadır. Bunun nedeni ise tedavi sırasında pulpanın çıkarılması ile dişteki hissetme duyusunun yok olması, mikrobiyal saldırıların önüne geçme kapasitesinin ortadan kalkmasıdır. [11]. Rejeneratif mühendislik yaklaşımıyla, endodontik tedavi görmüş dişlerde ortaya çıkan komplikasyonları ortadan kaldırmanın mümkün olabileceği ve dişin doğal diş özelliklerine kavuşabileceği düşünülmektedir. Ancak bu yaklaşımın önemli bir parçası olan biyomateryal seçimi ile ilgili önemli bilgi eksikliği bulunmaktadır. Bu bağlamda ele alındığında doğal diş pulpasının viskoelastik ve biyomekanik karakterizasyonu, rejeneratif mühendislikte kullanılmak üzere biyomateryal tasarlamak için gerekli ve önemlidir. Ne var ki insan dental pulpa dokusunun materyal özellikleri bilinmemektedir ve bu nedenle biyomateryal seçimi de sağlıklı bir biçimde yapılamamaktadır. Daha önceden minyatür domuz (mini-pig) dişinden

alınan pulpa dokusunun viskoelastik ve biyomekanik karakterizasyonu Erişken ve grubu tarafından yapılmıştır [12]. Literatürdeki bu çalışmada, buzağıdan alınan osteokondral dokunun viskoelastik ve biyomekanik karakterizasyonunda kullanılan parametreler temel alınmıştır [13]. Minyatür domuz örneği karakterizasyonu, bu konuda raporlanmış ilk çalışma olmasına rağmen literatür bu konuda hala eksik olup insan diş pulpası hakkında bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez kapsamında yürütülen çalışma, bu konudaki boşluğu doldurup insan pulpasının osilasyonlu kayma ve basınç altında materyal özelliklerini raporlandırmayı amaçlamaktadır. Dental pulpa rejenerasyonu için kullanılan biyomateryaller, hücreler için doğal ortamlarına benzer bir ortam sunmayı amaçlamakta olup, bu materyallerin kimyasal yapıları biyobozunur türden ve biyolojik olarak da biyouyumlu olmaları gerekmektedir. Bu konudaki çalışmalar hücrelerin bulunduğu ortamla hücreler arasındaki fizikokimyasal etkileşimin hücrelerin fonksiyonellikleriyle yakından ilgili olduğunu göstermektedir [14, 15]. Bu bağlamda, dental pulpa rejenerasyonu hedeflendiğinde biyomateryal seçimi ve geliştirilmesi, dental pulpanın viskoelastik materyal özelliklerinin bilinmesini gerektirmektedir. Bu özellikler, uygun biyomateryallerin seçimi için gerekli verileri sunup rejeneratif mühendislik için hücre iskeleleri oluşturma konusunda yardımcı olabilmektedir. Bu verilere dayanarak, bu çalışmanın amacı insan yirmi yaş dental pulpa dokusunun biyomekanik ve viskoelastik özelliklerinin incelenmesi olarak belirlenmiştir. Pulpa dokusu, doğrusal viskoelastik özellikler (kayıp ve depolama modülüsleri) ve stres-gevşeme ile tek eksenli basma mukavemeti bakımından değerlendirilmiştir. Bu çalışma, insan dental pulpa materyal özelliklerini ilk defa değerlendiriyor olması bakımından özgün bir nitelik taşımaktadır. İnsan diş pulpası rejenerasyonu çalışmalarının gerçekleştirilmesi sürecinde bu özelliklerin göz önünde bulundurulmasının doğru biyomateryal seçimi açısından faydalı olacağı değerlendirilmektedir.



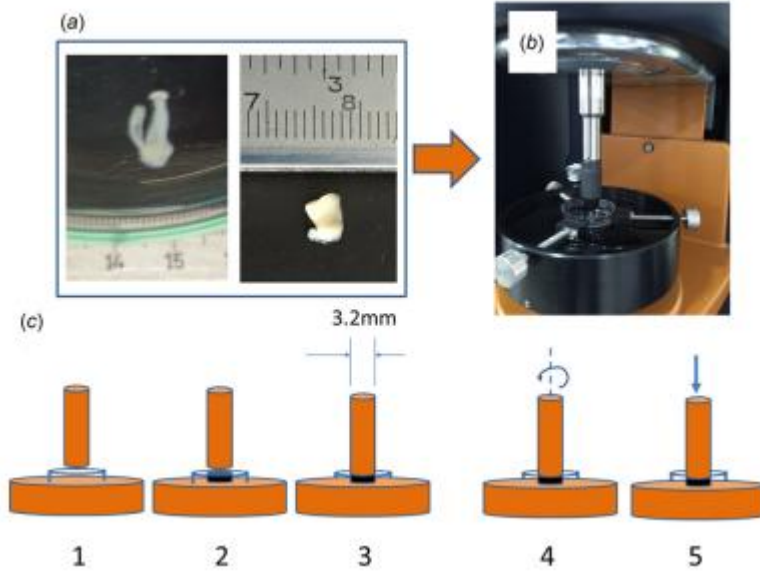
2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

2.1 Dental Pulpa Hazırlanması

Pulpa dokusu insanlardan alınan yirmi yaş dişlerinden elde edilmiştir. Örnekler, 16-25 yaş aralığında, karışık cinsiyette farklı hastalardan alınmış olup (n=3) Hacettepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun protokolüne uygun olarak hazırlanmıştır. Kısaca anlatmak gerekirse, lokal anestezi sonrası çekilen dişler %3 penisilin-streptomisin solüsyonunda saklanmıştır. Daha sonra, dişin tepe kısmı dentin-sementum bağlantısından steril fosfat tampon çözeltisi (PBS) içinde ayrılmıştır ve pulpa dokusu tek parça halinde çıkarılmıştır. Test örnekleri 24 saat içinde 3.2mm çapındaki silindirik disklerin arasına PBS içinde yerleştirilmiş ve karakterize edilmiştir (Şekil 2.1).

2.2 Vizkoelastik Özelliklerinin Karakterizasyonu

Örnekler Discovery Hybrid Rheometer (TA Instruments, New Castle, DE) kullanılarak baskı ve salınımlı gerinim deneyleri ile karakterize edilmiştir. Deneysel düzenek daha önce yapılmış olan minyatür domuz dental pulpa karakterizasyonu için kullanılan düzenekle benzerdir [12]. Bu düzenek, paralel plaka reometre prensiplerine göre çalışmaktadır. Bu işlem sırasında örnekler vücut sıcaklığında (37°C) PBS solüsyonunda tutularak kurumayı engellenmiştir (Şekil 2.1). Deneyler süresince, üst disk saat yönünde veya saat yönünün tersi yönünde dönerken aynı zamanda sabit bir hızda aşağı doğru normal kuvvet uygulanabilmektedir. Bu sistem, verilerin toplanması için tork ve normal kuvvet dönüştürücüsüne bağlıdır.



Şekil 2.1: İnsan pulpası görüntüsü ve karakterizasyonu. (a) Yirmi yaş dişinden elde edilen doku, (b) Reolojik karakterizasyon ünitesi, (c) Plaka hareketleri. (a) 'daki ölçek çubuğunda, alt sıradaki her boşluk 1 mm'dir.

2.3 Düşük Amplitüt Salımlı Kayma

Düşük amplitüte salımlı kayma testinde gerinim zamanın bir fonksiyonu olarak $\gamma = \gamma_0 \sin(\omega t)$ olarak salınır. Burada γ_0 kayma gerinimi genliğidir ($\theta D/h$ olarak tanımlanır, θ açısal yer değiştirme, D disk çapı, ve h iki disk arasındaki mesafedir), ω salınım frekansı ve t zamanı göstermektedir. Salımlı deformasyona verilen kayma gerilmesi, τ , depolanan enerjiyle ve ısı olarak dağıtılan enerjiyle ilişkili iki bileşenden oluşur:

$$\tau = G'(\omega) \gamma_0 \sin(\omega t) + G''(\omega) \gamma_0 \cos(\omega t) \quad (2.1)$$

Burada, $G'(\omega)$ kesme depolama modülüsüdür ve $G''(\omega)$ kesme kayıp modülüsüdür. $G''(\omega)$ ile $G'(\omega)$ arasındaki oran $\tan \delta$ 'dır. Salımlı kayma, modülüslerin gerinim genliğinden bağımsız olduğu doğrusal viskoelastik bölgede gerçekleştirilmelidir. Ön çalışmalarındaki gerinim genliği taramaları, %1 gerinme genliğine kadar doğal dokudaki salımlı kayma deformasyonunun doğrusal bölgede gerçekleştiğini göstermiştir. Bu nedenle, $G'(\omega)$ ve $G''(\omega)$ dinamik özellikleri, % 1 gerinimde 0.1-100 rps aralığında frekansın bir fonksiyonu olarak karakterize edilmiştir. Frekansları

taramak, bir dizi zaman ölçeği boyunca dokunun doğrusal viskoelastik yanıtının karakterize edilmesini sağlar.

2.4 Sıkıştırılmaya Karşı Tepkisi

Dental pulpa dokusunun basma testleri %0-10 sıkıştırma oranında ve 0,05 mm/dak hızında değerlendirilmiştir. Bu deney parametreleri daha önce minyatür domuz dental pulpası ve kıkırdak dokusunda kullanıldığından bu çalışma için de uygun olarak değerlendirilmiştir [12]. Deney esnasında öncelikle numuneler 0,03N yük değerine kadar sıkıştırılmış ve tam kontak sağlanmıştır. Daha sonra da sıkıştırma deneyi başlatılmıştır. İkinci bir deney olarak da normal yük altında sıkıştırılmaya karşılık stres-gevşeme gerçekleştirilmiştir. Bu deneyde 3-4 sn süreyle anlık %20 düzeyinde bir sıkıştırma yapılmış ve dental pulpanın gevşeme davranışı incelenmiştir.

2.5 İstatistiksel Analiz

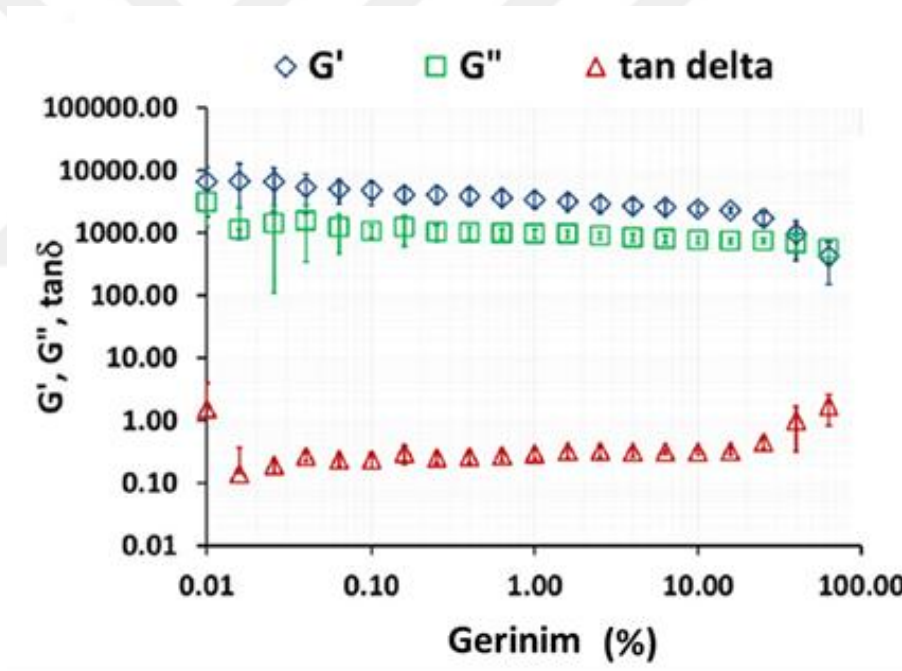
Deneyle, yalnızca insan diş pulpa dokusu için tasarlanmıştır. Birden fazla grup incelenmemiştir. Bu nedenle, verilerin istatistiksel analizi gerekli olmamıştır. Bildirilen değerlerin hepsi ortalama \pm standart sapma formundadır.



3. DENEYSEL BULGULAR

3.1 Açısal Gerinim Taraması

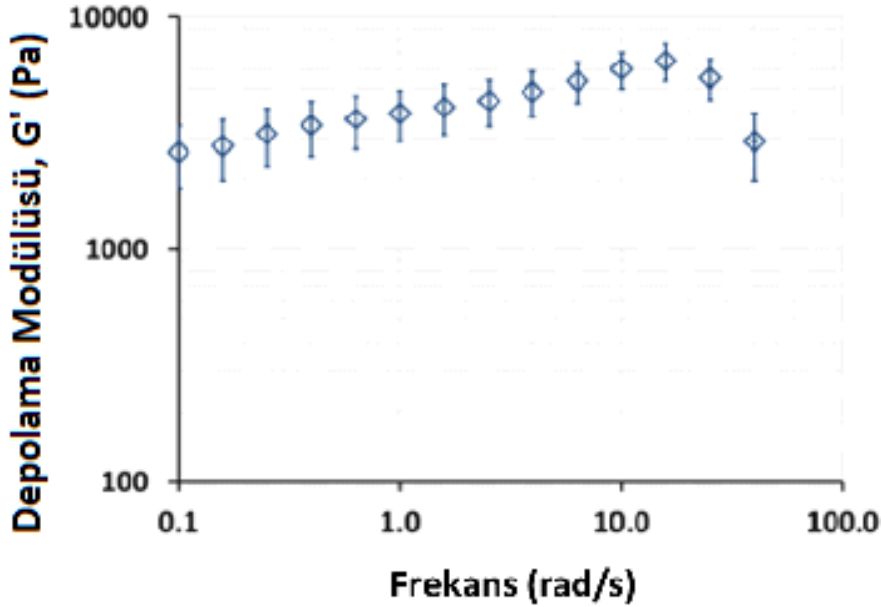
İnsan pulpa dokusunun dinamik materyal fonksiyonları, depolama modülü (G'), kayıp modülü (G'') ve $\tan\delta$ (G''/G'), 1 rps frekansta %1-100 gerinim büyüklüğü aralığı boyunca ölçülmüştür. Depolama ve kayıp modülüslerinin yanı sıra $\tan\delta$ (G''/G') değerleri, incelenen gerinim büyüklüğü aralığında bağımsız davranış sergilemiştir ve bu yüzden bu aralıkta insan diş pulpa dokusu doğrusal viskoelastik davranış sergilemiştir (Şekil 3.1).



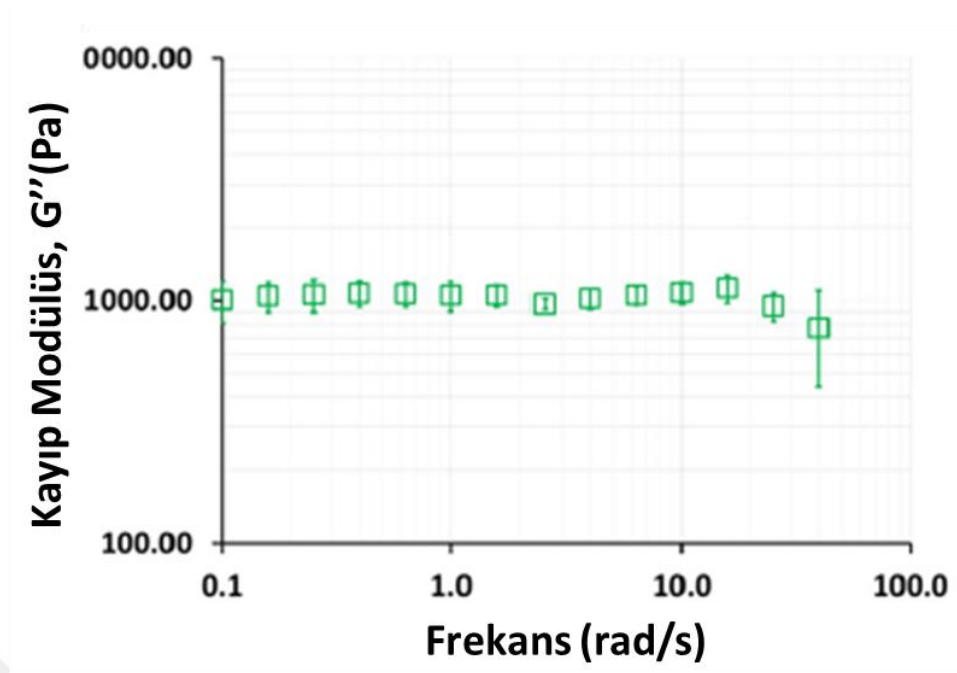
Şekil 3.1: İnsan dental pulpa dokusunun açısal gerinim taraması, G' , G'' ve $\tan\delta$ değerleri.

3.2 Doğrusal Viskoelastik Fonksiyonların Frekans Bağımlılığı

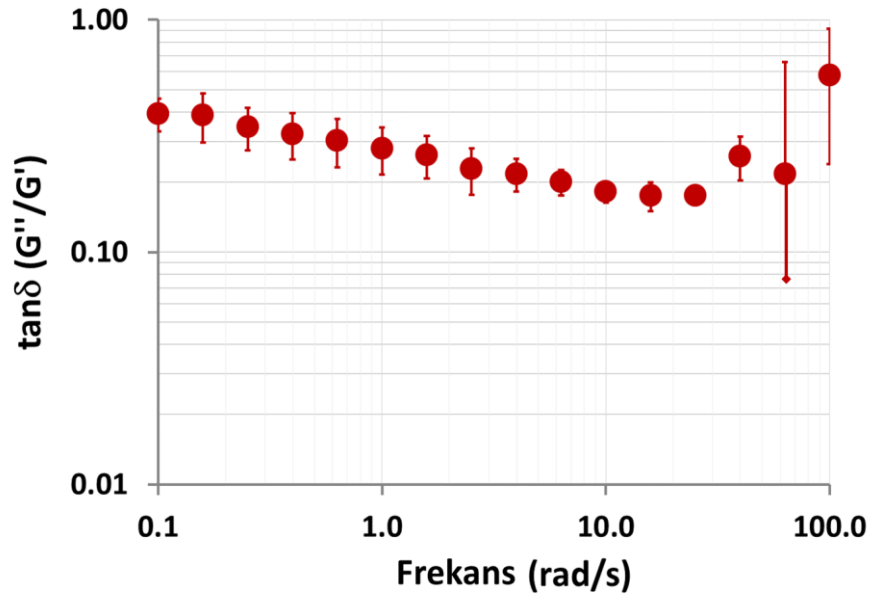
Frekans süpürme deneyleri 0,1-100 rps frekans aralığında ve %1 gerinim büyüklüğünde gerçekleştirilmiştir. Daha önce belirtildiği gibi, bu gerinim genliğinde, insan pulpa dokusu doğrusal viskoelastik davranış sergilemiştir. Depolama modülüsü (G'), kayıp modülüsü (G'') ve tandelta (G''/G') parametrelerinin frekans bağımlılıkları sırasıyla, Şekil 3.2'de, Şekil 3.3 ve Şekil 3.4'te verilmiştir. Sonuçlar, depolama modülüs değerlerinin, kayıp modülüs değerlerinden daha büyük olduğunu (0,1 ile 0,5 arasında değişen $\tan\delta$ değerleri) ve modülüslerin frekanstan neredeyse bağımsız ve birbirine paralel davranış sergilediğini göstermektedir (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3). Bu veriler eşliğinde, insan pulpa dokusunun depolama modülüsünün (G') 2000 ve 7000 Pa arasında ve kayıp modülüsünün (G'') 1000 Pa civarında değerler sergilediğini söylemek mümkündür.



Şekil 3.2: İnsan dental pulpa dokusunun depolama modülüs parametresinin frekans bağımlılığı



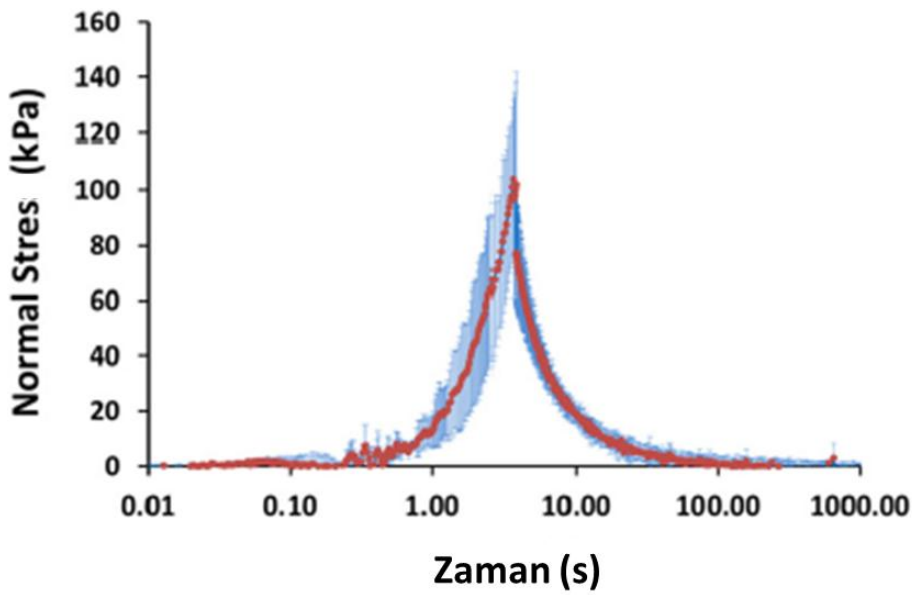
Şekil 3.3: İnsan dental pulpa dokusu kayıp modülüs parametresinin frekans bağımlılığı



Şekil 3.4: İnsan dental pulpa dokusu tan delta parametresinin frekans bağımlılığı.

3.3 Tek Eksenli Sıkıştırma Karşılığında Relaksasyon

Şekil 3.5, 3-4s süresince %20 sıkıştırma uygulandıktan sonra insan pulpa numunelerinin tepkisini göstermektedir. Pulpa dokusunun normal stresi, uygulanan gerinime bağlı olarak önce ani olarak yükselmekte, bir nominal değere ulaştıktan sonra zamana bağlı gevşeme davranışı göstermektedir. Şekil 3.5'te gösterildiği gibi normal stres, başlangıçtaki değerine geri dönmüştür ve bu durum viskoelastik akışkan malzemelerin karakteristik bir özelliğidir.

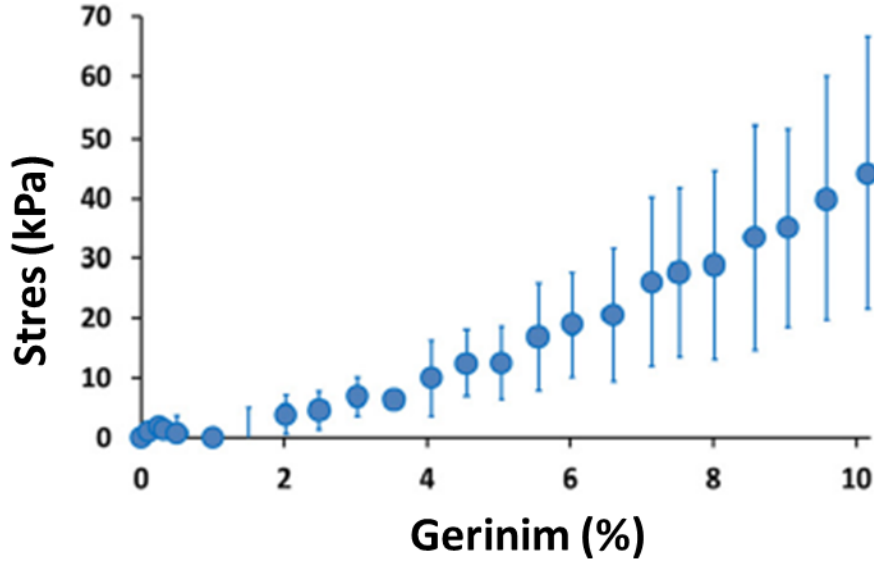


Şekil 3.5: İnsan dental pulpa dokusunun sıkıştırma-gevşeme davranışı (Mavi renkli çubuklar standart sapmayı göstermektedir).

Örneklerin gevşeme davranışı incelendiğinde, yaklaşık 1000s kadar bir sürede tam gevşeme sağlandığı görülmektedir. Spesifik olarak, 3,8 saniyede %20 sıkıştırma üzerine maksimum stresinin $102,0 \pm 39,6\text{kPa}$ olduğu ve 1035 s'de $0,27 \pm 1,48\text{kPa}$ değerine ulaştığı gözlenmiştir (Şekil 3.5).

3.4 Sıkıştırma Stres Davranışı

İnsan pulpa dokusunun stres-gerinim davranışı Şekil 3.6'da gösterilmektedir. % 10 gerinim değeri esas alınarak saptanan pulpa dokusunun Young Modülüsü, pik normal stres ve dokunun tokluğu (toughness, stres-gerinim eğrisinin altındaki alan) Çizelge 3.1'de gösterilmektedir. Spesifik olarak, % 10 gerinimde, Young Modülüsü, tepe stres değeri, ve tokluk değerleri sırasıyla $5,5 \pm 2,8$ kPa, $39,1 \pm 20,4$ kPa ve $139,1 \pm 75,1$ kPa'dır.



Şekil 3.6: İnsan dental pulpa dokusunun stres-gerinim davranışı

Çizelge 3.1: İnsan pulpa dokusunun biyomekanik özellikleri. (Veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuştur.)

Young modülüsü (kPa)	Tepe stres değeri (kPa)	Tokluk (kPa)
$5,5 \pm 2,8$	$39,1 \pm 20,4$	$139,1 \pm 75,1$



4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Günümüzde, hücre nakli, diş pulpası rejenerasyonunun başlıca stratejisidir [16, 17, 18]. Rejenerasyon çalışmalarında kullanılan hücre ekme materyalinin seçimi tipik olarak kullanım kolaylığı veya optimizasyona dayanmaktadır. Biyomateryalin viskoelastik materyal fonksiyonlarını doğal dental pulpa dokusuyla eşleştirmeye yönelik çabalar şimdiye kadar yetersiz kalmıştır. İlgili literatürde böylesine bir yetersizlik gören Erişken ve grubu daha önce, bu tür çalışmalardan ilki teşkil edecek deneysel bir çalışmada minyatür domuz diş pulpasının viskoelastik özelliklerini ölçmüştür [12]. Dental pulpa rejenerasyonu ile ilgili mevcut bilgi havuzuna eklemek için, bu çalışma ilk kez insan diş pulpasıyla ilgili viskoelastik veriler sunmaktadır ve viskoelastik karakterizasyondan elde edilen bulguları kullanarak daha temsili bir biyomateryalin seçilebileceğini önermektedir. Bu nedenle, burada bildirilen bulgular, insan pulpasının rejenerasyonu için klinik olarak uygulanabilir biyomalzemelerin geliştirilmesinde bir referans teşkil edebilir niteliktedir.

İnsan deneklerin yirmilik dişlerinden elde edilen doğal pulpa dokuları, sıkıştırma altında salınımlı kayma ve biyomekanik özellikleri bakımından karakterize edilmiştir. Açısal gerinim taraması, depolama modülüsünün (G'), kayıp modülüsünün (G'') ve $\tan\delta$ değerlerinin % 1 gerinime kadar gerinim genliği tarafından etkilenmediğini ve hepsinin bu aralıkta doğrusal viskoelastik davranış sergilediklerini göstermiştir. Döngü esnasında yüzey kayması etkisi, jel benzeri davranış sergileyen malzemelerin bir özelliğidir [19]. Gerinim süpürme deneylerinden açıkça görülebileceği gibi, % 1 sünme seviyesine kadar yüzey-kayma önemsiz düzeyde gözlemlenmekte, ancak daha sonra yüzey-kayma etkisi artmaktadır. Bu davranış bu tür materyallerin tipik bir özelliğidir ve bu durum disklerin yüzeyindeki gerçek gerinimi elde etmek için yüzey-kayma etkisi içeren verilerin yeniden düzenlenmesi ile giderilebilir. Genellikle, yumuşak bağ dokularının çoğunda bulunan proteoglikan moleküllerinin varlığı yüzeyin yağlanması ve bu da reolojik karakterizasyonda yüzey-kayma etkisine neden olabilmektedir [12].

Yumuşak biyolojik dokuların böylesine yaygın davranışının insan diş pulpası dokusu için önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Doğal eklem kıkırdağı üzerinde yapılan önceki testlerde de bu tür bir davranış gözlemlenmiştir [13].

Frekans-süpürme testlerinin sonuçları, insan pulpa dokusunun viskoelastik davranışının, mikrojellerin tipik özelliklerini sergilediğini ortaya koymaktadır. Jel benzeri davranışın varlığı, bu çalışmada tipik olarak küçük $\tan\delta$ değerleri ile gösterilmiştir. Jelimsi malzemeler için $\tan\delta=0,1-0,5$ olarak raporlandırılmıştır [13, 20, 21]. Ayrıca, depolama modülüs değerleri, kayıp modülüs değerlerinden çok daha büyüktür ve modülüsler frekanstan neredeyse bağımsızdır ve paralel davranış sergilemektedir. Tüm bu özellikler diş pulpası dokusunun mikrojel özellik taşıdığını göstermektedir. Diş pulpası dokusu, hücreler, kolajen lifleri, proteoglikanlar, su ve elektrolitler gibi hücre dışı matriks bileşenlerini içerir. Bu bileşenler, gözenekli kompozit fiber yapılı organik katı matrisi oluşturmak üzere etkileşime girerler ve bu da en sonunda pulpa dokusunun viskoelastik davranışına katkıda bulunur. Bu bağlamda, proteoglikanlar deformasyon enerjisini depolayabilen ağlardır [22]. Diğer yandan çapraz bağlı fibröz kolajenler, dokuya gerilme direnci ve sağlamlık kazandırmaktadır [23]. Genel olarak, kolajenler ve proteoglikanlar ile bunların etkileşimleri ve aradaki gözeneklerde dolaşan sıvı ile dolu bir çevredeki diğer hücre dışı matriks bileşenleri, diş pulpa dokusunun viskoelastik davranışını belirlemektedir [24, 25].

Diş pulpa dokusunun hücre dışı matriksi kolajen bakımından (tip I:% 56, tip III:% 41, tip V:% 2) ve proteinler bakımından zengindir [8]. Pulpa dokusunda bulunan kolajenlerin kompozisyonu ve türü tendon dokusunda bulunanlara benzerdir. Her ikisi de tip I ve III kolajenleri içerir ve tip I miktarı tip III'ten daha fazladır [26]. Bu nedenle, pulpa dokusundaki kolajen fibrillerin yapısı içindeki çapraz bağ oluşumu, tendon dokusunda çapraz bağlantı oluşumu sırasında meydana gelen olaylarla açıklanabilir. Tendon dokusundaki trivalent molekül içi piridinolin çapraz bağları ve lisil piridinolin, kolajenin fibriler yapısını stabilize eder ve dokunun mekanik özelliklerini kontrol eder. Enzimatik olarak oluşturulmuş kovalent olgunlaşmamış çapraz bağlar daha sonra doku olgunlaşması ile olgun üç değerlikli çapraz bağlara dönüştürülür [27]. Kolajen dokulardaki çapraz bağ yoğunluğunun yaşlı bireylerde oldukça yüksek olduğu kabul edilmektedir, bu da biyomekanik özelliklerde yaşa bağlı değişikliklere yol açmaktadır [28]. Tek kolajen fibril seviyesinde, kolajen

moleküllerinin ve su moleküllerinin yeniden düzenlenmesinin viskoelastik davranış için mekanizma sağladığı önerilmiştir. Shen ve ark. [9]'na göre bir fibril sıkıştırılmaya mağruz bırakıldığında, (i) kolajen molekülleri gevşeyebilir, düzleştirilebilir veya birbirlerine göre kayabilir, (ii) interstisyel sıvı içindeki moleküller dönebilir, fibril içinde dönüşebilir veya fibrilden çıkabilir. Bu durum, fibrilde bir gerilme oluşturabilen ağın yeniden düzenlenmesiyle sonuçlanır. Uygulanan stresin giderilmesi esnasında fibril içindeki kolajen molekülleri ve su molekülleri yeniden düzenlenir, bu davranış da kolajen viskoelastisitesini belirlemektedir. Bu çalışmadaki verilere bakıldığında, çapraz bağlı kolajen fibriller tarafından oluşturulan kalıcı bağlantı noktalarının insan pulpa dokusunda neredeyse frekanstan bağımsız bir davranışa neden olabileceği düşünülmektedir. Hesaplanan $\tan\delta$ değerleri, 1-100 rps frekans bandında, 0,1-0,5 aralığında değişmiştir ve viskoelastik davranış göstermiştir, ancak tamamen elastik davranış noktasına da erişmemiştir.

İnsan pulpa dokusunun zamana bağlı davranışını değerlendirmek için yapılan stres-gevşeme testleri de viskoelastisitenin güçlü rolünü desteklemektedir. Bir Newtonyan akışkanın davranışı, bir cisim üzerinde uygulanan stresin, deformasyonun giderilmesiyle anında düşeceğini öngörür. Tamamen elastik bir materyal için, devamlı olarak muhafaza edilen gerginlikle ilişkili stres sabit kalır. Viskoelastik bir materyal ise zamana bağlı stres-gevşeme davranışı gösterir. Bu çalışmada karakterize edilen insan diş pulpa dokusunun viskoelastik yapıda olması stres-gevşeme deneyindeki davranışını belirlemede önemli rol oynamıştır.

Daha önce belirtildiği gibi, minyatür domuz'dan elde edilen dental pulpa dokuları üzerinde benzer testler yapılmıştır [12]. İnsanlardaki diş pulpa dokusunun depolama modülüsü ve kayıp modülüsü minyatür domuz ile karşılaştırıldığında bu iki tür arasında bir büyüklük kertes farkı ortaya çıkmaktadır (insan diş pulpası için değerler daha büyüktür). Buna ek olarak, $\tan\delta$ değerleri benzer bir aralıkta dağılmıştır (minyatür domuz için 0,1-0,5, insan insanlar için 0,1-0,7). Önceki minyatür domuz çalışmasında köpek dişi pulpası kullanıldığı halde bu çalışmada insan yirmilik dişi pulpasının kullanıldığını belirtmek faydalı olacaktır. Bu çalışmada insan köpek dişi kullanılmamıştır çünkü yirmilik dişi zaten kullanılmayan ve çekilen bir diştir. İnsanlardan deneyler için sağlıklı köpek dişi çekmek anlamsızdır. Ayrıca, bir insan köpek dişi, reometrenin diskleri içinde düzgün şekilde sıkıştırılacak kadar geniş

değildir. Bununla birlikte, mümkün olduğunda türler arasında birebir karşılaştırmanın yapılabilmesi için aynı diş türlerinin kullanılmasının önemli olduğunu belirtmekte fayda görülmektedir.

İnsan ve minyatür domuz diş pulpası dokuları için stres-gevşeme sonuçları benzer davranış izlemiştir. Her iki malzeme de neredeyse tamamen gevşeme göstermiş olup her iki pulpa örneklerinin de viskoelastik akışkan tipteki gevşeme davranışını gösterdiği söylenebilir. Kalıntı stres değerleri, insan diş pulpası için $0,26 \pm 1,48$ kPa, minyatür domuz için $0,23 \pm 0,09$ kPa olarak ölçülmüş olup her iki doku örneklerinin geriye dönmesi yaklaşık 1000 saniye sürmüştür .

İnsan ve minyatür domuz pulpa dokuları, dokulara uygulanan doğrusal yükler altında farklı davranışlar sergilemişlerdir. Örneğin, 0,05 mm/dk hızında %10 oranda sıkıştırma için tepe stres değerleri sırasıyla insan ve minyatür domuz örnekleri için $39,1 \pm 20,4$ ve $7,3 \pm 3,0$ kPa olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde, insan diş pulpa dokusunun, minyatür domuz pulpa dokusundan (sırasıyla $5,5 \pm 2,8$ Pa ve $0,8 \pm 0,4$ kPa) daha yüksek Young Modülüsü değerine sahip olduğu görülmüştür.

Deneylerde elde edilen veriler incelendiğinde, genel olarak standart sapma değerlerinin yüksek olduğu, dolayısıyla verilerdeki saçılmanın geniş olduğu gözlenmektedir. Bu deneylerdeki geniş saçılma, donörlerin yaşına (16 ila 25 yaş arasında değişmektedir) bağlı olabilir. Daha önce belirtildiği gibi, kolajenli dokulardaki çapraz bağ yoğunluğu yaşa bağlı farklılık göstermektedir ve bu durum biyomekanik özelliklerde görülen saçılmayı kısmen açıklayabilir. Buna ek olarak, standart sapma değerlerinin yüksek olması örnek sayısının kısıtlı olmasından kaynaklanabilir.

Bu çalışmada üretilen verileri kullanarak tasarlanabilecek biyomalzemelerden bahsetmek ayrıca önemlidir. Rejeneratif mühendislik yaklaşımlarında yaygın olarak kullanılan hidrojellerden üçü olan agaroz, alginat ve kolajen hem reolojik hem de biyomekanik olarak başka araştırmacılar tarafından karakterize edilmiştir [12]. Bu tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmadaki insan pulpa dokusunun doğrusal viskoelastik materyal fonksiyonlarının literatürde mevcut olan üç hidrojel ile karşılaştırıldığında, % 2 sabit jelasyon ajanı konsantrasyonunda dinamik özelliklerin, yani, depolama ve kayıp modülüsleri ile $\tan\delta$ 'nın agaroz ve alginat bazlı jellerle benzerlik gösterdiği görülmektedir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1: Hidrojellerin ve pulpa dokusunun reolojik değerleri (Minyatür domuz ve hidrojel değerleri Erisken ve ark. [12]'dan alınmıştır).

	Minyatür Domuz	Agaroz	Alginat	Kolajen	İnsan
Depolama Modülü (G')	100	10000	1000	10	3000
Kayıp Modülü (G'')	10	1000	300	10	1000
tan delta (G''/G')			0.1-1.0		

Tek eksenli sıkıştırma altında, insan pulpa dokusunun tepe normal stresleri ve sıkıştırma modülleri, hidrojellere kıyasla önemli ölçüde daha yüksek değerler ortaya çıkarmıştır (Çizelge 4.2). Buradan görüldüğü gibi, hidrojeller bazı özellikler açısından dental pulpa dokusu ile benzer özellikler gösterirken bazı özellikler bakımından farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla, dental pulpa özelliklerinin eşleştirilebileceği tek bir hidrojinin varlığından söz etmek mümkün değildir. Unutulmamalıdır ki buradaki hidrojeller %2 derişimde hazırlanmıştır. Farklı derişimde hazırlanan hidrojellerin katkı ajanlarıyla zenginleştirildiğinde optimize edilebilecekleri ve insan dental pulpa dokusu özelliklerini sağlayabilecekleri düşünülmektedir. Ancak bu tür bir optimizasyon bu çalışmada ele alınmamış olup başka bir çalışmanın konusu olarak önerilmektedir.

Çizelge 4.2: Pulpa dokularının ve hidrojellerin biyomekanik özelliklerinin karşılaştırması.

	Minyatür Domuz	Agaroz	Alginat	Kolajen	İnsan
Stres (kPa)	7,3±3,0	7,9±1,8	2,8±1,0	0,3±0,0	39,1±20,4
Modülüs (kPa)	0,8±0,4	0,8±0,2	0,3±0,1	0,03±0,0	5,5±2,8
Tokluk (kPa)	37,7±19,1	39,6±8,8	13,8±3,0	1,4±0,0	139,1±75,1

Özetlemek gerekirse, bu çalışmada, insan dental pulpa dokusunun doğrusal viskoelastik özellikleri ve tek yönlü baskıya karşı davranışı incelenmiştir. Bulgular, insan dental pulpasının viskoelastik malzeme özelliklerine sahip olduğunu ve jelimsi davranış gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulguların, pulpa rejenerasyonu için

linik maksatlı biyomateryal geliştirmek üzere çalışan araştırmacılara önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

Bu tez çalışması, insan diş pulpa dokusunun viskoelastik karakterizasyonu bakımından ilk çalışma olmasına rağmen, çalışmanın kısıtlamaları ve sınırlamaları mevcuttur. Bunları řu şekilde sıralamak mümkündür:

- Farklı cinsiyet ve yaşlardaki diş pulpa dokularının farklı deney grupları olarak karakterize edilmesi çalışmanın derinliği açısından önemlidir.
- Hastalıklı ve sağlıklı diş pulpa dokularının krakterize edilmesi çalışmanın bilimsel katkısını güçlendirecektir.
- Pulpa dokusu viskoelastik ve biyomekanik özelliklerinin dokunun her bir bileşeniyle ilişkisinin incelenmesi viskoelastik ve biyomekanik davranışına etki eden parametrelerin tespit edilmesine katkıda bulunacaktır.
- Diş pulpa dokusunun stres-gevşeme davranışı matematiksel olarak Maxwell elemanlarının (yay ve piston) seri olarak bağlandığı modelde incelenmesi dokunun viskoelastik modellemesi açısından bilgi sağlayacaktır.
- Depolama (G') ve kayıp (G'') modülüslerin aşağıdaki ifadelerle tanımlanan genel Maxwell modeli ile ilişkilendirilmesi, diş pulpa dokusunun materyal özelliklerinin hangi viskoelastik model ile açıklanabileceğini göstermesi bakımından faydalı olacaktır.

$$G' = \sum_i^N G_i \lambda_i^2 \omega^2 / (1 + (\lambda_i \omega))^2 \quad (4.1)$$

$$G'' = \sum_i^N G_i \lambda_i \omega / (1 + (\lambda_i \omega)^2) \quad (4.2)$$

Yukarıdaki bağıntılarda N toplam gevşeme sayısını, λ gevşeme zamanını ve G gevşeme dayanımını göstermektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **Barnes, H.A.**, *A handbook of elementary rheology 1st Edition*, Aberystwyth, İngiltere, (2000).
- [2] **Demarco, F.F., Conde, M.C.M., Cavalcanti, B., Casagrande, L., Sakai, V., Nör, J.E.**, (2011). Dental pulp tissue engineering, *Braz Dent J*, 22, 3-13.
- [3] **Yu, C., Abbott, P.V.**, (2007). An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury, *Australian Dental Journal Supplement*, 52, 4-16.
- [4] **Faria, A.C.L., Rodrigues, R.C.S., Antunes, R.P.A., Mattos, M.G.C., Riberio, R.B.**, (2011). Endodontically treated teeth: Characteristics and consideration to restore them, *Journal of prosthodontic research*, 55, 59-74.
- [5] **Bamise C. T., Dada B., Gureje G. A.**, (2015). Analysis of Extracted and Retreated Root Canal Treatment Failures in a Nigerian University Teaching Hospital, *Clinical Practice*, 4(1), 12-17
- [6] **Nor, J.E.**, (2006). Tooth regeneration in operative dentistry, *Oper Dent.*, 31, 633–642.
- [7] **Goldberg, M., Hirata, A.**, (2017). The Dental Pulp: Composition, Properties and Functions, *JSM Dentistry*, 5(1), 1079-1089.
- [8] **Goldberg, M., Smith, A.J.**, (2004). Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: A biological basis for repair and tissue engineering, *Crit Rev Oral Biol Med*, 15(1), 13-27.
- [9] **Shen, Z.L., Kahn, H., Ballarini, R., Eppell, S.J.**, (2011). Viscoelastic properties of isolated collagen fibrils, *Biophys J*, 100(12), 3008-15.
- [10] **Gelse, K., Poschl, E., Aigner, T.**, (2003). Collagens--structure, function, and biosynthesis, *Adv Drug Deliv Rev*, 55(12), 1531-46.
- [11] **Yuan, Z., Nie, H., Wang, S., Lee, C.H., Li, A., Fu, S.Y., Zhou H., Chen L., Mao J.J.**, (2011). Biomaterial selection for tooth regeneration, *Tissue Eng Part B Rev*, 17(5), 373-88.
- [12] **Erisken, C., Kalyon, D.M., Zhou, J., Kim, S.G., Mao, J.J.**, (2015). Viscoelastic Properties of Dental Pulp Tissue and Ramifications on Biomaterial Development for Pulp Regeneration, *J Endod*, 41(10), 1711-7.
- [13] **Erisken, C., Kalyon, D.M., Wang, H.**, (2010). Viscoelastic and biomechanical properties of osteochondral tissue constructs generated from graded polycaprolactone and beta-tricalcium phosphate composites, *J Biomech Eng*, 132(9), 091013.
- [14] **Mintz, B.R., Cooper, J.A.**, (2014). Hybrid hyaluronic acid hydrogel/poly(varepsilon-caprolactone) scaffold provides

mechanically favorable platform for cartilage tissue engineering studies, *J Biomed Mater Res A*, 102(9), 2918-26.

- [15] **Cameron, A.R., Frith, J.E., Gomez, G.A., Yap, A.S., Cooper-White, J.J.**, (2014). The effect of time-dependent deformation of viscoelastic hydrogels on myogenic induction and Rac1 activity in mesenchymal stem cells, *Biomaterials*, 35(6), 1857-68.
- [16] **Hargreaves, K.M., Giesler, T., Henry, M., Wang, Y.**, (2008). Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold?, *J Endod*, 34, 51-56.
- [17] **Murray, P.E., Garcia-Godoy, F., Hargreaves, K.M.**, (2007). Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action, *J Endod*, 33(4), 377-90.
- [18] **Sloan, A.J., Smith, A.J.**, (2007). Stem cells and the dental pulp: potential roles in dentine regeneration and repair, *Oral Dis*, 13(2), 151-7.
- [19] **Aktas, S., Kalyon, D.M., Marin-Santibanez, B.M., Perez-Gonzalez, J.**, (2014). Shear viscosity and wall slip behavior of a viscoplastic hydrogel, *Journal of Rheology*, 58(2), 513-35.
- [20] **Chambon, F., Winter, H.H.**, (1987). Linear Viscoelasticity at the Gel Point of A Cross-Linking PDMS with Imbalanced Stoichiometry, *Journal of Rheology*, 31(8), 683-97.
- [21] **Degirmenbasi, N., Kalyon, D.M., Birinci, E.**, (2006). Biocomposites of nanohydroxyapatite with collagen and poly(vinyl alcohol), *Colloids Surf B Biointerfaces*, 48(1), 42-9.
- [22] **Hayes, W.C., Bodine, A.J.**, (1978). Flow-independent viscoelastic properties of articular cartilage matrix, *J Biomech*, 11(8-9), 407-19.
- [23] **Akizuki, S., Mow, V.C., Muller, F., Pita, J.C., Howell, D.S., Manicourt, D.H.**, (1986). Tensile properties of human knee joint cartilage: I. Influence of ionic conditions, weight bearing, and fibrillation on the tensile modulus, *J Orthop Res*, 4(4), 379-92.
- [24] **Spirt, A.A., Mak, A.F., Wassell, R.P.**, (1989). Nonlinear viscoelastic properties of articular cartilage in shear, *J Orthop Res*, 7(1), 43-9.
- [25] **Zhu, W., Mow, V.C., Koob, T.J., Eyre, D.R.**, (1993). Viscoelastic shear properties of articular cartilage and the effects of glycosidase treatments, *J Orthop Res*, 11(6), 771-81.
- [26] **De Aro, A.A., Vidal, B.D., Pimentel, E.R.**, (2012). Biochemical and anisotropical properties of tendons, *Micron*, 43(2-3), 205-14.
- [27] **Coupe, C., Hansen, P., Kongsgaard, M., Kovanen, V., Suetta, C., Aagaard, P., Kjaer M., Magnusson S.P.**, (2009). Mechanical properties and collagen cross-linking of the patellar tendon in old and young men, *J Appl Physiol*, 107(3), 880-6.
- [28] **Haus, J.M., Carrithers, J.A., Trappe, S.W., Trappe, T.A.**, (2007). Collagen, cross-linking, and advanced glycation end products in aging human skeletal muscle, *J Appl Physiol*, 103(6), 2068-76.

Url-1: <http://www.tainstruments.com/wp-content/uploads/CA-2016-Rheology.pdf>, alındığı tarih: 05.04.2017.

Url-2: <http://www.tannlegetidende.no/i/2016/1/d2e198>, alındığı tarih: 03.04.2017.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Burak ÖZCAN
Uyruğu : TC
Doğum Tarihi ve Yeri : 10.05.1989 / Ankara
E-posta : burakoozcan@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2015, ODTÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji

YABANCI DİL: İngilizce

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Ozcan B**, Bayrak E, Erisken C*. Characterization of human dental pulp tissue under oscillatory shear and compression. Journal of Biomechanical Engineering 2016, 138: 061006.
- **Ozcan, B.**, Bayrak, E., Erisken, C*. 2016. Viscoelastic Properties of Dental Pulp Tissue for Biomaterial Development, Proceedings of NEMB2016: ASME 5th Global Conference on Nanoengineering in Medicine and Biology, February 21-24, Texas, US.

DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- Bayrak E, **Ozcan B**, Erisken C*. Processing of polycaprolactone and hydroxyapatite to fabricate graded electrospun composites for tendon-bone interface regeneration. Journal of Polymer Engineering 2017, 37(1): 99–106.
- Bayrak E, **Ozcan B**, Erisken C*. Cartilage-bone interface features, scaffold and cell options for regeneration. Journal of Tissue Science and Engineering 2016, 7:174.