T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

ÜÇ FARKLI NÖROPEPTİDİN AKUT PULPİTİSLİ SÜT VE DAİMİ DİŞ PULPALARINDA İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE DEĞERLENDİRİLMESİ

DOKTORA TEZİ

Dt. Ali Melih TEZKİRECİOĞLU

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Neşe AKAL

ANKARA
Ekim 2007

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

ÜÇ FARKLI NÖROPEPTİDİN AKUT PULPİTİSLİ SÜT VE DAİMİ DİŞ PULPALARINDA İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE DEĞERLENDİRİLMESİ

DOKTORA TEZİ

Dt. Ali Melih TEZKİRECİOĞLU

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Neşe AKAL

Bu Tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 03/ 2005/ 01 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Ekim 2007

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Pedodonti Ana Bilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : ../../2007

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
…. Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
…. Üniversitesi

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
…. Üniversitesi

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
…. Üniversitesi

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
…. Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul Onay I
İçindekiler II
Şekiller, Grafikler, Resimler III
Tablolar IV
Semboller, Kısaltmalar V
Önsöz VI
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1. Diş Pulpasının Embriyolojisi 2
2.2 Diş Pulpasının Histolojisi 2
2.2.1. Pulpanın Tabakaları 3
2.2.2. Pulpanın Hücreleri 4
2.2.3. Pulpa Ana Maddesi 7
2.2.4. Pulpadaki Bağ Dokusu Lifleri 7
2.2.5. Pulpadaki Büyüme Faktörleri 8
2.2.6. Pulpanın Vasküler Dokusu 9
2.2.7. Pulpanın İnnervasyonu 10
2.2.7.1 Nöropeptidler 12
2.2.7.1.a. Substance P 15
2.2.7.1.b. Nörokinin A 15
2.2.7.1.c. Kalsitonin Gen İlişkili Peptid 15
2.2.7.1.d..Vazoaktif İntestinal Peptid 16
2.2.7.1.e..Nöropeptid Y 16
2.3. Diş Pulpasının İnflamasyonu 21
2.3.1. Pulpitislerin Etyolojisi 21
2.3.2. Pulpitislerin Histopatolojisi 22
2.3.3. Pulpa İnflamasyonunun Sınıflandırılması 24
2.4.Pulpa Ağrısı 25
2.4.1.Ağrılı Hastanın Değerlendirilmesi 27
2.4.1.a.Çocuklarda Ağrı Değerlendirme Metodları 28
3.MATERYAL METOD 30
3.1.İmmünohistokimyasal Yöntem 32
3.2 İmmünohistokimyasal Boyanmalarının Değerlendirilmesi 34
3.3 İstatistiksel Analiz 34
4.BULGULAR 37
4.1 Kalsitonin Geni İle İlişkili Peptid (CGRP) Bulguları 37
4.2 Vazoaktif Intestınal Peptid (VIP) Bulguları 44
4.3.Nöropeptid Y (NPY) Bulguları 50
5.TARTIŞMA 56
6.SONUÇ 64
7.ÖZET 65
8.SUMMARY 66
9.KAYNAKLAR 67
10. ÖZGEÇMİŞ 78

Şekil, Grafik, Resimler

Şekil 1. Ağrı oluşum mekanizması **26**
Şekil 2. Ağrı seviyesininin tespit edilmesinde kullanılan visüel analog skala **31**

Grafik 1. CGRP Antikorunun immünohistokimyasal boyanma bulguları **39**
Grafik 2. VİP Antikorunun immünohistokimyasal boyanma bulguları **45**
Grafik 3. NPY Antikorunun immünohistokimyasal boyanma bulguları **51**

Resim 1. Anti–Polyvalent, HRP/AEC immünohistokimya kit ve CGRP, NPY, VIP antikorları **35**
Resim 2. Nikon Eclypse E-600 ışık mikroskobu **36**
Resim 3. Sağlıklı süt dişi grubunun pulpa dokusunda CGRP ile negatif boyanma **40**
Resim 4. Sağlıklı daimi diş grubunun pulpa dokusunda CGRP ile negatif boyanma **41**
Resim 5. Pulpitisli süt dişi grubunun pulpa dokusunda CGRP ile pozitif boyanma **42**
Resim 6. Pulpitisli daimi diş grubunun pulpa dokusunda CGRP ile pozitif boyanma **43**
Resim 7. Sağlıklı süt dişi grubunun pulpa dokusunda VIP ile negatif boyanma **46**
Resim 8. Sağlıklı daimi diş grubunun pulpa dokusunda VIP ile negatif boyanma **47**
Resim 9. Pulpitisli süt dişi grubunun pulpa dokusunda VIP ile pozitif boyanma **48**
Resim 10. Pulpitisli daimi diş grubunun pulpa dokusunda VIP ile pozitif boyanma **49**
Resim 11. Sağlıklı süt dişi grubunun pulpa dokusunda NPY ile negatif boyanma **52**
Resim 12. Sağlıklı daimi diş grubunun pulpa dokusunda NPY ile pozitif boyanma **53**
Resim 13. Sağlıklı daimi diş grubunun pulpa dokusunda NPY ile negatif boyanma **53**
Resim 14. Pulpitisli süt dişi grubunun pulpa dokusunda NPY ile pozitif boyanma **54**
Resim 15. Pulpitisli daimi diş grubunun pulpa dokusunda NPY ile pozitif boyanma **55**
Resim 16. Pulpitisli daimi diş grubunun pulpa dpkusunda NPY ile negatif boyanma **55**

Tablolar

Tablo 1. Fibril tipleri ve özellikleri **10**
Tablo 2. İmmünohistokimyasal ve radioimmünoassay yöntemlerle tanımlanan nöropeptidler **14**
Tablo 3. CGRP ile boyanan örneklerin istatistiksel verileri **39**
Tablo 4. VIP ile boyanan örneklerin istatistiksel verileri **45**
Tablo 5. NPY ile boyanan örneklerin istatistiksel verileri **51**

Semboller, Kısaltmalar

TNF-α	Tümör nekroz faktörü alfa
IL-1	Interlökin 1
GAG	Glikozaminoglikan
SP	Subsance P
NPY	Nöropeptit Y
VIP	Vazoaktif intestinal peptit
ACTH	Adrenokortikotropik hormon
FSH	Folikül uyarıcı hormon
LH	Lüteinleştirici hormon
TSH	Tiroid uyarıcı hormon
CRF	Kortikotropin salıverici faktör
GnRH	Gonadotropin salıverici hormon
GHRH	Büyüme hormonu salıverici hormon
TRH	Tirotropin salıverici hormon
CGRP	Kaisitonin geni ile ilişkili peptit
NEP	Nöroendodopeptidaz
NKA	Nörokinin A
NKB	Nörokinin B
VAS	Visüel analog skala
MPQ	McGill ağrı skalası
ABC	Avidin-biotin kompleks
TBS	Tris (hydroxymethyl-aminofen) buffer solusyonu
AEC	Amino etil karbazol

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleri ile yardımlarını ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Neşe AKAL' a,

Tezimi kurgulanması ve daha sonraki aşamalarında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Nurhan ÖZTAŞ ve Prof. Dr. Firdevs ÖZ' e,

Eğitimim süresince gösterdiği ilgi ve anlayışından dolayı Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Tezer ULUSU' ya,

Tezimin immünıhistokimyasal değerlendirme aşamasındaki yardım ve katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Benay TOKMAN ve Dr. Dt. Emre BARIŞ' a,

Doktora eğitimi boyunca desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Haluk BODUR'a ve değerli dostlarım Dr. Dt. Çağdaş ÇINAR ve Dr. Dt. Mesut ODABAŞ' a,

Eğitimim boyunca her zaman yanımda olan Dt. Tamer TÜZÜNER, Dt. Fatih ÖZNURHAN ve son 3 yılımı beraber geçirdiğim ev arkadaşım Dt. Mehmet Bani' ye,

Pedodonti Anabilim Dalı' ndaki tüm hocalarıma, asistanlığım boyunca birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize, teknisyenimize, bilgi işlem yetkilimize ve bölüm sekreterimize,

Ve sevgilerini ve her zaman maddi, manevi desteklerini esirgemeyen canım aileme; annem, babam, ablam ve enişteme,

TEŞEKKÜR EDERİM.

1. GİRİŞ

Pulpa dokusunda, inflamasyon sırasında oluşan değişiklikler; pulpanın mikrosirkülasyonu, immün sistem ve periferik sinir sistemi ile ilişkilidir[1-3].

Diş pulpası fazla sayıda myelinli ve myelinsiz sinir lifleri tarafından innerve edilir. Uyarana bağlı olarak hemen hemen tüm impulslar pulpada inflamasyona ve ağrı duyusunun oluşmasına neden olabilmektedir[3,4]. İnflamasyon oluşurken ise hücre düzeyinde meydana gelen değişikliklerde, dokulardan salgılanan bazı mediyatörler ve bu mediyatörlerin doku üzerinde oluşturdukları etkiler yeni bir merak konusu haline gelmiştir[5].

Nöropeptidler fizyolojik olarak sinir dokusunda bulunurlar, uyarının iletiminin yanısıra, inflamasyon sürecinde damarlar üzerinde vazokonstrüksiyon veya vazodilatasyon etkisi yaparlar[6,7].

Son yıllarda vücuttaki herhangi bir dokuda inflamasyon oluştuğunda meydana gelen değişikliklerin belirli nöral mekanizmalara bağlı olabileceği, bu mekanizmaların sinir fibrilleri üzerindeki etkileri ve sinir fibrillerinden dokular arasına salgılanan mediyatörlerin doku üzerindeki etkilerinin araştırılması, oluşmuş inflamasyonun ve ağrının önlenmesinde yeni farmakolojik ajanların bulunabileceği görüşüne yeni bir bakış açısı getirmiştir[6-8].

Sunulan araştırmanın amacı, sağlıklı ve pulpitisli diş pulpalarında nöropeptidlerin varlığının veya yokluğunun immünühistokimyasal yöntemle değerlendirilerek süt ve daimi dişler arasında bir karşılaştırma yapılıp, hastalardan alınan ağrı hikayelerinin değerlendirilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

Diş pulpası ileri derecede özelleşmiş, mezenşimal kökenli hücreleri olan ve dişin santral kısmını dolduran yumuşak bağ dokusudur[4,9-12].

2.1. DİŞ PULPASININ EMBRİYOLOJİSİ

Diş oluşumuna bağlı ilk değişiklikler embriyonel hayatın altıncı haftasında başlamaktadır. Ektoderm hücrelerinin proliferasyonu ile yedi ve sekizinci haftalarda damak gelişmeye başlayarak, ağız ve burun boşluğunu birbirinden ayırır. Sekizinci haftanın sonunda alt ve üst çene diş kavsi, üzeri ektoderm ile örtülü mezenşimal bir yapı halini alır. Bu dönemle birlikte diş gelişiminde tomurcuk safhası sona ermiş, takke safhası başlamıştır[9,10,12.].

Dokuzuncu hafta ile birlikte diş papillasındaki mezenşimal hücreler daha sonraki haftalarda oluşacak pulpa iskeletini oluşturmak amacıyla prolifere olmaya başlarlar. Diş papillası başlangıçta çok sayıda ektomezenşimal hücrelerden oluşmaktadır Ondördüncü haftada takke döneminin sona erip çan döneminin başlamasıyla, oluşan yapının içinde ince lifler ve kapillerler belirmektedir. Bu evrede odontoblastlar farklılaşmadan önce, hücrelerin içerisine sinir lifleri girer ve liflerde sayıca artış gözlenir. Pulpa başlangıçta bol hücre az lif içerirken, yaşın ilerlemesine bağlı olarak hücre sayısında azalma gözlenir ve hacimsel olarak küçülür[9,10].

2.2 DİŞ PULPASININ HİSTOLOJİSİ

Pulpa, vücuttaki diğer bağ dokularında olduğu gibi, sinir lifleri, kan ve lenf damarları, kollagen lifler ve hücrelerin içerisinde dağılmış olarak bulunan ana maddeden oluşur. Pulpa odası dişin anotomik şekline bağlı olarak uyum sağlar[3,4,12].

2.2.1. Pulpanın tabakaları

Pulpada morfolojik olarak dört farklı bölge bulunmaktadır.

2.2.1.a. Odontoblastik tabaka: Pulpanın en dış kısmını çevreleyen tabakadır. Bu bölge predentinin komşuluğunda yer alır. Tek sıra halinde dizilmiş odontoblast hücreleri tarafından oluşmaktadır. Odontoblast hücrelerinin gövdeleri pulpa içerisindeyken, uzantıları dentinin içerisinde yer alır.

Genç pulpanın koronal kısmındaki odontoblastlar silindirik yapıdaki hücrelerden oluşurlar. Odontoblast hücrelerinin uzunlukları ve çekirdeklerinin bulundukları seviyeler aynı düzeyde olmadığı için, aslında tek sıra halinde olan bu hücreler, arka arkaya sıralanmış üç ile beş sıralı hücre görüntüsü verirler. Odontoblastlar arasında 30-40 µm genişliğinde intersellüler boşluklar bulunur. Bu boşluklarda myelinsiz sinir uçları ve kılcal kan damarları yer alır[2,4].

Koronal pulpadaki odontoblast tabakası, radiküler pulpaya göre daha fazla sayıda hücre içermektedir. Olgun bir pulpadaki odontoblastlar silindirik şekilde iken, radiküler pulpadaki odontoblastlar kübik şekildedir. Apikal foramen bölgesindeki odontoblastlar ise yassıdır ve düz bir şekilde sıralanırlar[4].

Birbirine komşu odontoblastlar arasında özelleşmiş ve hücreden hücreye geçişi sağlayan hücreler arası bağlar bulunmaktadır. Bu bağlar hücreler arası bağlantıyı sağlamakla birlikte metabolitlerin hücreden hücreye geçişinde de rol alırlar. Bu bağlantılar; dezmozomlar, boşluklu bağlantılar ve sıkı bağlantılardır. Dezmozomlar odontoblast hücre gövdelerinin uç kısmında bulunurlar ve odontoblastların birbirine tutunmasında görev yaparlar. Boşluklu bağlantılar çok sayıdadır ve hücreler arasındaki moleküllerin geçişini sağlarlar, uyarı iletiminde görev alırlar. Sıkı bağlar ise genç dişlerde odontoblastların uç kısımlarında bulunurlar. Bu bağlar yarıklar ve lineer tepeler oluşturarak intersellüler boşluğu kapatırlar, odontoblastik bölgenin geçirgenliğini de bu bölgeler belirlerler[2,3].

2.2.1.b. Hücreden fakir tabaka (Subodontoblastik tabaka): Kron pulpasında odontoblast tabakasının altında yer alır. Ortalama 40 µm' lik dar bir bölgeden oluşur. 'Weil tabakası' olarak da adlandırılır. Bu bölge hücre sayısından fakir olmakla birlikte, çok sayıda kapiller kan damarı, fibroblastların sitoplazmik uzantıları ve myelinsiz sinir liflerini içermektedir. Bu bölgenin olup olmaması pulpanın fonksiyonel durumuna bağlıdır, genç pulpada belirgin olmayabilir[3].

2.2.1.c. Hücreden zengin tabaka: Hücreden fakir tabakanın iç kısmında yer alır. Fibroblastlar ve farklılaşmamış mezenşimal hücreler yoğun olarak izlenmekte, ayrıca dentritik hücreler, makrofajlar ve lenfositler bulunmaktadır. Koronal pulpada radiküler pulpaya oranla daha belirgindir. Hücreden zengin olan bu bölge harabiyete uğramış odontoblastların yenisini yapar[2,3,12,13].

2.2.1.d. Pulpanın merkezi (Santral tabaka): Bu bölgede daha iç kısımdaki bölgelere göre daha büyük damarlar ve sinirler bulunmaktadır[3].

2.2.2 Pulpanın hücreleri

2.2.2.a Odontoblastlar: İlk olarak dişlerin gelişimi sırasında primer dentinin gelişiminden sorumlu hücrelerdir. Sekonder ve tersiyer dentinin yapımında rol oynarlar. Sitoplazmik uzantıları dentin oluşumu sırasında dentin kanalları içerisinde kalır. Odontoblastların iç mine epiteline komşu diş pulpasının periferal hücrelerinden diferansiye oldukları ve nöral krestten köken alan mezenşimal hücreler olduğu düşünülmektedir[2,4].

Odontoblastlar tek sıra halinde olabildikleri gibi özellikle pulpa boynuzlarında 7-8 sıra halinde de bulunabilirler. Odontoblastlar pulpanın koronal kısmında silindirik şekilde izlenirler. Apikal bölümde daha az diferansiyedirler ve daha az tübüler bir yapı gösterirler[4].

Odontoblastlar tek başlarına yaşayamazlar ve işlev görebilmeleri için pulpanın diğer yapılarına ihtiyaç duyarlar. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda odontoblastların yalnız başlarına üretilebilmeleri için in vitro ortamda, dentin-pulpa kompleksini içeren organ kültürlerinin gerekliliği ortaya çıkmıştır[14].

2.2.2.b. Fibroblastlar: Pulpa bağ dokusunun ana hücreleridir. Pulpanın her bölgesine yayılmış olmakla birlikte, en fazla koronal pulpada hücreden zengin tabaka içinde yer alırlar. Fibroblastlar yıldızsı veya fusiform şekilde bulunurlar. Yaşlandıkça daha yuvarlaklaşır ve daha az sayıda organel içerirler. Bu hücrelerin başlıca görevleri Tip I ve Tip III kollagen sentezlemektir. Aynı zamanda proteoglikan ve glukozaminoglikan sentezi de yaparlar. Stimuluslara bağlı olarak kollageni fagosite etme ve sindirebilme özellikleri bulunduğundan primer olarak pulpanın kollagen döngüsünden sorumlu hücreler olarak da bilinirler.

Erken farklılaşan fibroblastlar poligonal şekildedirler. Bu bölgelerde hücreler arası bağlantılar, her hücre duvarından çıkan multipl uzantılar yardımıyla sağlanır. Hücreden hücreye sinyal iletimi bu bağlantılarla yapılır. Genç fibroblastlarda organeller tam anlamıyla gelişmemiştir. Hücreler olgunlaştıkça daha üretken hale gelirler, golgi kompleksleri genişler, granüllü endoplazmik retikülum prolifere olur, sekretuar veziküller oluşur ve fibroblastlar protein salgılayan hücreler haline dönüşürler. Sinirler, kan damarları ve kollagen fibrillerin sayılarında meydana gelen artışla, fibroblastların sayısında azalma gözlenir[2,4].

2.2.2.c Farklılaşmamış mezenşimal hücreler: Hücreden zengin tabakada ve pulpanın merkezinde bulunurlar. Yassı şekildedirler ve genellikle kan damarları çevresinde toplanırlar. Farklılaşmamış mezenşimal hücreler bölünme sırasında ihtiyaca bağlı olarak odontoblast ve fibroblastlara dönüşürler. İnflamasyon sırasında ise makrofaj veya osteoklastlara farklılaşırlar. Yaşlanan pulpada farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin sayısı azalır ve bu durum dişin tamir kapasitesinin kaybına neden olur[4,12].

2.2.2.d Makrofajlar: Makrofajlar damar dışarısına çıkarak doku içerisine giren monositlerdir. Kan damarlarının çevresinde lokalize olmuşlardır. En önemli özellikleri hareketli olmaları ve fagositik aktivitelerinin yüksek olmasıdır. Bu özelliklerinden dolayı damar dışına çıktıklarında ölü hücreleri ve yabancı hücreleri dokulardan temizleyebilmektedirler. Hücre içerisine aldıkları maddeleri lizozomal enzimler yardımıyla yok ederler. Makrofajlar pulpa dokusunda inflamasyon sırasında uyarılan temel hücrelerdendir ve uyarıldıkları zaman TNF- α, IL-1, sitokinler ve büyüme faktörlerinin üretimini sağlarlar[13].

2.2.2.e Histiyositler: Pulpanın defans hücrelerindendir ve sitoplazmaları granüllüdür. Çekirdekleri yoğun şekilde kromatinle dolu olup genelde oval şekildedir. Kapillerlerin çevresinde yer alırlar. Özellikle inflamasyon oluştuğunda aktive olur ve makrofaj halini alarak, bakteri ve yabancı cisimleri fagosite ederler[4,13].

2.2.2.f. Dentritik hücreler: İmmün sistemin yardımcı hücreleridir. Langerhans hücreleri olarak da adlandırılırlar. Esas olarak lenfoid dokularda bulunurlar. Bu hücreler antijen sunan hücrelerdir. Hücrelerin aralarına doğru dentritik sitoplazmik uzantıları bulunur. Makrofajlar gibi antijenleri fagosite ederek küçük peptidlere ayırırlar.

2.2.2.g. Perisitler: Metarteriollerin ve prekapillerlerin duvarlarında bulunurlar. Protein sentezi ve salgısından sorumlu hücreler olduğu düşünülmektedir.

.

2.2.2.h. Mast hücreleri: Sağlıklı pulpa dokusunda nadiren bulunan hücrelerdir. Fakat pulpada inflamasyon oluştuğunda, damar geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak pulpadaki mast hücrelerinin sayısında hızlıca bir artış izlenir.

2.2.2.ı. Ameboid hücreler: Pulpada var olan geçici hücrelerdendir. Sağlıklı pulpada bulunmazlar. Patolojik durumlarda ortaya çıkabilirler.

2.2.2.i Lenfositler: Sağlıklı pulpada bulunmazlar. İltihabi durumlarda pulpada sayıca artış gösterirler[12-14].

2.2.3 Pulpanın ana maddesi

Pulpanın ana maddesi, vücudun herhangi bir bölgesinde bulunan bağ dokusunun aynısıdır. Ana madde, bağ dokusu hücreleri ve fibrillerin gömülü olduğu matriksi oluşturmaktadır. En belirgin moleküler komponentleri; proteoglikanler ve glikozaminoglikanlar (GAG) 'dır. Ana madde amorf şeklindedir[2,3].

Ana maddenin içerisindeki proteinlerin çoğu glikoproteinlerdir. Glikoproteinlerin en önemli alt grubu proteoglikanlardır. Bu moleküllerin görevleri; hücreleri desteklemek doku basıncını ve hücreler arası bağlantıları sağlamaktır.

Pulpa liflerinin ve hücrelerin metabolizması ana maddenin içerisinde yapılmaktadır. Ana madde jel kıvamında olduğundan hücreler için gerekli olan besinler ve hücrelerin artıkları bu ortamda kolayca hareket edebilirler[3].

2.2.4 Pulpadaki bağ dokusu lifleri

Pulpada iki tip lif bulunmaktadır. Bunlar kollagen ve elastin liflerdir. Tek bir kollagen molekülüne tropokollagen denir ve her bir tropokollagen üç polipeptid zincirinden oluşur. Elastin fibriller arteriol duvarlarında bulunurlar ve ekstrasellüler matriksin parçası değillerdir. Bu zincirlerin kombinasyonları ve bağlantıları tropokollagen molekülünü değişik tiplere ayırır. Kuru pulpada premolarlarda kollagen miktarı % 25,7, molar dişlerde ise bu oran % 31,9' dur. Pulpanın radiküler kısmındaki kollagen miktarı koronal kısma oranla daha fazladır[3].

<u>2.2.4.a Kollagen fibriller:</u> Gelişmekte olan pulpada bu lifler prekollagen halindedir, pulpa olgunlaştıkça sayıları artar ve kollagen liflere dönüşürler. Pulpanın her tarafında bulunurlar, bazen diffüz, bazen kompakt bir şekilde dağılım gösterirler. Tip I, II, III, IV, V, VI olmak üzere altı çeşit kollagen fibril bulunmaktadır[2,3].

Tip I kollagen deri, tendon, kemik, dentin ve pulpada bulunur. Tip I kollagen pulpa ve dentinde en çok bulunan kollagen liflerdir. Odontoblastlar ve fibroblastlar tarafından sentez edilirler[2].

Tip II kollagen lifler genellikle kaslarda ve kıkırdaklarda bulunurlar.

Tip III kollagen lifler, pulpada en sık rastlanan ikinci kollagen lif türüdür. Çoğunlukla mineralize olmayan bağ dokularında bulunurlar. Dentinde Tip III kollagen lifler bulunmaz. Tip III kollagen lifler, Tip I kollagen liflere oranla daha ince fibriller yaparlar, bu durum pulpanın elastisite kazanmasında önemli rol oynar. Hem fibroblastlar hem odontoblastlar tarafından sentezlenmesine rağmen ağırlıklı olarak fibroblastlar tarafından sentezlenmektedir.

Tip IV kollagen lifler pulpadaki kan damarlarının bazal membranlarının komponentidir. Fibroblastlar ve odontoblastlar tarafından sentezlenir ve aynı hücreler tarafından dokulara salınırlar.

Tip V ve Tip VI kollagen lifler pulpada ekstrasellüler matriks içersinde çok yoğun olarak ince mikrofibril ağları oluştururlar. Özellikle Tip VI kollagen fibriller pulpanın gelişimi sırasında olgunlaşmamış odontoblastlar arasından predentine doğru uzanırlar.

2.2.4.b. Elastin lifler: Elastin lifler olgunlaşmış pulpada odontoblastların ve kan damarlarının çevresinde bunurlar. Özellikle intersellüler boşluklardaki elastin liflerin, kollagen liflere dönüşebilmeleri yüksektir. Bu lifler dentine yakın bölgelerde daha çok sayıda ve daha sık biçimde izlenirler. Bu bölgedeki lifler ‘’Von Korff lifleri’’ olarak adlandırılır. Dentin yapımında önemli rol oynarlar ve dentin yapımı sırasında odontoblast tabakasının altında yer alırlar. Bu liflerin de esas maddesini kollagen oluşturur[1,2].

2.2.5 Pulpadaki büyüme faktörleri

Büyüme faktörleri, hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu ve diferansiyasyonunda indükleyici rolü olan polipeptidlerdir. Özellikle vücuttaki bir çok dokuda iyileşme olaylarında önemli roller üstlendikleri ileri sürülmektedir. Epidermal büyüme faktörü, diş gelişimi sırasında mine organının ve dentinin hücre proliferasyonunun artmasını indükler. Transforming Büyüme Faktörü (TGF), ekstrasellüler matriksin yapısının düzenlenmesinde, Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF) ise odontoblastların belirlenmesi ve farklılaşmasında rol oynar[14].

2.2.6 Pulpanın vasküler dokusu

Diş pulpası yüksek oranda damarlanma ve kanlanma özelliğine sahiptir. Diş pulpasının kanlanması, apikal bölgeden giren ve 100 µm çapında olan sınırlı sayıdaki arteriollerle sağlanır. Daha küçük damarlar pulpaya lateral ve aksesuar kanallardan girerler. Bu damarlar otonomik sinirler tarafından çevrelenir ve vazoaktif maddelere karşı cevabı yüksektir[12,13]. Arterler ve venler superior ve inferior alveol damarların dallarından oluşmaktadır. Bu damarlar foramen apikaleden radiküler pulpaya girip, koronal pulpaya yaklaştıkça dallanma gösterirler. En fazla dallanma pulpa boynuzlarının olduğu bölgede, subodontoblastik tabakada izlenir. Odontoblastların ihtiyacı olan metabolitler bu küçük kapillerler sayesinde gelir. Koronal bölgedeki kan akımı, radiküler bölgedeki kapiller kan akımının iki katıdır. Büyük arterler, küçük arterlere, arteriollere, metaarteriollere, prekapilerlere ve en son kapillerlere dallanma gösterirler[12].

Kapiller pleksus içerisindeki kan, başlangıçta kapiller venlere, daha sonra da daha geniş venlere geçer. Pulpadaki venler ince duvarlıdır. Bu özellik sıvının damar içine ve damar dışına hareketini kolaylaştırır. Venüllerin kas örtüleri incedir ve devamlılık göstermezler. Toplayıcı damarlar ise daha geniştir. Pulpanın merkezine doğru daha fazla genişleme gösterirler. En geniş venlerin çapı 200 µm' e yaklaşır[4,5,13,15].

Pulpanın koronal ve radiküler kısmında arteriovenöz anastomozlar olabilir. Bu anastomozlar arterioller ve venler arasındaki direkt bağlantıyı sağlarlar. Arteriovenöz anastomozlar pulpadaki kan akımının regülasyonunda önemli bir role sahiptirler[5,16].

Oral dokular arasında, genç ve sağlıklı pulpada kan akımı volümü fazladır ancak kan akımı yavaştır. Bu yüzden pulpadaki hücrelerin solunum hızları da yavaştır. Ayrıca kan akımı pulpanın periferinde en fazla iken, oksijen ihtiyacı pulpanın merkezinde daha fazladır [2,3,5,13,17].

Pulpal kan akımının düzenlenmesinde birçok sistemin rolü vardır. Bunlar; sempatik adrenerjik vazokonstrüksiyon, β-adrenerjik

vazodilatasyon, sempatik kolinerjik vazoaktif sistem ve antidromik vazodilatasyon sistemidir[14,18].

Arterioller ve venler myelinsiz sempatik lifler ile innerve olan düz kas ile kaplıdır. Bu lifler uyarıldıkları zaman, düz kas hücrelerinin konstraksiyonuna neden olur ve damar çapı daralır. Böylece pulpal kan akımı azalma gösterir[3,5,14,19].

2.2.7 Pulpanın innervasyonu

Genel olarak sinir fibrillerinin tipleri ve özellikleri Tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 1. Fibril tipleri ve özellikleri[20]

Fibril tipi	Fonksiyon	Çap	İletim hızı(m/sn)
A alfa(α)	Motor,duyusal	12-20	70-120
A beta (β)	Basınç, dokunma	5-12	30-70
A gama(γ)	Motor	3-6	15-30
A-delta(δ)	Ağrı, sıcaklık, dokunma	1-5	6-30
B	Pregangliyonik otonom	<1	3-15
C	Ağrı	0,4-1,3	0,5-2,0

Diş pulpası ise çok sayıda myelinli ve myelinsiz sinir lifleri tarafından innerve edilir. Uyaranın tipi ne olursa olsun (termal, mekanik, kimyasal vb.) hemen hemen tüm impulslar pulpada ağrı duyusu oluşturur. Pulpanın innervasyonunu, hem afferent hem de otonomik sinir lifleri düzenler[20].

Duyusal sinirlere ek olarak superior servikal gangliondan köken alan sempatik lifler dental papilladaki vasküler sistem etrafında yerleşir. Olgunlaşmış bir dişte sempatik lifler, arterioller etrafında pleksuslar oluştururlar. Bu liflerin uyarılması arteriollerin konstrüksiyonuna ve kan akımının azalmasına neden olur[20].

Pulpada myelinli (A tipi) ve myelinsiz (C tipi) olmak üzere iki tip duyu siniri bulunur. A tipi liflerin çoğunluğu A-Delta lifleri oluşturmaktadır. A-Beta lifleri, A-Delta liflerine oranla daha duyarlıdır. Ancak fonksiyonel olarak diş pulpasında birlikte görev alırlar[2,3].

Pulpanın duyu sinirleri trigeminal sinirden köken alır ve radiküler pulpaya arterioller ve venlerle yakın konumda foramen apikaleden girerler. Pulpaya giren her sinir schwann hücreleriyle beraberdir ve A tipi lifler myelinlerini bu hücrelerden köken alır. Kök gelişiminin tamanlanması ile myelinli lifler demetler oluşturarak pulpanın merkezinde gruplanırlar. Pulpaya giren myelinsiz C tipi liflerin çoğu bu lif demetleri arasına yerleşir. Kalanları ise pulpanın periferinde yerleşme gösterirler[2,3,11.].

Sinir lifleri, kök pulpasından krona kan damarları ile birlikte ulaşırlar. Koronal pulpaya yaklaştığında, hücreden zengin tabakada daha küçük demetlere ayrılır ve sonuçta tek sinir aksonlarından oluşan bir pleksusa ayrılma gösterirler. Bu pleksusa 'Raschkow pleksusu' denir. Bu pleksusun gelişimi kök gelişimi tam anlamıyla tamamlandıktan sonra sona erer. A lifleri bu pleksusta myelinli kılıflardan orjin alırlar. Bu lifler hala schwan hücreleri ile kaplı iken subodontoblastik pleksusu oluşturur. Terminal aksonlar schwan hücrelerinden kurtulur ve serbest sinir uçları ile odontoblastların arasına girer[11,12].

Pulpa içerisindeki sinir hücrelerinin, hücre gövdeleri pulpa dışındaki ganglionda bulunduğu için sinir uçları pulpa nekrozuna dayanıklıdır. Sinir uçları diğer doku elemanlarınca otolize daha dirençlidir ve pulpa dejenerasyonu olsa bile C tipi lifler ağrı uyarısını iletmeye devam ederler[3].

Diş pulpasının innervasyonu ile ilgili araştırmalar uzun süredir yapılmaktadır. Erken dönemlerde yapılan çalışmalarda gümüş impregnasyon teknikleri kullanılmaktaydı. Daha sonra immünohistokimyasal tekniklerdeki gelişmelerin ışığında, farklı sinir alt grupları içerisinde vazoaktif nöropeptidlerin tanımlanması, pulpa innervasyonunun farklı nörokimyasına daha farklı bir bakış açısı kazandırmıştır[20].

Pulpa biyolojisinin en önemli noktalarından birisi de pulpa duyu sinirlerinde nöropeptidler bulunmasıdır. Çürüğün tabanındaki

bakterilerin antijenleri dentin kanalcıklarına ilk girdiğinde pulpa sinir liflerini (nöral pleksus) uyarır. Sinir liflerinden polipeptit yapıda nörojenik inflamasyon mediyatörleri salınırlar. Bu mediyatörlere nöropeptit denir[21].

2.2.7.1 Nöropeptidler

Nöropeptidler nörotransmitter olarak görev yapan küçük proteinlerdir. Nörotransmitter, nöromodülatör ve nörohormon fonksiyonları olan proteinlerin heterojen bir grubudur. Günümüze kadar immünohistokimyasal ve radioimmünoassay yöntemleriyle tanımlanmış 60' ı aşkın sayıda nöropeptid bulunmaktadır. 1970 yılından bugüne kadar, biyolojik olarak aktif peptid biyoassay, immünohistokimyasal ve moleküler biyolojik metodlarla beyin ve/veya medulla spinaliste bulgulanmıştır [6,8]. Bunlardan bir kısmı hipotalamus ve pituiter orjinlidir. Bir diğer grup nöropeptidin ise gastrointestinal sistem, respiratuar sistem ve göz üzerinde etkisi bulunmuştur. Bazıları aynı zamanda hormon olarak ya da barsak gibi çevresel dokularda işlev görürler. Kısaca nörohormon olarak da tanımlanmaktadırlar. Sentez ve salıverilme özellikleri klasik nörotransmitterlerden farklıdır. Bütün proteinler gibi nöropeptidler de DNA'dan transkripsiyonu yapılan mRNA aracılığıyla ribozomlarda amino asitlerden sentez edilir. Ribozomdan çıkan genellikle nöropeptidin kendisi değil prepropeptid adı verilen daha büyük öncül bir polipeptiddir. Propeptidleri peptidazlar tarafından aktif nöropeptidlere dönüştürme işlemi de bu aşamada gerçekleşir. Nöropeptidler koyu veziküller halinde salıverilecekleri akson ucuna aktif olarak taşınırlar. Kural olarak nöropeptidler klasik nörotransmitterlerle aynı akson ucunda birlikte yer alırlar, ancak salıverilme mekanizmaları farklılık gösterir. Genellikle nöronlar, endotal hücreleri, endokrin merkel hücreler, keratinositler ve fibroblastlarda sentez edilirler. Nöropeptidlerin bulunduğu büyük koyu veziküller etkinleşip sinaps aralığına boşalabilmek için küçük veziküllere göre daha uzun süreli kalsiyum artışlarına gereksinim duyarlar. Salıverilen nöropeptid sinaps sonrası reseptörlere bağlanabileceği gibi daha uzun mesafelere de taşınabilirler. Bu nedenle nöropeptidlerin saptandığı anatomik alanla reseptörlerinin bulunduğu alan birbirine uzak olabilir. Nöropeptidler diğer nörotransmitterlere göre çok daha düşük konsantrasyonda etki gösterirler. Nöropeptidlerin sinapstaki etkileri hemen sona erdirilmez, diğer nörotransmitterlere göre daha uzun sürelidir. Peptidazlar tarafından parçalanıp, yok edilirler[8].

Nöropeptidler dokudan salındıklarında temel olarak üç önemli etki oluşturur. Birincisi damar sistemi üzerinde kan dolaşımını

düzenleyici vazodilatatör veya vazokonstrüktör etkileridir. İkinci etkileri immün sistem üzerinedir. Üçüncü etki ise proinflamatuar ve proliferatif özellikteki beslenme üzerine etkileridir[21].

Bakteriyel, viral veya immünolojik herhangi bir stimulus nöropeptid salınımına neden olmaktadır. Ayrıca psikotik ilaçlar ve hipersensitivite nedeniyle de salınabilirler. Nöropeptidlerin salınımı doku yaralanması, kompleman sistemi aktivasyonu, antijen-antikor ilişkileri ve inferior alveoler sinirden antidromik (impulsların normal yönün tersine ilerlediği lifler) stimulasyon yoluyla meydana gelmektedir. Nöropeptidler dokudan salındıkları zaman histamin ve bradikinin benzeri vasküler değişiklikler yaparlar. Bazı nöropeptidlerin salınımı sempatik agonistler ve antogonistler ile değiştirilebilir. Bu da ilaçların pulpal ağrıyı direkt olarak kesebilmesinde neden olabileceğini düşündürmektedir. Lokal anestezikler içinde etkili olan vazokonstrüktörler pulpanın sinirsel aktivitesine direkt olarak etkilidirler. Bu nedenle lokal anesteziklerin ağrıyı geçirebilme özelliklerinin hem anestezik özelliklerinden hem de vazokonstrüksiyon özelliği nedeniyle olabileceği ileri sürülmüştür[7,8].

Dokular üzerindeki farklı özellikleri ve etkilerinin merak uyandırmasıyla birlikte çok sayıda nöropeptid belirlenmiştir (Tablo 2) ve yeni nöropeptidler üzerinde çalışmalar devam etmektedir.

Nöropeptidlerin çoğunluğu ilk olarak beyin ve bağırsak sisteminde bulgulanmıştır. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda özellikle bulunduğu dokularda inflamasyon oluştuğunda, ekspresyonlarının arttığı gösterilmiş ve inflamasyona bağlı oluşan ağrının bu peptidlerle ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür[8].

Özelilkle 1980'li yıllarda immünühistokimyasal yöntemlerdeki gelişmelere bağlı olarak, yüksek miktarda innervasyon gösteren diş ve çevre dokularında nöropeptidlerin araştırılması, varlığının veya yokluğunun tespiti, inflamasyon sonucu ekspresyonlarının bulgulanması ve bu peptidlerin ağrı ile ilişkili olup olmadığı konusunda araştırmalar başlamıştır[22]

Tablo 2. İmmünohistokimyasal ve radioimmünoassay yöntemlerle tanımlanan başlıca nöropeptidler[8]

Opioid peptidler
Endorfin
Enkefalin
Dinorfin
Nosiseptin
Taşikininler
Substance P
Nörokinin A
Nörokinin B
Bağırsak ve beyinde bulunan peptidler
Kolesistokinin
Galanin
Gastrin
Glukagon
İnsülin
Nörpeptid Y
Peptid YY
Pankreatik polipeptid
Vazoaktif bağırsak peptidi (VIP)
Hipofiz hormonu Nöropeptidler
Adrenokortikotropik hormon (ACTH)
Büyüme hormonu
Folikül uyarıcı hormon (FSH)
Lüteinleştirici hormon (LH)
Melanosit uyarıcı hormon
Oksitosin ve vazopresin
Prolaktin
Tiroid uyarıcı hormon (TSH)
Hipotalamik Salıverici Faktörler
Kortikotropin salıverici faktör (CRF) ve ürokortin
Gonadotropin salıverici hormon (GnRH)
Büyüme hormonu salıverici hormon (GHRH)
Somatostatin
Tirotropin salıverici hormon (TRH)
Diğer Nöropeptidler
Kalsitonin geniyle ilişkili peptid (CGRP)
Nörotensin
Oreksin (Hipokretin)

Diş pulpasında varlığı tanımlanan başlıca peptidler;

2.2.7.1.a) Substance P (SP): 11 asitli bu peptid aromatik bir aminoasittir. Substance P genelde küçük kan damarları çevresinde ve yüzeye yakın yerlerde epitel altında görülür. C tipi sinir fibrillerin uyarımı ile salınmaktadır. NK1, NK2, ve NK3 olmak üzere 3 reseptörü vardır. Ağrılı duyularda rol oynayabilmektedir. Substance P 'nin epitel, nazal, mukozal damar reseptörleri aracılığı ile bağlandığı gösterilmiştir. Deri ve respiratuar sistemde_vazodilatasyon, plazmanın damar dışına çıkmasını sağlayan etkileri vardır. Asetilkolin salınımını düzenler sekresyon arttırıcı özellikleri ayrıca epitel hücre uyarımı gibi etkileri vardır. İmmünolojik ve inflamatuar hücrelerin sayılarını da etkileyebilirler[8]. Mast hücrelerinden histamin salınmasında etkileri bulunmaktadır. Eozinofil, mast hücre, nötrofil, monosit, T ve B lenfositler için kemotaktik etkilidirler. Makrofaj stimülasyonu yaparlar ve sitokin, araşidonik asit metabolitlerinin yapımında rol oynarlar. Bu olgu 'nörojenik inflamasyon' terimi ile ifade edilir. Yine de invivo deneylerde, substance p'nin mukozaya uygulanması ile klinik bulgular görülememiş ve bunun sebebinin verilen ajanın nöroendopeptidaz (NEP) ile yıkımına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Yapılan çalışmalar bazı nörotoksinlerin (örneğin capsaicin) substance p salınımını azalttığını göstermiştir. Özellikle viral enfeksiyon nöroendopeptidez aktivitesini azaltarak, substance p etkisini artırır. İlaç olarak sentezlenebilen NK1 reseptör antagonistleri ağrı önlemede başarısız olmuş, fakat güçlü antidepresan ve anksiyete gidermede etkili oldukları bildirilmiştir[7,8].

2.2.7.1.b) Nörokinin A(NKA): 13 aminoasitli bir peptitdir. Substance P gibi takinin ailesindendir. NK1, NK2, NK3 ve NKA olmak üzere 4 reseptörü vardır. Özellikle arter çevresinde bulunan nörofibrillerde yoğun olarak bulunurlar. Nörokinin A glandüler sekresyonda artış, vazodilatasyon ve plazmanın damar dışına çıkmasında etkilidir[7].

2.2.7.1.c) Kalsitonin Gen İlişkili Peptid(CGRP): 37 aminoasitli bir peptiddir. Trigeminal hücrelerde üretilip aksonlar vasıtasıyla, sinir terminallerine taşınır. Bilinen en etkili vazodilatatörlerden birisidir. Nazal mukozada küçük arterlerin çevresindeki sinir fibrillerinde bulunmuştur, daha seyrek olarak venlerin çevrelerinde de görülürler. Ancak glandüler hücrelerde reseptörü yoktur[6,7,8,22].

Substance p ile beraber salınır. Kan akımını artırır ve uzun süreli vazodilatasyon yapar. İndirekt etkisi ile sekresyonu artırır. CPRP 1 ve CGRP 2 olmak üzere iki adet reseptörü bulunmaktadır. CGRP 1 reseptörü CGRP' ye kuvvetli sensitif bir proteindir. Sıklıkla periferal kan damarlarında, femoral ve koronal arterlerde, serebral arterlerde ve trigeminal ganglionda bulunur. CGRP 2' nin yapısı, fonksiyonu ve lokalizasyonu tam olarak bilinmemektedir[8,23].

2.2.7.1.d) Vazoaktif İntestinal Peptid (VIP): 28 aminoasitli bir nöropeptiddir. Vazoaktif intestinal peptid içeren immünoreaktif sinirler genelde, submukozal gland ve damar çevresinde yer alır. Esas olarak vazoaktif intestinal peptid sinir pleksusu, bağırsaklardaki lenfoid dokularda bulunmaktadır. Kan damarlarında vazodilatasyon, Peyer plaklarında Ig A sentezi ve mast hücrelerinin degranülasyonunda etkilidir[23]. Vazoaktif intestinal peptid tükürük bezlerinde elektrolit ve sıvı akımını artırır, asetilkolin salınımını düzenler ve sekresyonu artırır. Submukozal glandüler hücrelerde kistik dejenerasyona, kronik rinitin hipertrofık ve hipersekretif değişimlerine yol açar. Vazoaktif intestinal peptid, asetilkolinle beraber parasempatik sinirlerden salınır. Substance P ile karşılaştırıldığında sellüler ve humoral immünitede inhibitör rolleri de olabileceği düşünülmektedir[6,7,8].

2.2.7.1.e) Nöropeptit Y(NPY): 36 aminoasitli beyinde miktar olarak en çok bulunan nöropeptiddir. Sempatik liflerden noradrenalinle salınır. Arter ve arteriovenöz anastomoz çevresi sinir fibrillerinde görülür. Fizyolojik etkilerini 6 farklı reseptör tipiyle (Y_1-Y_6) ortaya koyarlar. Bilinen en belirgin Y_5 reseptörü yemek yeme davranışını düzenleyen reseptördür. Bu reseptörün antagonistlerinin doğrudan merkezi sinir sistemine uygulanması nöropeptid y'nin indüklediği yemek yeme sıklığını azaltmaktadır[8]. NPY reseptörünün etkinliğinin anksiyete, ağrı giderici ve yeme davranışını artırıcı etkileri gösterilmiştir. Özellikle NPY reseptör antagonistlerinin obesite ve anksiyete giderici özellikleri üzerinde araştırmalar devam etmektedir[24]. Nörokinin A gibi vazokonstriktör (daha yavaş ve daha uzun süreli) etkilidir. Ayrıca damarsal cevap üzerindeki etkilerinden dolayı, ağrı ve immün cevapta önemli bir role sahip olduğu öne sürülmektedir[8].

Hayvan deneylerinde yapılan çalışmalarda bir çok nöropeptidin, özellikle travmaya uğramış ve ileri derecede çürüklü diş pulpasında varlığı saptanmıştır. Damar çevresinde ve sinir harabiyetine bağlı oluşan inflamasyon sonucunda bu nöropeptidlerin salınımının arttığını gösteren sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır[25-43].

Substance P, daimi diş pulpasında varlığı tanımlanan ilk nöropeptiddir. Hemen ardından çok sayıda araştırıcı pulpa damarlarına eşlik edenler de dahil olmak üzere pulpadaki sinir fibrillerinde büyük oranda SP bulunduğunu göstermiştir[20]. Nöropeptidlerin insan diş pulpasında immünoreaktif lifler ile dentine doğru uzandığını da gösteren çalışmalar bulunmaktadır[44-46]. SP' nin tanımlanmasının ardından taşikinin ailesinin NKA ve NK'yi içeren diğer üyelerinin de daimi diş pulpasında varlığı gösterilmiştir[20].

Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda diş pulpalarında VIP, NPY CGRP varlığı bildirmiştir. VIP bulunan lifler en çok pulpa damarları ile beraber izlenmektedir; ancak bazı serbest liflerin stromada bulunduğu ve kan damarları ile ilişkisinin olmadığı gözlenmiştir. Nöropeptid y-immünoreaktif lifleri çoğunlukla damarların içerisindedir. Kalsitonin geni ile ilişkili peptid bulunan liflerin substance p maddesinin dağılımı ile orantılı olduğu ve bu iki peptidin bazı liflerde birlikte bulunduğu bilinmektedir[20].

Ayrıca insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda inflamasyonlu eklem sıvılarında bu peptidlerin varlığı bulgulanmıştır[47-51]. Dişeti inflamasyonu oluştuğunda, dişeti cep sıvısı analizlerinde yüksek oranda nöropeptid varlığı tespit edilmiştir[52-59].

El Karim ve arkadaşları[60], ortodontik nedenle çekim endikasyonu konulmuş daimi dişlerle, teropotik nedenlerle çekimi yapılmış dişlerin pulpalarını NPY ekspresyonu açısından değerlendirmişlerdir. Araştırma kapsamında kontrol grubu olarak ortodontik amaçlı çekilmiş 22 adet çürüksüz daimi diş pulpası, teropotik nedenlerle çekilmiş 20 adet orta derecede çürüklü daimi diş pulpası ve 26 adet ileri derecede çürüklü daimi diş pulpasını immünohistokimyasal olarak karşılaştırmışlardır. Yapılan immünohistokimyasal inceleme sonrasında ileri derecede çürüklü dişlerin pulpalarında ve sağlıklı dişlerin pulpalarında Nöropeptid Y ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulgulamamışlardır. Orta derece çürüklü dişlerin örneklerinin pulpalarında ise artmış miktarda Nöropeptid Y ekspresyonuyla karşılaştıklarını bildirmişlerdir. Bu sonucun

pulpanın inflamasyon başlangıcında yada reperatif dentin formasyonunda Nöropeptit Y'nin modülatör bir rol oynabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Bucheli ve arkadaşları[61], sağlıklı daimi dişler ile akut irreversibl pulpitis endikasyonu olan dişlerin pulpalarını SP ekspresyonu açısından incelemişlerdir. Araştırma kapsamında 5 adet akut irreversibl pulpitisli diş pulpası, kontrol grubu olarak 5 adet ortodontik amaçlı çekilmiş daimi diş pulpasını değerlendirilmiştir. Ayrıca dişlerde oluşabilecek bir travma durumunda da SP ekspreyonunun değerlendirmek için, yine ortodontik amaçlı çekim uygulanacak 5 adet daimi dişe anesteziyi takiben, yüksek devirli bir rond frezle, irrigasyon yapmaksızın mekanik perforasyon oluşturulmuş, dişlerin pulpaları çıkartılıp, daha sonra dişler çekilmiştir. Alınan örneklerin immünohistokimyasal analizinde akut irreversibl pulpitis gösteren dişlerde en fazla miktarda substance p varlığını saptamışlardır. Mekanik perforasyon yapılan dişlerde de sağlıklı dişlere oranla daha fazla SP ile karşılaşmışlar ve diş pulpasına direkt gelen bir travma karşısında kısa bir sürede SP salınımının olabileceğini belirtmişlerdir.

Bowles ve arkadaşları[62], 16 adet akut irreversibl pulpitis semptomlarını gösteren daimi diş pulpasını, ortodontik amaçlı olarak çekilmiş 8 adet daimi diş pulpasıyla substance p (SP) ekspresyonu açısından immünohistokimyasal yöntemle değerlendirmişlerdir. Sonuçta istatistiksel olarak kök kanal tedavisi gerektiren diş pulpalarında, ortodontik amaçlı çekilen diş pulpalarına oranla artmış seviyede SP ekspresyonuyla karşılaşmışlardır.

Bucheli ve arkadaşları[63], sağlıklı daimi dişler ile akut irreversibl pulpitis endikasyonu olan dişlerin pulpalarını CGRP ekspresyonu açısından incelemişlerdir. Araştırma kapsamında 5 adet akut irreversibl pulpitisli diş pulpası, 5 adet ortodontik amaçlı çekilmiş daimi diş pulpası değerlendirmeye alınmıştır. Ayrıca dişlerde oluşabilecek bir travma durumunda kalsitonin geni ile ilişkili peptidin ekspreyonunun değerlendirilmesi amacıyla, yine ortodontik amaçlı çekim uygulanacak 5 adet daimi dişe anesteziyi takiben, yüksek devirli bir rond frezle, irrigasyon yapmaksızın mekanik perforasyon oluşturulmuş pulpalar çıkartılarak dişlerin çekimi yapılmıştır. Alınan örneklerin immünohistokimyasal analizinde sağlıklı grupla, pulpitisli ve mekanik perforasyonla oluşturulan grup arasında istatistiksel olarak artmış kalsitonin geni ile ilişkili peptid ekspresyonu saptanmıştır. Fakat pulpitisli ve mekanik perforasyonla oluşturulan grup arasında istatistiksel anlamda bir fark bulgulanmamıştır.

El Karim ve arkadaşları[64], ortodontik amaçlı çekim gerektiren daimi dişlerle, teropotik nedenlerle çekimi yapılmış dişlerin VIP ekspresyonu açısından değerlendirmişlerdir. Araştırma kapsamında kontrol grubu olarak 22 adet çürüksüz ortodontik amaçlı çekilmiş daimi diş pulpasını, teropotik nedenlerle çekilmiş 20 adet orta derecede çürüklü daimi diş pulpası ve 26 adet ileri derecede çürüklü daimi diş pulpasını immünohistokimyasal olarak karşılaştırmışlardır. Yapılan inceleme sonrasında orta derecede çürüğe sahip dişlerin pulpalarında, ileri derecede çürüğe sahip dişlerin pulpalarına ve sağlıklı örneklerin pulpalarına oranla artmış miktarda VIP ekspresyonuyla karşılaştıklarını bildirmişlerdir. İleri derece çürüğe sahip grupla, çürüksüz sağlıklı grup arasında VIP ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulgulamamışlardır.

Bucheli ve arkadaşları[65], sağlıklı daimi dişler ile akut irreversibl pulpitis endikasyonu olan dişlerin pulpalarını CGRP ekspresyonu açısından incelemişlerdir. Araştırma kapsamında 5 adet akut irreversibl pulpitisli diş pulpası, kontrol grubu olarak 5 adet ortodontik amaçlı olarak çekilmiş daimi diş pulpasını değerlendirmeye almışlardır. Ayrıca dişlerde oluşabilecek bir travma durumunda da CGRP ekspreyonunun değerlendirilmesi amacıyla, yine ortodontik amaçlı çekim uygulanacak 5 adet daimi dişe irrigasyon yapmaksızın mekanik perforasyon oluşturmuşlar, dişlerin pulpaları çıkartılıp, daha sonra dişler çekilmiştir. Alınan örneklerin immünohistokimyasal analizinde akut irreversibl pulpitis gösteren dişlerde en fazla miktarda CGRP varlığını saptamışlardır.

Uddman ve arkadaşları[66], sağlıklı diş pulpalarında nöropeptid y_1 reseptörünün lokalizasyonunu değerlendirmek için yaptıkları çalışmada 12 adet diş pulpasını değerlendirmişlerdir. Değerlendirilen dişlerin hem koronal hem de apikal pulpasında NPY_1 bulgulamış, özellikle koronal pulpada kapillerlerin çevresinde çok sayıda NPY_1 varlığını saptamışlardır. Subodontoblastik tabakada NPY ekspresyonu saptamamışlardır. NPY' nin ağırlıklı olarak kapiller çevrelerinde görülmesinin, damarsal cevap ve ağrı algılanması üzerinde etkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Rodd ve Boissonade[67] süt ve daimi dişlerde nöropeptid seviyelerini karşılaştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada; dişlerin pulpalarındaki galanin, enkefalin, somatostatin, kalsitonin geni ile ilişkili peptid, vazoaktif intestinal peptid, nöropeptid y ve substance p salınımını değerlendirmişlerdir. Çok sayıda farklı antiserum kullanılmasına rağmen enkefalinde pozitif boyanma elde edilemediğini ve örneklerdeki galanin ve

somatostatinin immüno-reaktivitesi çok seyrek ve soluk olduğundan bu peptidlerin nicel olarak analiz edilemediğini belirtmişlerdir. Kalsitonin geni ile ilişkli peptid, substance p, vazoaktif intestinal peptid ve nöropeptid y' nin immüno-boyanmasının kalitesinin iyi olduğunu vurgulamışlardır. Çürüksüz süt ve daimi dişlerin kron pulpalarında çok sayıda CGRP işaretli lif görüldüğü ve bunların daimi dişlerde süt dişlerine oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla olduğunu bulgulamışlardır. Bu gruptaki CGRP işaretli fibrillerin ağırlıklı olarak her iki dentisyonda da pulpa boynuzlarında ve subodontoblastik tabakada olduğunu belirtmişlerdir. Her iki dentisyona ait çürüklü örneklerde CGRP immünoreaktif liflerin dağılımının sağlıklı örneklere oranla belirgin derecede farklılık gösterdiğini vurgulamışlardır. Eşli karşılaştırmalarda ise gerek süt dişlerinde gerekse daimi dişler arasında anlamlı fark olduğunu tespit etmişlerdir. Genel olarak, süt ve daimi dişlerde P maddesi bulunan sinir liflerinin oranları, bu liflerin daimi dişlerde daha büyük oranda görüldüğü pulpa boynuzunun uç kısmı haricinde benzer olduğunu ve iki dentisyon arasında yalnızca pulpa boynuzunda istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğunu belirtmişlerdir. Sağlıklı süt ve daimi dişler arasında, SP varlığının daimi dişlerde süt dişlerine göre 3 kat daha fazla olduğunu vurgulamışlardır. Çürüğün tüm alanlardaki ortalama SP varlığı üzerinde anlamlı bir etkisi olduğunu ortaya koymuş, süt dişlerinde anlamlı farkların pulpa boynuzunda ve yalnızca sağlıklı örnekler arasında olduğunu belirtmişlerdir. Aynı durumun daimi dişler için de geçerli olduğunu ve subodontoblastik bölgede çürüklü ve sağlıklı örnekler arasında da anlamlı fark bulunduğunu bildirmişlerdir. Genel olarak sağlıklı süt dişlerinde vazoaktif intestinal peptid varlığının az olduğunu VIP işaretlenen bölgelerin bazı pulpa damarlarının yakınlarında da görüldüğünü belirtmişlerdir. Aksine, sağlıklı daimi dişlerde pulpa boynuzları içerisinde sıklıkla çok sayıda ince çıkıntılı VIP içeren lifler bulunmakta, bu lifler pulpa boynuzuna paralel seyretmekte ve diğer yapılarla ilişkidedir. Her iki dentisyona ait çürüklü örneklerde VIP varlığı üzerine ilginç gözlemler yapmış ve çürüklü süt dişlerinin pulpa boynuzlarındaki VIP-immünoreaktif lif sayısında belirgin bir artış olduğunu belirlemişlerdir. Çürüklü daimi diş örneklerinde de VIP işaretlenmesinde genel bir artış olduğunu bulgulamışlardır. Sağlıklı süt ve daimi dişlerin çoğunun pulpa boynuzu ya da subodontoblastik pleksusunda nöropeptid y işaretlenmesi gözlenmiş ve her iki dentisyonda da en belirgin nöropeptid y immünoreaktivitesi orta kron bölgesinde bulgulanmıştır. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi dentisyonlar arasında inceleme yapılan bölgelerin hiçbirinde ortalama nöropeptid y varlığı bakımından anlamlı bir fark olmadığını ortaya koymuştur. Çürükle beraber pulpa boynuzundaki nöropeptid y immünoreaktif lifler her iki dentisyona ait örneklerde de artış göstermiştir; ancak bunun genel bir bulgu olmadığını vurgulamışlardır. İstatistiksel analizler, çürüğün ortalama nöropeptid y varlığı üzerinde yalnızca pulpa boynuzunda anlamlı bir etkisi olduğunu ve en yüksek miktarın büyük çürüklü örneklerde bulunduğunu

ortaya koymuşlardır. Eşli karşılaştırmalar anlamlı farkların yalnızca büyük çürüklü ve orta çürüklü daimi dişler arasında olduğunu göstermiştir.

Bütün bu peptidlerin süt ve daimi diş pulpalarında inflamasyon sırasındaki seviyeleri hakkında karşılaştırmalı yapılmış sadece bir çalışma olması ve özellikle pulpa inflamasyonunda süt ve daimi dişlerin karşılaştırıldığı ve bu peptidlerin ağrı ile ilişkisinin tam olarak bilinmemesi konunun araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

2.3. DİŞ PULPASININ İNFLAMASYONU

2.3.1 Pulpitislerin Etyolojisi

Pulpada oluşabilecek bir inflamasyona neden olabilecek etyolojik etkenler; mikrobiyal, fiziksel veya kimyasal nitelikte olabilirler[11,12,68,69,70].

2.3.1.a. Mikrobiyolojik etkenler: Pul paya yakın bölgelerde kolonize olan mikroorganizmalar, salgıladıkları asitler, fermentler ve toksinlerin etkisiyle pulpitise neden olurlar. Pulpal bir cevabın başlayabilmesi için bu mikroorganizmaların pulpada yeterli sayıda ve belirli bir virulansta olması gerekir. Aksi takdirde sınırlı sayıdaki mikroorganizmalar veya virulansı düşük mikroorganizmalar savunma hücreleri tarafından fagosite edilirler. Mikroorganizmalar dentin kanalları aracılığıyla pulpaya ulaştıkları zaman pulpada enfeksiyona sebep olurlar.

2.3.1.b Fiziksel etkenler: Termal, mekanik, radyolojik ve elektriksel uyaranlar fiziksel etkenler arasında yer alırlar. Bu etkenler pulpayı tek başlarına veya bir arada da etkileyebilirler. Esas olarak pulpada fiziksel etkenlere bağlı oluşabilecek vazodilatasyon miktarı; irritanların şiddeti ve süresine bağlıdır[11,12].

Diş kesimi veya kavite hazırlanması sırasında pulpada her zaman bir miktar harabiyet oluşmaktadır. Oluşabilecek harabiyet miktarı; ısı, basınç, hız, frezin büyüklüğü ve yapısına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Hekim doğru malzeme ve teknikleri kullanarak bu riskleri elimine edebilir[12,69].

2.3.1.c: Kimyasal etkenler: Kimyasal etkenler; dentin üzerine uygulanan kimyasal maddelerden direkt olarak kan damarlarıyla pulpaya ulaşırlar[11,12].

Kan yoluyla pulpaya ulaşan genel kimyasal etkenler vücuda dışarıdan alınan arsenik, kurşun, civa ve bizmut gibi kimyasal maddelerdir[11].

2.3.2 Pulpitislerin histopatolojisi

Pulpa inflamasyonunda iki önemli değişim rol oynamaktadır. Kapillerlerin hücre duvarlarındaki permabilite artışı ve hücreler arasında bulunan, bağlantı sağlayan dokulardaki metabolik değişiklikler. Pulpada meydana gelen iltihabi olaylar 5 ana fazda incelenir. Bu fazlar, latent faz, hiperemik faz, seröz faz, pürülan faz ve tamir fazıdır[11,12,69].

2.3.2.a Latent faz: Patojenin konak dokuya yerleşmesi ve daha sonra hastalık tablosu oluşana kadar geçen süreyi tanımlamaktadır. Bu fazda patojenlerin yarattığı stimulusların etkisi ile özellikle pulpada, ana maddede ve pulpanın kan damarlarında biyokimyasal değişiklikler izlenir. Özellikle bu değişikler sırasında ortaya vazoaktif mediyatörler çıkarlar. Mediyatörler uyaranın direkt olarak etkilemediği bölgelerdeki alanlarda bir cevabın oluşmasına neden olurlar. Uyaranın direkt olarak etkilediği hücreler ise; bağ dokusu hücreleri, kapiller endotelleri ve kan hücreleridir. Bu hücrelerin parçalanmasıyla vazoaktif mediyatörler meydana gelmektedir[71,72].

Vazoaktif mediyatörler, histamin ve kinin grubu maddelerdir. Histamin ve kinin, kapillerlerin dilatasyonuna ve permabilite artışına neden olur. Histaminin oluşturduğu etki antihistaminiklerle kaldırılabilmesine rağmen, kinin grubunun oluşturduğu etki herhangi bir madde ile kaldırılamamaktadır [11,71].

2.3.2.b. Hiperemik faz: Latent fazda ortaya çıkan vazoaktif mediyatörlerin, damarlar üzerindeki vazodilatasyon etkisi sonucunda, kapillerlerden geçen kan miktarı artar, ağrı ve sıcaklık artışı meydana gelir. Hiperemik fazın sonlarına doğru kapilerlerden geçen kan miktarı

azalır ve hatta tamamen durabilir. Hiperemi fazında görülen tüm bu değişiklikler geri dönüşüm özelliğine sahiptir.

2.3.2.c: Seröz faz: İltihabın bu fazında kapillerlerin arasında bulunan interkapiller bölgede sıvı geçişi olur ve ödem oluşur. Bu olayda sıvının damar dışına çıkmasında iki faktör rol oynar. Birincisi kapiller çeperin iki tarafındaki basınç farkı, ikincisi ise kapiller çeperin geçirgenliğidir[11].

Kapiller damarların içerisinde hidrostatik bir basınç, damar dışındaki dokularda da kolloidal dokulara bağlı olarak osmotik basınç vardır. Sağlıklı pulpada bu iki basınç birbirine eşit ve ters yönlü olarak bulunmaktadır. Pulpada patolojik bir nedenle iltihabi bir durum söz konusu olduğunda hidrostatik basınç, kapiller arasındaki osmotik basınca göre artış gösterir. Bu basınç kapiller içindeki sıvının damar dışına çıkmasına neden olur.[71,72]

Sağlıklı pulpada bulunan kapillerlerin geçirgenliği azdır ve sadece su ve küçük çaplı moleküllerin geçirgenliğine izin verir. Pulpada inflamasyon oluştuğu zaman salgılanan vazoaktif mediyatörler kapiller geçirgenliğinde artışa yol açar ve daha büyük moleküller, daha sonra da kanın hücresel elemanları kapillerlerden geçebilirler [71].

2.2.3.d Pürülan faz: Bu fazda pulpanın basıncının ve damar geçirgenliğinin artmasıyla kanın hücresel elemanlarının damar dışına çıktığı izlenir. Bu fazın en önemli ayırıcı tanısıdır. Hücrelerin kapiller içerisinden dokuya çıkması olayına 'diyapedez' adı verilir. Kapiller dışarısına çıkan ilk hücreler polinükleer lökositlerdir. Damar dışarısına çıkan bu hücreler birkaç günde proteolize uğrayarak ölürler[11,12].

İnflamasyona neden olan patolojik etken ortadan kaldırılmamış ve sürekli stimulus oluyorsa, ortama devamlı bir polinükleer çıkış olacaktır. Dolayısıyla bir nekroz ve apse formasyonu gerçekleşecektir. Oluşmuş apse çevre dokularda devamlı bir proteoliz yapacak ve büyüme eğilimi gösterecektir.[71]

2.2.3.e: Tamir Fazı: Oluşmuş bir inflamasyon sonucunda dokuda meydana gelecek tamir fazının ilk kısmı doku kalıntılarının ve ölmüş polinükleer yapıların ortadan kaldırılmasıdır. Bu doku artıklarının

ortadan kaldırılması ancak lenfatik drenajla mümkün olmaktadır. Ortama ilk olarak gelen mononükleer lenfositler polinükleerler ile yer değiştirir ve zamanla tamamen kaplarlar. Bu lenfositler zamanla perihistiyositlere, histiyositlere, makrofajlara ve fibroblastlara dönüşüm gösterirler[11,12,71,72].

Sağlıklı veya inflamasyonlu pulpada kapillerler devamlı olarak gereksinimlere bağlı olarak harap olur veya yeniden oluşurlar. Lenfatik sistemlerde de damarlar aynı şekildedir. Ödem oluştuğunda bölgedeki damar sayılarında hızlı bir artış izlenir ve bunun sonucunda bölgenin beslenmesi ve kanlanmasının artmasından dolayı hızlı bir şekilde iyileşme[11].

2.3.3 Pulpa inflamasyonunun sınıflandırılması

2.3.3.a Kapalı ve akut pulpitis:
-Hiperemik pulpitis,
-Seröz pulpitis,
-Pürülant pulpitis,

2.3.3.b Açık ve kronik pulpitis:
-Ülseröz pulpitis,
-Hiperplastik pulpitis.

Yukarıda yapılan klasik sınıflama biribiri ardına gelen iltihabın fazlarından oluşmaktadır[73].

Günümüzdeki sınıflama reversibl pulpitis (geri dönüşümlü), irreversibl pulpitis (geri dönüşümsüz), hiperplastik pulpitis ve bu aşamaların sonunda da nekroz evresiyle yapılmaktadır[11].

Reversibl pulpitis: Pulpada çürük veya travmaya bağlı olarak hiperemi safhasında kan hacminde, dolayısıyla pulpal basınçta artış izlenir. Vazodilatasyon sonrası kan damarlarından sınırlı sayıda hücre çıkışı görülür. Az sayıda hücre çıkışından dolayı basınca bağlı olarak çok fazla ağrı bulgulanmaz. Bu tip vakalarda uygulanması gereken ilk tedaviler vital tedavilerdir. Ancak müdahalede geç kalınırsa hiperemi fazı geçer ve endodontik tedaviye ihtiyaç duyulur[68,69,71].

Reversibl pulpitiste ağrı spontan olarak oluşmaz. Bazı irritanlara (soğuk, sıcak, tatlı) karşı oluşur. Oluşan ağrılar keskin ve kısa sürelidir. Bu irritanlar ortadan kaldırıldığında ağrı direkt olarak ortadan kalkar[11,12,68,69,71,72].

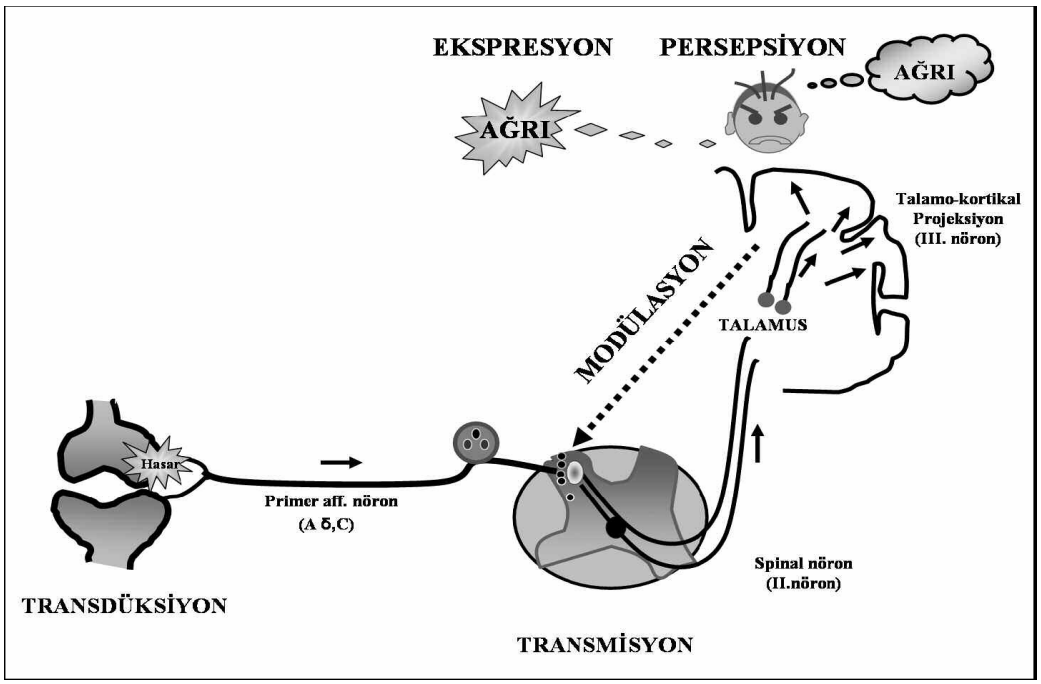
İrreversibl pulpitis: Derin bir çürük veya travma sonucu ortaya çıkabilen iltihap tablosudur. Pulpal basıncın artmasına bağlı olarak ağrı oluşur. Bu durumda pulpa seröz veya pürülan fazdadır. Ancak hangi fazda olduğunu klinik olarak belirlemek imkansızdır. Eğer pulpa bu aşamada tedavi edilmezse hızlı veya yavaş bir şekilde nekroza doğru ilerleme gösterir[68,69].

İrreversibl pulpitiste ağrı bir irritana karşı oluşabildiği gibi spontan olarak da başlayabilir. Ağrı bir süre devam ettikten sonra yavaşça kesilir. Ağrının şiddeti çok fazladır. Soğuk uyaranlara karşı az, sıcak uyaranlara karşı şiddetli ağrı ile karekterizedir[11,12,70,71,72].

Hiperplastik pulpitis: Sıklıkla pulpa polibi olarak da tanımlanmaktadır. Çocuklarda özellikle süt molar dişlerde sıkça rastlanmaktadır. Genelde büyük bir çürük kavitesi içerisinde keratinize yapının derecesine bağlı olarak kırmızıdan opak beyaza gidecek şekilde bir kitle şeklinde görülür. Kitlenin çok büyüdüğü durumlarda dişin okluzal yüzeyini kaplayabilir. Genellikle semptomsuzdur ve spontan ağrılar izlenmez[11].

2.4 PULPA AĞRISI

Ağrı, incelenmesi ve tarif edilmesi zor subjektif bir histir. Ağrının algılanması ve ifade edilmesi kişiden kişiye farklılıklar gösterir. Ağrı fizyolojik olarak incelendiğinde, uyarının ağrı reseptörleriyle alınıp, organlara iletilecek şekilde, bir yol izlediği görülür. Buna 'ağrı fenomeni' denir. Zararlı uyaranların ağrı reseptörleri tarafından algılanmasıyla ağrı fenomeninin başladığı izlenir[74,75,76]. Vücutta herhangi bir uyarıya karşı ağrının oluşması ve izlediği yol Şekil 1' görülmektedir[74].



Şekil 1. Ağrı oluşum mekanizması[74]

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği ağrıyı, vücudun herhangi bir bölgesinde başlayan, organik bir nedene bağlı olan veya olmayan, kişinin geçmişteki deneyimleri ile alakalı, hoş olmayan bir duygu olarak tarif etmiştir. Aynı zamanda ağrı, doku hasarının bilinçsiz olarak farkına varılması durumu olarak da ifade edilmiştir[77].

Diş pulpasının duyu sinirleri trigeminal sinirin maksiller ve mandibuler dallarından köken almaktadır. Bu sinirle küçük dallar halinde foramen apikaleden diş içerisine girerler. Myelinli fibriller hücreden zengin tabaka içerisinde myelinlerini kaybetmeye başlarlar. Subodontoblastik tabakada fazla miktarda ağ yapısı oluşur ve çıplak olan sinir sonlanmaları spesifik ağrı reseptörlerini oluştururlar[11,12,73,78].

Pulpal ağrılar provake ağrılar ve spontan ağrılar olarak değerlendirilmektedir[70,71].

Provake ağrılar sıcak, soğuk, çiğneme, basınç, perküsyon, tatlı veya asidik içeceklerin etkisiyle ortaya çıkan ağrılardır. Etken ortadan kaldırıldığında bu ağrılar direkt olarak kesilir. Bu tip ağrılar A-delta lifleri tarafından oluşturulmaktadır. Bu tip ağrılar pulpada

inflamasyonun gelişmediğini ve henüz reversibl durumda olduğunu gösterir.

Spontan ağrılar aralıklı ya da sürekli tarzda oluşabilirler. Kesikli spontan ağrılar sürekli olarak devam etmezler. Ağrının şiddeti ve süresi kişiden kişiye ve inflamasyonun miktarına göre değişiklik gösterebilir. Ağrının başlatılmasında uyaran ne olursa olsun, etken ortadan kalksa bile ağrılar hemen kesilmez, dakikalar veya saatler sonra kesilir. Bu tip ağrılar myelinsiz C lifleri tarafından oluşturulurlar[11,70,71].

Sürekli spontan ağrılar ise hafif şiddette başlayıp giderek artan tarzda meydana gelirler. Oluşan ağrılar artarak veya azalarak sürekli tarzda devam ederler Bu tip ağrılar pulpada inflamasyonun geliştiğini ve irreversibl durumda olduğunu gösterir.

2.4.1 Ağrılı hastanın değerlendirilmesi

Ağrılı hastanın değerlendilmesinde ilk yapılacak işlem ağrının akut veya kronik olduğunun değerlendirilmesidir. Ağrının tespitinde ağrıya eşlik eden semptomlar, ağrının lokalizasyonu, ağrının yayılımı, ağrının uyku üzerine etkisi, ağrıyı etkileyen faktörler, analjeziklerin ağrıya etkisi ve ağrının yoğunluğu ve sıklığı değerlendirilir.

Çocuklarda ağrı değerlendirilmesinde;

1. Çocuğun sistemik durumu ve ağrının süreç ile ilişkisi,
2. Duygu, düşünce ve davranışlar,
3. Çocuğun fonksiyonel yeterliliği ve ilişkileri,
4. Aile yaşamı,
5. Yaşam olayları ve başa çıkma becerileri gibi konular dikkate alınır.[79]

Ağrı şiddetinin ölçülmesi, teşhisin ve tedavinin tam anlamıyla yapılabilmesi için oldukça önemlidir. Ağrının tam ifadesi; doku hasarını, fizyolojik ve psikolojik reaksiyonları belirtme yönünden önemlidir. Bilinmesi gereken hafif, orta veya şiddetli ağrılarda kullanılan ağrı ölçüm skalaları, her zaman doğru sonuçlar vermeyebilir[80,81].

2.4.1.a Çocuklarda ağrı değerlendirme metodları

Çocuklarda ağrı değerlendirilmesinde; Visüel analog skala (Görsel analog skala, VAS) ve Mcgill ağrı sorgulaması (McGill Pain Questionaire; MPQ) klinikte sık olarak kullanılan skalalardır[82-107].

2.4.1.a.1 Visüel anlog skala (Görsel analog skala, VAS): Görsel analog skala genellikle 10 cm uzunluğunda, yatay yada dikey 'ağrı yok' ile başlayıp 'dayanılmaz ağrı' ile biten bir hattır. Bu hat genelde yatay doğrultudadır. Üzerinde herhangi bir şekil bulunmamaktadır. Hasta ağrısını bu hat üzerinde derecelendirebilir. Özellikle 5 yaşın üzerinde çocuklarda uygulama kolaylığı açısından önemlidir[80,81].

VAS kullanmanın avantajları:

- Ağrı şiddetinin değerlendirilmesinde, diğer yöntemler ile yapılan karşılıklı değerlendirmeler sonucunda VAS' ın uygun bir yöntem olduğu saptanmıştır.
- 5 yaş üzerindeki hastalar, bu yöntemi, kolay ve anlaşılır bulmaktadırlar
- VAS ile değerlendirmelerde düzenli bir dağılım gerçekleştirilir.
-Sözlü ağrı değerlendirilmesi ile karşılaştırıldığında, tedavi etkilerinin değerlendirilmesinde yeterli hassasiyete sahip olduğu görülür.
- Ölçüm kolaylıkla tekrarlanabilir.

.

VAS'nın diğer ağrı ölçüm yöntemlerine göre dezavantajları:

-Hastalar işaretlenmeyi rasgele yapabilmekte, bu da değerlendirmede yanılgılara neden olabilmektedir.
-Hastanın işbirliği yapamaz durumda olması VAS'nın yeterli olmasını engelleyebilir.
- Ağrı değerlendirilmesinin yapıldığı zamanın seçimi de yanılgılara neden olabilir.
-VAS'ın değerlendirme ve kayıtlarının aynı skala üzerinde yapılması durumunda önceki ağrı şiddeti değerini görmek, sonraki ağrı şiddetinin değerlendirilmesinde etkileyici rol oynayabilir.
- Yaşlılarda, VAS hattının algılanması, işaretler ile koordinasyon sağlanmasının güçlüğü nedeni ile uygulamada sorun olabilmektedir[81].

2.4.1.a.2.Mcgill ağrı sorgulaması (McGill Pain Questionaire; MPQ): McGil ağrı skalasında hastanın ağrı değeri semptomlarla ölçülür. 3 tip ölçü kriter olarak alınmaktadır. Ağrının üç boyutlu özellikleri saptanmaya çalışılır. Ağrının şiddeti, seçilen kelimenin miktarı ve ağrı şiddeti skorunun tamamı değerlendirme kapsamındadır. Fakat bu skala çocuklarda uygulama güçlüklerinden dolayı tercih edilmez[80,81].

Awawdeh ve arkadaşları[108], 46 adet akut irreversible pulpitisli daimi diş pulpasını, 20 adet ortodontik amaçlı olarak çekilen dişlerin pulpalarıyla immühistokimyasal yöntemle kalsitonin geni ile ilişkili peptid, substance ve nörokinin a ekspresyonu açısından değerlendirmişlerdir. Yapılan araştırma sonucunda pulpitisli dişlerin pulpalarında istatistiksel olarak artmış CGRP, SP ve NKA ekspresyonu bulgulamışlardır. Pulpitisli dişlerde en fazla CGRP' nin bulunduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca pulpitisli hastaların ağrı düzeyi ölçümü visüel analog skala ile değerlendirilmiş ve ağrı şiddeti ile nöropeptid ekspresyonu arasında doğru orantı saptanmıştır.

Rodd ve Boissonade[109], orta derecede çürüklü daimi diş pulpalarını ileri derecede çürüklü daimi diş pulpalarıyla immünohistokimyasal olarak karşılaştırmışlardır. İleri derecede çürüklü dişleri de semptomlu veya semptomsuz olarak değerlendirmişlerdir. Yapılan immünühistokimyasal analizde ileri derecede çürüklü daimi diş pulpalarında substance p miktarının daha fazla olduğunu ve ileri derecede çürüklü ağrılı dişlerin pulpalarının, ileri derecede çürüklü semptomsuz dişlerden daha fazla substance p miktarına sahip olduğunu, substance p'nin ağrı üzerinde etkisinin olabileceğini belirtmişlerdir.

3. MATERYAL METOD

Bu araştırmada Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti ve Ortodonti Anabilim Dalı Klinikleri' ne başvuran, yaşları 6-15 arasında olan 29 çocuğun, 36 adet pulpitisli ve sağlıklı, süt ve daimi dişlerden elde edilen pulpa doku örnekleri kullanıldı. Çalışma grupları aşağıdaki şekilde oluşturuldu.

1. Grup: Akut irreversibl pulpitis semptomları gösteren 9 adet süt kanin, süt I. molar ve süt II. molar dişlerin pulpaları,

2. Grup: Akut irreversibl pulpitis semptomları gösteren 9 adet daimi premolar ve molar dişlerin pulpaları,

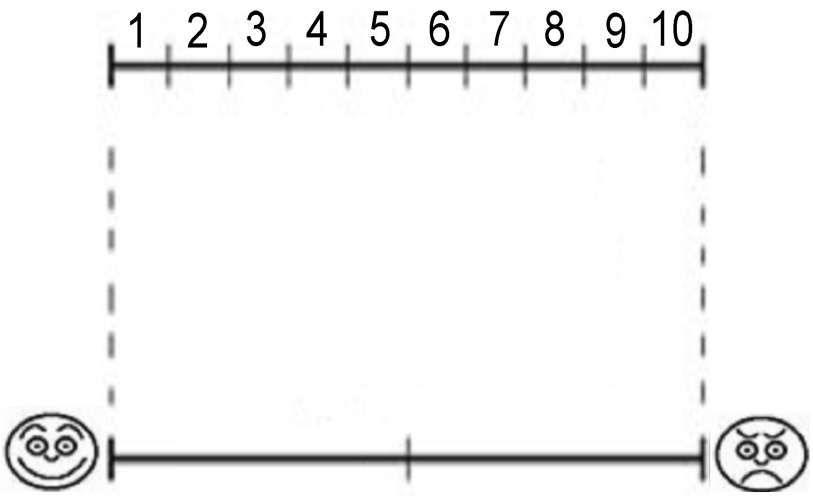
3. Grup: Ortodontik ve protetik amaçla çekim endikasyonu konulan 9 adet sağlıklı süt kanin ve süt I. molar dişlerin pulpaları,

4. Grup: Ortodontik ve protetik amaçla çekim endikasyonu konulan 9 adet sağlıklı daimi premolar dişlerin pulpaları.

Hastalardan alınan anamnezde; akut irreversibl pulpitisli dişlerin spontan ağrı ve gece ağrısı olmasına, soğuk ve sıcak hassasiyetlerinin bulunmasına ve yapılan klinik muayenede dikey perküsyonda ilgili dişinde ağrı olmasına özen gösterildi. Çalışma gruplarına alınan örneklerde hem süt hem de daimi dişlerde periapikal veya furkasyon bölgelerinde enfeksiyon ve rezorpsiyon bulunmamasına, periodontal dokuların sağlıklı olmasına dikkat edildi. Hastaların herhangi sistemik bir rahatsızlığının bulunmamasına, düzenli kullandığı bir ilaç olmamasına ve son bir haftada ağrı kesici ilaç kullanmamış olmasına önem verildi.

Akut pulpitisli süt ve daimi dişi olan çocuklarda, ağrı seviyesinin değerlendirilmesinde visüel analog skala (VAS) (Şekil 2) kullanıldı.

Ağrılı çocuklara, tedavileri başlamadan önce Tablo 2' deki skala gösterildi. Hiç ağrı olmaması '0', dayanılmaz ağrının ise '10' olarak derecelendirildiği anlatıldı. Çocuklara daha önce yaşadıkları ağrı deneyimleriyle karşılaştırarak pulpitisli dişlerinden hissettikleri ağrı seviyelerini belirtmeleri istendi ve elde edilen veriler kayıt altına alındı.



Şekil 2. Ağrı seviyesininin tespit edilmesinde kullanılan visüel analog skala (görsel analog skala, VAS)

Sağlıklı süt ve daimi dişlerin pulpa dokusu örnekleri, Pedodonti ve Ortodonti Anabilim Dalları tarafından protetik ve ortodontik tedavi amaçlı çekim endikasyonu konulan dişlerin çekimini takiben elde edildi.

Ortodontik ve protetik amaçlı olarak artikain hidroklorür (Ultracain D-S Ampul, Aventis Pharma Sanayi, İstanbul, Türkiye) ile lokal anestezi altında çekilen süt ve daimi dişler, çekimlerini takiben apekslerinden elmas bir separe yardımıyla 1 mm kesildi ve daha önceden hazırlanmış olan % 2-5' lik tamponlanmış formalin solusyonunda 24-72 saat bekletilerek fiksasyonu sağlandı. Pulpa dokusu örneklerinin fiksasyonunu takiben mezial ve distal

kısımlarından kron-kök doğrultusunda 1 mm' lik bir elmas separe yardımıyla kesilerek ikiye bölündü. Pulpa dokusu streril bir kanal eğesiyle diş sert dokularından ayrıldı.

Akut irreversibl pulpitisli dişlerin, kök kanal tedavisine başlamadan önce, hastanın ağzı dezenfeksiyon amacıyla % 0.12'lik klorheksidin glukonat ve % 0.15'lik benzidamin HCL (Kloroben gargara, Drogsan İlaç Sanayi, Ankara, Türkiye) ile çalkalatıldı. Lokal anesteziyi takiben dişlerde rubber-dam izolasyonu yapıldı ve çapı 2 mm olan bir rond frez yardımıyla kanal giriş kavitesi hazırlandı. Dişlerde pulpa odası açıldıktan sonra steril bir ekskavatör yardımıyla koronal pulpa dokusu zarar görmeden çıkartıldı. Çok köklü dişlerde ise kök pulpası streril bir kanal eğesi yardımıyla çıkartıldı ve % 2-5' lik tamponlanmış formalin solusyonunda 24-72 saat bekletilerek fiksasyonu sağlandı.

Pulpa dokusu örneklerinin rutin doku takibi ve immünohistokimyasal değerlendirilmeleri Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Oral Patoloji Bilim Dalı'nda yapıldı.

Tüm gruplardan elde edilen pulpa dokuları rutin doku takip prosedürünün ardından parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardaki örneklerden mikrotom (Leica SM-2000-R) ile, adeziv camlara 5 µm kalınlığında her antikor için birer kesit alındı. Kesitler kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP), vazoaktif intestinal peptid (VIP), ve nöropeptid y (NPY) antikorları ile immünohistokimyasal olarak boyandı.

3.1 İmmünohistokimyasal Yöntem

CGRP, NPY, VIP antikorları için immünohistokimyasal boyama, avidin-biotin kompleks (ABC) yöntemiyle Anti –Polyvalent, HRP/AEC, kullanıma hazır immünohistokimya kiti (Ultravision Detection System, Lab Vision Cor., Ca, USA) (Resim 1) kullanılarak gerçekleştirildi.

1. Kesitler 56^0C'ye ayarlanmış etüvde 12 saat bekletildikten sonra 30 dakika ksilolde tutularak deparafinize edildi.
2. Kesitler beşer dakika süreyle sırasıyla %100, %96 ve %90'lık etil alkolde bekletilerek dehidrate edildi.
3. Kesitler 1 dakika çeşme suyunda yıkandıktan sonra distile sudan geçirildi.
4. % 3 hidrojen peroksit (H_2O_2) 10 dakika süreyle endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için uygulandı.

5. Kesitler Tris (hydroxymethyl-aminometan) buffer solusyonu (TBS, pH:7,60) ile püskürtme yöntemi kullanılarak iyice yıkandı.

6. Formalin fiksasyonu ve parafin bloklama nedeniyle dokuda maskelenmiş olan antijenik yapıları açığa çıkarmak amacıyla antijen retreival solüsyonu (0,01M sodyum sitrat buffer, pH:6,00) içerisinde 15 dakika mikrodalga fırında işlemden geçirildi.

7. Kesitler oda ısısında 30 dakika bekletildi ve distile su ile üç kez yıkandı.

8. Örnekler 5-10 dakika süreyle non-immün bloklama serumunda (Ultra V Block, antigen specifity anti-mouse IgG (H+L) anti-rabbit (H+L), species origin: goat, Lab. Vision Cor., Ca, USA) bekletildi.

9. NPY rabbit poliklonal, konsantre primer antikor(NPY1R antibody, cat#ab13067, Abcam comp. Cambridge-UK) 1/100 oranında, CGRP rabbit poliklonal konsantre primer antikor(CGRP antibody, cat#ab8056, Abcam comp. Cambridge-UK) 1/100 oranında, ve VIP mouse monoklonal konsantre antikor (VIP Mouse monoclonala antibody, cat#sc-25347, Santacruz bıotechnology Inc., California-USA) 1/50 oranında hazırlanarak örnekleri örtecek şekilde uygulandı ve oda sıcaklığında 2 saaat bekletildi.

10. Kesitler TBS ile 5 dakika püskürtme yöntemi ile yıkandı ve kurulandı.

11. Biyotine bağlanmış bağlayıcı (sekonder) antikor (Biotinylated goat anti-polyvalent, Lab Vision Cor., Ca, USA) oda ısısında 10 dakika uygulandı.

12. Kesitler TBS ile yıkandı ve kurulandı.

13. Streptavidin ile konjuge alkalen fosfataz (Streptavidin peroxidase, Lab Vision Cor., Ca, USA) uygulanarak 10 dakika bekletildi.

14. Kesitler TBS ile yıkandı ve kurulandı.

15. On dakika süre ile renk vererek görüntülemeyi sağlamak amacıyla amino etil karbazol solüsyonu (AEC-red substrate kit Lot: 60682605 Zymed S.San Francisco, Ca,USA) ile inkübe edildi.

16. Kesitler üç kez distile sudan geçirildi.

17. Zemin boyaması için Meyer's hematoksilende 1 dakika bekletildi.

18. Kesitler üç kez distile sudan geçirildi.

19. TBS ile yıkanan kesitler kurulandıktan sonra suda çözülebilen kapatıcı solüsyon (Clearmount, Lot:10364117, Zymed S.San Francisco, California,USA) ile kapatıldı.

Kullanılacak antikorların çalışılabilirliğinin değerlendirilmesi amacıyla kontrol boyamaları yapıldı. Pozitif kontrol dokusu olarak vazoaktif intestinal peptid (VIP) için insan kolon mukozası, nöropeptid y (NPY) için rat beyin dokusu, kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) için rat intestinal mukozası kullanıldı. Vazoaktif intestinal peptid (VIP) ve kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) için ekstrasellüler matriksteki sekret tarzındaki granüler kırmızı-kahverengi boyanma, NPY için membranöz ve

sitoplazmik hücresel kırmızı-kahverengi boyanma pozitif olarak kabul edildi. Her bir antikor için belirlenen kontrol dokularından, primer antikor aşamasında, Tris (hydroxymethyl-aminometan) buffer solusyonun'da (TBS) bekletilmiş olan örnekler negatif kontrol olarak değerlendirildi.

3.2 İmmünohistokimyasal Boyanmalarının Değerlendirilmesi

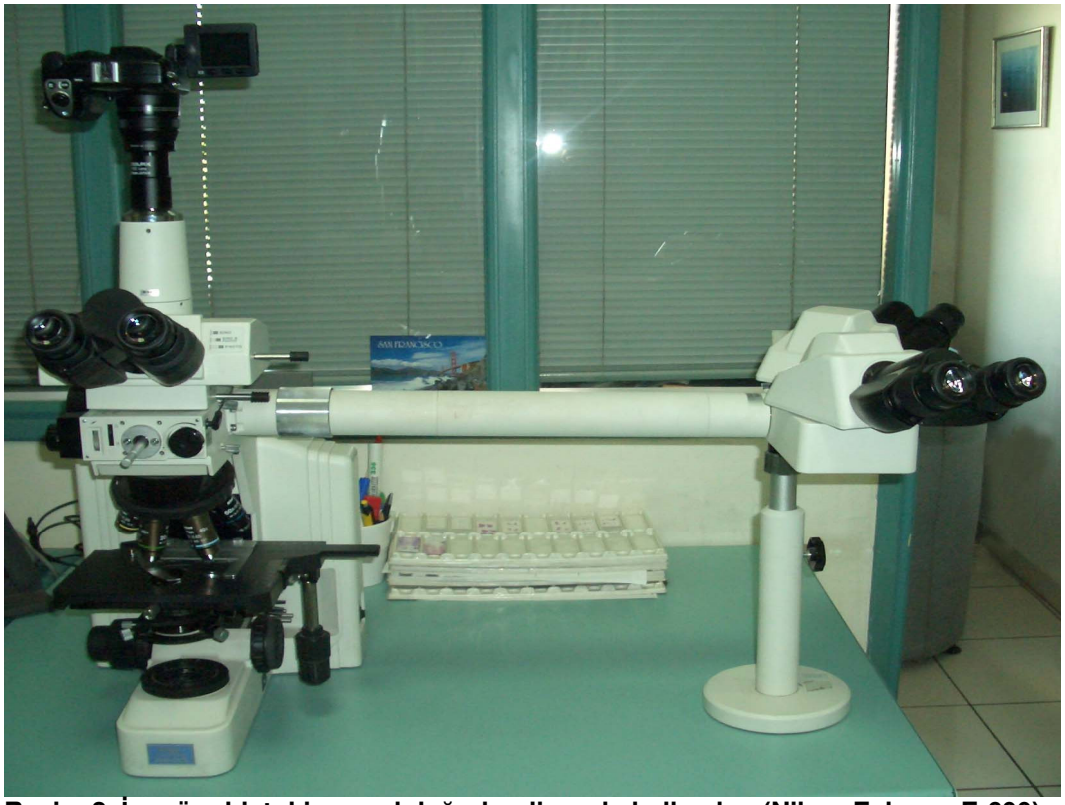
İmmünohistokimya boyanmaları yapılan pulpa dokusu örnekleri ışık mikroskobunda (Nikon Eclypse E-600,Nikon Corp.,Tokyo-Japan)(Resim 2) X400 büyütmede değerlendirildi. Pulpa dokusu örneklerinde boyanma var veya yok olarak kaydedildi.

3.3 İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin analizi SPSS 11.5 paket programında yapıldı. Çocukların yaş ortalaması ve VAS değerlendirilmeleri için ortalama ± std.sapma, boyanmaların varlığı veya yokluğu ise yüzdelik dilimde gösterildi. Kategorik karşılaştırmalar için Fisher'in Kesin testi kullanıldı. $p<0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Resim 1. İmmünohistokimyasal yöntem için kullanılan kit ve antikorlar



Resim 2. İmmünohistokimyasal değerlendirmede kullanılan (Nikon Eclypse E-600) mikroskop

4. BULGULAR

9 adet akut irreversibl pulpitis semptomları gösteren daimi diş pulpa dokusu, 9 adet akut irreversibl semptomları gösteren süt dişi pulpa dokusu, 9 adet ortodontik veya protetik amaçlı çekimi yapılmış daimi diş pulpa dokusu, 9 adet ortodontik veya protetik amaçlı çekimi yapılmış süt dişi pulpa dokusu olmak üzere 36 adet pulpa dokusu örneği değerlendirmeye alındı. Araştırma kapsamında gerek akut irreversibl pulpitisli, gerekse kontrol amaçlı olarak değerlendirilen sağlıklı süt dişi pulpa dokusu örneklerinin alındığı çocukların yaş ortalaması 82,5 ay (±6,5 ay), akut irreversibl pulpitisli ve sağlıklı daimi diş pulpa dokusu örneklerinin alındığı çocukların yaş ortalaması ise 160,7 ay (±10,1 ay) olarak belirlendi.

Ağrı seviyesini tespit etmek için pulpitis semptomları gösteren çocuklara uygulanan VAS değerlendirmesi sonucunda; pulpitisli süt dişi pulpalarının alındığı çocuklarda VAS değeri 8,6 (±0,8), pulpitisli daimi dişlerin pulpalarının alındığı çocuklarda VAS değeri 8,9 (±0,7) olarak belirlendi. Bu değerlerin süt ve daimi dişlerde birbirine yakın olduğu ve çocukların ağrı semptomuna benzer reaksiyon gösterdiği gözlendi.

Pulpitisli süt ve daimi dişlerden elde edilen pulpa dokusu örneklerinin çoğunda yoğun miktarda inflamatuar hücre tespit edildi. 1-2 örnekte orta derecede inflamatuar hücreye rastlandı, yapılan istatistiksel değerlendirme de bu fark anlamlı olarak bulgulanmadı ($p>0.05$).

4.1 KALSİTONİN GENİ İLE İLİŞKİLİ PEPTİD (CGRP) BULGULARI

Süt ve daimi dişlerden elde edilen, sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait örneklerin CGRP ile immünohistokimyasal boyanma bulgularının istatistiksel verileri Tablo 3'te, boyanma bulguları ise Grafik 1'de görülmektedir.

Sağlıklı süt dişi pulpalarının hepsinde, sağlıklı daimi diş pulpalarının 7 tanesinde CGRP ile boyanma izlenmedi (Resim 3, Resim 4). Sağlıklı daimi diş pulpalarının yalnızca 2 tanesinde pulpa bağ dokusu içerisinde saçılmış tarzda CGRP ile pozitif boyanma izlendi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede sağlıklı süt ve daimi dişler arasında boyanma miktarı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulgulanmadı ($p>0.05$).

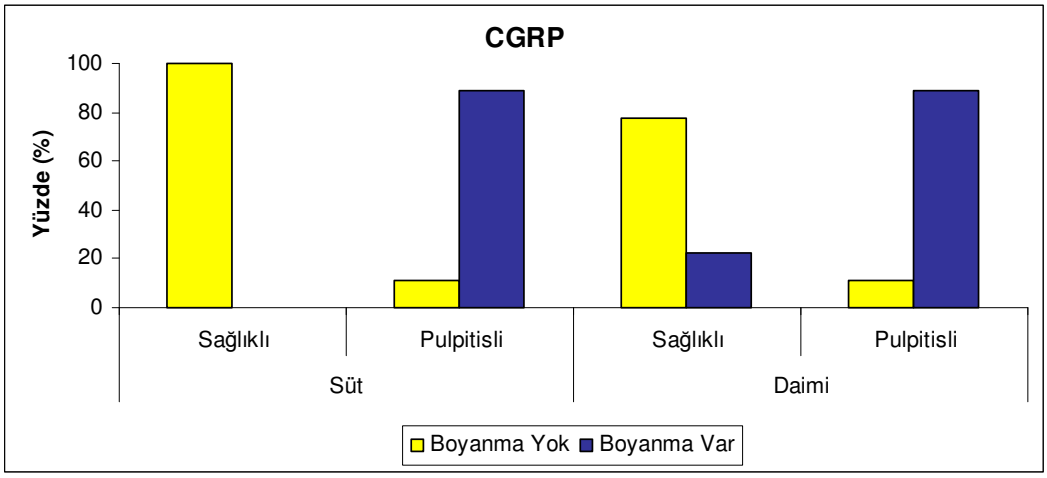
Pulpitisli süt ve daimi dişlerin pulpalarından, 8' er örnekte CGRP pozitif boyanması bulgulandı. Bu boyanma süt dişlerinde pulpanın merkezinde ve inflamatuar hücrelerin arasında (Resim 5), daimi dişlerde ise perivasküler alanda ve inflamatuar hücrelerin arasında tespit edildi (Resim 6). Fakat istatistiksel değerlendirmede her iki grup arasında boyanma açısından anlamlı bir fark bulgulanmadı ($p>0.05$).

Pulpitisli süt ve daimi diş pulpa dokusu örneklerinde CGRP ile boyanma, sağlıklı süt ve daimi diş pulpa dokusu örneklerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış boyanma tespit edildi ($p<0.05$).

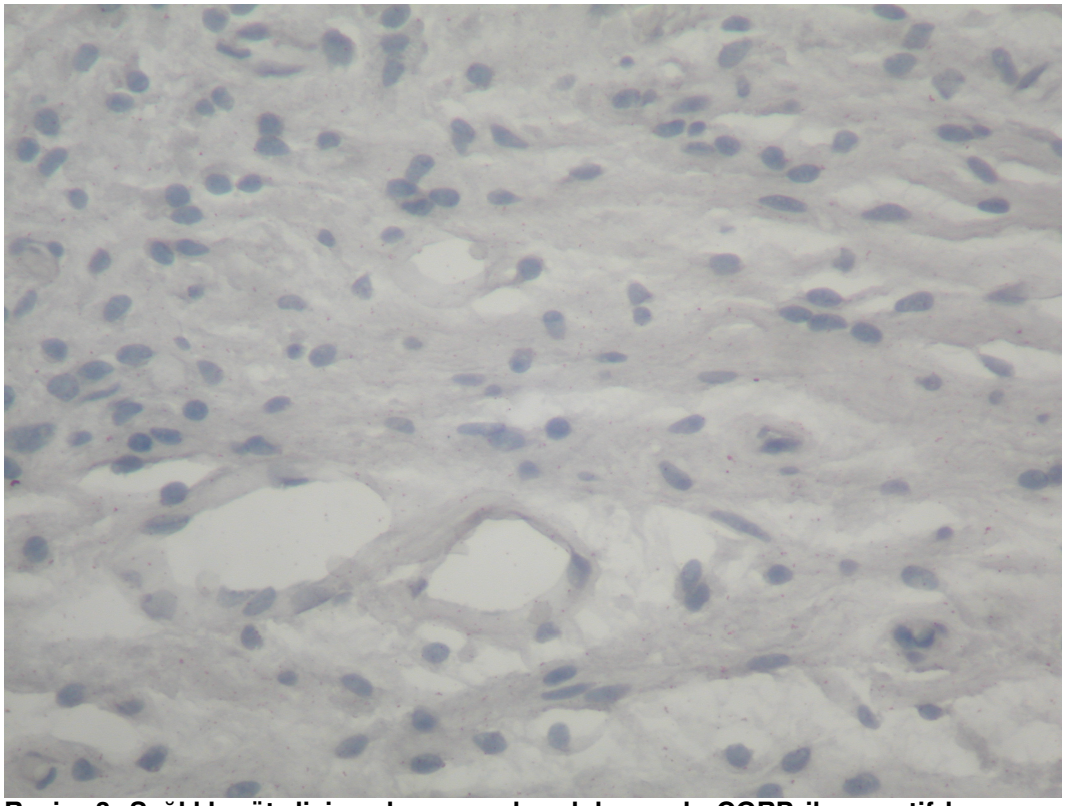
Tablo 3. CGRP ile boyanan örneklerin istatistiksel verileri

	Süt Dişi (n=18)			Daimi Diş (n=18)			p*	p**
	Sağlıklı (n=9)	Pulpitisli (n=9)	p	Sağlıklı (n=9)	Pulpitisli (n=9)	p		
Yok	9 (%100)	1 (%11,1)	0.001	7 (%77,8)	1 (%11,1)	0.015	0.471	1.000
Var	0 (%0)	8 (%88,9)		2 (%22,2)	8 (%88,9)			

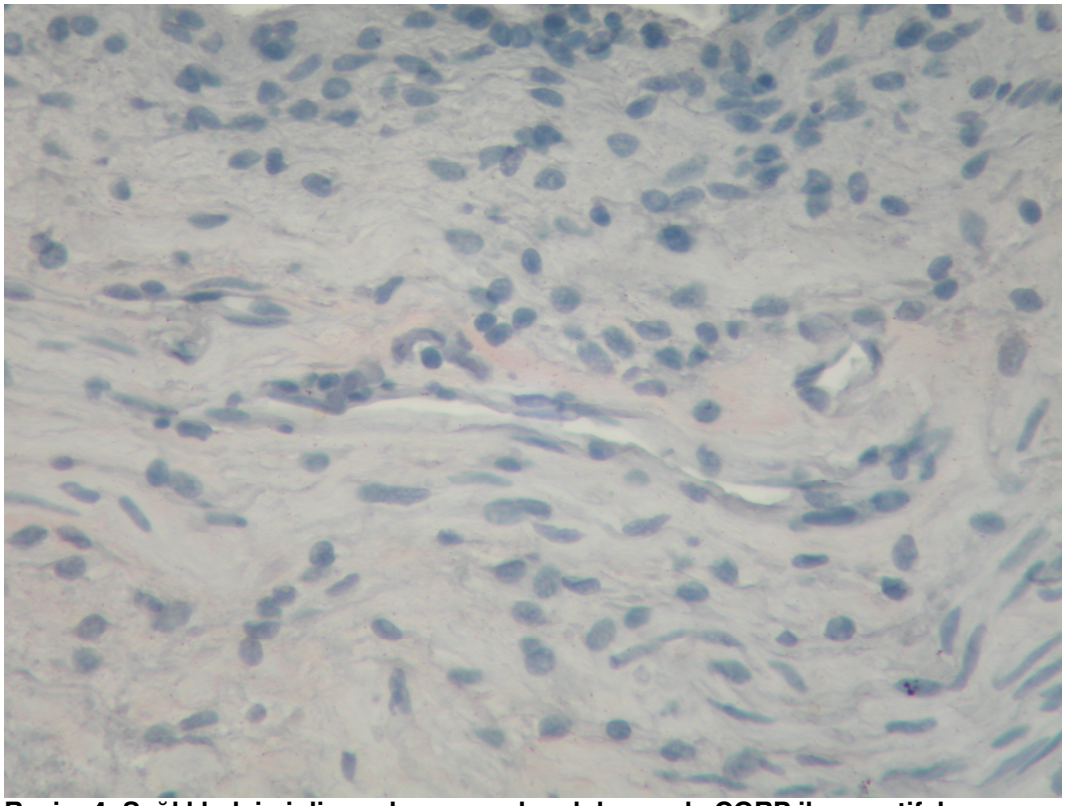
p* : Sağlıklı süt ve daimi dişler arasında boyanma yönünden istatistiksel değerlendirme (p>0.05)
p: Pulpitisli süt ve daimi dişler arasında boyanma yönünden istatistiksel değerlendirme (p>0.05)**



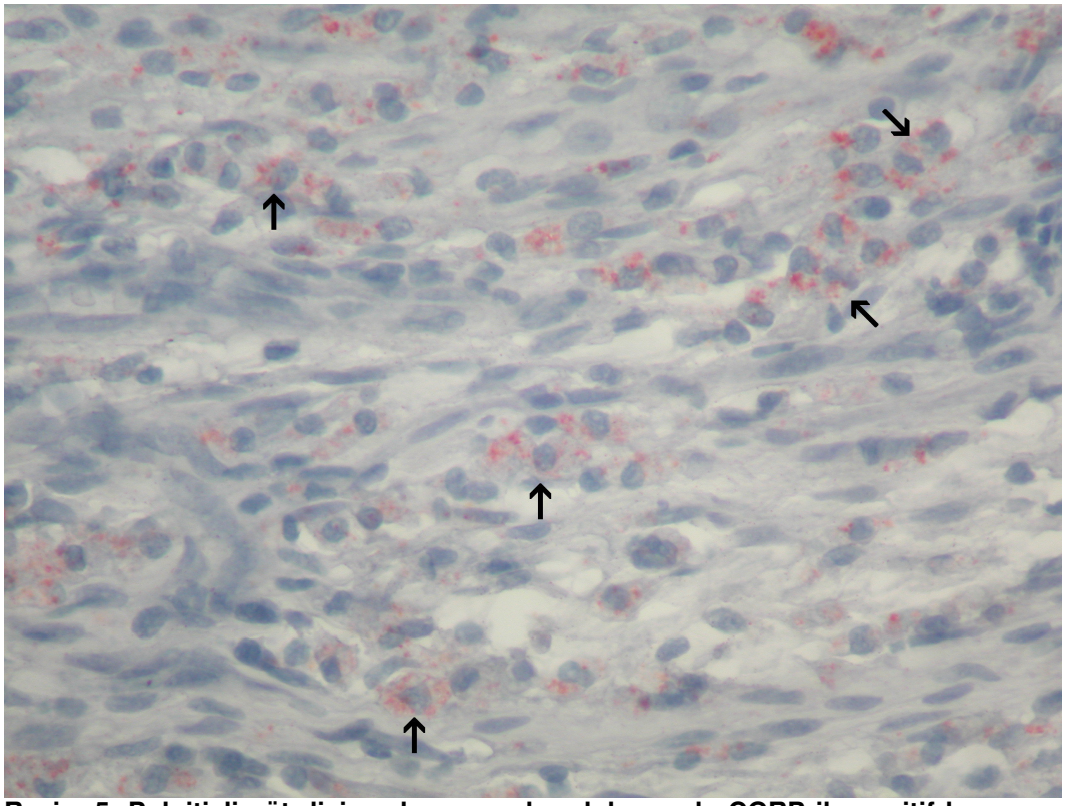
Grafik 1. CGRP antikorunun immünohistokimyasal boyanma bulguları



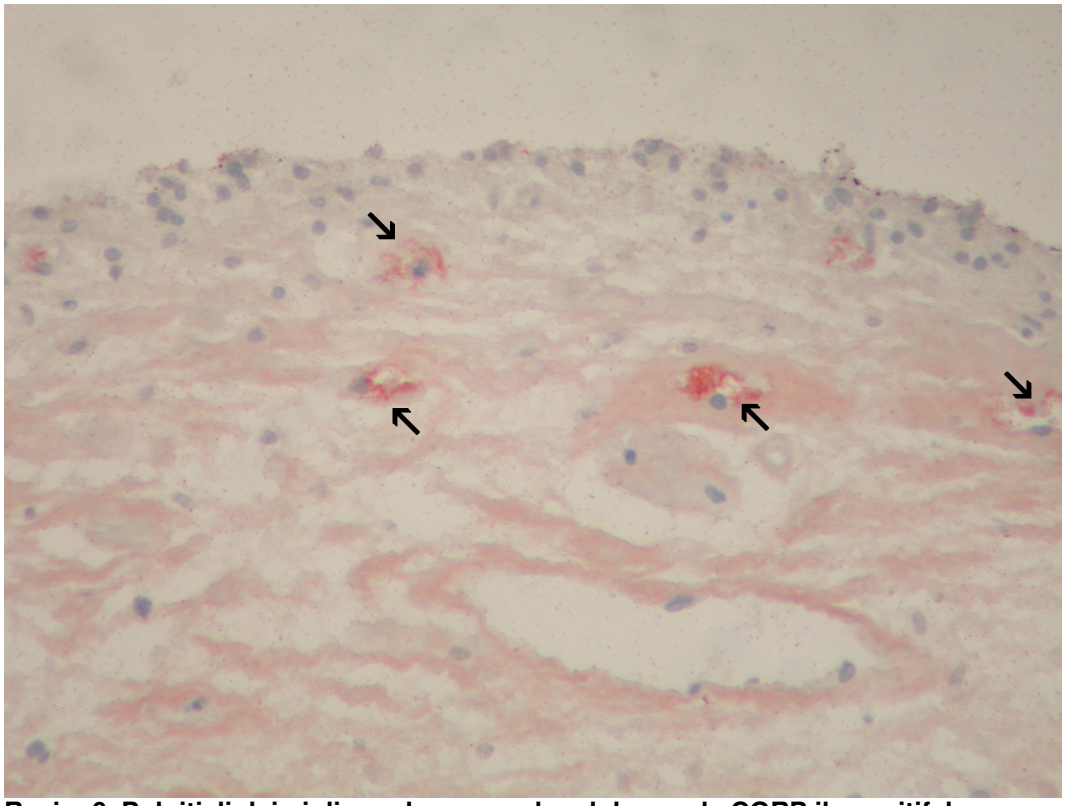
Resim 3. Sağlıklı süt dişi grubunun pulpa dokusunda CGRP ile negatif boyanma (ABC x400)



Resim 4: Sağlıklı daimi diş grubunun pulpa dokusunda CGRP ile negatif boyanma (ABC x400)



Resim 5. Pulpitisli süt dişi grubunun pulpa dokusunda CGRP ile pozitif boyanma (ABC x400)



Resim 6. Pulpitisli daimi diş grubunun pulpa dokusunda CGRP ile pozitif boyanma (ABC x400)

4.2 VAZOAKTİF INTESTINAL PEPTİD (VIP) BULGULARI

Süt ve daimi dişlerden elde edilen, sağlıklı ve pulpitisli gruplara ait örneklerin VIP ile immünohistokimyasal boyanma bulgularının istatistiksel verileri Tablo 4'te, boyanma bulguları ise Grafik 2'de görülmektedir.

.

Sağlıklı süt dişi pulpa dokusu örneklerinin 7 tanesinde, sağlıklı daimi diş pulpa dokusu örneklerinin 8 tanesinde VIP ile boyanma gözlenmedi (Resim 7, Resim 8). Sağlıklı süt dişlerinin 2 tanesinde, sağlıklı daimi dişlerin 1 tanesinde VIP ile pozitif boyanma gözlendi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede sağlıklı süt ve daimi diş pulpa dokusu örnekleri arasında boyanma açısından istatististiksel olarak anlamlı bir fark bulgulanmadı ($p>0.05$)

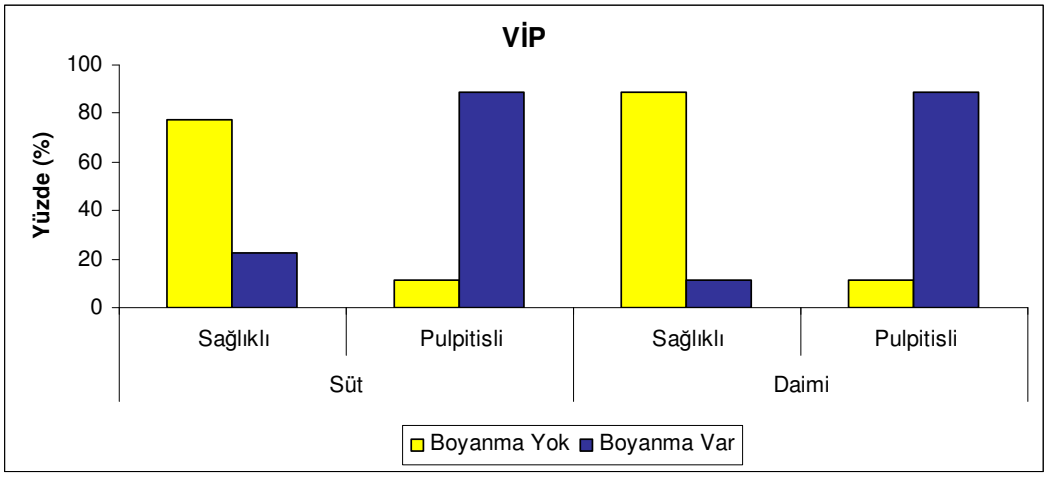
Pulpitisli süt ve daimi dişlerin pulpalarından, 8' er örnekte VIP ile pozitif boyanma saptandı. Bu boyanma süt dişlerinde özellikle inflamatuar hücrelerin arasında (Resim 9), daimi dişlerde ise perivasküler alanda ve inflamatuar hücrelerin arasında olduğu görüldü (Resim 10). Yapılan istatistiksel değerlendirme de her iki grup arasında boyanma açısından anlamlı bir fark bulgulanmadı ($p>0.05$).

İstatistiksel değerlendirmede; pulpitisli süt ve daimi diş pulpa dokusu örneklerinde VIP ile boyanmanın, sağlıklı süt ve daimi diş pulpa dokusu örneklerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış boyanma tespit edildi ($p<0.05$).

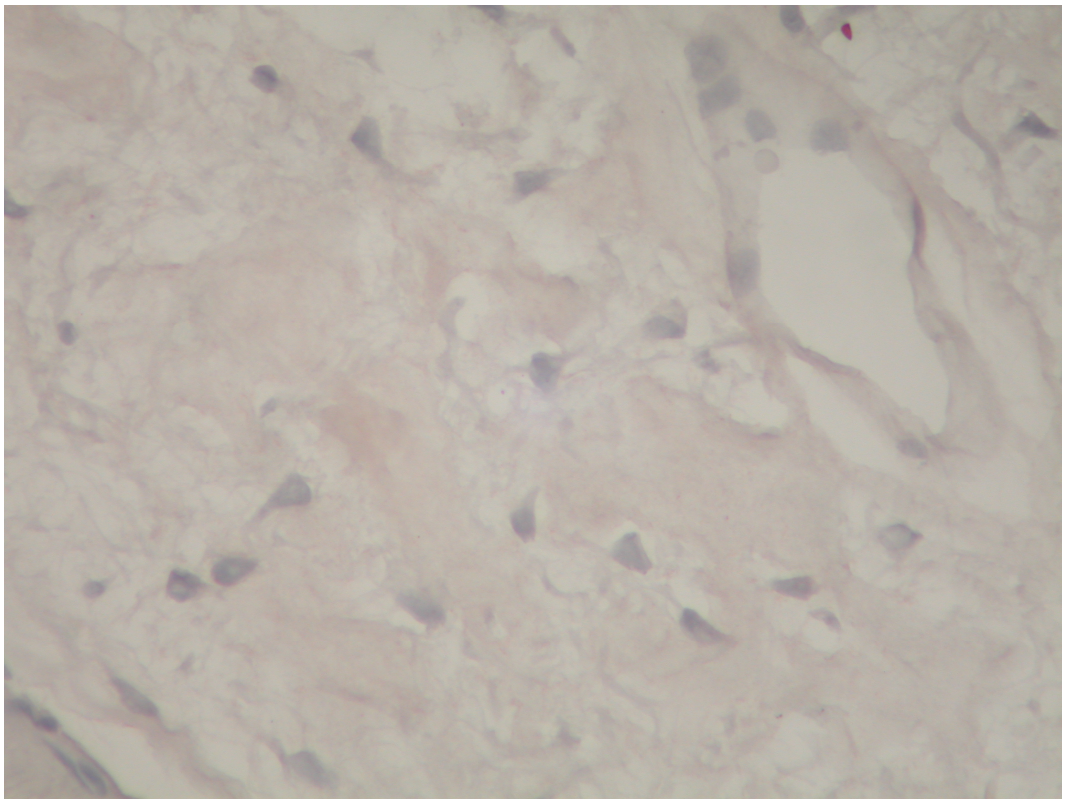
Tablo 4. VIP ile boyanan örneklerin istatistiksel verileri

	Süt Dişi (n=18)			Daimi Diş (n=18)			p*	p**
	Sağlıklı (n=9)	Pulpitisli (n=9)	p	Sağlıklı (n=9)	Pulpitisli (n=9)	p		
Yok	7 (%77,8)	1 (%11,1)	0.015	8 (%88,9)	1 (%11,1)	0.003	1.000	1.000
Var	2 (%22,2)	8 (%88,9)		1 (%11,1)	8 (%88,9)			

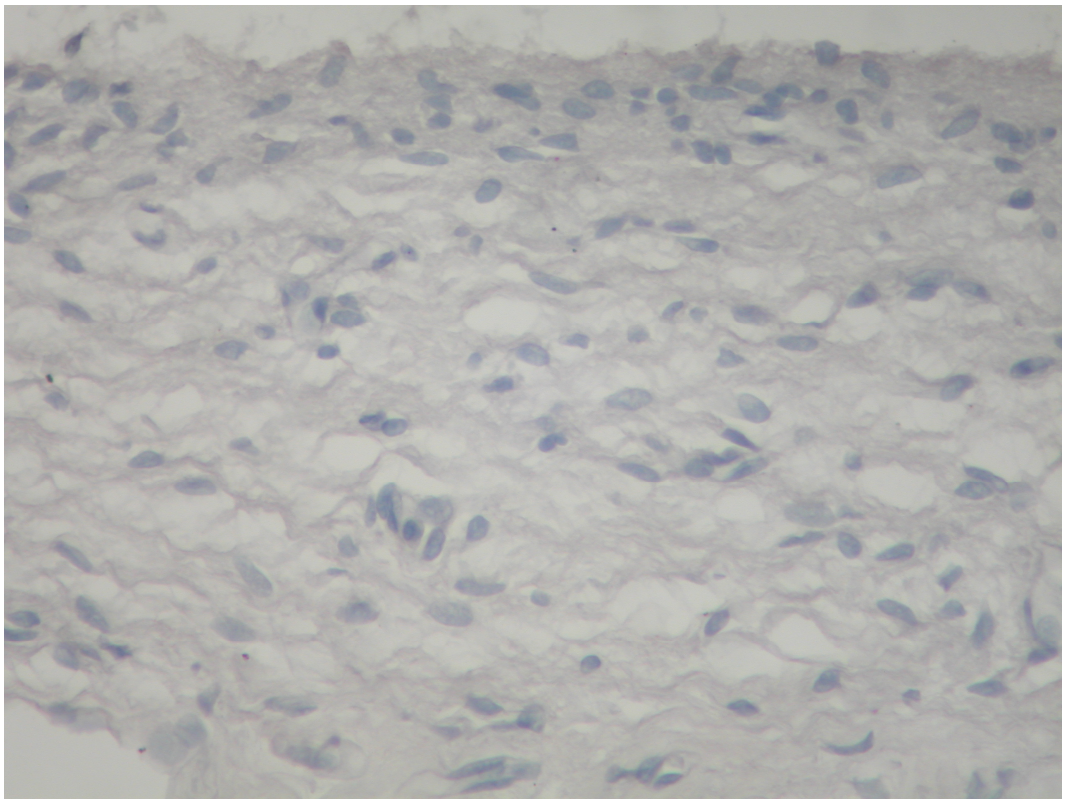
p* : Sağlıklı süt ve daimi dişler arasında boyanma yönünden istatistiksel değerlendirme (p>0.05)
p: Pulpitisli süt ve daimi dişler arasında boyanma yönünden istatistiksel değerlendirme (p>0.05)**



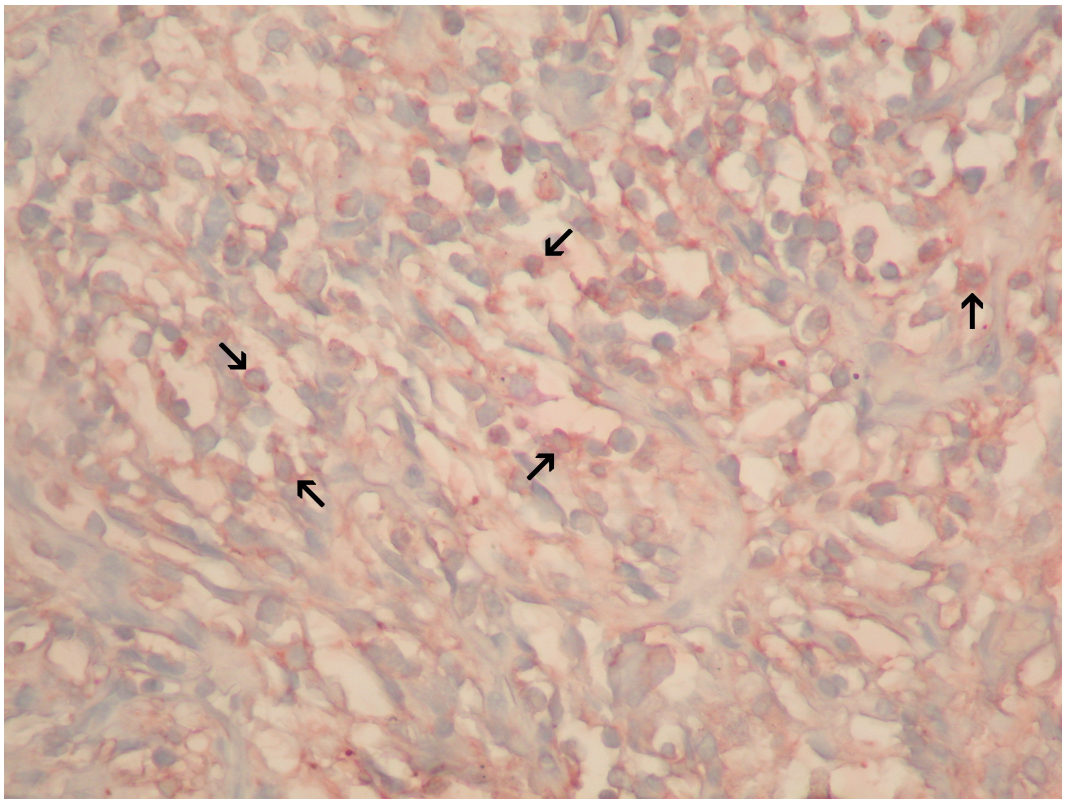
Grafik 2. VIP antikorunun immünohistokimyasal boyanma bulguları



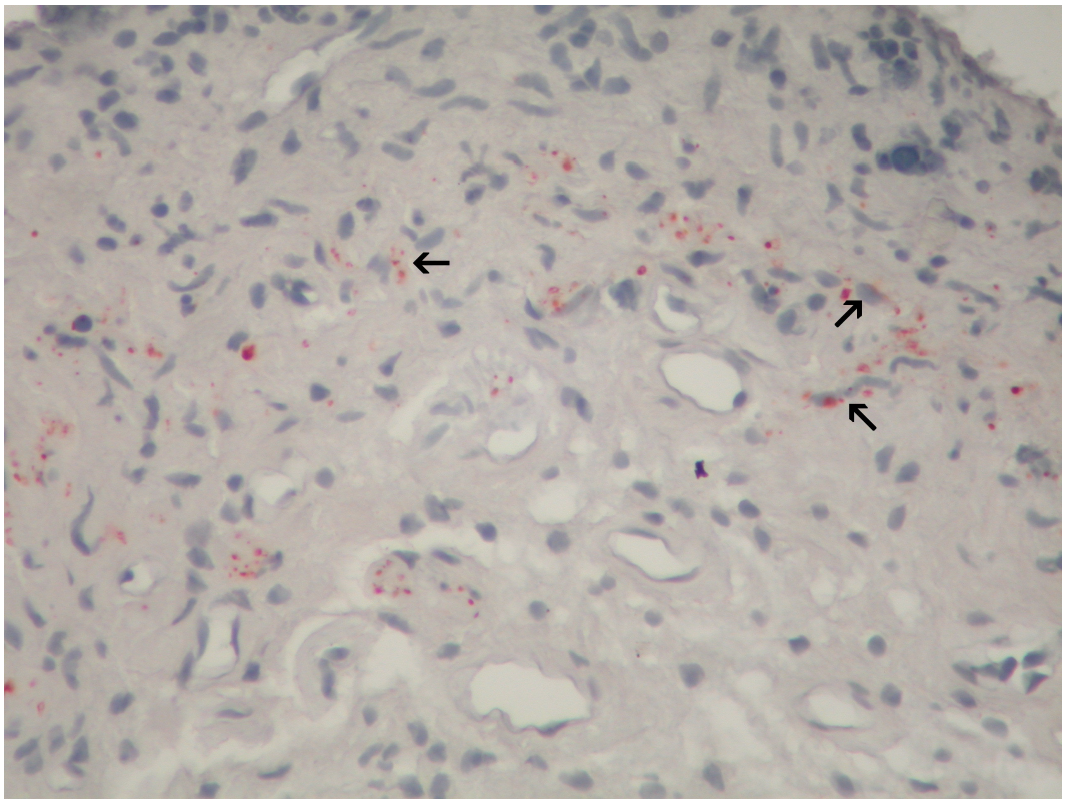
Resim 7. Sağlıklı süt dişi grubunun pulpa dokusunda VIP ile negatif boyanma (ABC x400)



Resim 8. Sağlıklı daimi diş grubunun pulpa dokusunda VIP ile negatif boyanma (ABC x400)



Resim 9. Pulpitisli süt dişi grubunun pulpa dokusunda VIP ile pozitif boyanma (ABC x400)



Resim 10. Pulpitisli daimi diş grubunun pulpa dokusunda VIP ile pozitif boyanma (ABC x400)

4.3 NÖROPEPTİD Y (NPY) BULGULARI

Süt ve daimi dişlerden elde edilen, sağlıklı ve pulpitisli gruplara ait örneklerin CGRP ile immünohistokimyasal boyanma bulgularının istatistiksel verileri Tablo 5'te, boyanma bulguları ise Grafik 3'de görülmektedir.

İmmünohistokimyasal değerlendirmede sağlıklı süt dişlerinin pulpalarında NPY ile pozitif boyanma izlenmedi (Resim 11). Sağlıklı daimi diş grubu örneklerinin 2 tanesinde perivasküler alanda ve fibroblastların çevresinde NPY ile pozitif boyanma izlenirken (Resim 12), geri kalan 7 örnekte negatif boyanma görüldü (Resim 13). Yapılan istatistiksel değerlendirmede sağlıklı süt ve daimi diş pulpa dokusu örnekleri arasında boyanma açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

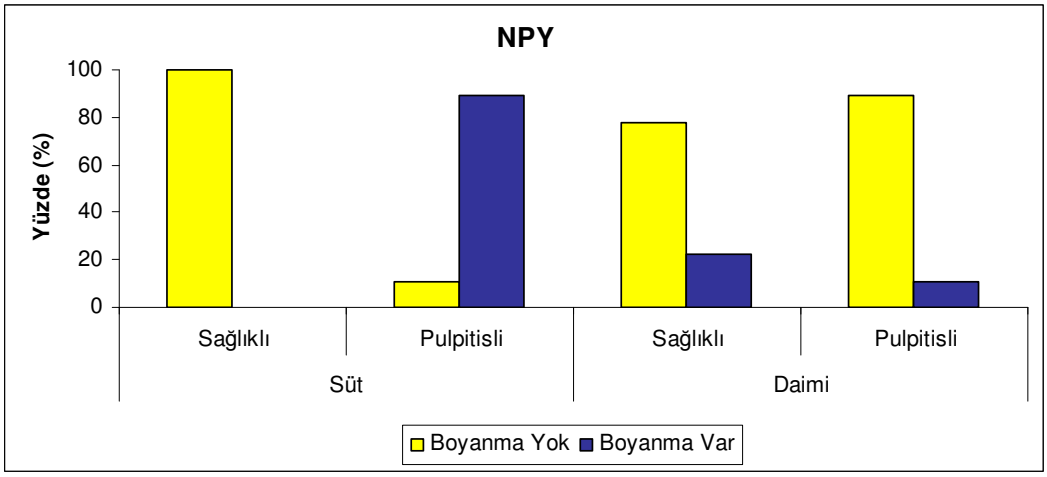
Pulpitisli süt dişi pulpa dokusu örneklerinin 8 tanesinde NPY ile pozitif boyanma inflamatuar hücrelerin arasında, fibroblast ve odontoblastların çevresinde izlendi (Resim 14). Pulpitisli daimi diş grubu örneklerinden yalnızca 1 tanesinde inflamatuar hücrelerin arasında NPY ile pozitif boyanma görülürken (Resim 15), diğer 8 pozitif boyanma izlenmedi (Resim 16). Pulpitisli süt ve daimi diş grupları arasında NPY boyanması için yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda pulpitisli süt dişlerinde istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha fazla pozitif boyanma olduğu saptandı ($p<0.05$).

Sağlıklı ve pulpitisli gruplar arasında NPY ile pozitif boyanmanın ilişkisi değerlendirildiğinde, süt dişlerinde NPY boyanmasının pulpitis varlığında sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde arttığı görüldü ($p<0,05$). Daimi diş örnekleri için benzer karşılaştırma yapıldığında, pulpitisli örneklerde NPY boyanması açısından sağlıklı ve pulpitisli grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı($p>0,05$) .

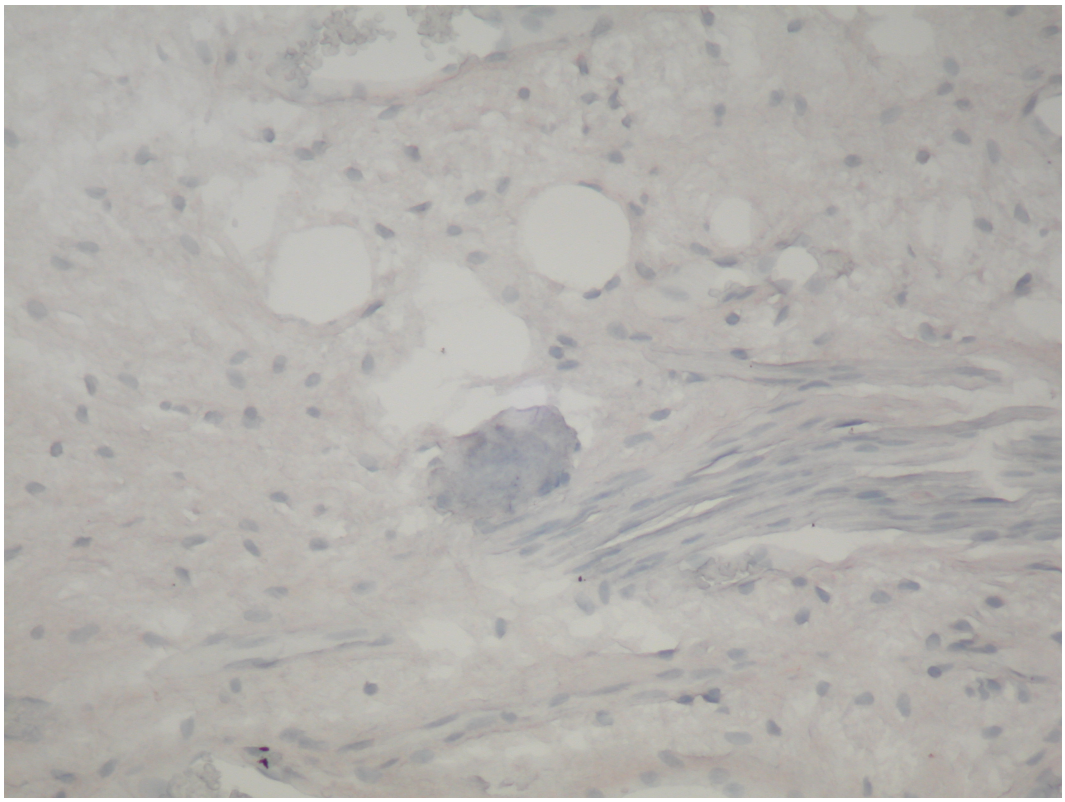
Tablo 5. NPY ile boyanan örneklerin istatistiksel verileri

	Süt Dişi (n=18)			Daimi Diş (n=18)			p*	p**
	Sağlıklı (n=9)	Pulpitisli (n=9)	p	Sağlıklı (n=9)	Pulpitisli (n=9)	p		
Yok	9 (%100)	1 (%11,1)	0.001	7 (%77,8)	8 (%88,9)	1.000	0.471	0.003
Var	0 (%0)	8 (%88,9)		2 (%22,2)	1 (%11,1)			

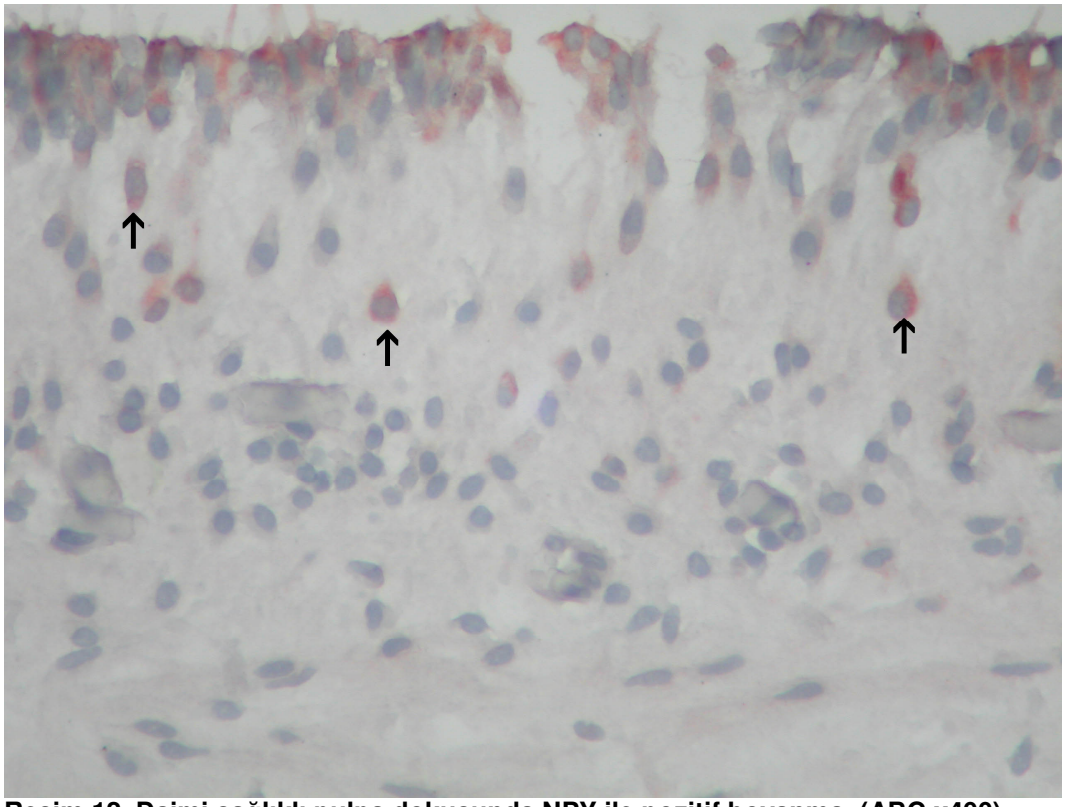
p* : Sağlıklı süt ve daimi dişler arasında boyanma yönünden istatistiksel değerlendirme (p>0.05)
p: Pulpitisli süt ve daimi dişler arasında boyanma yönünden istatistiksel değerlendirme (p<0.05)**



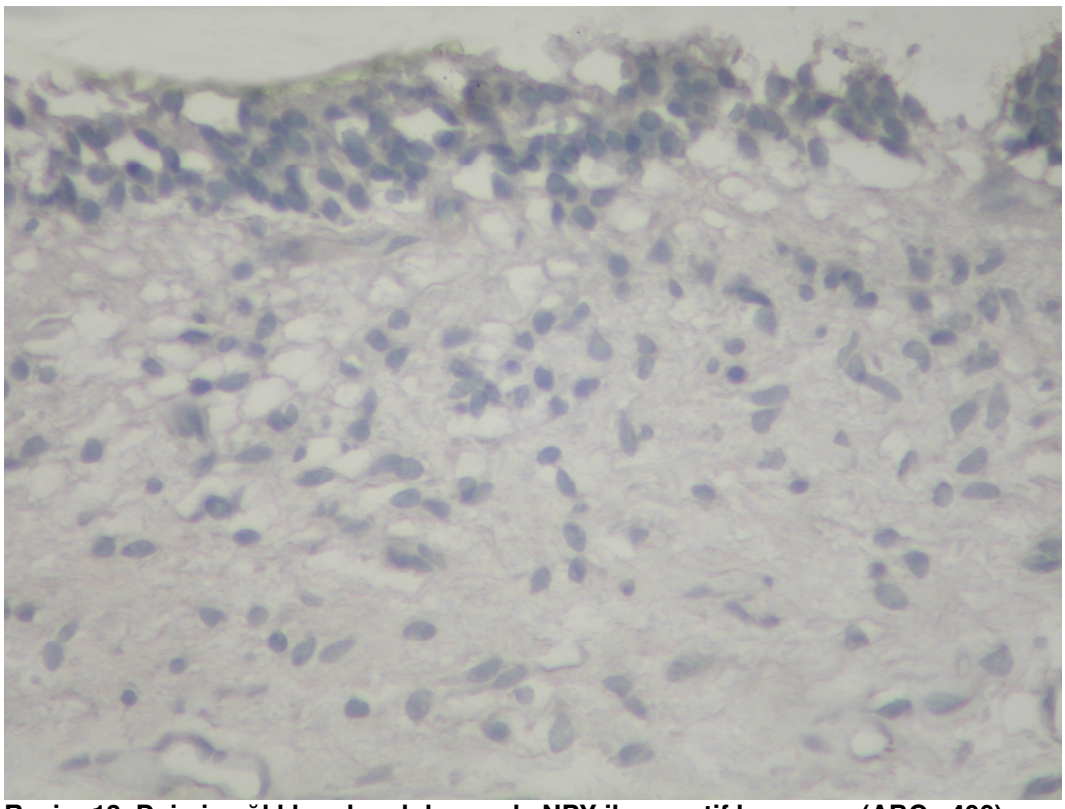
Grafik 3. NPY antikorunun immünohistokimyasal boyanma bulguları



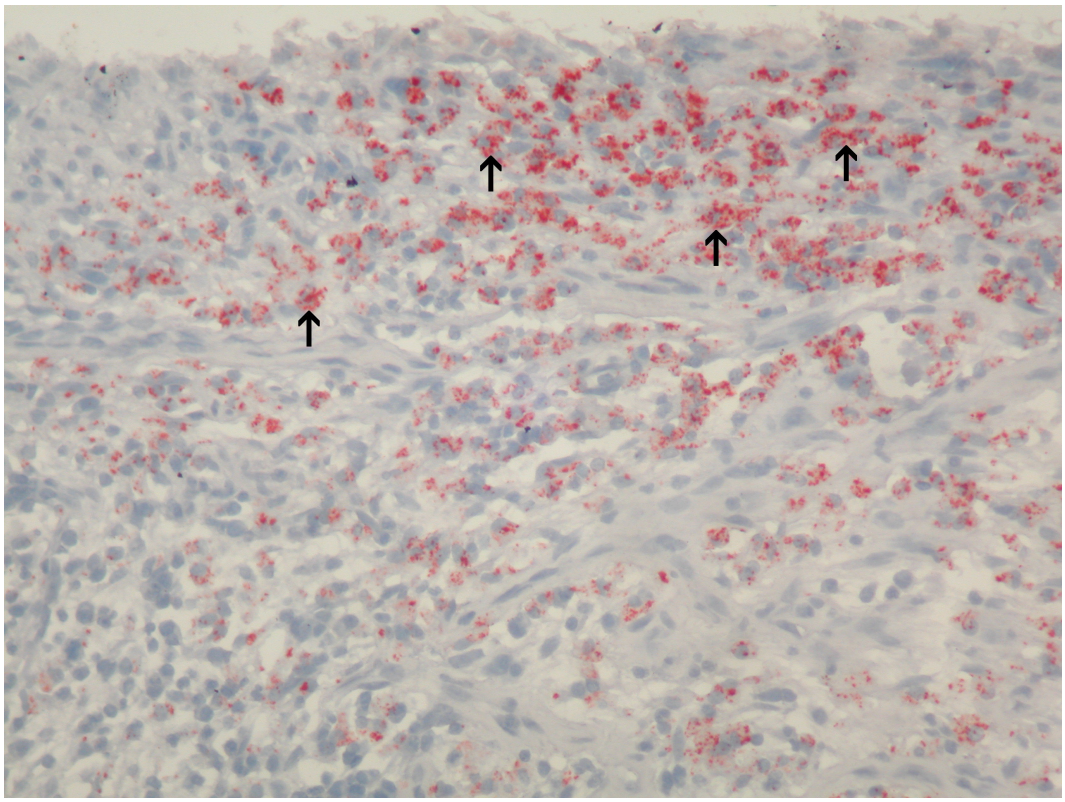
Resim 11. Sağlıklı süt dişi grubunun pulpa dokusunda NPY ile negatif boyanma (ABC x400).



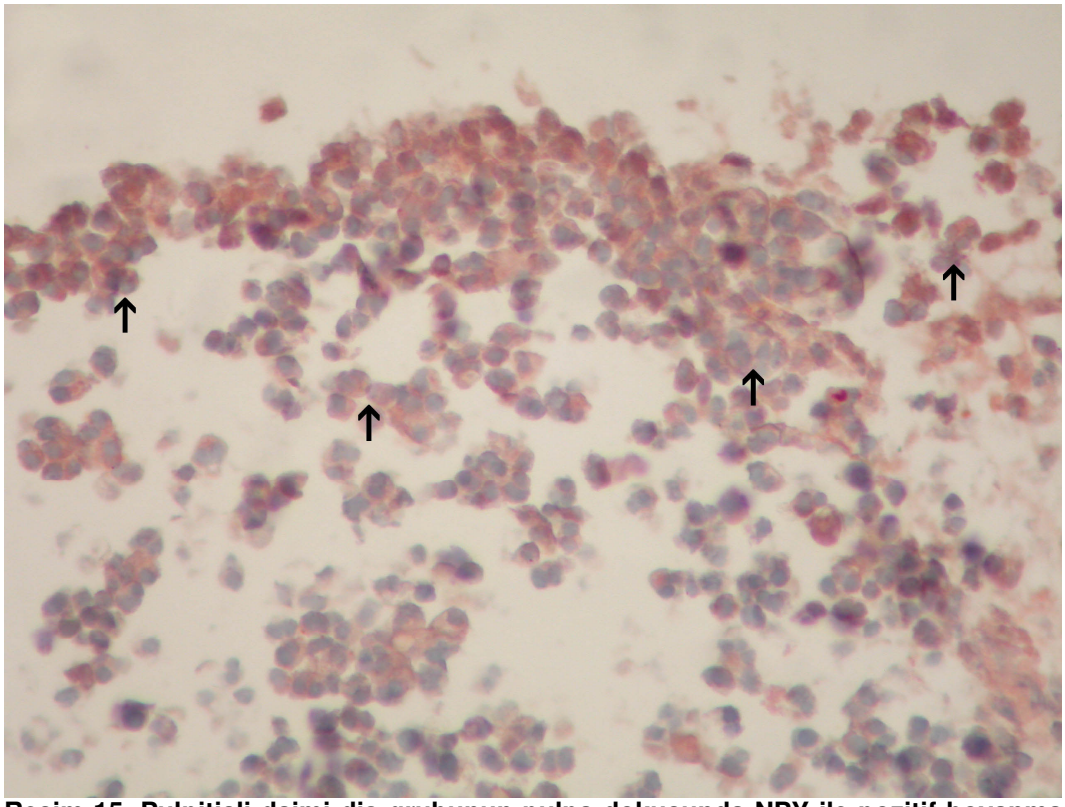
Resim 12. Daimi sağlıklı pulpa dokusunda NPY ile pozitif boyanma (ABC x400)



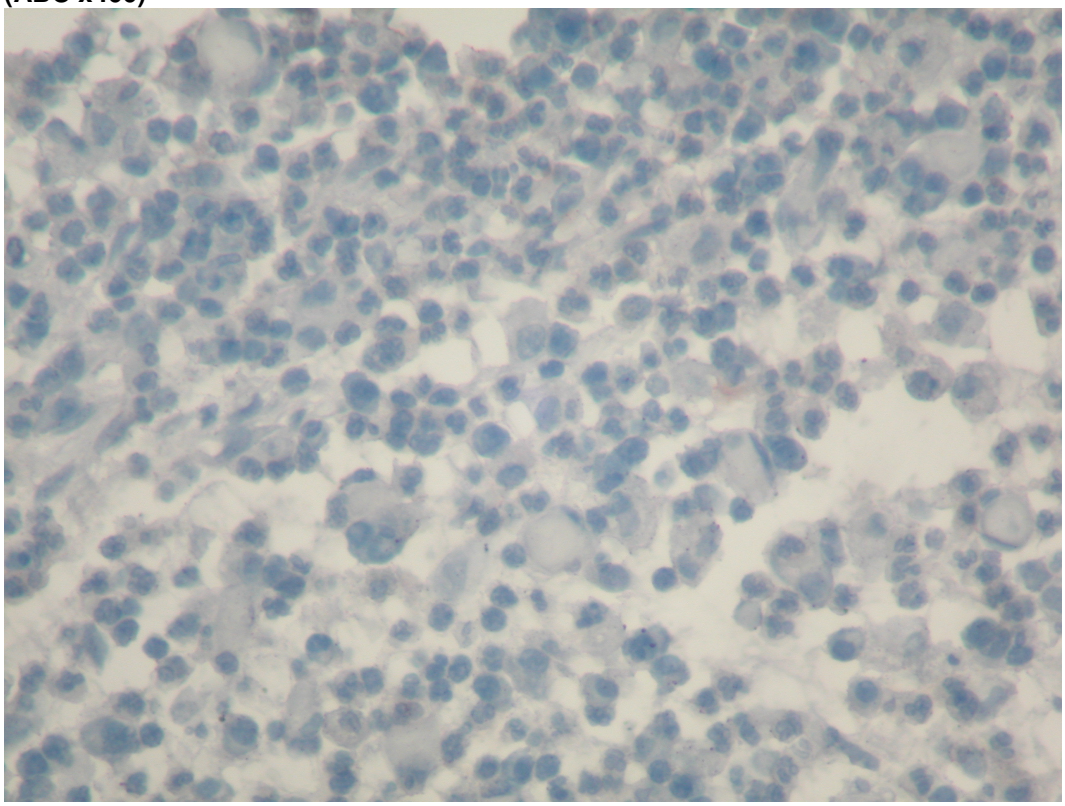
Resim 13. Daimi sağlıklı pulpa dokusunda NPY ile negatif boyanma (ABC x400)



Resim 14. Pulpitisli süt dişi grubunun pulpa dokusunda NPY ile pozitif boyanma (ABC x400)



Resim 15. Pulpitisli daimi diş grubunun pulpa dokusunda NPY ile pozitif boyanma (ABC x400)



Resim 16.Pulpitisli daimi diş grubunun pulpa dokusunda NPY ile negatif boyanma(ABCx400)

5.TARTIŞMA

İnflamasyonun vasküler ve hücresel yanıtları, inflamatuar bir uyaranla meydana gelen, plazma hücrelerinden salınan kimyasal mediyatörlerle ortaya çıkmaktadır. Bu mediyatörler bir arada veya sırayla etki ederek inflamatuar yanıtın oluşmasını tetiklerler[110-111]. İnflamasyon ve tamir, vücudun içiçe geçmiş savunma mekanizmalarıdır. İnflamasyon patolojisi; vasküler ve hücresel olaylar olmak üzere iki önemli olayı içerir[112]. Vasküler olaylarda kan akım hızı, damar çapındaki değişiklikler ve damar geçirgenliğinin artışı önem taşımaktadır. İnflamasyon oluşurken hücre düzeyinde meydana gelen değişikliklerde ise, dokulardan salgılanan bazı mediyatörler ve bu mediyatörlerin doku üzerinde oluşturdukları etkiler araştırıcıların ilgi alanı haline gelmiştir[20,112].

Son yıllarda vücuttaki herhangi bir dokuda inflamasyon oluştuğunda meydana gelen değişikliklerin belirli nöral mekanizmalara bağlı olabileceği, bu mekanizmaların sinir fibrilleri üzerindeki etkileri ve sinir fibrillerinden dokular arasına salgılanan mediyatörlerin doku üzerindeki etkilerinin araştırılması, oluşmuş inflamasyonun ve ağrının önlenmesinde yeni farmakolojik ajanların bulunabileceği görüşüne yeni bir bakış açısı getirmiştir[6].

Diş pulpası innervasyonunun yoğunluğu uzun süredir bilinmektedir, ancak sitokimyasal yönden farklılığı yakın zamanda kabul görmüştür. Pulpanın içerisinde bulunan sinir fibrillerinin sınıflandırılması için yapılan ilk çalışmalar klasik nörotransmitterler olan noradrenalin ve asetilkolinin tanımlanmasına yönelik olmuştur. Bununla beraber, hayvan çalışmalarında farklı sinir alt grupları içerisindeki çeşitli vazoaktif nöropeptidlerin tanımlanması, diş pulpasının innervasyonunun farklı nörokimyasına değişik bir boyut kazandırmıştır[113].

Nöropeptidlerle pulpa dokusunda yapılan ilk çalışmalar hayvanlar üzerinde olup, pulpa yaralanmalarında veya ileri derecede çürüklü dişlerde gerçekleştirilmiştir[25-28]. Bu çalışmaların sonuçları, genel anlamda nöropeptidlerin inflamatuar hastalıkların patofizyolojisinde rol aldığı düşüncesini destekler niteliktedir. Özellikle pulpa yaralanmasına ait hayvan modelleri nöropeptidlerin pulpa inflamasyonundaki rollerinin günümüzde anlaşılmasının temellerini atmış olsa da, insan dişlerinde oynadıkları rolün incelenmesi için bu tip araştırmaların daha fazla genişletilmesi ve yeni tekniklerin kullanılması büyük önem taşımaktadır.

Genel olarak diş pulpasının innervasyonu ile ilgili geniş bilgiye sahip olmakla beraber, süt dişlerinin innervasyonu ile ilgili bilgilerimiz daha sınırlıdır[113]. İnsan ve hayvan dişi pulpalarında nöropeptidlerin varlığı ve salınım düzeyleri konusunda az sayıda çalışma bulunmaktadır.[44,46,114] Günümüze kadar yapılan araştırmalarda genellikle daimi dişler kendi içerisinde kıyaslanmıştır[60-66,108,109]. Sağlıklı ve pulpitisli süt ve daimi dişlerde nöropeptidlerin varlığının yanısıra algılanan ağrıyı karşılaştıran çalışma ise bulunmamaktadır. Süt dişlerinin, daimi dişler kadar zararlı uyaranlara duyarlı olmadığı düşüncesi[4] son yıllarda yapılan çalışmalarla örtüşmemektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar[115-117] süt dişlerinde inflamasyon oluştuğunda, daimi dişlerdekine benzer inflamatuar ve damarsal cevap oluştuğunu göstermektedir. Hatta süt dişlerinin orta koronal bölgesinde inflamatuar ve damarsal cevabın daimi dişlerden daha fazla olduğu belirtilmiştir. İnflamasyon oluştuğunda süt dişlerindeki cevabın daimi dişlerdeki inflamatuar cevapla, nöropeptid salınımı açısından benzerlik gösterip göstermediği konusu kesinlik kazanmamıştır. Dişlenme periyotlarının peptidlerin varlığı açısından farklılıklarının önemli klinik yansımaları olmakta ve bu nedenle bu konuyu tam olarak araştırmak önem taşımaktadır.

Bu bilgilerin ışığında, sunulan çalışmada, akut pulpitisli süt ve daimi dişlerin pulpa dokularında, nöropeptid salınımı, protetik ve ortodontik amaçlı olarak çekilmiş süt ve daimi dişlerin pulpa dokularıyla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca pulpitisli gruplarda her hastanın VAS değeri ölçülerek inflamatuar reaksiyona karşı, süt ve daimi dişler arasında ağrı oluşumunun farklılığı olup olmadığının değerlendirmesi yapılmıştır.

Çalışma gruplarımızı oluştururken, fizyolojik rezorpsiyon faktörünün nöropeptid salınımını ekileyebileceği düşüncesiyle,sağlıklı ve akut pulpitisli süt dişlerinden elde edilen pulpaların kullanıldığı dişlerin düşmeleri için ortalama 3 yıllık bir periyot olmasına, klinik olarak rezorpsiyonun başlamamış olmasına, altındaki daimi diş germinin kök boyutunun 1/3 ü geçmemiş olmasına dikkat edilmiştir.

Çok sayıda çalışmada[82-97,101], özellikle 5 yaşın üzerindeki çocuklarda uygulanan anestezik solusyon tiplerinin ve anestezi tekniklerinin oluşturabildiği ağrının değerlendirilmesinde visüel analog skala (VAS) kullanılmıştır. Bu çalışmaların sonuçlarında, diş ağrısını çocuğun daha önceki ağrı deneyimleri ile karşılaştırıp hissettiği ağrı düzeyini ifade etmesinde VAS' ın küçük yaş grubu çocuklarda kabul edilebilir ve kolay uygulanabilir olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda da ağrı seviyesinin tespitinde uygulama kolaylığı, küçük yaş grubunda

uygulanabilirliği ve ağrı değerlendirilmesinin kolay yapılabilirliği açısından VAS tercih edilmiştir.

Diş çekimi ve pulpa ekstirpasyonu yapılarak pulpalarında nöropeptid seviyelerinin incelendiği çalışmalarda[60,64,66,108] nöropeptid salınımını etkilemeyeceği belirtilen 1/80.000 oranında epinefrin içeren anestezik solusyonlar kullanılmıştır. Sunulan çalışma kapsamında değerlendirilen dişlere de gerek endodontik tedavi gerekse çekim işlemi öncesinde kullanılan anestezik solusyonun benzer oranda epinefrin içermesine dikkat edilmiştir. Kanama kontrolü ve yeterli anestezi derinliğinin sağlanması gerekliliği nedeniyle vazokonstrüktör içermeyen solusyon tercih edilmemiştir.

Sağlıklı süt ve daimi dişlerden alınan pulpa dokusu örneklerinin, benzer çalışmalarda[118-121] olduğu gibi, dişlerin çekimini takiben apikal bölgeden 1 mm' lik elmas bir separe yardımıyla kesilerek, 24-72 saat formalin içerisinde fiksasyonu sağlanmıştır. Daha sonra dişlerin mesial ve distal yüzeyleri boyunca oluşturulan iki longitüdinal yiv sayesinde dişler ikiye ayrılarak pulpa dokusu steril ve keskin bir ekskavatör yardımıyla zarar görmeden çıkartılmıştır. Bu yöntemle pulpada bulunan antijenlerin, immün hücrelerin ve bazı markerlerin net bir şekilde ayırt edilebileceği belirtilmiştir[118121]. Pulpitisli gruplardan alınan pulpa dokusu örnekleri de ekstirpasyonu takiben 1-2 dakika içerisinde formalin solusyonuna alınarak 24-72 saat süre ile fikse edilmiştir.

Günümüze kadar çok sayıda nöropeptid biyoassay, immünohistokimyasal, kimyasal ve moleküler biyolojik metodlarla beyin ve medulla spinaliste tespit edilmiştir[8]. İmmünohistokimya, antijenlerin lokalizasyonu ile doku morfolojisini korele ederek, araştırma ve tanısal amaçlı patolojide anahtar bir teknik oluşturmaktadır. Çünkü, in situ hibridizasyondan polimeraz zincir reaksiyonuna (polymerase chain reaction, PCR) kadar uzanan moleküler tekniklerin özgünlük (spesifite) ve duyarlılık (sensitivite) gibi avantajlarına rağmen fazla zaman alması, yeterli miktarda dokunun olma zorunluluğu, çok hassas bir teknik olması nedeniyle kontaminasyona açık olup hatalı pozitif sonuçlar verebilmesi ve pahalı olması gibi dezavantajları bulunmaktadır[6,8]. Çalışmamızda yaygın bir teknik olması, uygulama kolaylığı, olanaklarımızın bu metodu uygulayabilecek düzeyde olması nedenleriyle immünohistokimyasal boyama yöntemi kullanılmıştır.

Araştırma kapsamında CGRP, VIP ve NPY antikorları sağlıklı ve pulpitisli, süt ve daimi diş pulpalarında değerlendirilmiştir. Yapılan analizde immünohistokimyasal yöntem kullanılmış olup, nöropeptidlerin bağlandığı reseptörler değil, peptidlerin varlığı veya yokluğu değerlendirilmeye alınmıştır. Bağlandığı reseptörler ve dokudaki tam lokalizasyonlarını belirlemek için daha ileri tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır.

Pulpitisli insan dişlerinde nöropeptidlerin varlığı üzerinde sınırlı sayıda araştırma bulunması nedeniyle sunulan çalışmanın sonuçlarının karşılaştırılabileceği az miktarda veri bulunmaktadır.

Çalışma gruplarında, pulpitisli süt ve daimi diş pulpalarında CGRP ile elde edilen pozitif boyanma, sağlıklı süt ve daimi dişlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulunmuştur. Bu sonuç araştırmacıların elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

CGRP nin salınımının pulpa dokusunda inflamatuar ya da nekrotik değişikliklere neden olabildiği, inflamatuar süreci aktive ederek immün sistemi regüle ettiği öne sürülmüştür CGRP nin mastositlerle histamin salınımını içeren etkileşimlere girdiği, bu nedenle vasküler geçirgenlikte artışa ve dokudaki kan basıncında yükselmeye neden olduğu bulgulanmıştır. Ayrıca makrofajlar ve lenfositler gibi diğer inflamatuar hücre topluluklarıyla da etkileşerek bu hücrelerin fonksiyonlarını değişikliğe uğratmakta, böylece pulpa dokusu üzerinde direkt etkisi olan sitokinler, prostoglandinler ve tromboksanlar gibi inflamatuar mediyatörlerin salınımı için bu hücreleri indüklemektedir[113].

CGRP nin fizyolojisine öncülük eden çalışmalarda da; ratların sinir yaralanmasına cevap olarak ve inflamasyon varlığında CGRP salınımında artış olduğu gösterilmiştir[40].

Buchelli ve arkadaşları [63], sağlıklı ve pulpitisli daimi diş pulpa dokusu örneklerini immünohistokimyasal yöntemle CGRP salınımı açısından değerlendirdikleri çalışmalarında, pulpitisli grupta sağlıklı gruba oranla CGRP salınımının arttığını, sağlıklı dişlerde ise CGRP varlığının bu peptidin duyusal olmayan fonksiyonlarının da olabileceğini akla getirdiğini belirtmişlerdir. Araştırıcılar bir başka çalışmalarında[65] ise, mekanik perforasyon gibi zararlı uyaranlar karşısında pulpada 5-10 dakika gibi kısa bir sürede CGRP salınımının tespit edilebilir miktarda arttığını göstermişlerdir.

Awawdeh ve arkadaşları[108] ise, ağrılı daimi dişlerde radioimmünoassay yöntemi ile CGRP yi değerlendirdikleri çalışmalarında , CGRP nin artmasında, trigeminal gangliondaki nöropeptidin sentezindeki ve transport hızındaki artışın etkili olabileceğini, bu artışın mekanizmasının tam olarak açıklanabilmesi için daha ileri tekniklerle yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır.

Sunulan çalışmada, sağlıklı süt dişi grubunda CGRP ile pozitif boyanma izlenmezken, sağlıklı daimi diş grubunda 2 örnekte CGRP pozitif boyanma izlenmiştir. Bu bulgu, ağrısız ve sağlıklı dişlerde CGRP nin bulgulanmasının nöropeptidlerin duyusal olmayan fonksiyonlarına işaret edebileceğini belirten Buchelli ve arkadaşlarının[63] sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Kediler ve gelinciklerde yapılan çalışmalarda CGRP, SP, NKA gibi nöropeptidlerin pulpa kan akışının regülasyonunda rol aldığı bulgulanmıştır. Nörovasküler mediyatörlerin vasküler tonusu muhafaza etmek, kan akışını ve besinlerin dokuya sürekli akışını sağlamak ve doku içerisinde uyumlu olmayan intersitisiyel kan basıncını regüle etmek amacıyla sağlıklı dokularda da küçük miktarlarda bulunduğu bildirilmiştir[113]. Rodd ve Boisonade[67] da, sonuçlarımıza benzer şekilde sağlıklı daimi dişlerde sağlıklı süt dişlerinden daha fazla sayıda CGRP işaretli sinir lifi bulgulamışlardır.

Son yıllarda yapılan ve süt dişi ile daimi dişlerin pulpalarındaki immün hücrelerin immünohistokimyasal yöntemle değerlendirildiği bir çalışmada[115], dişlerde inflamasyon oluştuğunda inflamatuar hücre sayılarının süt dişlerinde daimi dişlerle benzer şekilde olduğu, hatta süt dişlerinde orta koronal bölgede daimi dişlere oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu bulgulanmıştır. Sunulan çalışma sonuçlarında da diş pulpalarında inflamasyon oluştuğunda süt ve daimi dişlerde birbirine yakın oranda CGRP pozitif boyanma bulgulanmıştır, süt ve daimi dişler zararlı uyaranlara karşı benzer reaksiyon göstermişlerdir..

VIP grubunda elde ettiğimiz sonuçlar değerlendirildiğinde; sağlıklı süt dişi pulpasının 2 sinde, sağlıklı daimi diş pulpalarının 1 tanesinde, pulpitisli süt ve daimi diş pulpalarının ise benzer şekilde sekizinde de pozitif boyanma elde edildiği izlenmiştir. Görüldüğü gibi her iki dentisyonda da pulpitisli dişler sağlıklı dişlerden istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla boyanmışlardır. Sonuçlarımız araştırıcıların bulgularıyla paralellik göstermektedir.[64,65]

Ratlarda inferior alveolar sinir yaralanmasına bağlı olarak inflamasyon sonrasında VIP salınımının arttığı bulgulanmıştır.[113]

El-Karim ve arkadaşları[64], orta ve ileri derecede çürüklü daimi dişler ile sağlıklı daimi diş pulpalarını radyoreseptör analiz metodu ile değerlendirdikleri çalışmalarında; çürüklü dişlerde sağlıklılara oranla VIP seviyesinin arttığını ve orta derecede çürüklü dişlerde VIP seviyesinin ileri derecede çürüklü dişlerden fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Orta derecede çürüklü daimi diş pulpalarında gözlenen VIP seviyelerindeki dinamik artışın, VIP için önemli fonksiyonel rollerle ilişkili olabileceğini ve çürük derinliğinin dentin kalınlığının yarısı ya da daha azı kadar olduğu çürük lezyonlarında geriye kalan dentinin, irritanların diffüzyonuna karşı koyan bir bariyer görevi göreceğini belirtmişlerdir. Bu aşamada diş pulpasında geri dönüşümlü inflamatuar süreçler izlendiğini ve bu sürecin vasküler dilatasyon ve pulpa kan akımında artış ile karakterize olduğunu bildirmişlerdir. Orta derecede çürüklü dişlerde saptanan artmış VIP seviyesinin, çürük sürecinin bu aşamasında VIP'in vazodilatatör rolünün göstergesi olabileceğini bildirmişlerdir. El Karim ve arkaşlarının[64] bulguları VIP'in pulpa sağlığının korunmasında ve inflamasyonunda rol aldığını destekler niteliktedir.

Rodd ve Boissonade[67] sinir yaralanmalarının ardından süt ve daimi diş pulpalarında NPY, VIP, CGRP ve SP artışının duyusal hücrelerin alt gruplarınca yeni sentezlenmelerine bağlı olabileceğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda NPY grubu örneklerinde; sağlıklı süt dişi pulpa dokularının tümünde negatif boyanma elde edilirken, pulpitisli süt dişi örneklerinin 1 tanesinde negatif boyanma elde edilmiştir. Sağlıklı daimi diş pulpa dokusu örneklerinin 7'sinde, pulpitisli daimi diş pulpa dokusu örneklerinin ise 8' inde negatif boyanma elde edilmiştir. Süt dişi örnekleri kendi içerisinde karşılaştırıldığında pulpitisli grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede atmış NPY pozitif boyanma elde edilmiştir.

Çürüklü süt dişi pulpa dokusu örneklerinde NPY'nin değerlendirildiği tek çalışma olan Rodd ve Boissonade[67], nin araştırmasında NPY' nin süt dişlerinde çürükle beraber pulpa boynuzundaki nöropeptid y salınımının artış gösterdiği, ancak bunun genel bir bulgu olmadığı vurgulanmıştır. Araştırıcılar pulpanın yaralanması ve inflamasyonun derecesine bağlı olarak boyanma miktarının

değişebileceğini belirtmişlerdir. Pulpitisli süt dişi grubunda elde ettiğimiz sonuçlar araştırmacıların bulgularıyla benzerdir.

Araştırmamız kapsamında daimi dişlerde sağlıklı ve pulpitisli diş grupları arasında nöropeptid y salınımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

El Karim ve arkadaşları[60], orta derece çürüklü daimi dişlerin, ileri derecede çürüklü diş pulpalarına oranla daha fazla nöropeptid y salınımı göstermesini, nöropeptid y'nin inflamasyon başlangıcında veya tersiyer dentin oluşumunda modülatör olarak rol oynayabileceği hipotezine bağlamışlardır.

Uddman ve arkadaşları[66], farklı reseptörlerin oynadığı rolleri ayırt etmenin seçici reseptör antagonistlerinin eksikliğine bağlı olarak son derece zorlu olduğunu ve y_1 reseptörü için mRNA' sının tespiti yoluyla gösterilebileceğini belirtmişlerdir. İnsan pulpa dokusundaki kan damarlarının etrafında nöropeptid Y içeren sinir liflerinin yer aldığı bulgusu, nöropeptid y y_1 reseptörü mRNA'sının tespiti ile nöropeptid y ve nöropeptid y agonistlerinin iyi bilinen vazokonstrüktör rolü ile diş pulpasındaki vazokonstrüksiyonun bir bölümünün nöropeptid y y_1 reseptörü tarafından gerçekleşmesi iddiasında bulunmuşlardır.

Mevcut bilgiler doğrultusunda NPY'nin salınım mekanizması ve ağrı üzerine etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte, daha önce yapılan çalışmalarda orta derecede çürüklü daimi dişlerin pulpa dokusu örneklerinde NPY' nin, sağlıklı ve derin çürüklü örneklere oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmasının bulgulanması da göz önüne alınarak, pulpitisli daimi diş bulgularımızda NPY salınımının artış göstermemesi NPY' nin inflamasyon başlamadan önce önemli bir rolü olabileceği düşüncesini destekler niteliktedir. Nöropeptidlerin tespitinde kullanılan değerlendirme tekniklerinin sonuçları etkileyebileceği daha önceki çalışmalarda bildirildiğinden, bu konuda daha ileri tekniklerle yapılacak araştırmalar konuya açıklık getirecektir.

Çalışmamızda VAS sonuçları değerlendirildiğinde; pulpitisli süt ve daimi dişlerin birbirine yakın değerler gösterdiği bulgulanmıştır. Süt dişleri zararlı uyaranlar karşısında daimi dişlere benzer ağrı tepkilerine sebep olmuştur. Bu durum rezorpsiyonun olmadığı apeksi kapalı süt dişi pulpalarının genç daimi diş pulpaları ile benzer histofizyolojik özelliklere sahip olduğunun bir başka göstergesidir.

Sunulan çalışmanın sonuçları tümüyle değerlendirildiğinde, vücutta herhangi bir dokuda inflamasyon oluştuğunda salınımlarının arttığı bilinen nöropeptidler, akut irreversibl pulpitis olgularında da artış göstermiştir. Bu artış özellikle CGRP ve VIP açısından süt ve daimi diş pulpitis örneklerinde benzerlik göstermektedir. NPY ise pulpitisli süt dişi pulpa dokusu örneklerinde artış gösterirken, pulpitisli daimi diş grubu örneklerinde azalmıştır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre, nöropeptidlerin salınımı ve VAS ağrı seviyelerinin pozitif bir ilişkide olduğu tespit edilmiştir. Değerlendirmeye aldığımız nöropeptidlerin hem inflamasyonda hem de ağrıda rol aldığı açıkca görülmektedir. Bu bulgular, intradental nöropeptid salınımının regülasyonunda diş ağrısı ve enflamasyonun tedavisi için yeni bir terapötik yaklaşımın geliştirilebileceğini akla getirmektedir. Çalışmamız sonuçlarının, pulpitisli dişlerin tedavilerinde inflamatuar süreci ve ağrı hissini azaltmak amacıyla nöropeptidlerin bilinen reseptörlerinin bloke edilmesi gibi alternatif bir yöntem arayışı ile yapılacak daha ileri araştırmalar için yararlı olacağı düşüncesindeyiz. Ancak nöropeptidlerin varlığındaki değişikliklerin, nöral sitokimyadaki derin inflamasyonun indüklediği değişikliklerden yalnızca bir tanesini temsil ettiği unutulmamalıdır. Dolayısıyla, diğer nöral değişikliklerin de çeşitli sistemlerde doku yaralanması ve inflamasyonu takiben duyusal sinirlerin uyarılmasındaki değişiklikler açısından önem taşıması muhtemeldir. Bununla birlikte bu heyecan verici alanda devam eden araştırmalar diş ağrısının karmaşık doğasına daha farklı bir bakış açısı kazandıracak ve yeni analjeziklerle ilgili stratejilerin geliştirilmesine rehberlik edecektir.

6. SONUÇ

Sağlıklı ve akut pulpitisli, süt ve daimi diş gruplarından elde edilen pulpa dokusu örneklerinde immünohistokimyasal yöntemle ve ışık mikroskobu kullanılarak nöropeptid salınımının, ağrı ile ilişkisinin değerlendirildiği bu çalışmada;

1. CGRP, VIP ve NPY salınımı akut pulpitisli süt dişi pulpa dokusu örneklerinde sağlıklı süt dişi örneklerine göre anlamlı derecede artış göstermiştir.

2. CGRP ve VIP salınımı akut pulpitisli daimi diş pulpa dokusu örneklerinde sağlıklı daimi diş örneklerine göre anlamlı derecede artış göstermiş, NPY'de ise azalma saptanmıştır.

3.Yapılan immünohistokimyasal değerlendirmede CGRP, VIP, NPY'nin çürüksüz ve akut pulpitisli dişlerde tespit edilmesi, nöropeptidlerin pulpanın sağlığında ve patolojisinde rol oynadığını göstermiştir.

4. VAS ile yapılan ağrı değerlendirilmesinde, akut pulpitisli süt ve daimi dişleri olan çocukların benzer reaksiyon gösterdiği bulgulanmıştır. Kök rezorpsiyonu başlamamış süt dişlerinin, genç daimi dişlerle benzer histofizyolojik özellikleri olmasına rağmen, rezorpsiyonun ileri evrelerinde pulpa enfeksiyonlarında daha az ağrı şikayeti gözlemlenmesi, bu tür olgularda nöropeptid salınımının ayrıca değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

7. ÖZET

Üç farklı nöropeptidin akut pulpitisli süt ve daimi diş pulpalarında immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilmesi

Bu çalışmada akut pulpitisli süt ve daimi diş pulpalarındaki nöropeptid salınımı ve bu salınımın ağrı ile ilişkisi değerlendirildi.

Yaşları 6-15 arasında değişen sistemik olarak sağlıklı 29 çocuktan, akut pulpitis semptomları gösteren 9 adet süt dişi pulpa dokusu, akut pulpitis semptomları gösteren 9 adet daimi diş pulpa dokusu, ortodontik ve protetik amaçlı çekim endikasyonu olan 9 adet sağlıklı süt dişi ve 9 adet sağlıklı daimi dişten elde edilen pulpa dokusu örnekleri çalışmada yer aldı. Gruplardan elde edilen pulpa dokusu örnekleri rutin doku takip işlemlerinin ardından kalsitonin ile ilişkili peptid, vazoaktif intestinal peptid ve nöropeptid y antikorları ile immünohistokimyasal olarak boyandı. Pulpitisli dişleri olan çocukların ağrı değerleri VAS kulanılarak kaydedildi.

CGRP ve VIP akut pulpitisli süt ve daimi diş grubu pulpa dokusu örneklerinde, sağlıklı süt ve daimi diş grubu pulpa dokusu örneklerine oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak bulgulandı ($p<0.05$). NPY ise pulpitisli süt dişi grubu pulpa dokusu örneklerinde, sağlıklı süt dişi pulpa dokusu örneklerine oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olsa da ($p<0.05$), daimi dişlerde pulpitisli ve sağlıklı pulpa dokusu örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermedi ($p>0.05$). Pulpitisli süt ve daimi dişlerden elde edilen VAS değerleri arasında benzer sonuçlar elde edildi.

Sonuç olarak, fizyojik rezorpsiyonu olmayan akut pulpitisli süt dişlerinde incelenen nöropeptid salınımlarının akut pulpitisli daimi dişlere yakın değerlerde olduğu ve çocukların benzer ağrı reaksiyonu gösterdikleri belirlendi.

Anahtar Sözcükler: Nöropeptid, immünohistokimya, süt dişi, daimi diş, VAS

8.SUMMARY

Immunohistochemical analysis of three different neuropeptides in primary and permanent tooth pulps with acute pulpitis

The aim of this study was to evaluate neuropeptide release in primary and permanent tooth pulps with acute pulpitis as well as its relationship with pain.

For this study, 9 primary and 9 permanent tooth pulps showing acute pulpitis symptoms (study group) in addition to 9 primary and 9 permanent pulp samples extirpated from teeth scheduled for extraction because of orthodontic and prosthetic reasons (control group) were obtained from 29 systemically healthy children with ages ranging between 6 and 15. Following routine tissue procedures, pulp samples obtained from groups were stained immunohistochemically with calcitonin-gene related peptide, vazoactive intestinal peptide and neuropeptide y antibodies. The pain values of children with pulpitis were recorded by using VAS.

In primary and permanent pulp samples with pulpitis, calcitonine-related peptide and vasoactive intestinal peptide were found statistically higher than that of healthy samples ($p<0.05$). The increase of Neuropeptide y levels in primary pulp samples with pulpitis were also statistically significant ($p<0.05$), however a statistically significant difference was not found between permanent pulp samples with pulpitis and healthy samples ($p>0.05$). Any major difference was not detected between VAS values assessed from primary and permanent teeth with pulpitis.

In conclusion, the neuropeptide release within primary tooth without physiological resorbtion having acute pulpitis was found similar to permanent tooth and in addition the pain reaction was observed similarin both dentitions

Key Words: Neuropeptides, immunohistochemistry, primary teeth, permanent teeth, VAS

9. KAYNAKLAR

1. Torabinejad M, Torneck CD. Biology of the Dental Pulp and Periradicular Tissues. In: Walton ER, Torabinejad M. Editors. Principles and Practice of Endodontics. 3rd ed. Pennsylvania: W.B. Saunders Co;2002.p.3-26.

2**.** Pashley D, Liewehr F. Structure and Functions of the dentin-pulp complex. In: Cohen S, Hargreaves KM, editors. Pathways of the Pulp. St. Louis: Mosby; 2006.p.466-513.

3.Ten Cate AR. Pulp-dentin komplex. In: Ten Cate AR, editor. Oral histology development, structure and function. St. Louis, Baltimore, Boston: Mosby Co; 1998.p. 150-196.

4.Okiji T. Pulp as a connective tissue. In: Hargreaves KM, Goodis H, editors. Seltzer and Bender's dental pulp. Oxford: IL Quintesence Publishing Co;2002.p. 95-122.

5. Nicholson J, Biologic considerations. In:Schwartz R, Summit J, Robins J, editors. Fundamentals of operative dentistry: acentemporary approach.IL: Quintesence Publishing Co;1996.p.1-26.

6. Gomariz PR, Delgado M. VIP and PACAP Immune Mediatörs Involved in Homeostasis and Disease. In:Geenen V, Chrousos G. Edıtors. Immunoendocrinology in Health and Disease. New York: Marcel Dekker Co;2004.p.241-261.

7. Levite M. NeurotransmittersTalk to T Cells in a Direct, Powerful and Contextual Manner Affecting by Ken Immune Functions. In:Geenen V, Chrousos G, edıtors. Immunoendocrinology in Health and Disease. New York: Marcel Dekker Co;2004.p.263-288.

8. Mulvihill SJ, Debas HT. Regulatory peptides In: Greenspan FS, Strewler GJ, edıtors. Basic and Clinical Endocrinology . Stamford: Appleton and Lange Co; 1997, pp 575-591.

9. Carlson, B.M.: Pattern's Foundations of Embryology. 6th ed.. New York: McGraw-Hill lnc.; 1998.

10. Gartner L.P, Hiatt, JL. Color Text Book of Histology.. Philafelphia: W.B.Saunders Co;1997.

11. Çalışkan K. Endodontide Tanı ve Tedaviler. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2006.

12. Alaçam T. Endodonti. Ankara: Barış Yayınları;2000.

13 .Pittford TR. The Dental Pulp In: Pittford TR ed. Endodontics in Clinical Practice. 4th ed. Melbourne: Reed Educational and Professional Publishing; 2001.p.37-47.

14. Goldberg M, Smith AJ. Cells and extracellüler matrixes of dentin and pulp: a biological basis for repairand tissue engineering. Crit Rev Oral Biol Med 2004;15:13-27.

15. Bayırlı G. Diş Pulpası ve Ağrı. İstanbul:İstanbul Üniversitesi Basımevi; 1999.

16. Walker RT.Pulp Space Anotomy and Access cavities. In: Pittford TR ed. Endodontics in Clinical Practice. 4th ed. Melbourne: Reed Educational and Professional Publishing; 2001.p.16-33.

17. Garant PR. Oral Cells and Tissues, New York: Quintessence Publishing Co;2003.

18. Jenkins GN. The physicology and biochemistry of the mouth, Oxford, London: Blackwell Scientific Publications; 1978.

19. Bhaskar SN. In: Bhaskar SN, editor. Oral Histology and embriology. St. Louis: Mosby Yearbook;1991.p.139-179.

20. Fouad A, Levin L. Pulpal reactions to caries and dental procedures. In: Cohen S, Hargreaves KM, editors. Pathways of the Pulp. St. Louis: Mosby Co; 2006.p.514-540.

21. Aydın M. Endodontik Mikrobiyoloji. Mısırlıgil C editör. Tıp ve Diş Hekimliğinde Mikrobiyoloji.Ankara:Güneş Yayınevi;2006. s.205-225.

22. Habn CL,Liewebr FR. Innate Immune Responses of the Dental Pulp to Caries.Journal of Endodontics 2007;33:643-651.

23. Özalp Dural EA. Farmakoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri;2002.

24. Bouloux PM. Obesity. In: Harris PE, Bouloux PM. Endocrinology in Clinical Practice. 1st ed. London: Thomson Publishing;2004.p.407-419.

25. Wakisaka S, Akai m. Immunuhistochemical obsercation on neuropeptides around the blood vessel in feline dental dulp. Journal of Endodontics 1989;15:413-416.

26. Khayat BG, Byers MR, Taylor EP. Responses of nevre fibers to pulpal and periapikal lesions in rat molars demonstrated by Calcitonin gene-releated peptide ımmunocytochemistry. Journal on Endodontics 1988;14:577-587.

27. Byers MR, Taylor EP, Khayat BG. Effect of ınjury and ınflammation on pulpal and periapikal nerves. Journal on Endodontics 1990;16:78-84.

28. Taylor EP, Byers MR. An Immunucytochemical study of the morphological reaction of nerves containing Cailcitonin gene-releated peptide to microabscess formation and healing in rat molars. Archieves of Oral Biology 1990;15:629-638.

29. Grutzner EH, Garry MG, Hargreaves KM. Effect of ınjury on pulpal levels of ımmınureactive Substanbe P and Calcitonin gene-releated peptide. Journal on Endodontics 1992;18:553-557.

30. Byers MR, Taylor EP. Effevt of sensory denervation on the response of rat molar pulp to exposure ınjury. Journal of Dental Research 1993;72:613-618.

31. Carleson J, Alstergren P, Appelgren A, Appelgren B, Kopp S, Srınıvasan GR. Effects of adjuvant on neuropeptitde-like ımmunureactivity ın experimentally ınduced temporomandibular arthrıtıs ın rats. Archieves of Oral Biology 1996;11: 705-712.

32. Fristad I, Jacobsen EB, Kvinnsland IH. Coexpression of vazoaavtive ıntestinal polypeptide and Substance P in reinnervating pulpal nerves and in trigeminal ganglion neurons after axotomy of the inferior alveoler nerve in the rat. Archieves of Oral Biology 1998;43.183-189.

33. Berggreen E, Heyeraas KJ. The Role of sensory neuropeptides and nitric oxide on pulpal blood flow and tissue pressure in the ferret. Journal of Dental Research 1999;78:1535-1543.

34. Fristad I, Radunovic V, Kvinnsland IH. Neurokinin-1 resetor expression in the mature dental pulp of rats. Archieves of Oral Biology 1999;44:191-195.

35. Radenkovıc SD, Krsljak M, Popovic J, Pesıc S, Grbovıc L. Influence of the endothelium on the vasorelaxant response to acetylccholine and vazoaktive ıntestinal peptide in the ısolated rabbit facial artery. Europan Journal of Oral Science 2003;111:137-143.

36. Hsieh YS, Hsu JD, Yang SF, Kuo DY. Immunohistochemical and genomic evidence fort he ınvolvement of hypothalamic Neuropeptide Y (NPY) in phenylpropranolamine-mediated appetite suppression. Peptides 2004;25:2155-2161.

37. Bird EV, Boissonade FM, Robinson PP. Neuropeptide expression following ligation of the ferret lingual Nevre. Archieves of Oral Biology 2003;48:541-546.

38. Fristad I, Radunovic V, Fjeld K, Wimalawansa SJ, Kvinnsland IH. NK1,NK2,NK3 and CGRP1 Receptors identified in rat oral soft tissues and in bone and dental hard tissue cells. Cell Tissue Research 2003;311:383-391.

39. Elcock C, Boissonade FM, Robinson PP. Neuropeptide expression in the ferret trigeminal ganglion following ligation of the inferior alveoler nevre. Archieves of Oral Biology 2001;46:729-743.

40. Fried K, Brodin E, Theodorsson E. Substance P, CPRP and NPY immunoreactive nevre fibres in rat sciatic nerve-end Regulatory Peptides 1989;25:11-24.

41. Smith PL, Loescher AR, Boissonade FM, Robinson PP. Substance P alters ectopic activity in injured inferior alveoler nerves. Journal of Dental Research 2001;80:1166-1171.

42. Waikisaka S, Nishikawa S, Ichikawa H, Matsuo S, Takano Y, Akai M. The distribution and origin of substance p-like immunoreactivity inthe rat molar pulp and periodontal tissues. Archieves of Oral Biology 1985;30:813-818.

43. Waikisaka S, Ichikawa H, Nishikawa S, , Matsuo S, Takano Y, Akai M. Neurokinin A-like immunoreactivity in feline debtal pulp: ıts distribution, origin and coexistence with substance p- like immunoreactivity. Cell Tissue Research 1988;251:565-569.

44.Egan Ca, Bıshop MA, Hector MP. An ımmunohistochemical study of the pulpal nevre supply in primary human teeth: evidence for thr innervation of deciduous dentine. Journal of Anotomy 1996;188:623-631.

45.Maeda T, Honma S, Takano Y. Dense innervation of human radiculer pulp as revealed by immunocytochemistry for neuropeptitdes. Archieves of Oral Biology 1994;39:563-568.

46. Egan Ca, Hector MP, Bıshop MA. On the pulpal nevre supply in human primary teeth: evidence fort he innervation of primary dentin. International Journal of Paediatric Dentistry 1999;9:57-66.

47. Henry CH, Wolford LM, Kene NH, Dallas T, Substance P: Preliminary histologic analysis of the Human temporomandibulae joınt. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2001;92:384-389.

48.Pedersen BU, Nielsen LB, Jensen K, Edvinsson L, Jansen I, Olesen J. Calcitonin gene-releated peptide, Neurokinin A and Substance P: Effects on nociception and neurogenic inflammation in human skin and temporal muscle. Peptides 1991;12:333-337.

49. Holmlund A, Ekblom A, Hansson B, Lind J, Lundeber T, Thedorsson E. Concentrations of neuropeptides substance P, neurokinin A, caicitonin gene-releated peptide , neuropeptide Y and vazoactive intestinal peptide in synovial fluid of the human temporomandibuler joınt. A correlation with symptoms, signs and arthroscopic findings. International Journal of Oral Maxillofacial Surgery 1991;20:228-231.

50. Kopp S. The influence of neuropeptides, serotonin on temporomandibuler joınt pain and inflammation. International Journal of Oral Maxillofacial Surgery 1998;56:189-191.

51. Franco P, Talwar R, Medina D. Substance P levels in hyperplastic retrodiscal tissues of patients with degenerative temporomandibular joınt disease. International Journal of Oral Maxillofacial Surgery Suppl 1 1999;57:116.

52. Linden GJ, Mullally BH, Burden DJ, Lamey PJ, Shaw C, Ardill J,, Lundy FT. Changes in vazoactive intetinal peptide in gingival crevicular fluid in response to periodontal treatment. Journal of Clinical Periodontology 2002;29:484-489.

53. Hanioka T, Takaya K, Matsumuri Y, Matsuse R, Shizukuishi S. Relationship of the substance P to indicators of host response in human gingival crevicular fluid. Journal of Clinical Periodontology 2000;27:262-267.

54.Linden GJ, McKinnel J, Shaw C, Lundy FT. Substance P and Neurokinin A in gingival crevicular fluidin periodontal health and disease. Journal of Clinical Periodontology 1997;24:799-803.

55.Lundy FT, Mullally BH, Burden DJ, Lamey PJ, Shaw C, Linden GJ. Changes in substance P and neurokinin A in gingivalcrevicular fluid in response to periodontal treatment. Journal of Clinical Periodontology 2000; 27:526-530.

56. Lundy FT, Salmon A, Lamey PJ, Shaw C, Linden GJ. Carboxypeptidase mediated metabolism of calcitonin gene-releated peptide in human crevicular fluid- a role in periodontal inflammation. Journal of Clinical Periodontology 2000;27:499-505.

57. . Lundy FT, Shaw C, McKinnel J, Lamey PJ, , Linden GJ. Cailcitonin gene-releated peptide in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. Journal of Clinical Periodontology 1999;26:212-216.

58. Luthman J, Friskopp J, Dahllöf G, Ahlström U, Sjöström L, Johansson O. Immunohistochemical study of neurochemical markers in gingiva obtained from periodontitis-affected sites. Journal of Periodontal Research 1989;24:267-268.

59 Luthman J, Johansson O, Ahlström U, Kvint S, Immunuhistochemical studies of the neurochemical markers, CGRP,enkephalin, galanin, MSH, NPY, PHI, prolactin, PTH, somatostatin, SP, VIP, Tyrosine, hydroxylase and neurofilament in nerves and cells of the human attached gingiva. Archieves of Oral Biology 1988;33.149-158.

60 El Karim IA, Lamey PJ, Linden GJ, Awawdeh L, Lundy FT. Caries-induced Changes in the expression of pulpal neuropeptide Y. Europan Journal of Oral Science 2006;14:133-137.

61 Bucheli JC, Gutierrez JE, Salazar F, Pichardo D, Moreno GC, Munoz HR. Substance P receptor expression in healthy and inflamed pulp tissue. International Endodontic Journal 2007;40:106-111.

62. Bowles WR, Withrow JC, Lepinski AM, Hargreaves KM. Tissue levels of ımmunoreactive Substance P are ıncreased in patients with ırreversible pulpitis. Journal of Endodontics 2003;29:265-267.

63. Bucheli JC, Beltran CC, Gomez AM, Moreno SCT, Abello GCM. Expression of calcitonin gene-releated peptide in irreversible acute pulpitis. Journal of Endodontics 2004;30:201-204.

64. El Karim IA, Lamey PJ, Ardill J, Linden GJ, Lundy FT. Vazoactive intestinal peptide (VIP) and VPAC1 receptor in adult human dental pulp in relation to caries. Archieves of Oral Biology 2006;51:849-855.

65. Bucheli JC, Arenas N, Guiza O, Moncada NA, Moreno GC, Diaz E, Munoz HR. Calcitonin gene-releated peptide receptor expression in healty and inflamed human pulp tissue. International Endodontic Journal 2005;38:712-717.

66. Uddman R, Kato J, Cantera L, Edvinsson L. Localization of Neuropeptide Y Y_1 receptor mRNA in human tooth pulp. Archieves of Oral Biology 1997;43:389-394.

67. Rodd HD, Boissonade FM. Comparative immunohistochemical analysis of the peptidergic innervation of human primary and permanent tooth pulp. Archieves of Oral Biology 2002;47:375-385.

68. Rossman LE, Hasselgren Gunnar, Wolcott JF. Diagnosis and management of orofacial dental pain emergencies. In: Cohen S, Hargreaves KM, editors. Pathways of the Pulp. St. Louis: Mosby Co; 2006.p.40-80.

69. Berman LH. Hartwell GR. Diagnosis. In: Cohen S, Hargreaves KM, editors. Pathways of the Pulp. St. Louis: Mosby Co; 2006.p.3-39.

70. Mc Gowan DA. General Systemic Aspects of Endodontics. In: Pittford TR ed. Endodontics in Clinical Practice. 4th ed. Melbourne: Reed Educational and Professional Publishing; 2001.p.8-15.

71. Torabinejad M. Pulp and Periradiculer Pathosis. In: Walton ER, Torabinejad M, editors. Principles and Practice of Endodontics. 3rd ed. Pennsylvania: W.B. Saunders Co;2002.p.27-48.

72. Torabinejad M, Walton ER. Diagnosis and Treatment Planning. In: Walton ER, Torabinejad M, editors. Principles and Practice of Endodontics. 3rd ed. Pennsylvania: W.B. Saunders Co;2002.p.49-70.

73. Cengiz T. Endodonti. İzmir: Fakülteler Kitabevi; 1990.

74. Bonica JJ, Loeser JD. History of pain concepts and therapies. In: Loeser JD, editor. Bonica's management of pain. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2001. p. 3-16.

75.Erdine S. Ağrı ve Akılcı Analjezil Kullanımı. İstanbul. Fersa Matbaacılık; 1999.

76. Wilson S, Dilley DC, Vann WF, Anderson JA. Pain and Anxiety Control In: Pinkham JR, edıtor. Pediatric Dentistry: Infacy Through Adolescence. Philadephia, London, Toronto: W.B. Saunders Co; 1999.p.85-91.

77. Holland GR. Differential Diagnosis of Orofacial Pain. In: Walton ER, Torabinejad M, editors. Principles and Practice of Endodontics. 3rd ed. Pennsylvania: W.B. Saunders Co;2002.p.520-532.

78. Hargreaves KM, Keiser K, Byrne BE. Analgesics in Endodontics. In: Cohen S, Hargreaves KM, editors. Pathways of the Pulp. St. Louis: Mosby Co; 2006.p.668-690.

79. Fitzgerald M, Howard RF. The Neurobiologic Basis of Pediatric Pain. In. Schechter NL, Bedre CB, Yaster M, editors. Pain in İnfants, Children and Adolescents. 2nd ed. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins Co;2003.p.19-43.

80. Meechan JG, Robb ND, Seymour RA. Pain and Anxiety Contol fort he Conscious Dental Patient, New York, Tokyo: Oxford University Pres; 1998
.
81. Gaffney A, McGrath PJ, Dick B. Measuring Pain in Children: Developmental and Instrument Issues. In. Schechter NL, Bedre CB, Yaster M, editors. Pain in İnfants, Children and Adolescents. 2nd ed. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins Co;2003.p.128-142.

82. Sammons HM, Unsworth V, Gray C, Choonara I, Cherrill J, Quirke W. Randomized controlled trial of the intraligamental use of a local anaesthetic (lignocaine 2%) versus controls in paediatric tooth extraction. International Journal of Paediatric Dentistry 2007;17:297-303.

83. Chaves TC, Nagamine HM, de Sousa LM, de Oliveira AS, Grossi DB. Intra- and interrater agreement of pressure pain threshold for masticatory structures in children reporting orofacial pain related to temporomandibular disorders Journal of Orofac Pain. 2007;21:133-42.

84. Cohen LL, Francher A, MacLaren JE, Lim CS. Correlates of pediatric behavior and distress during intramuscular injections for invasive dental procedures. Journal of Clinical Paediatric Dentistry 2006;3:44-7.

85. Coulthard P, Rolfe S, Mackie IC, Gazal G, Morton M, Jackson-Leech D. Intraoperative local anaesthesia for paediatric postoperative oral surgery pain--a randomized controlled trial. International Journal of Oral Maxillofac Surgery 2006 Dec;35:1114-9.

86. Ram D, Amir E. Comparison of articaine 4% and lidocaine 2% in paediatric dental patients. International Journal of Paediatric Dentistry 2006 ;16:252-6.

87. Nilsson IM, List T, Drangsholt M. The reliability and validity of self-reported temporomandibular disorder pain in adolescents. Journal of Orofacial Pain 2006;20:138-44.

88. Ashkenazi M, Blumer S, Eli I. Effectiveness of various modes of computerized delivery of local anesthesia in primary maxillary molars. Pediatr Dentistry 2006;28:29-38.

89. Versloot J, Veerkamp JS, Hoogstraten J. Dental discomfort questionnaire for young children before and after treatment. Acta Odontologia Scandinavia 2005;63:367-70.

90. Versloot J, Veerkamp JS, Hoogstraten J. Dental Discomfort Questionnaire: assessment of dental discomfort and/or pain invery young children. Community Dentistry Oral Epidemiologia. 2006;34:47-52.

91. Paschos E, Huth KC, Benz C, Reeka-Bardschmidt A, Hickel R. Efficacy of intraoral topical anesthetics in children. Journal of Dentsitry. 2006;34:398-404.

92. Kiekens RM, Maltha JC, van 't Hof MA, Kuijpers-Jagtman AM. A measuring system for facial aesthetics in Caucasian adolescents: reproducibility and validity. Europan Journal of Orthodontics. 2005;27:579-84.

93. San Martin-Lopez AL, Garrigos-Esparza LD, Torre-Delgadillo G, Gordillo MA, Hernandez-Sierra JF, Pozos-Guillen AJ. Clinical comparison of pain perception rates between computerized local anesthesia and conventional syringe in pediatric patients. Journal of Clinical Pediatric Dentistry 2005;29:239-43.

94. Ratnayake N, Ekanayake L. Prevalence and impact of oral pain in 8-year-old children in Sri Lanka. International Journal Paediatric Dentistry 2005;15:105-12.

95. Barretto Ede P, Ferreira e Ferreira E, Pordeus IA. Evaluation of toothache severity in children using a visual analogue scale
Pediatric Dentistry 2004;26:485-91.

96. Palm AM, Kirkegaard U, Poulsen S. The wand versus traditional injection for mandibular nerve block in children and adolescents: perceived pain and time of onset. Pediatr Dent. 2004;26:481-4.

97. Versloot J, Veerkamp JS, Hoogstraten J. Assessment of pain by the child, dentist, and independent observers. Pediatric Dentistry 2004 ;26:445-9.

98. Ram D, Peretz B. The assessment of pain sensation during local anesthesia using a computerized local anesthesia (Wand) and a conventional syringe. Journal of Dentistry for Children 2003;70:130-3.

99. Ran D, Peretz B. Assessing the pain reaction of children receiving periodontal ligament anesthesia using a computerized device (Wand). Journal of Clinical Pediatric Dentistry 2003;27:247-50.

100. Jurgens S, Warwick RS, Inglehearn PJ, Gooneratne DS. Pain relief for paediatric dental chair anaesthesia: current practice in a community dental clinic. Internaional Journal of Paediatric Dentistry 2003 ;13:93-7.

101. Chapman HR, Kirby-Turner N.
Visual/verbal analogue scales: examples of brief assessment methods to aid management of child and adult patients in clinical practice. British Dental Journal 2002;26:447-50.

102. Ram D, Hermida LB, Peretz B. A comparison of warmed and room-temperature anesthetic for local anesthesia in children Pediatric Dentistry 2002;24:333-6.

103. Allen KD, Kotil D, Larzelere RE, Hutfless S, Beiraghi S. Comparison of a computerized anesthesia device with a traditional syringe inpreschool children Pediatric Dentistry. 2002;24:315-20.

104. Aitken JC, Wilson S, Coury D, Moursi AM. The effect of music distraction on pain, anxiety and behavior in pediatric dental patients. Pediatr Dentistry 2002;24:114-8.

105. Ram D, Peretz B. Reactions of children to maxillary infiltration and mandibular block injections Pediatr Dentistry 2001;23:343-6.

106.: Shin D, Kim S, Kim CS, Kim HS. Postoperative pain management using intravenous patient-controlled analgesia for pediatric patients. Journal of Craniofacial Surgery 2001;12:129-33.

107. Baghdadi ZD. Evaluation of audio analgesia for restorative care in children treated using electronic dental anesthesia. Journal of Clinical Pediatric Dentisry 2000;25:9-12.

108. Awawdeh L, Lundy FT, Shaw C, Lamey PJ, Linden GJ, Kennedy JG. Quantitive analysis of substance P, neurokinin A, calcitonin gene-releared peptide in pulp tissue from painful and healthy human teeth. International Endodontic Journal 2002;35:30-36.

109. Rodd HD, Boissonade FM. Substance P expression in human tooth pulp in relation to caries and pain experience. Europan Journal of Oral Science 2000;108:467-474.

110. Çevikbaş U. Temel Patoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi;1995

111. Aghabeigi B. The pathophysiology of the pain. British Dental Journal 1992;73:91-7.

112. Sessle BJ. New insights into peripheral chemical mediators of pain and inflammation. Journal of Orofacial Pain 2001;15:1-5.

113.Wakisaka S. Neuropeptides in the dental pulp: Distribution , origins and correlation. Journal of Endodontics 1990;16:67-69.

114. Fried K, Risling M. Nevre growth factorreceptor-like ımmunoreactivitiy İn primary and permanent tooth pulps of the cat.

115. Rodd HD, Boissonade FM. Immunocytochemical investigation of immune cells within human primary and permanent tooth pulp International Journal of Paediatric Dentistry 2006;16:2-9.

116. Rodd HD, Boissonade FM. Immunocytochemical investigation of neurovasculer relationshipsin human tooth pulp. Journal of anotomy 2003;202:195-203.

117. Rodd HD, Boissonade FM. Vascular status in human primary and permanent teeth in health and disease. Europan Journal of Oral Science 2005;113:128-134.

118. Hahn CL, Falkler WA, Jr Siegel MA. A study of T and B cells in pulpal pathosis. Journal of Endodontics 1989;15:20-26.

119. Bergenholtz G, Nagaoka S, Jontell M. Class II antigen expressing cells in experimentally induced pulpitis. International Endodontic Journal 1991;24:8-14.

120. Jontell M, Gunraj MN, Bergenholtz G. Immunocompetent cells in the normal dental pulp. Journal of Dental Research 1987;66:1149-1153.

121. Jontell M, Jiang WH, Bergenholtz G. Ontogeny of class II antigen expressing cells in rat incisor pulp. Scandinavia Journal Dental Research 1991;99:384-389.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: ALİ MELİH
Soyadı: TEZKİRECİOĞLU
Doğum Yeri ve Tarihi: GAZİANTEP / 15.11.1976
Eğitim Durumu:

- Doktora Öğrencisi, G.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2002-
- Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ankara, 1994-1999
- Gaziantep Anadolu Lisesi , Gaziantep, 1987-1994
- Mehmetçik İlköğretim Okulu, Gaziantep, 1982-1987

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Türk Pedodonti Derneği