




## GRAFEN NANOPLATELET-MİNERAL TRİOKSİD AGREGAT KARIŞIMININ RAT DIŞLERİNDE PULPA KUFAJ MATERYALİ OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

### Evaluation of the Mixture of Graphene Nanoplatelet-Mineral Trioxide Aggregate as a Pulp Capping Material on Rat Teeth

Burak DAYI<sup>1</sup>  Elif Nihan KÜÇÜKYILDIZ<sup>2</sup>  Hatice ERÖKSÜZ<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>İnönü Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Malatya

<sup>2</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Burdur

<sup>3</sup>Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Elazığ

Geliş Tarihi / Received: 16.10.2021

Kabul Tarihi / Accepted: 22.01.2022

#### ÖZ

Çalışmanın amacı Mineral Trioksit Agregat (MTA)'a farklı oranlarda grafen nanoplatelet (GNP) eklenerek oluşturulan karışımların rat diş pulparı üzerindeki etkisinin histolojik olarak değerlendirilmesidir. GNP (Nanografi, Türkiye) saf haldeki Angelus MTA'ya (Angelus, Londrina, PR, Brezilya) ağırlıkça %0.1 ve %0.3 oranlarında hassas terazide tartılarak katıldı ve homojen bir karışım oluşana kadar agat havanda karıştırıldı. 16 adet dişi Wistar Albino rat 4 gruba ayrıldı. Angelus MTA+%0.1 GNP, Angelus MTA+%0.3 GNP, kalsiyum hidroksit (Dycal, Dentsply, Almanya) ve saf haldeki Angelus MTA ratların alt iki keser dişlerinde oluşturulan sınıf V kavitelerdeki pulpa perforasyon alanlarında direkt pulpa kuafaj materyali olarak kullanıldı (n=8). Dişler 1 ve 4. haftalarda dentin köprüsü oluşumu ve pulpal doku yanıtları açısından histolojik olarak incelendi. Çalışma verileri IBM SPSS Statistics V22 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) ile analiz edildi. Rejeneratif dentin köprüsü oluşumu 1. haftadan itibaren gözlemlendi. 4. haftada Angelus MTA+%0.3 GNP grubunda yangısal reaksiyonun en hafif olduğu görüldü. 4. haftada hiperemi en hafif Angelus MTA+%0.1 GNP ve Angelus MTA+%0.3 GNP gruplarında belirlendi. Yangısal reaksiyon ve hipereminin varlığı açısından gruplar arasında 1 ve 4. haftalarda anlamlı bir farka rastlanmadı (p>0.05). GNP'nin Angelus MTA'ya katılması direkt pulpa kuafajında pulpal doku yanıtını hafifleterek tedavide başarıyı arttırabilir.

**Anahtar kelimeler:** Diş pulpa kapaklaması, Grafen, Mineral trioksit agregat.

#### ABSTRACT

The aim of the study is to histologically evaluate the effect of mixtures formed by adding different ratios of graphene nanoplatelet (GNP) to Mineral Trioxide Aggregate (MTA) on rat dental pulps. 0.1% and 0.3% by weight GNP (Nanography, Ankara, Turkey) which were weighed on precision scales were added to pure Angelus MTA (Angelus, Londrina, PR, Brazil) and mixed in agate mortar until a homogeneous mixture was obtained. 16 female Wistar Albino rats were divided into 4 groups. Angelus MTA+0.1% GNP, Angelus MTA+0.3% GNP, calcium hydroxide (Dycal, Dentsply, Germany), and pure Angelus MTA were used as direct capping material on pulp perforation areas of the class V cavities of the lower two incisors of the rats (n=8). The teeth were histologically examined for dentin bridge formation and pulpal tissue responses at 1st and 4th weeks. The data of the study were analyzed with IBM SPSS Statistics V22 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A regenerative dentin bridge was seen from the 1st week. In the 4th week, the inflammatory reaction was mildest in the Angelus MTA+0.3% GNP group. At 4th week, the mildest hyperemia was seen in Angelus MTA+0.1% GNP and Angelus MTA+0.3% GNP groups. No significant difference was found between the groups in terms of inflammatory reaction and presence of hyperemia at 1st and 4th weeks (p>0.05). The inclusion of GNP in Angelus MTA may increase the success of the treatment by alleviating the pulpal tissue response in direct pulp capping.

**Keywords:** Dental pulp capping, Graphene, Mineral trioxide aggregate.

## GİRİŞ

Bir dişin pulpası çürük, travma veya diş preparasyonu sırasında yapılan hata veya dikkatsizlikler nedeniyle açığa çıkabilir. Açığa çıkmış pulpa dokusunun üzerine uygun materyallerin direkt olarak yerleştirildiği bir yöntem olan direkt pulpa kuafajı tedavisi, pulpanın canlılığını devam ettirmenin ve reparatif dentin üretmenin bir yolu olarak önerilmektedir (Hilton, 2009). Açığa çıkmış pulpanın kapatılması ilk olarak 1756'da Pfaff tarafından altın folyolar kullanılarak yapılmıştır. Daha sonra, direkt pulpa kuafajı için sayısız ajan önerilmiştir (Dammachke, 2008). Kalsiyum hidroksit, Hermann tarafından diş hekimliğine tanıtılmış ve kalsiyum hidroksit bileşikler insan dişlerinde pulpa kuafajı için altın standart olarak kabul edilmiştir (Jalan, Warhadpande, ve Dakshindas, 2017).

Kalsiyum hidroksit, bakteri penetrasyonunu ve ardından pulpal dokunun tahribatını en aza indirgeyen veya ortadan kaldıran antibakteriyel özelliklere sahip bir materyaldir (Barthel, Levin, Reisner, ve Trope, 1997). Kalsiyum hidroksit' in alkali pH'ı pulpa hücrelerini irrite eder ve pulpal onarımı uyaran kemik morfogenetik proteinler (BMP) ve transforme edici büyüme faktörü beta-1 (TGF $\beta$ -1) gibi biyoaktif moleküllerin salınımını tetikler (Akhlaghi ve Khademi, 2015). Kalsiyum hidroksit ile kuafaj yapılmış dişlerin uzun dönem değerlendirmeleri çok yüksek başarı oranları göstermiştir (Stanley, 1989). Ancak kalsiyum hidroksit zamanla bozulabilir, dentin köprülerinin altında tünel kusurları oluşabilir ve zayıf sızdırmazlık sağlar (Bortoluzzi vd., 2008).

Mineral Trioxide Aggregate (MTA), bir radyoaktifleştirici olarak bizmut oksit ilavesi ile esas olarak Portland çimentosundan oluşan kalsiyum silikat bazlı materyaldir (Guimarães, Prati, Duarte, Bramante, ve Gandolfi, 2018). MTA gibi kalsiyum-silikat bazlı materyallerin sertleşmesi nem varlığında gerçekleşir. Çimento hidrasyonu sırasında kalsiyum salınımı antibakteriyel özellik sağlar. MTA dentinogenezi ve yarı-fizyolojik çözeltilerde apatit oluşumunu indükler (Erfanparast, Iranparvar, ve Vafaei, 2018). Son on yılda yayımlanan pek çok çalışma, MTA'nın klinik sonuçlarını direkt pulpa kuafaj materyali olarak kalsiyum hidroksit ile karşılaştırmıştır. İki yıllık bir klinik çalışmanın sonuçlarına göre; MTA'nın kalsiyum hidroksit ile karşılaştırıldığında üstün klinik sonuçlar gösterdiği ifade edilmiştir (Hilton, Ferracane, ve Mancl, 2013). Başka bir çalışma kalsiyum hidroksit ile karşılaştırıldığında MTA kullanılan vakalarda pulpada daha az inflamasyon olduğu ve tersiyer dentin oluşumunun arttığını vurgulamıştır (Li, Cao, Fan, ve Xu, 2015). MTA, pulpa kuafajında başarılı bir materyal olarak kabul edilmekle birlikte MTA'nın uzun sertleşme süresi, yüksek viskozite, renk değişimi ve kullanım zorluğu (Parirokh ve Torabinejad, 2010)

gibi olumsuzluklara sahip olması nedenleriyle daha ideal pulpa kuafaj materyali oluşturabilme çalışmaları günümüzde de devam etmektedir.

Bir MTA çeşidi olan Angelus MTA da Portland çimentosundan oluşmaktadır. Angelus MTA, iyi marjinal adaptasyon, iyi sızdırmazlık yeteneği gibi birçok avantaj sağlar ve çoğu zaman dokularda inflamasyona neden olmaz (Kangarlou vd., 2012).

Grafen, Geim ve Novoselov isimli araştırmacıların 2004 yılında keşfettiği dünyanın ilk iki boyutlu nanomateryali olarak bilinir (Bollella vd., 2017). Grafen, altıgen şeklinde düzenlenmiş  $sp^2$  hibridizasyonuna sahip bir atom kalınlığında karbon molekülüdür (Majeed vd., 2017). Karbon ailesine ait çeşitli üyeler arasında; grafen, olağanüstü fizikokimyasal, termal, optik, mekanik ve biyolojik özellikleri nedeniyle benzersiz bir materyaldir. Grafen ve türevleri üzerine araştırmalar halen devam etmektedir; bu da uygulama alanlarını genişletmektedir (Jaleel, Sruthi, ve Pramod, 2017). Son yıllarda grafen, mükemmel fizyokimyasal özellikleri nedeniyle biyomedikal uygulamalar için potansiyel bir nanoplatform olarak ortaya çıkmıştır (Chng, Chua, ve Pumera, 2014). Grafen kullanılarak ilaç/gen taşınması, fototerapi, hücre sel büyüme ve farklılaşma, biyosensörler, biyo-görüntüleme, kanser veya hastalık tespiti, terapötikler ve doku mühendisliği yönünde ilerlemeler kaydedilmiştir (Qu vd., 2018). Grafen ailesinin üyeleri arasında grafen oksit (GO), indirgenmiş grafen oksit (rGO), grafen nanoplateletler (GNP), grafen kuantum dot (GQD), bir kaç katmanlı grafen (FLG), grafen nanosheet (GNS) sayılabilir (Chatterjee, Eom, ve Choi, 2014; Ritter ve Lyding, 2009; Shokrieh, Esmkhani, Shahverdi, ve Vahedi, 2013).

GNP, grafenin ve yüksek dereceli grafitli materyallerin avantajlı özelliklerinden yararlanır; ancak grafenin zayıf stabil özelliklerine sahip değildir (Poon, Batchelor-McAuley, Tschulik, ve Compton, 2015). Birkaç grafen katmanından oluşan GNP, büyük ölçekte üretilebilir ve düşük maliyetle ticari olarak temin edilebilir (Wang, Drzal, Qin, ve Huang, 2015).

Grafen bazlı nanomateryallerin osteokondüktiviteyi artırma kabiliyetine dayanarak diş hekimliğinde kullanımı test edilmiş ve hücre sel biyomineralizasyonu ve osteojenik farklılaşmayı uyarımı kanıtlanmıştır (Shin vd., 2016). Guazzo vd. (2018), bir grafen türevi olan grafen oksit substratının diş pulpası kök hücrelerinin odontojenik farklılaşmasında etkili Dentin Matris asidik Fosfoprotein 1 (DMP-1) ve Dentin Sialofosfoprotein (DSPP) genlerinin ekspresyonunu artırma yeteneğine sahip olması nedeniyle grafen oksitin diş hekimliği materyali olarak tek başına kullanılabilmesi veya biyoaktivitelerini geliştirmek için dental materyallerle kombine edilerek kullanım imkanı sunabileceğini ifade etmişlerdir.

Grafen bazlı materyallerin diş dokuları üzerindeki bu pozitif etkilerinin pulpa kuafajı tedavisinde tamir dentini oluşumuna ve pulpal doku yanıtlarına da olumlu katkı sağlayabileceği düşüncesiyle tasarlanan bu *in vivo* çalışmada literatürde ilk kez GNP materyali %0.1 ve %0.3 oranlarında Angelus MTA'ya ilave edilerek deneysel kuafaj materyalleri (Angelus MTA+%0.1 GNP, Angelus MTA+%0.3 GNP) elde edilmiştir. Daha sonra Angelus MTA+%0.1 GNP, Angelus MTA+%0.3 GNP, kalsiyum hidroksit ve Angelus MTA'nın saf hali rat kesici dişlerinde direkt kuafaj materyali olarak kullanılmış ve postoperatif 1. ve 4. haftada dentin köprüsü ve pulpal doku yanıtları histolojik olarak incelenerek karşılaştırılmıştır. Bu çalışmanın sıfır hipotezi direkt pulpa kuafajında GNP'nin Angelus MTA'nın yapısına katılarak kullanılması saf Angelus MTA ve kalsiyum hidroksit ile karşılaştırıldığında dentin köprüsü oluşumu ve pulpal doku yanıtlarında bir fark oluşturmayacağı yönündedir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Deneysel Karışımların Hazırlanması

Hassas terazi yardımıyla tartılan GNP (Nanografi, Ankara, Turkey) saf haldeki Angelus MTA (Angelus, Londrina, PR, Brezilya)'ya %0.1 ve %0.3 oranlarında katılarak karışımlar agat havan yardımıyla homojen bir karışım meydana gelene kadar sırasıyla karıştırma işlemine tabi tutuldu.

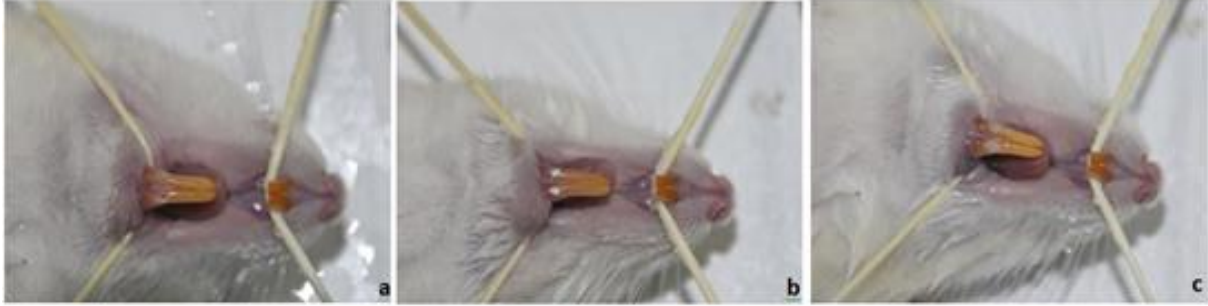
### Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmada 8-9 haftalık 16 adet dişi Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar kalsiyum hidroksit (Dycal, Dentsply, Almanya), Angelus MTA, Angelus MTA+%0.1 GNP, Angelus MTA+%0.3 GNP materyalleri uygulanmak üzere rastgele dört gruba ayrıldı. Tüm gruplarda ratların çürüksüz alt iki kesici dişleri kullanıldı (n=8). Tüm hayvan deneyleri kabul edilen hayvan bakımı standartlarına uygun olarak yapıldı ve İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından 14.02.2018 tarihinde 2017/A-59 araştırma protokol numarası ile onaylandı.

### Pulpa Kuafaj Prosedürü

Ratlara işlem öncesi 70 mg/kg ketamine (Richter Pharma AG, Avustralya) ve 8 mg/kg xylazine (Alfasan International B.V., Hollanda) ile anestezi uygulandı. Her rat bir operasyon düzeneğine sabitlendi. Ratların dişleri küçük bir fırça ile mekanik olarak temizlendi ve klorheksidin diglukonatla (%0.2) dezenfekte edildi. Operasyon mikroskobu (Topcon OMS 600, ABD) altında çürüksüz alt santral kesici dişlerin kole bölgesinde elmas rond frezler

(#008, Diatech, ABD) kullanılarak su soğutması altında sınıf V kaviteler hazırlandı ve pulpa odası perfore edildi (Resim 1. a). Pulpal kanamalar steril edilmiş olan pamuk peletler ile serum fizyolojik kullanılarak kontrol altına alındı. Angelus MTA ve kalsiyum hidroksit üretici firma talimatları doğrultusunda, elde edilen karışımlar (Angelus MTA+%0.1 GNP ve Angelus MTA+%0.3 GNP) ise Angelus MTA'nın üretici firma talimatlarına göre hazırlanarak materyaller açığa çıkmış pulpada kuafaj materyali olarak kullanıldı (Resim 1. b). Kaviteler daha sonra akıcı cam iyonomer kaide (Voco, Ionoseal, Almanya), bonding (Clearfill SE Bond, Kuraray, Japonya) ve kompozit rezin (Voco, Arabesk, Almanya) ile kapatıldı (Resim 1. c). Operasyondan sonra, tüm ratlara yumuşak bir diyet uygulandı. Ratlar bir ve dört haftalık gözlem süresi sonunda yüksek dozda ketamine ve xylazine ile sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen hayvanların uygulama yapılmış dişleri elevatör ve davye yardımı ile çekilerek dişler histolojik incelemeye kadar formaldehit içeren ayrı kaplarda saklandı.



**Resim 1. a.** Ratlarda Oluşturulan Perforasyon Alanları

**Resim 1. b.** Kuafaj Materyalinin Uygulanması

**Resim 1. c.** Kompozit Materyalinin Uygulanması

## Postoperatif Dentin Köprüsü Oluşumu ve Pulpal Doku Yanıtlarının Histolojik Olarak İncelenmesi

Formaldehitte bekletilen dişler Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda dentin köprüsü oluşum oranı ve pulpal doku yanıtları (yangısal reaksiyon ve hiperemi oranı) açısından değerlendirilmek üzere işleme alındı. Tüm deneklerin dişleri gruplara göre %10'luk tamponlu formaldehit solusyonunda tespit edilerek (24-72 saat), takiben dekalsifikasyon işlemini gerçekleştirmek üzere ticari dekalsifiye solüsyonda (Biocal C, Atom Scientific Ltd.) kontrollü olarak 3-4 gün tutuldu. Kasetlere alınan doku örnekleri çeşme suyu altında 8-10 saat yıkanarak otomatik doku takip cihazında (Leica TP 1020, Wetzlar, Almanya) farklı derecelerdeki alkol, ksilen ve parafin serilerinden geçirilerek bloklama cihazında (Leica EG 1150 H, Wetzlar, Almanya) parafin bloklama işlemine tabi tutuldu. Rotary mikrotom (Leica RM2125, Wetzlar, Almanya) yardımıyla parafin bloklardan 3-5 mikron kalınlığında kesitler elde edilerek Hematoksilen Eozin ve Masson's Trichrome

yöntemi ile boyandı ve boyanmış kesitler ışık mikroskobu ile incelendi. Olympus BX 43 floresan ataçmanlı ve DP 72 kameralı mikroskop yardımıyla mikroskobik görüntüler alındı. Yangı ve hipereminin şiddeti 40x büyütmede ve Tablo 1’de belirtilen referans değerler baz alınarak değerlendirildi. Rejeneratif dentin köprüsünün oluşumu ise kalitatif olarak değerlendirildi.

**Tablo 1.** Yangı ve Hipereminin Şiddetinin Ölçülmesinde Kullanılan Referans Değerler

Pulpal Doku Yanıt Türü	Yok(0)	Hafif(1)	Orta (2)	Şiddetli(3)
Yangı	0	30’dan az yangı hücresi	30-60 arası yangı hücresi	60 üzeri yangı hücresi
Hiperemi	0	3-5 damar	5-8 damar	8 ve üzeri damar

### İstatistiksel Analiz

Çalışma verilerinin analizinde IBM SPSS Statistics V22 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı kullanıldı. Nitel veriler sayı ve yüzde ile özetlendi. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Pearson Ki-Kare testi kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

### BULGULAR

Pulpal doku yanıtlarını gösteren Tablo 2 incelendiğinde; 1. haftanın sonundaki yangısal reaksiyonun “orta “ düzeyde en yüksek gözlendiği gruplar Angelus MTA+%0.1 GNP ve Angelus MTA+%0.3 GNP grupları oldu ancak gruplar arasında anlamlı bir farka rastlanmadı ( $p=0.54$ ). 4. haftanın sonunda ise Angelus MTA+%0.3 GNP grubu yangısal reaksiyonun en hafif görüldüğü grup oldu ancak gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı ( $p=0.92$ ). Hipereminin “hafif” düzeyi 1. hafta sonunda yüzdelik olarak en yüksek Angelus MTA+%0.3 GNP grubunda tespit edildi ancak gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi ( $p=0.95$ ). 4. haftanın sonunda ise hipereminin “hafif” düzeyi yüzdesi en yüksek Angelus MTA+%0.1 GNP grubu ve Angelus MTA+%0.3 GNP gruplarında görülmekle birlikte gruplar arasında yine anlamlı bir fark yoktu ( $p=0.98$ ).

**Tablo 2.** Haftalara Göre Pulpal Yanıt Türü ve Şiddeti

Gruplar		Angelus MTA	Kalsiyum Hidroksit	Angelus MTA+ %0.1 GNP	Angelus MTA+ %0.3 GNP	$P^*$
Pulpal yanıt türü ve haftalara göre şiddeti	Hafif	0	0	0	0	
	1.Hafta Orta	62.5	62.5	87.5	87.5	0.54
	Şiddetli	37.5	37.5	12.5	12.5	
	Yangısal Reaksiyon (%)	Hafif	50	62.5	62.5	75
4.Hafta Orta		37.5	37.5	25	12.5	

<b>Hiperemi (%)</b>	1.Hafta	Şiddetli	12.5	0	12.5	12.5	0.95
		Hafif	12.5	12.5	12.5	25	
		Orta	37.5	50	62.5	50	
	4.Hafta	Şiddetli	50	37.5	25	25	0.98
		Hafif	50	50	62.5	62.5	
		Orta	25	37.5	25	25	
		Şiddetli	25	12.5	12.5	12.5	

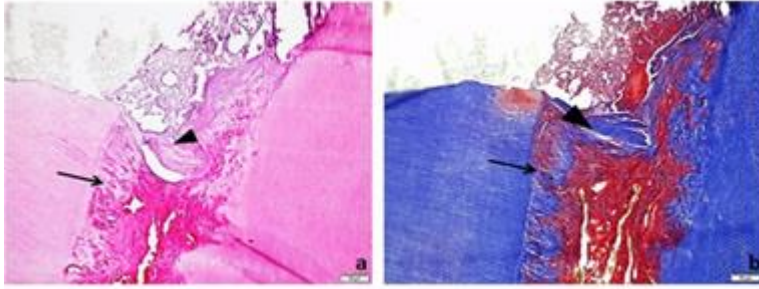
\* Pearson Ki-Kare testi

### Rejeneratif Dentin Köprüsü Oluşum Sonuçları

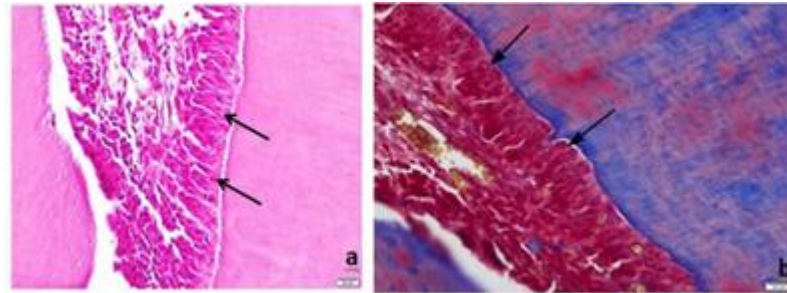
Rejeneratif dentin köprüsü oluşumunun tüm gruplarda 1. haftadan itibaren değişen derecelerde oluşmaya başladığı görüldü.

### Angelus MTA Grubu Histolojik Görüntü İncelemesi;

1. haftanın sonunda iyi gelişen rejeneratif dentin köprüsü ve odontoblast benzeri hücreler izlendi (Resim 2). 4. haftanın sonunda odontoblast benzeri hücreler kuafaj alanına yakın bölgelerde gözlemlendi (Resim 3).



**Resim 2.** Angelus MTA Grubu (1. Hafta); Görülen İyi Şekillenmiş Dentin Köprüsü (Ok Başı) Odontoblast Benzeri Hücreler (Ok). a) Hematoksilen Eozin 20x b) Masson's Trichrome 20x.



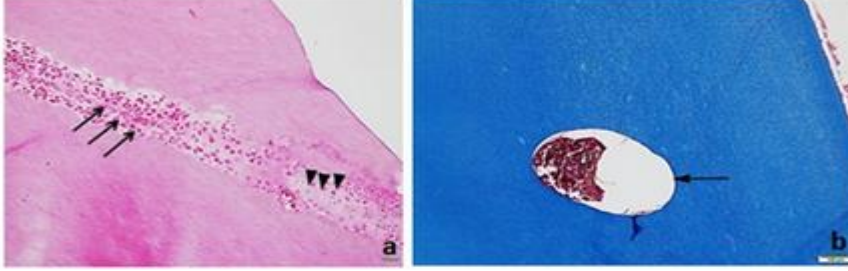
**Resim 3.** Angelus MTA Grubu (4. Hafta); Gelişen Odontoblast Benzeri Hücreler (Siyah Oklar). a) Hematoksilen Eozin 40x b) Masson's Trichrome 40x.

### Kalsiyum Hidroksit Grubu Histolojik Görüntü İncelemesi;

1. haftanın sonunda gelişmekte olan dentin köprüsü, odontoblast benzeri hücreler ve pulpada hiperemi izlendi (Resim 4). 4. haftanın sonunda ise rat dişlerinin fizyolojisinden kaynaklanan uzama nedeniyle dişlerin insizal kısmında hafif infiltratif reaksiyon ve sınırlı alanlarda dentin köprüsü görüldü (Resim 5).



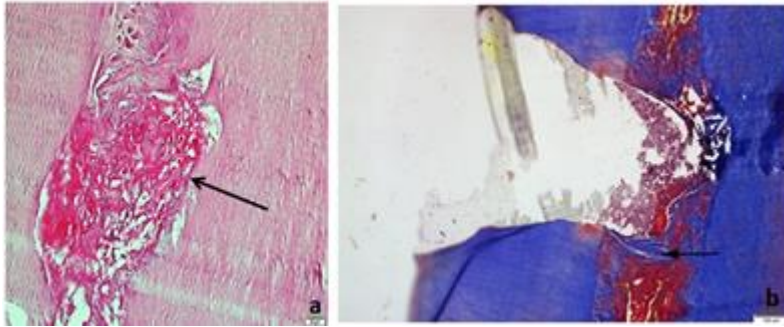
**Resim 4.** Kalsiyum Hidroksit Grubu (1. Hafta); Hiperemi (Siyah Ok), Gelişmekte Olan Dentin Köprüsü (Ok Başı) ve Odontoblast Benzeri Hücreler (Mavi Ok). a) Hematoksilen Eozin 10x b) Masson's Trichrome 20x.



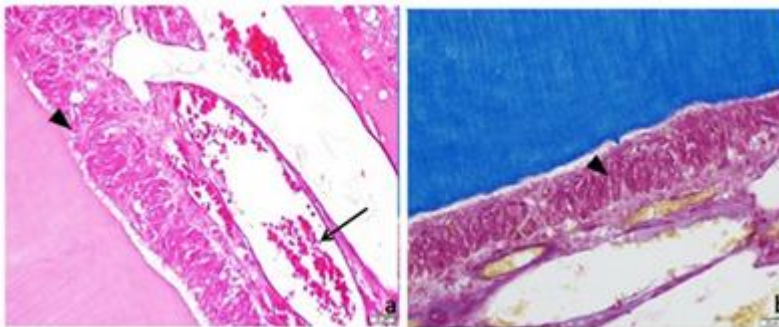
**Resim 5.** Kalsiyum Hidroksit Grubu (4. Hafta); a) Mononükleer Yangısal Reaksiyon (Siyah Oklar) Dentin Tabakasının Dışına Doğru Gelişme Gösteren Rejeneratif Dentin Alanı (Ok Başı), Hematoksilen Eozin 20x b) Dış Kesici Yüzeye Yakın Olarak İlerleyen Kuafaj Alanı (Siyah Ok), Masson's Trichrome 20x.

### Angelus MTA+%0.1 GNP Grubu Histolojik Görüntü İncelemesi;

1. haftanın sonunda rejenerare dentin dokusu gözlemlendi (Resim 6). 4. haftanın sonunda ise bazı örneklerde rejenerare dentin dokusunun dişlerin uzaması ile birlikte tamamen kaybolduğu görüldü. Odontoblast benzeri hücreler ise kuafaj alanının daha derinlerinde izlendi (Resim 7).



**Resim 6.** Angelus MTA+%0.1 GNP Grubu (1. Hafta); Pulpada Rejenerare Dentin Dokusu (Siyah Ok) a) Hematoksilen Eozin 40x b) Masson's Trichrome 40x.

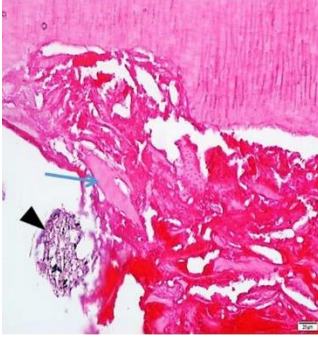


**Resim 7.** Angelus MTA+%0.1 GNP Grubu (4. Hafta); Odontoblast Benzeri Hücreler (Ok Başı), Hiperemik Pulpa (Siyah Ok) a) Hematoksilen Eozin 40x b) Masson's Trichrome 40x.

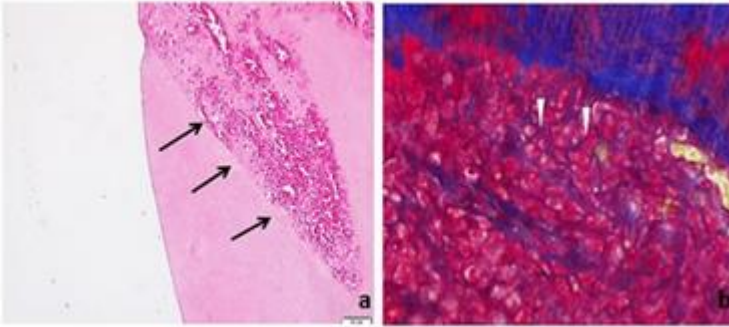


### Angelus MTA+%0.3 GNP Grubu Histolojik Görüntü İncelemesi;

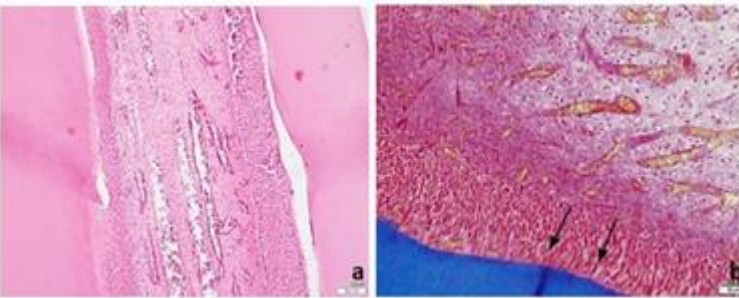
Bu grupta da bir haftalık deney süresi sonunda dişlerde uygulamanın yapıldığı alanlarda rejeneratif dentin köprüsü görüldü (Resim 8). 4. haftanın sonunda ise dentin köprüsü dişlerin uzamasıyla birlikte bazı örneklerde tam olarak görülememekle birlikte uzayan dentin bölümünde rejeneratif dentin alanı izlendi (Resim 9). Örneklerde pulpanın canlılığını koruduğu görüldü (Resim 10).



**Resim 8.** Angelus MTA+%0.3 GNP Grubu (1. Hafta); Dolgu Materyali (Ok Başı) ve Onun Hemen Altında Dentin Benzeri Tabakalar Oluşturan Dentin Köprüsü (Mavi Ok), Hematoksilen Eozin 40x.



**Resim 9.** Angelus MTA+%0.3 GNP Grubu (4. Hafta); a) Uzayan Dişte Kesici Uca Yaklaşmış Dentin Köprüsü (Siyah Oklar) Hematoksilen Eozin 20x. b) Mavi İplikler Halinde Dentin Benzeri Doku Formasyonu (Beyaz Ok Başı), Masson's Trichrome 40x.



**Resim 10.** Angelus MTA+%0.3 GNP Grubu (4. Hafta); a) Pulpanın Sağlıklı Görünümü, Hematoksilen Eozin 10x b) Sağlıklı Pulpada Düzgün Sıralanmış Odontoblastlar (Siyah Oklar), Masson's Trichrome 20x.

### TARTIŞMA

Bu çalışmanın histolojik değerlendirme sonuçlarına göre; rejeneratif dentin köprüsü oluşumu 1. haftadan itibaren tüm gruplarda görülmeye başlandı. 4. haftada yangısal

reaksiyonun en hafif görüldüğü grup Angelus MTA+%0.3 GNP grubuydu. Hiperemi ise 4. haftanın sonunda en hafif oranda Angelus MTA+%0.1 GNP ve Angelus MTA+%0.3 GNP gruplarında görüldü. Yangısal reaksiyon ve hipereminin varlığı açısından ise gruplar arasında her iki haftada da (1. ve 4. haftalar) anlamlı bir farka rastlanmadı ( $p>0.05$ ). Bu veriler doğrultusunda GNP'nin Angelus MTA'nın yapısına katılarak direkt pulpa kuafajında kullanılması saf Angelus MTA ve kalsiyum hidroksit ile karşılaştırıldığında pulpal doku yanıtlarında bir miktar azalmaya neden olsa da dentin köprüsü oluşumu ve pulpal doku yanıtlarında anlamlı bir fark oluşturmadığı için çalışmanın sıfır hipotezi kabul edilmiştir.

Direkt pulpa kuafajı tedavisinin amacı, açığa çıkmış pulpanın canlılığını koruyabilmek, kök kanal tedavisinden kaçınmak veya bunu geciktirmek ve apeksin açık olduğu dişlerde devam eden kök gelişimine izin vermektir. Tarihsel olarak, kalsiyum hidroksit pulpa kuafajı tedavilerinde altın standart bir materyal olarak kabul edilmekteydi. Ancak günümüzde MTA gibi kalsiyum silikat esaslı materyaller yüksek biyoaktiviteleri, biyouyumlulukları, sızdırmazlık yetenekleri ve mekanik özellikleri nedeniyle kalsiyum hidroksite alternatif olarak kliniklerde yer almaktadır (Brizuela vd., 2017).

MTA'nın pek çok avantajı olmasının yanı sıra özellikle ön dişlerde kritik bir faktör olan renk değişikliğine sebep olması (da Rosa vd., 2018), uygulamasının zor oluşu (Santos, Moraes, Araújo, Yukimitu, ve Valério Filho, 2005), uzun süren sertleşme süresi ve erken aşamada yüksek çözünürlük göstermesi (Fridland ve Rosado, 2003), toksik maddeler içermesi (Bramante vd., 2008) gibi dezavantajları bulunması sebebiyle yeni pulpa kuafaj materyalleri oluşturma çabaları devam etmektedir.

Grafen var olan en ince ve en güçlü materyaldir (Geim ve Novoselov, 2010). Grafen ve türevleri biyouyumluluk, üstün mekanik mukavemet, şeffaflık ve geniş yüzey alanı gibi öne çıkan özelliklerinden dolayı bilim ve teknoloji alanlarında oldukça fazla uygulama alanına sahiptir (Wu vd., 2009; Zhao, Pei, Ren, Gao, ve Cheng, 2010). Grafen bazlı materyallerin ilaç ve/veya gen dağıtım sistemleri ve doku mühendisliği gibi biyomedikal uygulamalarda kullanımı yaygınlaşmaktadır (Zhao vd., 2017). Grafen bazlı mühendislik nanomateryallerinin gelişen bilimi diş hekimliği materyalleri ve tıp alanında kullanılan nano cihaz ve nano materyalleri de kapsayarak büyümektedir (Tahriri vd., 2019). Grafen bazlı materyallerin diş hekimliğinde kullanılan materyallerin yapısına katılarak kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Bregnocchi vd., 2017; Su, Lee, Su, ve Wang, 2016; Sun, Yin, Lu, Zhang, ve Jiang, 2020). Ancak grafenin yüksek dozlarda kullanımı toksik etki gösterebilmektedir (Kim vd., 2013). Bu nedenle grafenin bir materyale katıldığı çalışmalarda genellikle düşük oranlarda ilave edildiği görülmektedir. Biz de bu çalışmada grafenin dentin tamiri oluşumu ve

pulpa dokusu üzerindeki etkilerini gözlemleyebilmek amacıyla pulpa kuafajında biyoyumluluğu kanıtlanmış MTA materyaline grafen türevi olan GNP materyalini %0.1 ve %0.3 oranlarında katarak rat keser diş pulpalarında direkt pulpa kuafaj materyali olarak uyguladık.

Bir kuafaj materyalinin daimi restorasyon altında yüksek dayanım gösterebilmesi oldukça önemlidir. Du ve Pang (2018), yaptıkları bir çalışmada Portland siman (PC)'a %1, %2, %4 oranlarında GNP eklemiş ve PC'nin mikro sertliğinin arttığını gözlemlemişlerdir. Mevcut çalışmanın *in vitro* kısmını gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda Angelus MTA'ya %0.1 ve %0.3 oranlarında GNP ilave ederek elde ettiğimiz deneysel kuafaj materyallerini saf Angelus MTA ile kıyasladığımızda GNP ilave edilen gruplarda mikrosertlik değerlerinde anlamlı bir artış bulmuştuk (Kucukyildiz, Dayi, Altin, ve Yigit, 2021). Bu açıdan bakıldığında GNP'nin kuafaj materyallerine ilave edilmesi materyalin daimi restorasyon altında kırılma dayanımını arttırarak kırılma durumunda meydana gelebilecek mikro sızıntının elimine edilmesine ve dolayısı ile pulpa kuafajında başarı şansının artmasına katkı sağlayabilir.

Grafen türevi materyallerin biyoyumluluğuna bakıldığında ise; Radunovic vd. (2017) kemik defektlerinde bariyer olarak kullanılan kolajen membranların biyoyumluluğunu geliştirmek için membranları grafen türevi bir materyal olan grafen oksit (GO) ile kaplamış ve diş pulpa kök hücreleri (DPSCs) üzerindeki etkisini gözlemlemişlerdir. Çalışmanın sonucuna göre GO ile kaplanmış membranların toksik olmadığını ve DPSCs'nin odontoblastlar/osteoblastlara hızla farklılaşmasını uyardıklarını ortaya koymuşlardır. Qutieshat, Al-Hiyasat ve Islam (2020), grafen oksit nanoplateleti (GONPs) Portland simana 0, 1 ve 3 yüzdelerinde ilave ederek elde ettikleri örneklerin mikro sertliğini ve sitotoksitesini değerlendirmişlerdir. Portland simana yüzde 1'lik GONPs ilavesinin biyoyumluluğa etki etmeden örneklerde mikro sertliği arttırdığını ve diş hekimliği uygulamaları için GONPs'nin büyük bir potansiyele sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Grafenin bu olumlu etkilerini direkt pulpa kuafajında gözlemleyebilmek için GNP'yi MTA'ya ilave ettiğimiz çalışmamızda ise saf haldeki Angelus MTA ve kalsiyum hidroksit materyaline göre GNP eklenen gruplarda dentin köprüsü oluşumunda anlamlı bir farklılık görülmedi ancak pulpal doku yanıtlarında hafiflemeler görüldü. Grafenin bazı çalışmalarla kanıtlanmış olan DPSCs'leri odontoblastlar/osteoblastlara hızla farklılaşmasını uyarma kabiliyeti, GNP eklenen MTA gruplarında perforasyon alanının daha hızlı iyileşmesini sağlayarak pulpal doku yanıtlarında diğer gruplarla kıyaslandığında daha hızlı bir düşüş meydana gelmesini sağlamış olabilir. GNP eklenen gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında da Angelus MTA+ %0.3 GNP grubunun Angelus MTA+%0.1 GNP grubuna göre yangısal reaksiyon açısından 4. hafta

“hafif” derece yüzdesinin ve hiperemi açısından 1. hafta “hafif” derece yüzdesinin daha yüksek olması GNP oranının artmasıyla ilişkili olabilir.

MTA ve kalsiyum hidroksitin pulpa kuafajında başarısının karşılaştırıldığı çalışmalara bakıldığında pek çok çalışma MTA’ nın kalsiyum hidroksite göre daha başarılı klinik sonuçlar gösterdiği sonucuna varmıştır (Li vd., 2015; Rasaratnam, 2016; Zhu, Ju, ve Ni, 2015). Çalışmamızda Angelus MTA ve kalsiyum hidroksit grupları kendi arasında karşılaştırıldığında; 1. hafta yangısal reaksiyon açısından yüzdelik oranlarda bir farklılık görülmezken, 4. hafta yangısal reaksiyon ve 1. ve 4. hafta hiperemi bulgularında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmama ile birlikte kalsiyum hidroksitin daha az pulpal doku yanıtına neden olduğu görülmüştür. Dentin köprüsü oluşumu değerlendirildiğinde ise iki materyalin birbirine üstünlüğüne rastlanmamıştır. Daimi dişler ve/veya süt dişleri üzerinde yapılan bazı klinik çalışmaların sonuçları da çalışmamıza benzer şekilde pulpa kuafajı başarısı açısından MTA’nın kalsiyum hidroksite göre anlamlı bir üstünlüğü olmadığı yönündedir (Brizuela vd., 2017; Gurcan ve Seymen, 2019)

Rat dişleri ile insan dişleri arasındaki morfolojik benzerlikler bazı araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır (D'Souza, Bachman, Baumgardner, Butler, ve Litz, 1995; Pinzon, Kozlov, ve Burgh, 1967; Schour ve Van Dyke, 1934). Rat dişlerinin kullanıldığı direkt pulpa kuafajı çalışmalarına güncel literatürde de sıklıkla rastlanmaktadır. Literatüre bakıldığında genellikle ratların üst molar dişlerinin tercih edildiği görülmektedir (Dammachke, 2010; Guerrero-Girones vd., 2020; Long vd., 2017). Ancak rat molarlarında çalışma alanını görme zorluğu, uygulama zorluğu (Dammachke, 2010) ve zorlamalarda ratta çene kırıkları oluşması rat molarlarının kuafaj çalışmaları için tercih edilmesinde olumsuz etkenlerdir. Bazı araştırmacılar rat keser dişlerinin insan dişlerinden farklı olarak sürekli uzayabilme yeteneği olsa da pulpal yanıtların incelenmesinde iyi bir model olabileceğini öne sürmüş ve çalışmalarında tercih etmişlerdir (Huj, Zhang, Yun, Qian, ve Ranly, 1997; Orhan, Maden, ve Sengueven, 2012; Sloan ve Smith, 1999). Biz de bu nedenlerle çalışmamızda ratların alt ön keser dişlerini tercih ettik. Ancak rat keser dişlerindeki sürekli uzamadan dolayı 4. hafta sonunda bazı örneklerde uygulama alanının bu uzamayla birlikte kaybolduğu görüldü.

Çalışmamızda sürekli uzama fizyolojisine sahip olması nedeniyle rat keser dişlerinin kullanılmış olması bu çalışmanın limitasyonlarından biridir. Pulpa kuafajında kullanılan materyallere katkı sağlayarak kuafaj tedavilerinde başarıyı artırma potansiyeline sahip bir materyal olan grafen türevi GNP’nin bu çalışmada kullanılmış olması, bu çalışmanın *in vivo* bir çalışma olması ve dentin köprüsü oluşumunu izlemeyi teyit amacıyla Hematoksilin Eozin

boyamasının yanı sıra Masson's Trichrome boyama yönteminin de histolojik preparatların incelenmesinde kullanılmış olması ise çalışmamızın güçlü yanlarından biridir.

Grafenin biyouyumlu bir materyal olması, sert doku oluşturma potansiyeline sahip olması, fiziksel ve mekaniksel olarak üstün bir yapıya sahip olması nedenleriyle dişhekimliği alanındaki kullanımı ve grafenin diğer türevlerinin de araştırmalarda kullanımı ile özellikle direkt pulpa kuafajında en uygun grafen türevinin ve katkılama oranının belirlenmesi noktalarında daha fazla *in vivo* ve *in vitro* çalışmalara ihtiyaç vardır.

## SONUÇ

GNP'nin Angelus MTA'nın yapısına katılması dentin köprüsü oluşumu ve pulpal doku yanıtları açısından anlamlı bir etki oluşturmamakla birlikte pulpal doku yanıtlarını azaltıcı etkisi görülmüştür. GNP ve grafenin diğer türevlerinin diş hekimliğinde kullanılan materyallerle birlikte kullanımı ile ilgili yapılacak çalışmalar bu materyallerin diş hekimliği uygulamalarındaki artı ve eksilerini görebilmek adına önemlidir.

**Not 1:** Bu çalışma İnönü Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimince desteklenmiştir (Proje Numarası: TCD-2018-1271).

**Not 2:** Bu çalışmanın verileri Necmettin Erbakan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Uluslararası Diş Hekimliği Kongresi (2-3 Ekim 2021, Online Kongre)'nde "Grafen Nanoplatelet-Mineral Trioksit Agregat Karışımının Rat Diş Pulpası Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi" başlığı ile sözlü bildiri olarak sunulmuştur

## KAYNAKLAR

- Akhlaghi, N., Khademi, A. (2015). Outcomes of vital pulp therapy in permanent teeth with different medicaments based on review of the literature. *Dental Research Journal*, 12(5), 406.
- Barthel, C., Levin, L., Reisner, H., Trope, M. (1997). TNF- $\alpha$  release in monocytes after exposure to calcium hydroxide treated *Escherichia coli* LPS. *International Endodontic Journal*, 30(3), 155-159.
- Bollella, P., Fusco, G., Tortolini, C., Sanzò, G., Favero, G., Gorton, L., Antiochia, R. (2017). Beyond graphene: electrochemical sensors and biosensors for biomarkers detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 89, 152-166.
- Bortoluzzi, E. A., Broom, N. J., Bramante, C. M., Consolaro, A., Garcia, R. B., de Moraes, I. G., Bernadineli, N. (2008). Mineral trioxide aggregate with or without calcium chloride in pulpotomy. *Journal of Endodontics*, 34(2), 172-175.
- Bramante C. M., Demarchi A. C. C. O., de Moraes I. G., Bernadineli N., Garcia R. B., Spångberg L. S. W., Duarte, M. A. H. (2008). Presence of arsenic in different types of MTA and white and gray Portland cement. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 106(6), 909-913.

- Bregnocchi, A., Zanni, E., Uccelletti, D., Marra, F., Cavallini, D., De Angelis, F., ... Sarto, M. S. (2017). Graphene-based dental adhesive with anti-biofilm activity. *Journal of Nanobiotechnology*, 15(1), 89. doi: 10.1186/s12951-017-0322-1
- Brizuela, C., Ormeno, A., Cabrera, C., Cabezas, R., Silva, C. I., Ramirez, V., Mercade, M. (2017). Direct pulp capping with calcium hydroxide, mineral trioxide aggregate, and biodentine in permanent young teeth with caries: a randomized clinical trial. *Journal of Endodontics*, 43(11), 1776-1780. doi: 10.1016/j.joen.2017.06.031
- Chatterjee N, Eom H. J., Choi J. (2014). A systems toxicology approach to the surface functionality control of graphene–cell interactions. *Biomaterials*, 35(4), 1109-1127.
- Chng, E. L. K., Chua, C. K., Pumera, M. (2014). Graphene oxide nanoribbons exhibit significantly greater toxicity than graphene oxide nanoplatelets. *Nanoscale*, 6(18), 10792-10797.
- da Rosa, W. L. O., Cocco, A. R., da Silva, T. M., Mesquita, L. C., Galarca, A. D., da Silva, A. F., Piva, E. (2018). Current trends and future perspectives of dental pulp capping materials: A systematic review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 106(3), 1358-1368.
- D'Souza, R. N., Bachman, T., Baumgardner, K. R., Butler, W. T., Litz, M. (1995). Characterization of cellular responses involved in reparative dentinogenesis in rat molars. *Journal of Dental Research*, 74(2), 702-709. doi: 10.1177/00220345950740021301
- Dammaschke, T. (2008). The history of direct pulp capping. *Journal of the History of Dentistry*, 56(1), 9-23.
- Dammaschke, T. (2010). Rat molar teeth as a study model for direct pulp capping research in dentistry. *Laboratory Animals*, 44(1), 1-6. doi: 10.1258/la.2009.008120
- Du, H., Pang, S. D. (2018). Dispersion and stability of graphene nanoplatelet in water and its influence on cement composites. *Construction and Building Materials*, 167, 403-413.
- Erfanparast, L., Iranparvar, P., Vafaei, A. (2018). Direct pulp capping in primary molars using a resin-modified Portland cement-based material (TheraCal) compared to MTA with 12-month follow-up: a randomised clinical trial. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 19(3), 197-203.
- Fridland, M., Rosado, R. (2003). Mineral trioxide aggregate (MTA) solubility and porosity with different water-to-powder ratios. *Journal of Endodontics*, 29(12), 814-817.
- Geim, A. K., Novoselov, K. S. (2010). *Nanoscience and technology: a collection of reviews from nature journals*. *Assembly Autom*, 20, 11-19.
- Guazzo, R., Gardin, C., Bellin, G., Sbricoli, L., Ferroni, L., Ludovichetti, F. S., ... Zavan, B. (2018). Graphene-based nanomaterials for tissue engineering in the dental field. *Nanomaterials*, 8(5), 349. doi: 10.3390/nano8050349
- Gurrero-Girones, J., Alcaina-Lorente, A., Ortiz-Ruiz, C., Ortiz-Ruiz, E., Pecci-Lloret, M. P., Rodriguez-Lozano, F. J., ... Ortiz-Ruiz, A. J. (2020). Melatonin as an Agent for Direct Pulp-Capping Treatment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(3), 1043. doi: 10.3390/ijerph17031043
- Guimarães, B. M., Prati, C., Duarte, M. A. H., Bramante, C. M., Gandolfi, M. G. (2018). Physicochemical properties of calcium silicate-based formulations MTA Repair HP and MTA Vitalcem. *Journal of Applied Oral Science*, 5(26). doi: 10.1590/1678-7757-2017-0115.
- Gurcan, A. T., Seymen, F. (2019). Clinical and radiographic evaluation of indirect pulp capping with three different materials: a 2-year follow-up study. *European Journal of Paediatric Dentistry*, 20(2), 105-110. doi: 10.23804/ejpd.2019.20.02.04
- Hilton, T. J. (2009). Keys to clinical success with pulp capping: a review of the literature. *Operative Dentistry*, 34(5), 615-625.

- Hilton, T. J., Ferracane, J. L., Mancl, L. (2013). Comparison of CaOH with MTA for direct pulp capping: a PBRN randomized clinical trial. *Journal of Dental Research*, 92(7\_suppl), 16-22.
- Huj, C. C., Zhang, C., Yun S. S., Qian Q, Ranly, D. M. (1997). Platelet derived growth factor-BB and epidermal growth factor as pulp capping medicaments in rat incisors. *Journal of Hard Tissue Biology*, 6(3), 121-129.
- Jalan, A. L., Warhadpande, M. M., Dakshindas, D. M. (2017). A comparison of human dental pulp response to calcium hydroxide and Biodentine as direct pulp-capping agents. *Journal of Conservative Dentistry: JCD*, 20(2), 129.
- Jaleel, J. A., Sruthi, S., Pramod, K. (2017). Reinforcing nanomedicine using graphene family nanomaterials. *Journal of Controlled Release*, 255, 218-230.
- Kangarlou, A., Sofiabadi, S., Asgary, S., Mahjour, F., Dianat, O., Yadegari, Z., Younessian, F. (2012). Assessment of antifungal activity of ProRoot mineral trioxide aggregate and mineral trioxide aggregate-Angelus. *Dental Research Journal*, 9(3), 256.
- Kim, J., Kim, Y. R., Kim, Y., Lim, K. T., Seonwoo, H., Park, S., ... Chung, J. H. (2013). Graphene-incorporated chitosan substrata for adhesion and differentiation of human mesenchymal stem cells. *Journal of Materials Chemistry. B*, 1(7), 933-938. doi: 10.1039/c2tb00274d
- Kucukyildiz, E. N., Dayi, B., Altin, S., Yigit, O. (2021). In vitro comparison of physical, chemical, and mechanical properties of graphene nanoplatelet added Angelus mineral trioxide aggregate to pure Angelus mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide. *Microscopy Research and Technique*, 84(5), 929-942. doi: 10.1002/jemt.23654
- Li, Z., Cao, L., Fan, M., Xu, Q. (2015). Direct pulp capping with calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate: A Meta-analysis. *Journal of Endodontics*, 41(9), 1412-1417. doi: 10.1016/j.joen.2015.04.012
- Long, Y., Liu, S., Zhu, L., Liang, Q., Chen, X., Dong, Y. (2017). Evaluation of pulp response to novel bioactive glass pulp capping materials. *Journal of Endodontics*, 43(10), 1647-1650. doi: 10.1016/j.joen.2017.03.011
- Majeed, W., Bourdo, S., Petibone, D. M., Saini, V., Vang, K. B., Nima, Z. A., ... Watanabe, F. (2017). The role of surface chemistry in the cytotoxicity profile of graphene. *Journal of Applied Toxicology*, 37(4), 462-470.
- Orhan, E. O., Maden, M., Senguven, B. (2012). Odontoblast-like cell numbers and reparative dentine thickness after direct pulp capping with platelet-rich plasma and enamel matrix derivative: a histomorphometric evaluation. *International Endodontic Journal*, 45(4), 317-325. doi: 10.1111/j.1365-2591.2011.01977.x
- Parirokh, M., Torabinejad, M. (2010). Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *Journal of Endodontics*, 36(1), 16-27. doi: 10.1016/j.joen.2009.09.006
- Pinzon, R. D., Kozlov, M., Burgh, W. P. (1967). Histology of rat molar pulp at different ages. *Journal of Dental Research*, 46, 202-208.
- Poon, J., Batchelor-McAuley, C., Tschulik, K., Compton, R. G. (2015). Single graphene nanoplatelets: capacitance, potential of zero charge and diffusion coefficient. *Chemical Science*, 6(5), 2869-2876.
- Qu, Y., He, F., Yu, C., Liang, X., Liang, D., Ma, L., ... Wu, J. (2018). Advances on graphene-based nanomaterials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, 90, 764-780.
- Qutieshat, A. S., Al-Hiyasat, A. S., Islam, M. R. (2020). The effect of adding graphene oxide nanoplatelets to Portland cement: Potential for dental applications. *Journal of Conservative Dentistry*, 23(1), 15-20.
- Ritter, K. A., Lyding, J. W. (2009). The influence of edge structure on the electronic properties of graphene quantum dots and nanoribbons. *Nature Materials*, 8(3), 235-242.

- Radunovic, M., De Colli, M., De Marco, P., Di Nisio, C., Fontana, A., Piattelli, A., ... Zara, S. (2017). Graphene oxide enrichment of collagen membranes improves DPSCs differentiation and controls inflammation occurrence. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 105(8), 2312-2320. doi: 10.1002/jbm.a.36085
- Rasaratnam, L. (2016). Review suggests direct pulp capping with MTA more effective than calcium hydroxide. *Evid Based Dent*, 17(3), 94-95. doi: 10.1038/sj.ebd.6401194
- Santos, A. D., Moraes, J. C. S., Araújo, E. B., Yukimitu, K., Valério Filho, W. V. (2005). Physico-chemical properties of MTA and a novel experimental cement. *International Endodontic Journal*, 38(7), 443-447.
- Schour, I., Van Dyke D. B. (1934). Changes of the teeth following hypophysectomy. II. Changes in the molar of the white rat. *Journal of Dental Research*, 14, 69-84.
- Shin, S. R., Li, Y. C., Jang, H. L., Khoshakhlagh, P., Akbari, M., Nasajpour, A., ... Khademhosseini A. (2016). Graphene-based materials for tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 105, 255-274. doi: 10.1016/j.addr.2016.03.007
- Shokrieh M., Esmkhani M., Shahverdi H. R., Vahedi F. (2013). Effect of graphene nanosheets (GNS) and graphite nanoplatelets (GNP) on the mechanical properties of epoxy nanocomposites. *Science of Advanced Materials*, 5(3), 260-266.
- Sloan, A. J., Smith, A. J. (1999). Stimulation of the dentine-pulp complex of rat incisor teeth by transforming growth factor-beta isoforms 1-3 in vitro. *Archives of Oral Biology*, 44(2), 149-156. doi: 10.1016/s0003-9969(98)00106-x
- Stanley, H. R. (1989). Pulp capping: conserving the dental pulp—can it be done? Is it worth it? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 68(5), 628-639.
- Su, I. H., Lee, C. F., Su, Y. P., Wang, L. H. (2016). Evaluating a cobalt-tetraphenylporphyrin complex, functionalized with a reduced graphene oxide nanocomposite, for improved tooth whitening. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 28(5), 321-329. doi: 10.1111/jerd.12240
- Sun, N., Yin, S., Lu, Y., Zhang, W., Jiang, X. (2020). Graphene oxide-coated porous titanium for pulp sealing: an antibacterial and dentino-inductive restorative material. *Journal of Materials Chemistry. B*, 8(26), 5606-5619. doi: 10.1039/d0tb00697a
- Tahriri, M., Del Monico, M., Moghanian, A., Tavakkoli Yarakı, M., Torres, R., Yadegari, A., Tayebi, L. (2019). Graphene and its derivatives: Opportunities and challenges in dentistry. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 102, 171-185. doi: 10.1016/j.msec.2019.04.051
- Wang, F., Drzal, L. T., Qin, Y., Huang, Z. (2015). Mechanical properties and thermal conductivity of graphene nanoplatelet/epoxy composites. *Journal of Materials Science*, 50(3), 1082-1093.
- Wu, Z. S., Ren, W., Gao, L., Liu, B., Jiang, C., Cheng, H. M. (2009). Synthesis of high-quality graphene with a pre-determined number of layers. *Carbon*, 47(2), 493-499.
- Zhao, H., Ding, R., Zhao, X., Li, Y., Qu, L., Pei, H., ... Zhang, W. (2017). Graphene-based nanomaterials for drug and/or gene delivery, bioimaging, and tissue engineering. *Drug Discovery Today*, 22(9), 1302-1317. doi: 10.1016/j.drudis.2017.04.002
- Zhao, J., Pei, S., Ren, W., Gao, L., Cheng, H. M. (2010). Efficient preparation of large-area graphene oxide sheets for transparent conductive films. *ACS Nano*, 4(9), 5245-5252. doi: 10.1021/nn1015506
- Zhu, C., Ju, B., Ni, R. (2015). Clinical outcome of direct pulp capping with MTA or calcium hydroxide: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(10), 17055-17060.