



The Journal of Turkish Dental Research
Türk Diş Hekimliği Araştırma Dergisi

e-ISSN: 2822-4310, Cilt 3, Sayı 1, Ocak - Nisan 2024
Volume 3, Number 1, January, April 2024

DeneySEL Hayvan Çalışmalarında Pulpitis Modelleri: Geleneksel Derleme

Pulpitis Models in Experimental Animal Studies: A Traditional Review

Pulpitis İndüksiyon Modelleri

Burcu PİRİMOĞLU¹, Cangül KESKİN², Abdurrahman AKSOY³

¹Ondokuz Mayıs University Department of Endodontics, Faculty of Dentistry 55400 Samsun, Turkey
burcupirimoglu@hotmail.com
ORCID: 0000-0003-4104-546X

²Department of Endodontics, Faculty of Dentistry, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey
canglkarabulut@gmail.com
ORCID: 0000-0001-8990-4847

³Department of Pharmacology & Toxicology, Faculty of Veterinary, Ondokuz Mayıs University; Experimental Animal Application and Research Center, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey
aksoy@omu.edu.tr
ORCID: 0000-0001-9486-312X

Yazar Katkıları: Bu çalışma hazırlanırken tüm yazarlar eşit katkı sağlamıştır.

Çıkar Çatışması: Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Finansal Kaynak: Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Makale Bilgisi / Article Information

Makale Türü / Article Types: Derleme / Review

Geliş Tarihi / Received: 22-10-2023

Kabul Tarihi / Accepted: 02-03-2024

Yıl / Year: 2024 | **Cilt – Volume:** 3 | **Sayı – Issue:** 1 | **Sayfa / Pages:** 329-343

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Burcu PİRİMOĞLU

<https://doi.org/10.58711/turkishjdentres.vi.1378430>

Deneyisel Hayvan Çalışmalarında Pulpitis Modelleri: Geleneksel Derleme

Pulpitis Models in Experimental Animal Studies: A Traditional Review

ÖZET

Hayvan deneyleri, hayvanların bilimsel çalışmalarda etik ilkeler doğrultusunda kontrollü olarak kullanılmasıdır. Deneyisel in vivo araştırmalarda denek kullanmak bir zorunluluktur; bu yüzden deney hayvanları insan deneklere bir alternatif olmuştur. In vitro deneyler ile elde edilen verilerin klinik uygulamalardan uzak olması sebebiyle sınırlı bilgi sağlarlar. İyi tasarlanmış bir hayvan deneyi, insanlarda gelecekteki klinik deneyler için temel bilgiler sağlar. Hayvan deneyleri, hastalıklar hakkında bilgi edinilmesinde, yeni bir ilaç veya cerrahi tekniğin test edilmesinde bilime önemli katkılar sağlamıştır. Diş hekimliği alanında, özellikle de endodonti alanında da birçok çalışmada hayvan modelleri kullanılmıştır. Bu çalışmaların yapılabilmesi için öncelikli olarak uygun bir hayvan modeli ve etik ilkeler ile elde edilecek sonuçların uyarlanabilir olması gerekir. Dental anomalilerin, morfolojinin, hastalık süreci ve iyileşmesinin tüm yönlerini gösteren tek bir hayvan modeli olmadığı için, genellikle hastalık ve tedavi mekanizmaları hakkında bilgi sağlayan spesifik modeller kullanılmaktadır. Diş hekimliği araştırmalarında, maymun, köpek, tavşan, koyun, domuz, gelincik, sıçan ve fareler hayvan modelleri için kullanılmaktadır. Çalışmanın amacı, hipotezi, uygulanacak analiz teknikleri ve elde edilecek sonuçların insan için uyarlanabileceği hayvan modeli seçilmelidir. Çalışmada kullanılan deney hayvanlarının refahı, yasa ve yönetmeliklerine uygun olmalıdır ve hayvanların gereksiz acı ve sıkıntıya maruz kalmaması sağlanmalıdır. Bu derlemede, endodonti alanında hayvan modeli araştırması planlanırken hayvan modelinin seçimi, çalışmanın işleyişi ve etik kuralların uygulanması ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hayvan Deneyleri, Pulpitis Modelleri, Endodonti

ABSTRACT

Animal experiments are the controlled use of animals in scientific studies in line with ethical principles. Using subjects in experimental in vivo research is a must; therefore, experimental animals have become an alternative to human subjects. They provide limited information due to the fact that the data obtained from in vitro experiments are far from clinical applications. A well-designed animal experiment provides the basis for future clinical trials in humans. Animal experiments have made important contributions to science in gaining knowledge about diseases, testing a new drug or surgical technique. Animal models have been used in many studies in the field of dentistry, especially in the field of endodontics. In order to carry out these studies, first of all, an appropriate animal model and ethical principles and the results to be obtained must be adaptable. Since there is no single animal model that demonstrates all aspects of dental anomalies, morphology, disease process and healing, specific models are often used that provide information about disease and treatment mechanisms. In dental research, monkeys, dogs, rabbits, sheep, pigs, ferrets, rats and mice are used for animal models. The aim of the study, the hypothesis, the analysis techniques to be applied, and the animal model to which the results can be adapted for human should be selected. The welfare of the experimental animals used in the study must comply with the laws and regulations and it must be ensured that the animals are not exposed to unnecessary pain and distress. In this review, the selection of the animal model, the operation of the study and the application of ethical rules while planning an animal model research in the field of endodontics are discussed.

Keywords: Animal Experiments, Pulpitis Models, Endodontics

Giriş

Hayvan Deneyleri

Hayvan deneyleri hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen kontrollü bilimsel araştırmalardır. Deney hayvanı terimi bilimsel ve etik kurallara uyularak yapılan araştırmalarda kullanılmak üzere yetiştirilmiş hayvanı tanımlar.¹ Deneysel hayvan çalışmaları, mekanik soruları ele alma ve hipotezler ile tedaviler arasında önemli bir bağlantı oluşturma açısından kritik öneme sahiptir ve bilimin gelişiminde büyük katkı sağlar. Bu hayvanlar, çeşitli biyolojik ve genetik araştırmalarda, tıbbi müdahale araştırmalarında, ilaç araştırmalarında, davranış modellerinde ve eğitim alanlarında sonuçları insanlara genellemek amacıyla kullanılmaktadır. Deneysel hayvan çalışmaları, yeni ilaç ve tıbbi araçların geliştirilmesi için kilit çalışmalardır.² Hastalıkların fizyopatolojisini anlamak, tedavi yöntemleri geliştirmek ve yeni fikirleri, kavramları ve teknolojileri test etmek için araştırmacılar, bilimsel geçerlilikleri nedeniyle öncelikle hayvan modellerine başvururlar. İyi tasarlanmış bir hayvan deneyi, gelecekte insanlarda yürütülecek randomize klinik deneyler için temel bilgiler sağlar. Böylece insana özgü sorunların çözümünde, ortaya çıkabilecek risk minimize edilmektedir.³

In vitro deneyler, hücre ve mikroorganizmalar üzerindeki biyolojik etkilerin tekrarlanabilir ve hızlı bir şekilde değerlendirilmesini sağlar. Ancak, bu çalışmaların birçok sınırlaması vardır. Organizmanın karmaşıklığını ve hücreler ile organ yapısı arasındaki çeşitli etkileşimleri yansıtmazlar. Diş pulpasının fizyopatolojisi, yeni teşhis araçları veya terapötik stratejiler incelenirken hayvan çalışmaları gerekli ve in vitro deneyleri tamamlayıcı niteliktedir.⁴

Hayvan türünün ve deney modelinin seçimi, çalışmanın amacına ve metodolojisine bağlıdır. Hayvan modellerinin kullanımına uygun alternatif bir yöntem yoksa (hücre kültürü, in silico, mikroçip gibi), çeşitli bilimsel kriterler (fizyolojik, biyokimyasal, anatomik, immünojenik, metabolik vb.) ve uygulama temelinde uygun tür seçilir. Hayvan araştırmaları; küçük hayvanlar (sıçanlar, fareler, tavşanlar, gelincikler, balıklar ve kuşlar), büyük hayvanlar (köpekler, kediler, domuzlar ve keçiler) ve insan dışı primatlar olmak üzere üç ana hayvan kategorisi üzerinde yürütülmektedir.⁴

Hayvan Deneylerinin Yasal ve etik Çerçevesi

Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik sayesinde;

- *Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, eğitim, öğretim gibi etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili kabul edilebilir etik standartların belirlenmesi,*

- *Hayvan deneyleri merkezi etik kurulu ve hayvan deneyleri yerel etik kurullarının kuruluş ve çalışmalarına yapılması planlanan işlemlerin sunulması,*

- *Araştırma ve çalışma önerilerinin incelenmesi ve izin verilmesi ve ardından uygulamaların izlenmesi,*

- *Deney hayvanları üzerinde yapılan bütün prosedürlerin kayıt altına alınması ve bu prosedürlerin anında ya da geriye doğru izlenebilmesi,*

- *Bütün işlemlerin denetlenebilirliğinin sağlanması ve ilgili işlemlerin gerektiğinde sonlandırılmasına ilişkin esasların belirlenmesi sağlanır.⁵*

Bir araştırmacının araştırmasında yararlandığı hayvanlara uygun bakım şartları (nem, ışık, yem ve uygun kafes şartları) ve onların acılarını veya sıkıntılarını önlemesi veya en aza indirmesi gerekir. Araştırma protokolü 'Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu' tarafından gözden geçirilip onaylanana kadar hayvan araştırması yapılamaz. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun misyonu, prosedürlerin en yüksek standarda göre yapılmasını, hayvan araştırmalarının hayvan refahı yasa ve yönetmeliklerine uygun olmasını ve hayvanların gereksiz acı ve sıkıntıya maruz kalmamasını sağlamaktır.^{6,7}

Hayvanların bilimsel amaçlarla kullanılmasının düzenlenmesi ve etik temeli Russel ve Burch^{8,9} tarafından 1959 yılında ortaya konan 3R kuralı ile atılmıştır. Bu kurallar; yerine koyma (Replacement), hayvan sayının azaltılması (Reduction) ve iyileştirme (Refinement). Yerine koyma(Replacement), deney hayvanı yöntemleri ile yapılacak bir çalışma yerine benzer sonuçlar sunan teknolojileri veya yaklaşımları kullanmayı ifade eder.¹⁰ In vivo modellerin in vitro ile değiştirilmesi, aynı hedefe ulaştırılacaksa filogenetik skalada daha yüksekte yer alan hayvan yerine daha aşağıda bulunan bir hayvan kullanılması, in silico yani bilgisayar simülasyonu yoluyla gerçekleştirilmesi, mikroakışkan modeller gibi alternatif tekniklerin tercih edilmesi ya da deney hayvanı tanımı dışındaki diğer canlı türlerinin kullanılmasıdır. Azalt-

ma(Reduction), çalışma için kullanılan hayvan sayısını en aza indiren ve en iyi kalitede çalışma tasarımını oluşturmaya yönelik uygulamaları ifade eder.^{6,10} İyileştirme(-Refinement) ise, yaşam koşullarını iyileştirecek barınma, üreme, anestezi ve analjezi üzerinden hayvanın yaşamı boyunca tecrübe edeceği gerginliği, stresi ve ağrıyı en aza indiren yöntemleri ve ötenazi için en uygun yöntemin seçilmesini ifade eder. 3R ilkeleri artık araştırmalarda hayvan kullanımı için bir ölçüt olarak uluslararası düzeyde kabul görmektedir. Laboratuvar hayvanlarının uygun ve makul kullanımında bilim adamlarının sahip olmaları gereken etik bütünlüğü ve dürüstlüğü vurgulamak için 'Sorumluluk' (Responsibility) de dördüncü R olarak eklenmiştir.^{11,12}

Kolayca modifiye edilebilir ve pek çok çalışmaya entegre edilebilir özellikleriyle mikroakışkan sistemler son yıllarda araştırmacıların ilgi odağındadır. Mikroakışkan çipler sayesinde kontrollü ve optimize hücre kültürü çalışmaları yapılabilmektedir. Özellikle rejeneratif tıbbın ilgisini çeken kök hücrelerin tek başına veya diğer hücrelerle birlikte kültürlenmesi ve kullanılan kök hücrelerin istenilen yönde farklılaştırılması çip sistemlerinde sıklıkla çalışılmaktadır.¹³ Bu sistemlere hücreler arası ortam koşullarını taklit edecek hidrojellerin veya hücrelerinden arındırılmış organ matrislerinin de ilave edilmesi in vivo'ya daha yakın sonuçlar vermektedir. Son zamanlarda kullanılan 2B in vitro modeller ile in vivo hayvan çalışmaları klinik hepatotoksisiteyi tahmin etmede başarısız kalabilmektedir. Klinik öncesi testlerde hayvan modellerinin kullanılması gerekli olmakla birlikte hayvan çalışmaları ile insan toksisitesi arasındaki bulgularının uyumu %55 seviyelerindedir.¹⁴ Tüm bunlar mikroçip uygulamalarını ilgi çekici kılmaktadır. Mikroakışkan çip sistemlerinin ilerleyen zamanlarda kişiselleştirilmiş tıp, ilaç toksisite deneyleri, hasta-yanı hızlı tanı kitleri ve birçok temel bilim araştırmasına yeni bir boyut kazandıracağı, özellikle hayvan deneylerinin yerini alarak daha güvenilir ve ucuz potansiyel yöntemlerin başında geleceği öngörülmektedir.¹³

Belirli bir standardı yakalayamayan hayvan çalışmaları, klinik çıkarımlar yapılamayacak sonuçlar üretme eğilimindedir, bu da hayvan deneylerinin amacına zarar verir.^{15,16} Hayvan çalışmaları yayınlarının kalitesini iyileştirmeye ve doğru bir şekilde raporlanmasına yö-

nelik çeşitli ulusal ve uluslararası kuruluşlar tarafından kılavuzlar geliştirilmiştir. Bu kılavuzlardan bir tanesi Animals in Research : Reporting In Vivo Experiments; 'Araştırmada Hayvanlar : In Vivo Deneylerde Raporlama' (ARRIVE)'dir.¹⁷ Preferred reporting items for animal studies in endodontology: a development protocol; 'Endodontide Hayvan Çalışmaları için Tercih Edilen Raporlama Öğeleri' (PRIASE) isimli bir kılavuz da endodonti çalışmaları için özel olarak tasarlanmıştır. Bu kılavuzlar, bir hayvan çalışmasının geliştirilmesine, hayvancılık ve refahı üzerine tedavilerin sonuçlarını ve insanlarda klinik çalışmalara rehberlik etmedeki yararlarını değerlendirmek için çalışmaların kalitesini ve tekrarlanabilirliğini iyileştirmek için gerekli olan ana ilkelerin geliştirilmesine odaklanmaktadır.¹⁸

Pulpitis İndüksiyon Modelleri

Pulpa, mineralize sert yapılar (mine ve dentin) içinde kapsüllenmiş benzersiz bir bağ dokusudur.⁴ Diş çürüğü, travma ve enfeksiyon varlığında pulpa dokusu zarar görür.¹⁹ Pulpanın inflamasyonu sonucu geri dönüşü olmayan pulpitis süreci başlar.²⁰ Mikrobiyal yük ve konağın savunma yanıtı arasında bir denge sağlanamadığında pulpa, kronik inflamasyon ya da pulpa nekrozu gibi daha tehlikeli bir sürece girebilir.²¹

Endodontik tedavilerde kullanılabilecek farklı terapötik yaklaşımları değerlendirmek için güvenilir bir pulpitis hayvan modeline sahip olmak önemlidir.⁴ Pulpitis indüklenmesi için ideal hayvan modeli anatomik, odontolojik, biyolojik ve fizyolojik açıdan insanlara mümkün olduğunca yakın olmalı, çalışma koşulları pratik olmalı, en kesin ve bilimsel olarak yorumlanabilir sonuçları vermeli, araştırma ekibi için teşkil edebileceği biyolojik risk minimal olmalı, tekrarlanabilir olmalı ve makul satın alma ve bakım maliyetlerine sahip olmalıdır.^{22,23} Seçim ayrıca en az hayvana ihtiyaç duyan türlere yönelik olmalı, maksimum miktarda bilgi sağlamak için minimum hayvan sayısı üzerinde araştırma yapılmalıdır.⁴

İndüklenmiş pulpitis ile ilgili ilk çalışmalar, yarım yüzyıldan fazla bir süre önce maymunlar üzerinde yapılmıştır.²⁴ Bu çalışmaların ilk amacı, klinik koşulları simüle eden durumlar altında pulpa iltihabının iyileşme süreçlerinin ve operatif prosedürlerin ve restoratif materyallerin etkisinin araştırılmasına izin verecek bir model geliştirmektir. Furseth ve arkadaşları²⁵, maymun dişlerinde farklı

pulpitis formlarının tekrarlanabilir şekilde indüklenebileceği sonucuna varmışlardır. İnsan dışı primatlar, doku patolojisini ve iyileşmeyi analiz etmek için kabul edilen modellerdir, çünkü bunlar insanlara en yakın tahmin edilebilir düzeydedirler.²⁶ Ancak bu çalışmalarda hangi dişin tedavi edildiği veya maymunların yaşı belirtilmemiş, sadece histolojik analiz ile pulpal inflamasyon ölçümleri raporlanmıştır. Ayrıca, inflamasyonun indüklenmesinden sonraki analiz süreleri, çalışmadan bağımsız olarak, bir veya iki kez ile sınırlıdır ve bu süre 14 günü geçmemektedir. Bu eski çalışmalardan elde edilen veriler o dönemde ARRIVE gibi standart raporlama kılavuzları olmadığından hak ettikleri kalitede veriler sağlamamaktadır. Etik tartışmalardan ötürü araştırmalarda insan dışı primatların kullanımı giderek sınırlandırılmış ve azaltılmıştır. Günümüzde sadece alternatif olarak kullanılacak başka bir yöntem veya tür olmadığına bilimsel deneylerde kullanılabilirler.²³

Pulpitis indüksiyonunda en çok kullanılan hayvan türlerinden biri de köpeklerdir.²⁷⁻²⁹ Bunun için çoğunlukla Beagle cinsi köpekler kullanılır.⁴ Köpeklerin kesici, kanin ve premolar dişleri anatomik olarak insanlarınkinen yakındır. Ancak, kan damarlarının ve sinir dallarının köke geçişi için karmaşık bir boşluk sistemine sahip bir deltadan oluşan kanalın apikal kısmı insandakinden farklı olduğundan, pulpa anatomisi olgun dişlerin incelenmesi için manipülasyonunu kısıtlar.³⁰ Masson ve ark.³¹ bir yaşından büyük köpeklerden çekilen dişlerin tamamında apikal delta görüldüğünü bildirmiştir. Bu yapı, apikal lezyonun kalıcılığına ve tedavinin engellenmesine neden olan temizleme veya doldurma eksikliği ile ilişkilidir. Köpeklere benzer şekilde apikal delta gösteren dişlere sahip olan kediler ve gelincikler de olgunlaşmamış dişlerde uygulanacak deneylerin tasarımı için uygundur.^{32,33}

Fare ve sıçan modelleri küçük boyutlara sahip olmaları, kolayca bulunabilmeleri, diğer hayvanlara kıyasla daha ekonomik olmaları, kolay üremeleri, homojen bir şekilde kullanılmalarının kolay olması ve daha fazla sayıda hayvan üzerinde çalışma imkanı sağlamaları açısından avantajlıdır.⁴ Kemirgenler, in vivo immünolojik deneylerin temel dayanağıdır ancak farelerin/sıçanların ve insanların bağışıklık sistemlerinin oldukça benzer olmasına rağmen özellikle gelişim, aktivasyon ve agresyona karşı tepkide bazı farklılıklar sergilediğini belirtmek gerekir.

Reseptörler, defensinler, sitokinler ve sitokin reseptörleri insan ve kemirgenler arasında farklılık gösterir.³⁴ Bu nedenle, belirli bir fare modeli yanıtının insanlarda tam olarak aynı şekilde meydana gelmeyebileceği ihtimalini göz önünde bulundurmak gerekir. Ek olarak, apikal periodontitis patolojisini incelemek için bir dizi küçük hayvan modeli geliştirilmiş olsa da³⁵⁻³⁷, kök kanal tedavisinin etkinliğinin değerlendirileceği uygun bir hayvan modeli bulunmamaktadır. Bunun nedeni, kemirgenlerde küçük diş boyutları ve kök kanalının anatomik karmaşıklığı ve standart endodontik el aletlerinin bu dişler için çok büyük olmasıdır.³⁸ Sıçanların mandibular birinci molar dişi, meziodistal olarak yaklaşık 3 mm çapında ve bukkolingual olarak 2 mm çapındadır; bu, insan mandibular birinci molar dişinin boyutlarının yaklaşık dörtte biri kadardır. Ayrıca sıçan dişlerinin dört kökü vardır (bukkal, lingual, mezial ve distal) ve morfolojisi insan dişlerinden farklıdır. Bu nedenle insan dişleri için tasarlanmış endodontik aletlerle çıplak gözle kanal tedavisi yapmak zordur. Bu durum maksimum büyütme (x32) bir mikroskop kullanımını ve de küçük alet kullanımını gerektirir. Yoneda ve ark.³⁸, sıçanların diş köklerinde olgunlaşma sürecini gözlemlenmek amacıyla 10 haftalık sıçanları kullandıkları araştırmalarında, yaş ile beraber kalsifikasyon sebebiyle kök kanalının daralabileceği, bunların da eğe kullanımını zorlaştıracağını bildirmiştir. Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde; pulpa ekspozundan 6 hafta sonra, sadece mezial kökte tedavi grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüş ve mezial kök lezyon hacminde küçülme gözlenmiştir. Distal kökün periapikal lezyonlarının iyileşmesinin engellendiği ve distal kökte lezyon hacminin azalmadığı görülmüştür. Bu bulgular, daha ince kanal duvarları sahip olan distal kökün kolay kırılabilmesi ve morfolojisinin karmaşıklığı ile ilgili olabilir. Bu nedenle çalışmalarda mandibular birinci moların sadece mezial köklerinin tedavisi ve takibi uygun görülmüştür.³⁸

Bir pulpitis indüksiyon modeli, pulpaya erişimin sağlanması ve pulpa odasının ağız ortamına açılmasıyla başlar. Bu basamağı, pulpa dokusunun tamamen çıkarılması ya da kök pulpasına dokunmadan koronal pulpanın uzaklaştırılması takip eder.³⁹⁻⁴⁶ Bazı araştırmacılar, yeni tedavi uygulamalarına verilen pulpal yanıtını değerlendirmek için tedavilerini uygularlar.⁴⁷ Buna karşılık, bazı çalışma-

lar, bakterilerin etkilerini değerlendirmek için periapikal lezyonun gözlemlenmesiyle mikrobiyal kontaminasyonu doğrular. Giriş kavitesinin 1–3 hafta açık bırakılmasıyla gerçekleştirilen aerobik koşullar altında bakteriyel invazyon indüklenebilir.^{44,45} Anaerobik teknik, pulpanın oral mikrobiyoma maruz kalmasıyla^{40,46,48,49} ya da kök kanallarına kasıtlı olarak plak süspansiyonu yerleştirilmesi ile uygulanabilir.^{39,41-43,50-53} Bakteriyel faktörlerin etkisini değerlendiren yöntemlerin klinik tedavileri daha kolay yansıttığı görülmektedir. Ancak, oral mikrobiyoma açık bırakılan pulpada tükürüğün yüksek pH'ı sebebiyle bakteri kolonizasyonu olumsuz etkilenebilir bu yüzden bakteri süspansiyonunun direkt kanal içine verilmesinin daha fazla tercih edildiği göz önünde bulundurulmalıdır.⁵⁴

Pulpa ekspozu ve oral kontaminasyon ile indüklenen pulpitis, pulpitisin klinik gelişimini simüle etmek için iyi bir indüksiyon modeli gibi görünmektedir. Ameliyat protokolü çok fazla adım içermese de ağız boşluğunun dar olması ve dişlerin küçük olması nedeniyle ameliyat mikroskobu gibi cerrahi materyaller ve beceri gerektirir. Ayrıca, giriş kavitesinin boyutu ve pulpayı açığa çıkarmak için kullanılan materyallerin, inflamasyonun indüksiyon kinetiği üzerinde bir etkisi olduğu görülmektedir. Birinci indüksiyon tekniğinde, pulpa açığa çıkana kadar su spreyi altında rond frezin çeyreği ile veya ters koni karbid frez ile sınıf I veya sınıf V kaviteler oluşturulur.^{24,55} Bazı araştırmacılar pulpaya ulaşırken kavite açmak için frez kullanırken, bazıları da dentin tabanının şeffaflığı ile pulpa görünür hale gelene kadar endodontik bir el eğesi kullanır.⁵⁶ Endodontik el eğesinin kullanımı, açılan pulpanın çapını kontrol etmeyi sağlar, böylece tüm örneklerde ekspoz alanı aynı boyutta olur ve bu da işlem basamaklarının standardizasyonunu sağlar.⁴

İkinci yöntem, bir önceki yöntem gibi aynı koşullar altında, pulpası açığa çıkan ya da çıkmayan kaviteler oluşturarak yapılır. Kavite açıldıktan sonra, lipopolisakarit⁵⁷, Streptococcus mutans⁵⁸ veya insan çürük dentini²⁸ gibi eksojen toksin kaynakları ya doğrudan pulpa ile temas edecek şekilde ya da dişin yakına yerleştirilir. LPS, pulpa inflamasyonunu incelemek için kullanılan en yaygın uyarıcıdır. Bu sayede toksinlerin dentin tübüllerinden difüzyonu sağlanır. İzole bakterilerin uygulanmasına benzer şekilde, çürük insan dentininin pulpaya maruz bırakılmadan kullanılması inflamatuvar bir yanıtı indük-

leyebilir. Çürük dentin kullanımıyla ilgili en büyük sorun, bireysel bakteri kültürleri kullanıldığında standardize edilebilen bakteri yükünün kontrol edilememesidir.⁵⁸ Daha sonra kavite, ağız ortamından ve diğer potansiyel bakteriyel kontaminasyonundan korunması için ışııkla sertleşen rezin veya amalgam ile kapatılır.^{28,57,58} Frez kullanımını gerektiren kavitelerin, bakteriler tarafından indüklenen inflamasyona ek olarak mekanik bir inflamasyon da meydana getireceği unutulmamalıdır. Bu nedenle, tek başına kavite açma işleminin etkisini değerlendiren bir kontrol grubu oluşturulmalıdır. Ayrıca, açılan kavitelerin standardizasyonu (derinlik, açma süresi) ve mikro-bilgisayarlı tomografi gibi modern non-invaziv görüntüleme teknolojilerinin kullanımıyla standartlaştırılması gerekir. Non-invaziv görüntüleme yöntemleri, verilerin birkaç kez toplanmasına imkan sağlar, böylece veri elde etmek için gereken hayvan sayısını azaltır.¹⁸ Farklı pulpitis indükleme yöntemlerinin kullanıldığı güncel endodontik çalışmalardan örnekler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Table I. Endodontik çalışmalarda kullanılan farklı pulpitis indükleme yöntemlerinin hayvan türleri ve değerlendirme yöntemlerine göre değerlendirilmesi

Araştırmacı	Yıl	alışma Künyesi	Hayvan Türü	Pulpitis İndükleme Modeli	Amaç	Değerlendirme Yöntemi	Sonuç
Furseth ve ark.	1979	https://doi.org/10.1016/0003-9969(79)90213-9	Sağlıklı bir yetişkin Afrika Grivet Maymununun (Cercopithecus aethiops) 5 dişi	Pulpa ekspozu olmadan kaviteye yumuşak insan çürük dentini indüksiyonuyla	Bu indükleme yönteminin etkisini incelemek amacıyla	H&E Boyama ve Taramalı Elektron Mikroskopu	Pulpitis indüklenen dişlerde şiddetli iltihabi reaksiyon gözlenmiştir.
S. Heide	1991	https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.1991.tb00118.x	13 maymunun daimi kesici dişleri	Açılan kaviteilerin ağız ortamına açık bırakılmasıyla	Pulpa kaplama ve pulpotominin kontamine pulpaların sert doku köprülerine etkisi araştırmak amacıyla	H&E Boyama	Kısmi pulpotomi 168 saat sonra yapıldığında 4 saat sonra yapıłana kıyasla benzer bir fark gözlenmiştir.
Tziafas ve ark	2006	https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2006.01183.x	4 adet köpek	Pulpa ekspozu sonrası Streptokok indüksiyonuyla	Antibakteriyel monomer MDPB içeren adeziv sisteminin, köpek dişlerindeki enfekte boşluklardaki pulpa-dentin kompleksinin onarım kapasitesi üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla	H&E Boyama ve Modifiye Brown-Brenn Tekniği	Yeni antibakteriyel sistem, enfekte olmuş pulpada canlılığını ve birincil odontoblastik fonksiyonu korumuş, onarıcı dentin oluşumuna müdahale etmiştir.
Thibodeau ve ark.	2007	https://doi.org/10.1016/j.joen.2007.03.001	6 köpeğin 60 immatür dişi	Köpeklerden alınan supragingival plak indüksiyonuyla	İmmatür köpek dişlerinde nekrotik-enfekte kök kanallarının revaskülarizasyonuna yardımcı olmak için bir kollajen solüsyonunun yeteneğini incelemek amacıyla	H&E Boyama	Dezenfekte edilmiş immatür köpek kök kanal sistemlerinin revaskülarizasyonu mümkündür.
Cannon ve ark.	2008	https://doi.org/10.17796/jcpd.33.1.761h028338322578	4 primat, genç yetişkin erkek Capuchin Cebus Apella	İnsan diş abselerinden alınan patojenlerin 30 dk indüksiyonuyla	Kontamine primat pulpalarının iyileşmesinde antibakteriyel ajanların ve mineral trioksit agregatının etkinliğini karşılaştırmak amacıyla	H&E Boyama	Otik süspansiyonlar ve MTA, bakteriyel enfeksiyona sahip pulpaların tedavisinde etkilidir ve ekspoz alanı üzerinde sert doku köprüsünün üretimini teşvik etmiştir.
Shahravan ve ark.	2010	https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.2009.03312.x	6 sağlıklı köpekte 47 olgun alt ve üst dişi	Kaviteye yumuşak insan çürük dentini indüksiyonuyla	Yumuşak insan çürük dentini ile indüklenen köpek dişlerinin pulpasının reaksiyonunu araştırmak amacıyla	H&E Boyama	7 gün sonra hiperemi ve fibrozis ile karakterize orta ila şiddetli pulpitis gözlenmiştir.

da Silva ve ark.	2010	https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.12.046	4 adet 4 aylık köpek	Açılan kaviterin 1 hafta ağız ortamına açık bırakılmasıyla	İmmatür köpek dişlerinde kök kanal dezenfeksiyonda apikal negatif basınçlı irrigasyona karşı apikal pozitif basınçlı irrigasyon ve triantibiyotik intrakanal pansuman kullanılarak tamamlanan endodontik tedavinin revaskülarizasyon ve periapikal onarımı in vivo olarak değerlendirmek amacıyla	H&E Boyama ve Mallory Trichrome Boyama	EndoVac sistemi ile sodyum hipoklorit irrigasyonu, apikal periodontitisli immatür dişlerde umut verici bir dezenfeksiyon protokolü olarak kabul edilebilir, bu da kanal içi antibiyotik kullanımının gerekli olmayabileceğini düşündürmüştür.
Zuong ve ark.	2010	PMID: 21365851	4 aylık köpek immatür 6 ön dişi	Köpekten alınan supragingival plak indüksiyonuyla	Apikal periodontitisli hayvan modelinin immatür ön dişlerinde hem apeksifikasyon hem de revaskülarizasyonun terapötik etkinliğini karşılaştırmak ve kök kanalında revaskülarizasyonun histolojik durumunu gözlemek amacıyla	H&E Boyama	Revaskülarizasyon, kronik periapikal enflamasyonlu immatür ön dişlerin iyileşmesini artırabilir, kök kanalı içindeki hayati rejeneratif doku kalsifikasyon içeren granülasyon dokusudur.
Chung ve ark.	2011	Chung MK., et al. Lipopolysaccharide-induced pulpitis up-regulates TRPV1 in trigeminal ganglia. Journal of dental research, 2011, 90,9: 1103-1107.	56 tane C57BL/6 faresi maksiller 1 molar dişleri	Pulpa ekspoza olmadan kaviteye E.Coli LPS indüksiyonuyla	LPS uygulamasının trigeminal nosiseptörlerde TRPV1'i modüle edip etmediğini incelemek amacıyla	PCR İmmünohistokimyasal Boyama	LPS uygulanan grupta salinle yapılan kontrol grubuna göre proinflatuar sitokin daha fazla gözlenmiştir.
Yamauchi ve ark.	2011	https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.11.010	6 köpeğin immatür dişleri	Köpeklerden alınan supragingival plak indüksiyonuyla	İndüklenmiş kan pıhtısı, dentin matrisinin açığa çıkması ve çapraz bağlı kollajen yapı iskelesinin bir kombinasyonu ile bir kök kanal boşluğu içinde hayati bir destek yapısı tasarlamak için yeni stratejiler keşfetmek amacıyla	H&E Boyama	İskele içeren gruplarda önemli ölçüde daha fazla mineralize doku oluşumu Çapraz bağlı kollajen iskele kullanımı ve kan pıhtısı ile birlikte dentin matrisinin açığa çıkarılmasının, apikal periodontitisli immatür dişlerin tedavisinde hayati bir destek yapısı oluşturmak için etkili bir yaklaşım olduğu gözlemlenmiştir.

Yamauchi ve ark.	2011	https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.08.025	6 köpeğin immatür dişleri	Köpeklerden alınan supragingival plak indüksiyonuyla	Bir önceki çalışmada tespit edilen mineralize dokuları karakterize etmek amacıyla	H&E Boyama	Kanal boşluğunda oluşan DAMT ve (BIs)'lerin birbirinden farklı olduğu, birinin benzersiz bir mineralize doku ve diğerinin kemik benzeri bir doku sergilediği gözlemiştir.
K Al-Hezaimi ve ark.	2011	https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.11.001	3 yaşındaki 4 adet babunun 30 küçük azı dişi	Açılan kavitelerin 30 dk ağız ortamına açık bırakılmasıyla	Kalsiyum Hidroksit, ProRoot Beyaz MTA, Beyaz Portland simanı uygulanmasından sonra babun diş pulparlarının tepkilerini değerlendirmek amacıyla	Modifiye Masson Trikron Boyama Mikro-CT Işık Mikroskopu	Portland siman bazlı malzemelerle kaplanan pulpalarda onarıcı sert doku oluşumu, kalsiyum hidroksit ile direkt pulpa kaplama sonrasında oluşanlardan sadece miktar (kalınlık) bakımından farklılık göstermiş, ancak kalite açısından farklılık göstermemiştir.
Eba ve ark	2012	https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052523	Köpek küçük azı dişleri	Açılan kavitelerin ağız ortamına açık bırakılmasıyla	Pulpa yaralanmalarında MMP-3 geninin etkilerini araştırmak amacıyla	H&E Boyama ve Masson Trikron Boyama	24 saat sonra hafif pulpitis (hiperemi, kan damarı dilatasyonu, nötrofil infiltrasyonu) 72 saat sonunda şiddetli pulpitis gözlenmiştir.
Tawfik ve ark.	2013	https://doi.org/10.1111/iej.12079	9 adet köpeğin 108 immatür dişi	Açılan kavitelerin 2 hafta ağız ortamına açık bırakılmasıyla	Köpeklerde revaskülarizasyon prosedürünü takiben nekrotik pulpalı immatür dişlerin rejeneratif potansiyelini değerlendirmek amacıyla	H&E Boyama	Revaskülarizasyon olmadığında kök kanallarının uzunluk ve kalınlıkları değişmemiş, revaskülarizasyon prosedürü, nekrotik pulpalı dişlerde köklerin gelişiminin devam etmesine izin vermiştir.
Zhu ve ark	2013	https://doi.org/10.1111/iej.12087	4 beagle cinsi köpek	Köpeklerden alınan supragingival plak indüksiyonuyla	Apikal periodontitisli immatür köpek dişlerinde; kan pıhtısı, pulpa hücreleri, PRP veya pulpa ve PRP'nin kombinasyonu ile doldurulmuş immatür köpek dişlerinin pulpa boşluğunda gelişen yeni dokuları araştırmak amacıyla	H&E Boyama	Pulpa ve PRP'nin kombinasyonu, apikal periodontitis ile ilişkili immatür dişlerin kök kanalları içindeki hayati doku rejenerasyonunu arttırmıştır.

Cannon ve ark.	2014	https://doi.org/10.17796/jcpd.38.4.m585322121536q71	4 primat, genç yetişkin erkek Capuchin Cebus Apella	İnsan diş abselerinden alınan patojenlerin 30 dk indüksiyonuyla	TheraCal, Pure Portland siman, rezin bazlı kalsiyum hidroksitin veya cam iyonomerin kontamine olmuş pulpadaki etkinliğini karşılaştırmak amacıyla	H&E Boyama ve Masson Trikron Boyama ve Brown-Brenn Tekniği	TheraCal dentin köprüleri oluşturmuş ve pulpa kaplaması için kabul edilebilir hafif inflamasyon oluşturmuştur.
Khademi ve ark.	2014	https://doi.org/10.1111/edt.12100	4-6 aylık 3 melez köpeğin 36 dişi	Köpeklerden alınan supragingival plak indüksiyonuyla	İmmatür köpek dişlerinde bol irigasyon, triantibiyotik pansuman ve kan pıhtısı matrisinin indüksiyonu kullanılarak kanal boşluğu dezenfeksiyonunu içeren bir revaskülarizasyon tedavi protokolünün başarı oranını incelemek amacıyla	H&E Boyama	Nekrotik enfeksiyonlu kanallar etkili bir şekilde dezenfekte edilir ve protokole göre tedavi edilirse, ortaya çıkan revaskülarizasyon yanıtı vital immatür dişlerinkine benzerdir.
Yoo ve ark.	2014	https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.02.009	3 av köpeğinin 30 immatür iki köklü küçük azı dişlerinde	Köpeklerden alınan supragingival plak indüksiyonuyla	Nekrotik pulpalı ve apikal periodontitisli immatür dişlerde mezenkimal kök hücrelerin hücre sel farklılaşması üzerindeki murin preameloblastlardan şartlandırılmış ortamın etkisini araştırmak amacıyla	H&E Boyama	Preameloblastlardan şartlandırılmış ortamın, revaskülarizasyon tedavisinden sonra MSC'lerin farklılaşması için fizyolojik bir mikro ortam sağlamada olumlu bir etki sağlamıştır.
Zhang ve ark.	2014	https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.03.020	6 aylık 3 beagle köpeği	Köpeklerden alınan supragingival plak indüksiyonuyla	Rejeneratif endodontik tedavide PRP ve kan pıhtılaşması arasındaki histolojik farklılıkları karşılaştırmak amacıyla	H&E Boyama	PRP uygulaması, rejenerasyon sırasında apikal dokuyu tahriş ederken kanamanın çok az olduğu veya hiç olmadığı klinik vakalarda bir seçenek olabilir.
Torabinejad ve ark.	2015	https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.01.026	6 gelinciğin 24 tane kanin dişi	Açılan kavitele- rin 1 hafta ağız ortamına açık bırakılmasıyla	Nekrotik pulpalı ve periapikal lezyonlu dişlere PRP veya kan pıhtısı yerleştirildiğinde oluşan dokuların histolojik olarak karşılaştırılması amacıyla	H&E Boyama	İskele olarak PRP veya kan pıhtılarının kullanılması, köklerin apikal üçte birlik bölümünde tutarsız oranlarda kemik benzeri, sement benzeri ve bağ dokusu büyümesine neden olmuştur.
Louwakul ve ark.	2015	https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.12.004	38 haftalık erkek Wistar faresi	Açılan kavitele- rin 48 saat ağız ortamına açık bırakılmasıyla	Dycal, MTA veya PCFA ile kaplama sonrasında ağız maksiller azı dişlerinin iltihaplı diş pulpalarının inflamatuvar yanıtını ve sert doku oluşumunu değerlendirmek amacıyla	H&E Boyama	PCFA ile pulpa kaplaması inflamasyonu azaltmış ve ekspoz pulpalarında sert doku oluşumunu uyarmıştır.

Saoud ve ark.	2015	https://doi.org/10.1111/edt.12169	4-5 aylık 2 melez köpek	Açılan kavitele- rin 1 hafta ağız ortamına açık bırakılmasıyla	Yapay olarak enfekte edilmiş ve daha sonra revaskülarize edilmiş immatür köpek dişlerindeki kök kanallarındaki dokuyu histolojik olarak incelemek amacıyla	H&E Boyama	Pulpitis indüklenmiş immatür dişlerin revaskülarizasyon işlemlerinden sonra artık pulpa dokusunun kanallarda kalabileceği sonucuna varılmıştır. Apikal kemiğin revaskülarizasyona giden kök kanallarına doğru büyümesi, ankiloz olursa normal diş sürmesini engelleyebilir.
He ve ark.	2017	https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.09.003	80 adet 8-10 haftalık C57BL/6 faresinin maksiller birinci molar dişleri	Açılan kavitelelerin ağız ortamına açık bırakılmasıyla	Stabil bir deneysel fare pulpa inflamatuvar modeli oluşturmak ve pulpa ekspozundan sonra pulpa dokusunun inflamatuvar reaksiyonlarını değerlendirmek amacıyla	H&E Boyama	Enflamatuvar sitokinlerin ekspresyon seviyelerinde 72 saat boyunca artış ve pulpa ekspozundan 6 ve 12 saat sonra yüksek oranda enflamatuvar sitokin ekspresyonu gözlenmiştir.
Songsiripraduboon ve ark.	2017	https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.01.037	Köpek	Pulpa ekspoz olmadan kaviteye LPS indüksiyonuyla	Aloe vera'dan elde edilen bir polisakkarit olan Acemannan'ın insan süt pulpa hücreleri üzerindeki in vitro etkilerini ve köpek süt dişlerinde vital pulpa tedavisinden sonraki tepkiyi araştırmak amacıyla	H&E Boyama	14 gün sonra proinflamatuvar sitokin düzeyinde artış gözlenmiştir. Acemannan, geri dönüşümlü pulpitisli dişlerde dentin rejenerasyonunu uyarmıştır.
Yoneda ve ark.	2017	https://doi.org/10.1038/s41598-017-03628-6	10 haftalık 9 tane erkek Wistar faresinin mandibular 1. molar dişleri	Açılan kavitele- rin 4 hafta ağız ortamına açık bırakılmasıyla	Fare modelinin, yeni kök kanal tedavisi yöntemleri için gelişimsel araştırmalarda incelenmesi amacıyla	H&E Boyama PCR Modifiye Brown ve Brenn Yöntemi	-Kanal tedavisi uygulanarak, tedavi edilen dişlerin mezial köklerinde bakterisi seviyesinde kontrole kıyasla %75 oranında azalma, -Periapikal lezyonlarının hacminde, kök kanal tedavisinden 2 hafta sonra önemli ölçüde azalma, -Kök kanal tedavisinden 8 hafta sonra tedavi grubunda histolojik iyileşme gözlenmiştir.

Altai ve ark	2017	https://doi.org/10.1111/iej.12645	4 koyunun immatür mandibular sağ birinci kesici dişleri	Koyunlardan alınan supragingival plak indüksiyonuyla	Enfekte kök kanal sistemlerine sahip immatür koyun dişlerinin yaygın olarak kullanılan bir pulpa rejenerasyon protokolüne tepkisini incelemek amacıyla	H&E Boyama	İmmatür enfekte koyun dişlerinde endodontik rejenerasyon prosedürleri, kontrol dişlerine benzer kök uzunluğu ve gelişimi artışı ile olumlu sonuçlar göstermiştir.
Duo ve ark.	2021	https://doi.org/10.4012/dmj.2020-393	6 haftalık 36 adet ICR faresi	Açılan kavitele- rin 24 saat ağız ortamına açık bırakılmasıyla	MTA'nın enfekte pulpada pulpa iyileşmesi üzerindeki etkisini incelemek amacıyla	H&E Boyama	MTA'nın enfekte ve enfekte olmayan pulpa dokusu ile direkt pulpa kaplama için yararlı bir materyal olduğu öne sürülmüştür.
Santos ve ark.	2021	https://doi.org/10.1016/j.joen.2021.06.018	5 adet beagle köpeği	Açılan kavitele- rin 1 hafta ağız ortamına açık bırakılmasıyla	Pulpa iltihabının, farklı biyomateryal kullanılarak olgun daimi arka dişlerde yapılan tam pulpotominin histolojik sonucuna etkisini değerlendirmek amacıyla	H&E Boyama ve Modifiye Brown-Brenn Tekniği	Tam pulpotominin radyografik ve histolojik sonuçları, kısa süreli pulpa iltihabı nedeniyle tehlikeye atılmaz. Biodentin, ProRoot MTA ve TotalFill BC Putty simanları pulpa kapatma ajanı olarak kullanılmaya uygun alternatiflerdir.
Chung ve ark.	2023	https://doi.org/10.1111/iej.13947	Dişi Wistar farelerinin 124 tane molar dişi	Açılan kavitele- rin 48 saat ağız ortamına açık bırakılmasıyla	Kalsiyum silikat siman ile doğrudan pulpa kaplama sonrasında iltihaplı fare diş pulpasının inflamatuvar tepkisini ve odontojenik farklılaşmasını test etmek amacıyla	H&E Boyama ve Işık Mikroskopu	Pulpa kaplanmasından 4 hafta sonra çoğu örnekte pulpal inflamasyon hala mevcuttu ve çoğu örnekte süresiz dentin köprüsü oluşumu görülmüştür, pulpanın başlangıçtaki inflamatuvar koşullarının, kalsiyum silikatlarla tedavi edilen dişlerin prognozunu riske atabileceği görülmüştür.

(PRP) : Trombositten zengin plazma , (DAMT) : Dentin ile ilişkili mineralize doku , (BIs) : Kemik adaları , (MSC) : Mezenkimal kök hücre , (H&E Boyama) : Hematoksilen-Eozin Boyama , (PCR) : Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi , (MTA) : Mineral trioksit agregatı , (MDPB) : 12-metakriloloksi-dodesilpiridinyum bromür , (PCFA) : Fluosinolon asetonid

Alternatif bir pulpitis indüksiyon modeli, Hall'un çalışmasında sunulan indüklenebilir 'TNF- α Glo' transgenik fare modeli gibi transgenik hayvanların kullanımına dayanmaktadır.⁵⁹ Kendi genomunda başka bir organizmaya ait rekombinant bir geni taşıyan hayvanlara transgenik hayvanlar denir.⁶⁰ Transgenezis, insan hastalıklarının incelenmesinde yeni modeller yaratmak için tüm organizmadaki bir genin bir kısmının inaktivasyonunu (Knock-out) veya değiştirilmesini (Knock-in) içeren bir tekniktir. En sık kullanılan modeller Knock-out farelerdir. Genetik modifikasyonla, Knock-out modeli, bir genin rolünü, onu silerek ve eksojen bir gen (raportör gen) veya embriyonik gövdedeki bir seçim geni ile değiştirerek inaktivasyonunun sonuçlarını gözlemleyerek incelemeyi mümkün kılar.⁶¹ Yakın tarihli bir çalışmada, diş pulpasında TNF- α 'yı koşullu olarak aşırı eksprese etmek için transgenik bir fare modeli üretilmiştir. Bu çalışmada; fareler hem diş pulpasında hem de kemikte TNF- α 'nın aşırı ekspresyonu için bir dentin matris proteini 1 (DMP1)-Cre eğrisi ile yetiştirilmiştir. Bu farelerin pulpalarında pulpiti taklit eder şekilde inflamasyon gösterilmiştir.⁶² Transgenik modeller, büyük hayvan modellerinden daha ucuz olma avantajına sahiptir. İlave bir kavite hazırlığı aşaması gerektirmediği için de pulpitis indüksiyonunu kolaylaştırır.⁴

Pulpa İnflamasyonunu Değerlendirme

Teknikleri

Farklı analiz teknikleri, pulpa kaynaklı inflamasyonun seviyesini değerlendirebilir. Birkaç tekniğin kombinasyonu, çalışmanın amacına bağlı olarak daha yararlı olacaktır. Hematoksilen-eozin (H&E) boyaması ile histopatolojik analiz en sık kullanılan değerlendirme yöntemidir ve çalışmaların %90'ından fazlasında kullanılmıştır. Bu biyokromatik boyama, bir nükleer (hematoksilen) ve bir sitoplazmik (eozin) boyadan oluşur ve dekalsifiye edilmiş, sabitlenmiş, işlenmiş, gömülü ve kesitli dokuların mikroskopik incelemesini sağlar.⁶³ Pulpitis iltihabı ve inflamatuvar hücreleri değerlendirmek için tam bir pulpa odasını, kök kanalını ve periapikal alanı içeren kesitler elde edilir. Boyama sonrası farklı parametreler (inflamatuvar hücrelerin yerleşimi, inflamatuvar infiltratın yoğunluğu, inflamatuvar ödem, vasküler sızıntı, pulpa nekrozunun uzaması gibi) kullanılarak nicel ve nitel histopatolojik analizler yapılır.⁶⁴ Değerlendirme derecesi daha sonra en

iyi sonuçtan en şiddetliye kadar bir puanla değerlendirilir.^{55,58} Pulpa dokusu miktarının yeterli olması koşuluyla, tek bir tekniğin kullanılması yerine farklı yöntemlerin bir kombinasyonu daha kaliteli veriler sağlayabilir.⁶⁵

Sonuç

Diş pulpasının inflamasyonunun fizyopatolojik açıdan incelenmesi için, hayvan modellerine ihtiyaç duyulmaktadır. 3D doku baskısı, bir çip üzerinde bir organın yeniden yapılandırılması, in silico bilgisayar modellemesi gibi mevcut deneysel alternatifler hayvan deneylerini tamamlayabilir, ancak hiçbir şekilde onun yerini tamamen alamaz. Endodonti araştırmalarının, insanlara fayda sağlayacak şekilde aktarılabilecek güvenilir sonuçlar elde etmek için hayvanlara ihtiyacı vardır. Bu, pulpitis indüksiyon modelleri için de geçerlidir. Bu nedenle, çalışmanın amacına, uygulanacak analiz tekniklerine ve mevcut finansal olanaklara en uygun modelin seçilmesi gerekmektedir. Gelecekte, mekanik yaralanma ve LPS stimülasyonundan daha hassas ve gerçeğe daha yakın modelleri temsil edecek ve ayrıca transgenik modellerin hedef dışı etkilerinden kaçınacak yapay olarak oluşturulmuş çürük indükleyici modellerin geliştirilmesi hedeflenmelidir.

Kaynaklar

1. Ergün Y. Hayvan DeneYlerinde Etik. Arşiv 2010;19:220-35
2. de Aguilari-Nascimento JE. Fundamental steps in experimental design for animal studies. Acta Cir Bras. 2005;20(1):2-7.
3. Tayebi L. Animal Models in Dental Research. In: Nokhbatolfighahaei H, Paknejad Z, Bohlouli M, Rad MR, Khojasteh A, eds. Switzerland, DC: Applications of Biomedical Engineering in Dentistry. 1st ed. Inc;2020:377-443.
4. Aubeux D, Renard E, Pérez F, Tessier S, Geoffroy V, Gaudin A. Review of animal models to study pulp inflammation. Front Dent Med. 2021;2:673552.
5. Hayvan DeneYleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik. TC Resmi Gazete. 15 Şubat 2014. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2014/02/20140215-6.htm>
6. Anderson LC. Institutional and IACUC responsibilities for animal care and use education and training programs. ILAR J. 2007;48:90-95.
7. Akins, C. K., Panicker, S. E., & Cunningham, C. L. Laboratory Animals in Research and Teaching: Ethics, Care, and Methods. Washington, DC: American Psychological Association. 2005.
8. Russell WMS, Burch RL. The Principles of Humane Experimental Technique [Internet]. London: Methuen 1959.
9. Hampshire VA, Gilbert SH. Refinement, reduction, and replacement (3R) strategies in preclinical testing of medical devices. Toxicol Pathol. 2019;47:329-338.
10. Schechtman LM. Implementation of the 3Rs (refinement, reduction, and replacement): validation and regulatory acceptance considerations for alternative toxicological test methods. ILAR J. 2002;43:85-94.
11. Pereira S, Tettamanti M. Ahimsa and alternatives-the concept of the 4th R. The CPCSEA in India. ALTEX-Altern Anim Ex. 2005;22:3-6.
12. Mushtaq S, Daş YK, Aksoy A. Alternative methods to animal experiments. Turk Klin J Med Sci. 2018;38:161-70.
13. Torkay G, Öztürk AB. Mikroakışkan çiplere kök hücre ve doku mühendisliği perspektifinden bakış. J Polytech. 2023:1-.
14. Olson H, Betton G, Robinson D, Thomas K, Monro A, Kolaja G, Heller A, et al. Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. RTP. 2000;32:56-67.
15. Singh VP, Pratap K, Sinha J, Desiraju K, Bahal D, Kukreti R. Critical evaluation of challenges and future use of animals in experimentation for biomedical research. Int J Immunopathol Pharmacol. 2016;29:551-61.
16. Pound P, Bracken MB. Is animal research sufficiently evidence based to be a cornerstone of biomedical research? BMJ. 2014;30:348.
17. Kilkeny C, Browne W, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Animal research: reporting in vivo experiments: the ARRIVE guidelines. Br J Pharmacol. 2010;160:1577.
18. Nagendrababu V, Kishen A, Murray P, et al. PRIASE 2021 guidelines for reporting animal studies in Endodontology: explanation and elaboration. Int Endod J. 2021;54:858-886.
19. Gong, T., et al. Current advance and future prospects of tissue engineering approach to dentin/pulp regenerative therapy. Stem Cells Int. 2016, 9204574.
20. Kim, S., et al. In vivo experiments with dental pulp stem cells for pulp-dentin complex regeneration. Mediators Inflamm. 2015, 409347.
21. Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. Nat Med. 2012;18:1028-1040.
22. FDA. Product Development Under the Animal Rule - Guidance for Industry. Silver Spring, MD: Food Drug Adm 2015 ;1-54.
23. Andersen ML, Winter LMF. Animal models in biological and biomedical research - experimental and ethical concerns. An Acad Bras Cienc. 2019;91:e20170238.
24. Mjör IA, Tronstad L. Experimentally induced pulpitis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 1972;34:102-108.
25. Furseth R, Mjör I, Skogedal O. The fine structure of induced pulpitis in a monkey (Cercopithecus aethiops). Arch Oral Biol. 1979;24:883-888.
26. Fuks AB, Jones P, Michaeli Y, Bimstein E. Pulp response to collagen and glutaraldehyde in pulpotomized primary teeth of baboons. Pediatr Dent. 1991;13:142-150.
27. Songsiripraduboon S, Kladkaew S, Trairatvorakul C, et al. Stimulation of dentin regeneration by using acemannan in teeth with lipopolysaccharide-induced pulp inflammation. J Endod. 2017;43:1097-1103.
28. Shahravan A, Ghodduji J, Eslami B, Rategar A. A histopathological study of the pulp of dogs' teeth after

- induction of experimental pulp inflammation for different periods of time. *J Microsc.* 2010;237:119-121.
29. Eba H, Murasawa Y, Iohara K, Isogai Z, Nakamura H, Nakamura H, et al. The anti-inflammatory effects of matrix metalloproteinase-3 on irreversible pulpitis of mature erupted teeth. Gullberg D, editor. *PLoS ONE.* 2012;7:e52523.
30. Torabinejad M, Bakland LK. An animal model for the study of immunopathogenesis of periapical lesions. *J Endod.* 1978;4:273-277.
31. Masson E, Hennet PR, Calas PL. Apical root canal anatomy in the dog. *Dent Traumatol.* 1992;8:109-112.
32. Holland G. Periapical innervation of the ferret canine one year after pulpectomy. *J Dent Res.* 1992;71:470-474.
33. Holland G. Periapical response to apical plugs of dentin and calcium hydroxide in ferret canines. *J Endod.* 1984;10:71-74.
34. Mestas J, Hughes CC. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *J Immunol.* 2004;172:2731-2738.
35. Hao L, Chen W, McConnell M, et al. A small molecule, odanacatib, inhibits inflammation and bone loss caused by endodontic disease. *Infect Immun.* 2015;83:1235-1245.
36. Tagger M, Massler M. Periapical tissue reactions after pulp exposure in rat molars. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 1975;39:304-317.
37. Liu L, Peng B. The expression of macrophage migration inhibitory factor is correlated with receptor activator of nuclear factor kappa B ligand in induced rat periapical lesions. *J Endod.* 2013;39:984-989.
38. Yoneda N, Noiri Y, Matsui S, et al. Development of a root canal treatment model in the rat. *Sci Rep.* 2017;7:1-9.
39. Thibodeau B, Teixeira F, Yamauchi M, Caplan DJ, Trope M. Pulp revascularization of immature dog teeth with apical periodontitis. *J Endod.* 2007;33:680-689.
40. da Silva LAB, Nelson-Filho P, da Silva RAB, et al. Revascularization and periapical repair after endodontic treatment using apical negative pressure irrigation versus conventional irrigation plus triantibiotic intracanal dressing in dogs' teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109:779-787.
41. Zuong X-Y, Yang Y-P, Chen W-X, Zhang Y-J, Wen C-M. Pulp revascularization of immature anterior teeth with apical periodontitis. *West China J Stomatol.* 2010;28:672-674.
42. Yamauchi N, Nagaoka H, Yamauchi S, Teixeira FB, Miguez P, Yamauchi M. Immunohistological characterization of newly formed tissues after regenerative procedure in immature dog teeth. *J Endod.* 2011;37:1636-1641.
43. Yamauchi N, Yamauchi S, Nagaoka H, et al. Tissue engineering strategies for immature teeth with apical periodontitis. *J Endod.* 2011;37:390-397.
44. Tawfik H, Abu-Seida A, Hashem A, Nagy M. Regenerative potential following revascularization of immature permanent teeth with necrotic pulps. *Int Endod. J.* 2013;46:910-922.
45. Londero CdLD, Pagliarin CML, Felipe MCS, Felipe WT, Danesi CC, Barletta FB. Histologic analysis of the influence of a gelatin-based scaffold in the repair of immature dog teeth subjected to regenerative endodontic treatment. *J Endod.* 2015;41:1619-1625.
46. Torabinejad M, Milan M, Shabahang S, Wright KR, Faras H. Histologic examination of teeth with necrotic pulps and periapical lesions treated with 2 scaffolds: an animal investigation. *J Endod.* 2015;41:846-852.
47. Zhu X, Liu J, Yu Z, et al. A miniature swine model for stem cell-based de novo regeneration of dental pulp and dentin-like tissue. *Tissue Eng. Part C Methods.* 2018;24:108-120.
48. Saoud TMA, Zaaou A, Nabil A, et al. Histological observations of pulpal replacement tissue in immature dog teeth after revascularization of infected pulps. *Dent Traumatol.* 2015;31:243-249.
49. Zhu W, Zhu X, Huang GJ, Cheung G, Dissanayaka W, Zhang C. Regeneration of dental pulp tissue in immature teeth with apical periodontitis using platelet-rich plasma and dental pulp cells. *Int Endod J.* 2013;46:962-970.
50. Altai M, Cathro P, Broberg M, Richards L. Endodontic regeneration and tooth revitalization in immature infected sheep teeth. *Int Endod J.* 2017;50:480-491.
51. Zhang D-D, Chen X, Bao Z-F, Chen M, Ding Z-J, Zhong M. Histologic comparison between platelet-rich plasma and blood clot in regenerative endodontic treatment: an animal study. *J Endod.* 2014;40:1388-1393.
52. Yoo Y-J, Lee W, Cho Y-A, Park J-C, Shon W-J, Baek S-H. Effect of conditioned medium from preameloblasts on regenerative cellular differentiation of the immature teeth with necrotic pulp and apical periodontitis. *J Endod.* 2014;40:1355-1361.

53. Khademi AA, Dianat O, Mahjour F, Razavi SM, Younessian F. Outcomes of revascularization treatment in immature dog's teeth. *Dent Traumatol.* 2014;30:374-379.
54. Hale FA. Dental caries in the dog. *The CVJ.* 2009;50:1301.
55. Shi X, Li Z, He Y, Jiang Q, Yang X. Effect of different dental burs for experimental induction of pulpitis in mice. *Arch Oral Biol.* 2017;83:252-257.
56. He Y, Gan Y, Lu J, et al. Pulpal tissue inflammatory reactions after experimental pulpal exposure in mice. *J Endod.* 2017;43:90-95.
57. Chung M-K, Lee J, Duraes G, Ro J. Lipopolysaccharide-induced pulpitis up-regulates TRPV1 in trigeminal ganglia. *J Dent Res.* 2011;90:1103-1107.
58. Cleaton-Jones P, Duggal M, Parak R, Williams S, Setzer S. Pulpitis induction in baboon primary teeth using carious dentine or *Streptococcus mutans*. *S Afr Dent J.* 2004;59:119-122.
59. Hall B, Zhang L, Sun Z, et al. Conditional TNF- α overexpression in the tooth and alveolar bone results in painful pulpitis and osteitis. *J Dent Res.* 2016;95:188-195.
60. Gordon, J.W., Scangos, G.A., Plotkin, D.J., Barbosa, J.A. and Ruddle, F.H. (1980): Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA* 77:7380-7384.
61. Houdebine LM. Use of transgenic animals to improve human health and animal production. *Reprod Domest Anim.* 2005;40:269-281.
62. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 2009;139:267-284.
63. Parson SH. Histology at a Glance. *J Anat.* 2011;219:777.
64. Qi S, Qian J, Chen F, et al. Expression of autophagy-associated proteins in rat dental irreversible pulpitis. *Mol Med Rep.* 2019;19:2749-2757.
65. Divaris K. Predicting dental caries outcomes in children: a "risky" concept. *J Dent Res.* 2016;95:248-254