



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**FARKLI POLİMERİZASYON YÖNTEMLERİ
UYGULANAN AKRİLİK KAİDE REZİN MATERYALLERİNDE
SİTOTOKSİSİTE VE ARTIK MONOMER MİKTARININ
İNCELENMESİ**

PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI
DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

Dt. Kübra KIZILOVA

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ayşe MEŞE

DİYARBAKIR-2022



TÜRKİYE CUMHURİYETİ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**FARKLI POLİMERİZASYON YÖNTEMLERİ
UYGULANAN AKRİLİK KAİDE REZİN MATERYALLERİNDE
SİTOTOKSİSİTE VE ARTIK MONOMER MİKTARININ
İNCELENMESİ**

PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

Dt. Kübra KIZILOVA

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ayşe MEŞE

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından
DİŞ.21.003 proje numarasıyla desteklenmiştir.

DİYARBAKIR-2022

BEYAN

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dt. Kübra KIZILOVA



TEŞEKKÜR

Hayatımın her adımında yanımda olan, beni destekleyen aileme,

Uzmanlık eğitim süresi boyunca değerli bilimsel ve mesleki tecrübelerini benden esirgemeyen, her daim gösterdiği anlayış ve desteklerinden dolayı sevgili danışman hocam Prof. Dr. Ayşe MEŞE'ye,

Tez çalışmam vesilesiyle tanıştığım, akademik bilgi ve deneyimini benden esirgemeyen, hücre kültürü çalışmamda desteklerini sunan Prof. Dr. Beran YOKUŞ'a,

Eğitim sürecim boyunca mesleki birikimlerini ve yardımlarını esirgemeyen Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim dalı değerli öğretim üyelerine,

Uzmanlık eğitiminin bana kazandırdığı ve bu süreci güzelleştiren, her türlü destek ve yardımlarından dolayı asistan arkadaşlarım Dt. Verda Gökçe ÇAKAR, Dt. Dersim GÖKÇE ve diğer tüm asistan arkadaşlarıma,

Gösterdikleri anlayış ve yardımlarından dolayı tüm Anabilim dalı çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	I
TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	III
RESİMLER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
ABSTRACT	XVI
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Protez kaide materyalleri ve tarihsel gelişimi	3
2.2. Polimer ve polimerizasyon.....	6
2.2.1. Diş hekimliğinde kaide polimerlerinin sınıflandırılması	7
2.2.1.1. Sentetik polimerlerin işleme yöntemlerine göre yapılan sınıflandırma	7
2.2.1.2. ISO standartlarına göre sınıflama.....	8
2.2.1.3. Polimerizasyon tekniklerine göre PMMA rezinlerin sınıflandırılması.....	9
2.2.2. İdeal bir protez kaide materyalinin sahip olması gereken özellikler.....	9
2.2.3. PMMA (Polimetilmetakrilat) kaide materyali	10
2.2.3.1. PMMA'ın fiziksel özellikleri	13
2.2.3.2. PMMA'ın kimyasal yapısı	14
2.2.3.3. Farklı polimerizasyon yöntemlerine göre akrilik rezinler.....	16
2. 2. 3. 4. Polimerizasyon derecesi ve artık monomer	21
2. 2. 3. 5. Artık monomer miktarının tespit edilmesinde kullanılan yöntemler	25
2.2.3.5.1. Kromatografi	25
2.2.3.5.1.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	26
2.3. Biyoyumluluk.....	29
2.3.1. Biyoyumluluğun değerlendirilmesinde kullanılan testler	30

2.3.1.1. Invitro sitotoksisite test yöntemleri.....	31
2.3.1.1.1. Hücre kültürü	33
2.3.2. Sitotoksisite sonuçlarının değerlendirilmesi	34
2.3.2.1. Canlılık değerlendirme testleri.....	35
2.3.2.2. Hücre proliferasyonu değerlendirme testleri.....	35
2.3.2.3. Metabolik aktivite değerlendirme testleri	35
3. MATERYAL ve METOD	37
3.1. PMMA örneklerin hazırlanması.....	38
3.1.1. Konvansiyonel yöntem ve otoklav yöntemiyle PMMA örneklerin hazırlanması	38
3.1.2. Prepolimerize akrilik rezin örneklerin hazırlanması	41
3.2. Artık monomer deneyi	45
3.2.1. HPLC analizi ile MMA konsantrasyon miktarının tespiti	47
3.3. Sitotoksisite Deneyi	50
3.3.1. PMMA örneklerinin salınım ekstraktlarının elde edilmesi.....	50
3.3.2. Hücre kültürünün hazırlanması	53
3.3.3. MTT testinin uygulanması	55
3.4. İstatistiksel değerlendirme	57
4. BULGULAR.....	58
4.1. Artık monomer analiz bulguları	58
4.2. MTT sitotoksisite deney bulguları	62
4. 2. 1. Farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA rezinlerin dört farklı inkübasyon periyodunda sitotoksisitelerinin karşılaştırılma bulguları.....	63
4.2.2. Farklı inkübasyon periyotlarında aynı yöntemle polimerize edilen PMMA rezinlerin sitotoksisitelerinin karşılaştırılma bulguları.....	67
4. TARTIŞMA	70
5. SONUÇLAR	86

6. KAYNAKÇA	87
7. ÖZGEÇMİŞ.....	109
8. BENZERLİK RAPORU	110



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Mum örneklerin elde edilmesi için hazırlanan paslanmaz çelik kalıp.

Resim 2. Standart boyutlarda hazırlanan mum örnekler.

Resim 3. Negatif boşluk oluşturmak için muflaya yerleştirilen mum örnekler.

Resim 4. Akril tepimi için oluşturulan negatif boşluklar.

Resim 5. Polimerizasyon işleminin gerçekleştirildiği otoklav cihazı.

Resim 6. Otoklavla ve geleneksel yöntemle elde edilen PMMA rezin örnekler.

Resim 7. Yenadent CAM 5.1 bilgisayar programı ile disklerin tasarımı.

Resim 8. Tasarımı yapılan diskin STL dosyasındaki görüntüsü.

Resim 9. Merz dental prepolimerize akrilik disk.

Resim 10. Redon GTR cihazına akrilik diskin yerleştirilmesi.

Resim 11. Prepolimerize akrilik diskin Redon GTR cihazı ile kazınması.

Resim 12. Kazınma işlemleri tamamlanmış akrilik blok.

Resim 13. Örneklerin boyutlarının ölçülmesi.

Resim 14. Örneklerin hassas terazi ile tartılması.

Resim 15. Hazırlanan düzenekte MMA monomerinin metanole geçişinin sağlanması (Ekstraksiyon düzeneği).

Resim 16. Artık monomer deneyi için hazırlanan solüsyonların karanlık şişelere yerleştirilmesi.

Resim 17. Çalışmamızda kullanılan Agilent 1100 HPLC cihazı.

Resim 18. HPLC cihazına yerleştirilmek üzere hazırlanan solüsyonlar.

Resim 19. 6 kuyucuklu hücre üretme kabı içerisindeki PMMA rezin örnekler.

Resim 20. Laminar flow kabin içerisinde 6 kuyucuklu hücre üretme kapları içerisindeki PMMA rezin örnekler.

Resim 21. PMMA örneklerin üzerine besi yerinin eklenmesi.

Resim 22. PMMA örnekler üzerine eklenen besi yerinin görünümü.

Resim 23. PMMA rezin örneklerin salınım ekstraktlarının koyulduğu steril tüpler.

Resim 24. 3T3 fare fibroblast hücreleri.

Resim 25. DMEM besi yeri (Sigma-Aldrich).

Resim 26. 96 kuyucuklu pleyt içerisindeki 3T3 hücreleri üzerine ekstraktların yerleştirilmesi.

Resim 27. MTT tuzu (Bioshop, Kanada).

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Metakrilik asitin kimyasal formülasyonu.

Şekil 2. MMA'ın katılma polimerizasyon reaksiyonu ile PMMA'ya dönüşümü.

Şekil 3. HPLC (Yüksek performanslı sıvı kromatografisi) sistemi enjektör, pompa, kolon, dedektör ve verilerin kaydedildiği sistemden oluşur.

Şekil 4. Konsantrasyonu bilinen MMA solüsyonuna ait kromatogram ve MMA ait pik

Şekil 5. Lineer kalibrasyon grafiği.

Şekil 6. Geleneksel ısı ile polimerize edilen PMMA'tan elde edilen solüsyona ait kromatogram.

Şekil 7. Otoklavda polimerize edilen PMMA'tan elde edilen solüsyona ait kromatogram.

Şekil 8. Prepolimerize PMMA'tan elde edilen solüsyona ait kromatogram.

Şekil 9. G, O, P gruplarının artık MMA miktarlarına ait ortalama değerler (%).

Şekil 10. Farklı yöntemlerle polimerize PMMA rezinlerin 1.,2.,3. ve 5. Gün periyotlarındaki hücre canlılık değerleri (%) bakımından grupların ortalamaları (*: $p<0,05$, **: $p<0,01$, ***: $p<0,001$).

Şekil 11. Farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA rezinlerin 1. Gün periyodundaki hücre canlılık değerleri (%).

Şekil 12. Farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA rezinlerin 2. Gün periyodundaki hücre canlılık değerleri (%) (***: $p<0,001$).

Şekil 13. Farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA rezinlerin 3. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri (%) (*: $p<0,05$).

Şekil 14. Farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA rezinlerin 5. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri (%) (*: $p<0,05$).

Şekil 15. Geleneksel yöntemle polimerize edilen PMMA rezinin 1., 2., 3. ve 5. gün periyotlarında hücre canlılık değerleri (%) (*: $p<0,05$).

Şekil 16. Otoklav yöntemiyle polimerize edilen PMMA rezinin 1.,2.,3. ve 5. gün periyotlarında hücre canlılık değerleri (%) (*: $p<0,05$).

Şekil 17. Prepolimerize PMMA rezinlerin 1., 2., 3. ve 5. gün periyotlarında hücre canlılık değerleri (%).



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. PMMA'nın kronolojik olarak gelişimi.

Tablo 2: Polimerizasyon tekniklerine göre PMMA rezinlerin sınıflandırılması

Tablo 3. Akrilik kaide materyallerinin kompozisyonu.

Tablo 4. Isı ile polimerize akrilik rezinlerin fiziksel özellikleri.

Tablo 5. Isı ile polimerize PMMA'nın polimerizasyon siklusları.

Tablo 6. Işıkla polimerize olan akrilik rezinlerin içeriği.

Tablo 7. Artık monomer miktarının belirlenmesinde kullanılan analiz metotları.

Tablo 8. Çalışmamızda kullanılan materyaller ve polimerizasyon yöntemleri.

Tablo 9. Örneklere ait artık MMA miktarının ağırlık (%) bakımından gruplar arası farklılık.

Tablo 10. Artık MMA miktarının ağırlık (%) bakımından O ve P grupları arası farklılık.

Tablo 11. Artık MMA miktarının ağırlık (%) bakımından O ve G grupları arası farklılık.

Tablo 12. Artık MMA ağırlık (%) bakımından P ve G grupları arası farklılık.

Tablo 13. 1. Gün periyodundaki hücre canlılık değerleri bakımından grupların karşılaştırılması.

Tablo 14. 2. Gün periyodundaki hücre canlılık değerleri bakımından grupların karşılaştırılması.

Tablo 15. 3. Gün periyodundaki hücre canlılık değerleri bakımından grupların karşılaştırılması.

Tablo 16. 5. Gün periyodundaki hücre canlılık değerleri bakımından grupların karşılaştırılması.

Tablo 17. Geleneksel yöntemle polimerize edilen PMMA rezinlerin periyotlara göre hücre canlılık değerleri.

Tablo 18. Otoklavda polimerize edilen PMMA rezinlerin periyotlara göre hücre canlılık değerleri.

Tablo 19. Geleneksel yöntemle polimerize edilen PMMA rezinlerin periyotlara göre hücre canlılık değerleri.



SİMGELER VE KISALTMALAR

%: Yüzde

<: Küçüktür

>: Büyüktür

≤: Küçük eşittir

≥: Büyük eşittir

°C: Derece santigrat

μm: Mikrometre

nm: Nanometre

MMA: Metil Metakrilat

PMMA: Polimetil Metakrikat

UDMA: Üretan Dimetakrilat

3D: 3 Dimension (Üç boyutlu)

pH: Ortamdaki hidrojen iyonlarının konsantrasyonu

C=C: Karbon- Karbon Çift Bağı

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay (Enzim bağlı immünosorbent testi)

MTT: 3-(4, 5dimetiltiazol-2)-2, 5- difenil tetrazolyum bromür

MTS: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum)

DNA: Deoksiribonükleik Asit

sa: Saat

RNA: Ribonükleik Asit

BrdU: Bromodeoksiuridin

Ig G: İmmünoglobulin G

BrdU: Bromodeoksiuridin

atm: Atmosfer

dk: Dakika

gr: Gram

CO₂: Karbon Dioksit

mM: Milimol

Std: Standart

Min: Minimum

Max: Maksimum

DSC: Diferansiyel scanning kalorimetri (Ayrırıcı termal analiz)

FTIR: Fourier transform-infrared spectroscopy (Fourier transform kızılötesi spektroskopisi)

NMR: Katı faz nükleer manyetik rezonans

UV: Ultraviole

MIR: Multiple internal reflection spektroskopisi

GC: Gaz kromatografisi

HPLC: High performance liquid chromatography (Yüksek performanslı likit kromatografisi)

LC-MS: Likit kromatograf/kütle spektrometri

HGF-1: Human Gingival Fibroblast (İnsan dişeti fibroblastı)

A-431: İnsan epiteli hücre dizisi

3T3: Fare fibroblast hücre dizisi

Bcl-2: B cell lymphoma-2 (B hücreli lenfoma-2)

IL-6: İnterlökin-6

IL1 β : İnterlökin 1 Beta

TNF-a: Tümör Nekrozis Faktör Alfa

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

CCK-8: Cell Counting Kit-8 (Hücre sayı kiti)

ÖZET

KIZILOVA K., Farklı Polimerizasyon Yöntemleri Uygulanan Akrilik Kaide Rezin Materyallerinde Sitotoksosite ve Artık Monomer Miktarının İncelenmesi. Dicle Üniversitesi, Diş Hekimliği Protetik Diş Tedavisi Uzmanlık Tezi, Diyarbakır, 2022.

Bu in vitro tez çalışmamızın amacı, farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA (Geleneksel, otoklav) rezinlerle, CAD/CAM teknolojisinde kullanılan prepolimerize PMMA rezinlerin artık monomer miktarlarını ve farklı periyotlardaki sitotoksisitelerini karşılaştırmaktır. Çalışmamızda artık monomer analizinde kullanılmak üzere toplam 18 adet örnek, sitotoksisitelerin karşılaştırılmasında ise 72 adet örnek kullanıldı. Artık monomer analizi için ekstrakt düzeneyinde her bir örnek 6 saat 64-65°C de metanolde bekletildi. PMMA rezin örnekler içerisindeki artık MMA monomerlerin metanole geçmesi sağlandı. Ekstraktlardaki MMA konsantrasyonlarının belirlenmesinde HPLC kullanıldı. Kromatogramlar incelenerek rezin içerisindeki MMA miktarlarının ağırlıkça yüzdeleri hesaplandı. Sitotoksosite deneyinde PMMA rezin örneklerin farklı periyotlardaki (1., 2., 3. ve 5. Gün) ekstraktların 3T3 fare fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri incelendi. Örneklerin sterilizasyon işlemleri tamamlandıktan sonra hücre üretme kaplarına alındı ve üzerilerine DMEM eklendi ve periyot sürelerine (1., 2., 3. ve 5. gün) uygun olarak bekletilen ekstraktlar flakonlara alındı. Hücreler üzerilerine rezinlerden elde edilen ekstraktlar yerleştirildi ve MTT testi uygulandı. Artık monomer analizinden elde edilen verilerin değerlendirilmesinde Shapiro Wilk's, Mann Whitney U, Kruskal Wallis-H testi ve Post-Hoc testleri kullanıldı. Hücre canlılık değerlerin analizinde ise oneway ANOVA Varyans analizi ve post Hoc testleri kullanıldı. Artık monomer analizinde en yüksek MMA miktarı geleneksel grubunda görülürken, en düşük MMA miktarı ise otoklav grubunda görüldü. Otoklav grubunda salınan MMA miktarı prepolimerize grubundan daha az olduğu bulundu. En yüksek sitotoksik etki geleneksel grubunda, en düşük sitotoksik etki ise prepolimerize gruplarında görüldü.

Anahtar sözcükler: PMMA, protez kaide materyali, artık monomer, HPLC, otoklav polimerizasyonu, prepolimerize, CAD/CAM prepolimerize PMMA, MTT testi, sitotoksosite.

ABSTRACT

KIZILOVA K., Different Polymerization Methods The Amount of Residual Monomer of Acrylic Base Resin Materials and Cytotoxicity Effect, Diyarbakır, 2022.

The aim of this in vitro thesis study is to compare the residual monomer amounts and cytotoxicity in different periods of PMMA (Conventional, autoclave) resins polymerized by different methods and prepolymerized PMMA resins used in CAD/CAM technology. In our study, 18 samples were used to be used in residual monomer analysis and 72 samples were used for cytotoxicity comparison. For residual monomer analysis, each sample was kept in methanol at 64-65°C for 6 hours in the extract setup. Residual MMA monomers in PMMA resin samples were allowed to pass into methanol. HPLC was used to determine the MMA concentrations in the extracts. By examining the chromatograms, the weight percent of the MMA content in the resin was calculated. In the cytotoxicity experiment, the cytotoxic effects of the extracts of PMMA resin samples at different periods (1st, 2nd, 3rd and 5th days) on 3T3 mouse fibroblast cells were investigated. After the sterilization processes of the samples were completed, they were taken into cell production containers and DMEM was added on them and the extracts kept in accordance with the period times (1st, 2nd, 3rd and 5th days) were taken into vials. Extracts obtained from resins were placed on the cells and MTT test was applied. Shapiro Wilk's, Mann Whitney U, Kruskal Wallis-H test and Post-Hoc tests were used to evaluate the data obtained from residual monomer analysis. Oneway ANOVA analysis of variance and post Hoc tests were used in the analysis of cell viability values. In the residual monomer analysis, the highest amount of MMA was observed in the conventional group, while the lowest amount of MMA was observed in the autoclave group. The amount of MMA released in the autoclave group was found to be less than the prepolymerized group. The highest cytotoxic effect was observed in the conventional group, and the lowest cytotoxic effect was observed in the prepolymerized groups.

Key words: PMMA, denture base material, residual monomer, HPLC, autoclave polymerization, prepolymerized, CAD/CAM prepolymerized PMMA, MTT test, cytotoxicity.



1. GİRİŞ ve AMAÇ

PMMA (PoliMetilmetakrilat) rezin, diş hekimliğinde klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılan bir materyaldir. Hafifliği, estetiği, maliyet etkinliği, manipülasyon kolaylığı ve uyarlanabilir fiziksel ve mekanik özellikleri, PMMA'ı dental uygulamalar için uygun ve popüler bir biyomateryal haline getirmiştir (1). Protez kaide materyalleri, yapay dişler, obturatörler, ortodontik apareyler, geçici kron köprülerin üretiminde ve protezlerin tamirinde PMMA rezinler kullanılmaktadır. Kaide materyali olarak kullanılacak polimerin fiziksel, mekanik ve biyolojik özellikleri oldukça önemlidir (2). İdeal bir kaide materyali yüksek elastikiyet modülüne sahip olmalı, tekrarlayan çiğneme, yutkunma gibi faaliyetlerde oluşan kuvvetlere karşı yeterli yorulma dayanımı ve aşınma direncine sahip olmalıdır, çiğneme kuvvetleri altında kaidenin ince olduğu yerlerde stabil kalabilmeli, kolayca deforme olmamalıdır. Ayrıca kaide materyali biyolojik olarak inert olmalı ve oral mukoza ile temas ettiğinde alerjik reaksiyona sebep olmamalı ve mikrobiota tutulumu az veya hiç olmamalıdır (2). Protez kadesi olarak vulkanize kauçuk, polistiren, poliamid, polivinil akrilik ve PMMA gibi çeşitli polimerler kullanılmıştır. Bu materyaller istenen özellikleri kısmen sergilemesine rağmen, hiçbir PMMA rezinden üstün olamamıştır. Sonuç olarak, PMMA protez kaide materyali olarak en sık tercih edilen materyal olmaya devam etmektedir.

Yüksek basınç ve sıcaklık altında polimerizasyon işleminin yapılması uzun polimer zincirlerinin oluşumunu indükleyerek daha düşük artık monomer miktarı içeren daha iyi özelliklere sahip rezinler elde edilmektedir. Bu bağlamda çalışmamızdaki birinci hipotezimiz otoklavda yüksek basınç ve sıcaklık altında polimerize edilen PMMA rezinlerin, geleneksel yöntemle polimerize edilen rezinlere göre daha az artık monomer içereceği ve daha iyi biyouyumluluk göstereceğidir.

Dijital gelişmelerle birlikte tam protezlerin tasarımında ve üretiminde de Bilgisayar Destekli Tasarım ve Bilgisayar Destekli Üretim (CAD/CAM) (Computer Aided Design/ Computer Aided Manufacturing) teknolojisi kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknolojiyle üretilen protezlerin konvansiyonel olarak üretilenlere göre birçok klinik avantajı bulunmaktadır. CAD/CAM protezler, yüksek sıcaklık ve basınç altında

standart koşullarda polimerize edilen prepolimerize PMMA bloklardan frezelenerek oluşturulmaktadır. Bu bloklar endüstriyel olarak oluşturulduğundan teknisyene bağlı olarak değişebilen protez kalitesi elimine edilmiş olup, geleneksel yöntemlere göre elde edilen rezinlere göre daha iyi klinik özelliklere sahiptirler. İkinci hipotezimiz endüstriyel şartlarda üretilen prepolimerize PMMA rezinlerin geleneksel ısı ve otoklavda polimerize edilen PMMA rezinlerden daha az artık monomer içeriğine sahip daha iyi biyouyumluluk sergileyeceğidir.

Rezin içerisindeki artık MMA miktarını belirlemede kızılötesi spektroskopi, gaz kromatografisi, gaz-sıvı kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve ultraviyole spektrofotometri (UVS) gibi çeşitli teknikler kullanılabilmektedir (3). HPLC tekrarlanabilir olması, sonuçlarının hızlı, ekonomik ve güvenilir olmasından dolayı en çok tercih edilen yöntemlerden biridir (4).

Biyouyumluluk, bir materyalin amaçlandığı gibi uygulandığında uygun bir konak yanıtı ile uyumlu performans gösterme yeteneği olarak tanımlanmaktadır (5). Dokuyla temas halindeki protez kaide materyalinin sitotoksik etki göstermemesi klinik kullanım için ön şarttır. Eksik polimerizasyon işlemi rezin içerisinden toksik materyal salınımına sebep olup kaide materyalin sitotoksik etki göstermesine neden olmaktadır (6).

Çalışmamızın amacı geleneksel, otoklavda polimerizasyon yöntemiyle elde edilen PMMA rezinler ile prepolimerize PMMA rezinlerin artık MMA miktarlarını ve 1., 2., 3. ve 5. gün periyotlarında sitotoksitelerini karşılaştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Protez kaide materyalleri ve tarihsel gelişimi

Protez genel anlamda; konjenital, travma, tümörlerin cerrahi rezeksiyonu ya da bunların kombinasyonu sonucu oluşan kayıpların, yapay olarak yerine konulmasını sağlayan apareylerdir. Diş hekimliğinde protez, ‘Kaybolan dişlerin ve dokuların, çiğneme fonksiyonlarını, konuşmaya katkılarını ve estetiğini iade ederken mevcut dokuların da sağlığının korunmasına yardımcı olmak üzere yapılan apareyler’ olarak tanımlanır (2). Kaybedilen kısmın rehabilite edilmesiyle; fonksiyon, estetik ve konfor kısmen veya tamamen sağlanmış olur (7). Protez kaidesi, protezin ağız dokuları üzerinde yer alan, üzerine yapay dişlerin yerleştirildiği pembe kısımdır (8). Total ya da parsiyel diş-doku kayıplarında ve iskeletsel defektlerin maksillofasial protezlerinde protez kaide materyallerinden faydalanılmaktadır.

Protez kaide materyali ilk olarak 1839'da polimer olan vulkanize kauçuğun üretimiyle diş hekimliği alanına girmiştir. Vulkanize kauçuk materyali şekil almasının kolay, hafif, üretiminin basit ve ağız ortamında çözünürlüğü düşük olan termoplastik bir materyaldir. Ancak koyu renkli ve boyutsal stabilitesinin iyi olmamasından dolayı kaide materyali olarak kullanımı terk edilmiştir (2,9-10).

1843'te Redtenbacher, polimetil metakrilatı kokusuz akrilik asit polimeri olarak tanımlamıştır. 1940'lardan beri PMMA; işlenebilirliğinin kolay olması, mekanik özelliklerinin kabul edilebilir olması, maliyetinin ve sitotoksitesinin düşük olmasından dolayı klinik ve diş laboratuvarları için önemli bir biyomateryal haline gelmiştir (11).

Tablo 1. PMMA'nın Kronolojik Olarak Gelişimi (12).

Yıllar	Gelişmeler
1843	Akrolein molekülünün oksidasyonu ile akrilik asit elde edilmiştir (13).
1931	Levha formlarında daha sert PMMA, ticari olarak piyasaya sürülmüştür (14).
1936	Otto Rohm tarafından endüstriyel PMMA'yı geliştirilmiştir (15).
1937	PMMA, ilk olarak protez kaidesi üretimi için toz halinde üretimi sağlanmıştır (16).
1945	PMMA, beyin cerrahları tarafından kranioplastiler için yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (17).
1945	Soğuk (oda sıcaklığında polimerize) PMMA piyasaya sürülmüştür (18).
1946	PMMA, protez yapımında en çok kullanılan materyal haline gelmiştir (16).
1950-1960	Ortopedi cerrahi operasyonlarında PMMA femur kemik protezlerinin yapıştırılma işleminde kullanılmıştır. PMMA diş hekimleri tarafından diş, geçici kron veya köprü, maksillofasiyal protezler yapımında olmak üzere çeşitli uygulamalarda sıkça kullanılmaya başlanmıştır (19).
21.yüzyıl	Mevcut PMMA materyalinin mekanik ve fiziksel özelliklerini iyileştirmek için çeşitli modifikasyon araştırmaları devam etmektedir (20-22).

Polimer teknolojinin gelişmesiyle birlikte epoksi, polivinil akrilik, polistiren, polikarbonat, naylon, poliamid gibi polimerler protez kaide materyali olarak kullanılmıştır (7, 9, 23).

Naylonlar ve epoksi rezinlerin yüksek oranda su emilimlerinin olması, boyutsal ve renk stabilitesinin iyi olmaması gibi dezavantajlarından dolayı protez kaide materyali olarak pek tercih edilmemiştir (9-10, 24). Polikarbonat kaide materyalleri ise; enjeksiyon sistem ekipmanlarının hassas ve pahalı olması, polimerizasyonunun yüksek sıcaklık gerektirmesi gibi dezavantajlara sahiptir.

1942'den sonra tanıtılan vinil akrilik kopolimer ve polistiren materyallerinin dayanıklılıkları akrilik rezinlere göre daha yüksektir (25-26). Çeşitli materyaller protez kaide materyali olarak kullanılmışsa da PMMA kadar beklenen estetik ve fiziksel özellikleri karşılayamamışlardır (2, 24).

1994 yılında ilk olarak fotopolimerizan akrilik kaide rezininden 3D lazer teknolojisi kullanılarak total protez kaideler elde edilmiş, yapay dişler kompozit rezinden oluşturularak total protez üretimi sağlanmıştır (27). Aynı zamanda 3D lazer teknolojisiyle hastanın eski protezi taranarak dijital kopya elde edilmiş, CNC (Computer Numerical Control) milledirme cihazıyla ilk dublikat protez elde edilmiştir (28).

2010 yılında, protezin taranmasında Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi (KIBT)'i kullanarak total protezlerin tasarımı ve dişlerin konumlandırılması yapılmıştır (29-30).

İlk olarak 2011 yılında Goodacre ve arkadaşları total protez yapımında CAD/CAM (Computer Aided Design/ Computer Aided Manufacturing) teknolojisini kullanmışlardır (31). Yeni materyallerin gelişimiyle beraber, total protezin üretiminde CAD/CAM teknolojisinin kullanımı; polimerizasyon büzülmesini elimine etmesi, daha doğru oklüzal ilişki ve dişlerin konumlandırılması, daha iyi doku uyumunun olması, daha az sayıda randevuya ihtiyaç duyulması gibi avantajları sağlarken oklüzal dikey boyut, dudak desteği ve insizal kenar görünürlüğü gibi hasta üzerinde doğrulanması gereken provaları gerçekleştirememektedir (30, 32).

2.2. Polimer ve Polimerizasyon

Monomer adı verilen düşük moleküler ağırlığa sahip moleküllerin bir dizi seri reaksiyon zincirine girerek yüksek moleküler ağırlığa sahip makro moleküllerin meydana gelmesine polimerizasyon; oluşan moleküllere ise polimer denir (23, 33). Polimerizasyon derecesi reaksiyona giren monomerin türü, sayısı, polimerizasyona katılma şekline göre değişir. Polimerizasyon derecesinin yüksekliği meydana gelen polimerin fiziksel dayanıklılığını ve zincir uzunluğunun artmasını sağlamaktadır (33).

Polimerizasyon reaksiyonlarının oluşumu iki farklı şekilde gerçekleşir:

a) Katılma Polimerizasyonu

b) Kondensasyon Polimerizasyon

a) Katılma polimerizasyonu

Diş hekimliğinde kullanılan polimerlerin büyük bir kısmı katılma polimerizasyonu sonucu elde edilmektedir. Reaksiyonu başlatan reaktif grupların monomeri etkilemesiyle zincir büyümesi başlar, monomer molekülleri çok kısa bir sürede zincir oluştururlar. Katılma polimerizasyonu bağ yapmamış elektron içeren serbest radikallerin oluşumuna bağlıdır (2, 23). Doymamış monomer molekülündeki iki karbon atomu arasındaki çift bağın tek bağa dönüşmesini sağlayarak reaksiyon devam eder, yan ürün oluşmaz ve çok büyük moleküller meydana gelir (34). Bu polimerizasyon şekli sırasıyla; aktivasyon, başlama, büyüme ve sonlanma olmak üzere 4 farklı aşamada gerçekleşir (34-36).

b) Kondenzasyon polimerizasyonu

İki veya daha fazla molekülün seri halinde reaksiyonları sonucunda yüksek moleküler ağırlığa sahip polimer ve yan ürün oluşumuna kondenzasyon polimerizasyonu denir. Reaksiyonlar sonucunda su, amonyak, metanol gibi çeşitli yan ürünler ortaya çıkar (37). Kondenzasyon polimerizasyonu ile oluşan polimerlerin oluşumu katılma polimerizasyonuna göre daha yavaştır (23, 34, 37).

Büyük moleküller daha az hareketli olduklarından dolayı zincir büyümesi daha az ve yavaş bir şekilde gerçekleşir. Bu nedenle çok büyük molekül ağırlığına sahip polimerlerin oluşumu oldukça yavaştır (2, 8, 23, 37).

2.2.1. Diş Hekimliğinde Kaide Polimerlerinin Sınıflandırılması

Polimerler, heterojen ve kompleks yapıda olduklarından dolayı kesin bir sınıflandırılma yapılması mümkün değildir.

2.2.1.1. Sentetik Polimerlerin İşleme Yöntemlerine Göre Yapılan Sınıflandırma

- a) Termoplastikler
- b) Termosetler
- c) Elastomerler olmak üzere üç ana gruba ayrılırlar (38).

a) Termoplastikler

Isı ve basınç etkisiyle yumuşayıp akan ve soğutulduğunda sertleşip plastik özelliklerini koruyabilen katı haline geri dönebilen plastiklerdir. Isı ve basınç altında hiçbir kimyasal değişikliğe uğramadan farklı şekiller verilebilir. Termoplastik gruptaki en önemli plastikler olarak; akrilikler, PMMA, naylon, polivinil akrilikler, polistiren, polietilen, selülozikler, karbonflorür ve vinilleri saymak mümkündür. Termoplastik polimerin kullanım alanları oldukça geniştir (1).

b) Termosetler

Isı ve basıncın etkisiyle kimyasal reaksiyon sonucu oluşan ve irreversible şekillendirilebilen plastiklerdir. Isı ve basınç işleminden sonra katı, rijit ve plastik olmayan bir madde haline gelir. Termosetler kondenzasyon polimerizasyonu sonucu elde edilirler ve çapraz bağlar içerirler. Çözünme ve yanma reaksiyonu göstermeyen stabil polimerlerdir. Polimerizasyon reaksiyonu, monomerlerin bir araya getirildiği reaktörde başlar ve kalıplama işlemi sırasında biter. Polimerizasyon işlemiyle sertleşir ve kırılırlar (1,39).

c) Elastomerler

Üç boyutlu ağ yapısında ve yüksek elastikiyet modülüne sahip polimerlerdir. Termoplastik polimerlerin alt grubu olarak da sayılabilirler. Çekme kuvveti etkisiyle çok yüksek oranda uzama gösteren ve kuvvet kaldırıldığında ilk uzunluğuna dönebilen, çapraz bağları olan kauçuğumsu polimerlerdir (40).

2.2.1.2. ISO standartlarına göre sınıflama

Rezin bazlı dental materyallerde, polimerizasyon, çeşitli başlatma sistemleri ve aktivasyon yöntemleri ile gerçekleşir. Polimer yapı ve polimerizasyon tipine göre farklı şekillerde sınıflandırılırlar.

ISO (International Standards Organization) standartlarında üretimi yapılan kaide materyalleri polimerizasyon tiplerine göre 5 farklı gruba ayırmıştır (41).

ISO standartlarına göre spesifikasyon no: 20795-1:2013

Tip 1: Isı ile polimerize olan polimer

Sınıf 1: Toz ve likit

Sınıf 2: Plastik pat

Tip 2: Otopolimerizan polimer

Sınıf 1: Toz ve likit

Sınıf 2: Toz ve likit akışkan rezinler

Tip 3: Termoplastik toz içerenler

Tip 4: Işın ile polimerize olan polimer

Tip 5: Mikrodalga ile polimerize olan polimer (37)

2.2.1.3. Polimerizasyon tekniklerine göre pmma rezinlerin sınıflandırılması

Tablo 2. Polimerizasyon tekniklerine göre PMMA rezinlerin sınıflandırılması (1,42).

Polimerizasyon şekillerine göre PMMA rezinlerin sınıflandırılması
I) Isı ile polimerize olan akrilik rezinler 1. Geleneksel yöntemle polimerize edilen akrilik rezinler a. Doldurucusuz PMMA akrilik rezinler b. Çeşitli materyallerin ilavesiyle güçlendirilmiş akrilik rezinler 2. Enjeksiyonla kalıplama tekniği kullanılan ısı ile polimerize edilen akrilik rezinler a. Poli (Metilmetakrilat) b. Polikarbonat c. Poliamid d. Polisülfon
II) Kimyasal polimerize akrilik rezinler a. Konvansiyonel akrilik rezinler b. Akışkan akrilik rezinler c. Enjeksiyon kalıplama tekniği kullanılan akrilik rezinler
III) Işık ile polimerize akrilik rezinler
IV) Mikrodalga enerjisi ile polimerize akrilik rezinler (35, 43).
V) Gamma ışını ile polimerize akrilik rezinler (44).
VI) CAD/CAM teknolojisinde kullanılan akrilik rezinler a. Eksiltmeli (Prepolimerize blokların kazımalı) üretilen akrilik kaide rezinleri b. Eklemeli (3B yazıcılarda) üretilen akrilik kaide rezinleri

2.2.2. İdeal bir protez kaide materyalinin sahip olması gereken özellikler

1) Yüksek elastikiyet modülüne sahip olmalıdır; çiğneme kuvvetleri altında kaidenin ince olduğu yerlerde stabil kalmalı, kolayca deforme olmamalıdır (1, 38).

2) Sert olmasıyla birlikte tesviye işlemlerinde kolayca şekillendirilebilir olmalıdır (1, 45).

3) Tekrarlayan çiğneme, yutkunma gibi faaliyetlerde oluşan kuvvetlere karşı yeterli yorulma dayanımı ve aşınma direncine sahip olmalıdır (2, 38).

4) Bakteri, mantar gibi mikroorganizma ve plak tutulumu az olmalı, kolayca temizlenebilir olmalıdır (1, 36).

5) Yapay dişlerle kimyasal bağlantısı iyi olmalı ve ısıl genleşme katsayıları birbirine yakın olmalıdır (1-2).

6) Su emme miktarı minimum hatta hiç olmamalı ve bununla birlikte ağız ortamında çözünmemelidir (1-2).

7) Artık monomer içermemeli, ağız doku ve renklerini taklit edebilmeli, iyi bir estetiğe sahip olmalıdır. Yiyecek, içecek ya da kullanıma bağlı renk değişimi olmamalı ya da minimal olmalıdır (2, 8, 35).

8) Hafif olmalı bununla birlikte kırılma ve çarpma dayanımı yüksek olmalıdır (1, 42, 46).

9) Radyopak olmalıdır (1).

10) Isı iletkenliği iyi olmalıdır (1-2).

11) Uzun raf ömürlü ve düşük maliyetli olmalıdır (1-2).

12) Yüzey düzensizliği ve porozite içermemelidir (1, 35, 42).

2.2.3. PMMA (Polimetilmetakrilat) kaide materyali

Polimetilmetakrilat (PMMA); akrilik monomerlerin alfa karbon atomlarına bağlı metil gruplarından oluşan metakrilatın polimerizasyonu sonucu meydana gelmektedir. Protez kaide materyali olarak sıkça kullanıldığı gibi diş hekimliğinin diğer alanlarında da oldukça sık kullanılmaktadır (1, 33).

Yapay akrilik dişlerin, obturatörlerin, ortodontik apareylerin, geçici kron ve köprülerin üretimi dahil olmak üzere protez yapımında ve protezlerin tamirinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

PMMA'nın hafifliği, estetiği, maliyet etkinliği, manipülasyon kolaylığı ve uyarlanabilir fiziksel ve mekanik özellikleri, onu dental uygulamalar için uygun ve popüler bir biyomateryal haline getirmiştir.

PMMA, transparan (şeffaf) termoplastik bir rezindir, kullanılacak olan bölgeye göre çeşitli pigmentlerle rengi değiştirilebilir ve istenen renk elde edilebilir. 250 nm dalga boyuna kadar ışığı geçirir (38, 46).

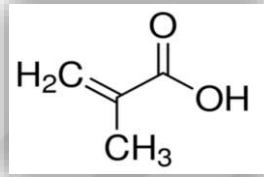
Polimer yapısı doğrusal ve hidrofobisitesi yüksektir, aseton, kloroform gibi organik çözücülerde çözünebilir. Termoplastik olduğundan dolayı kolayca şekil alır. 125°C'de yumuşar, 125°C-200°C'de kovalent bağlarını kaybederek depolimerize olur. Depolimerizasyonun %90'ı 450°C'de gerçekleşir. UV ışığa karşı dirençli olduğundan, uzun süre maruz bırakıldığında renginde değişim meydana gelmez (33, 38, 46, 47).

Protez kaide materyali olarak kullanılan rezinler genellikle toz ve likit formda ikili halde piyasada bulunmaktadır:

Toz; İçeriğin büyük bir kısmı prepolimerize düzensiz, küçük boyutlarda PMMA kürecikleri ve buna ek olarak akrilik kopolimerler, reaksiyon başlatıcı ajanlar, renk pigmentleri, boyalar, opaklaştırıcı ve plastikleştirici ajanlardan oluşmaktadır (1, 35). Az miktarda eklenen benzoil peroksit, serbest radikallerin oluşumunu sağlayarak reaksiyonun başlatılmasından sorumludur (35, 37, 48, 49). Dokularla uyumlu renk alabilmesi için kadmiyum sülfid, civa sülfid, kadmiyum selenit gibi maddeler eklenir, çinko oksit veya titanyum oksit eklenerek de polimere radyoopak özellik kazandırılabilir (38, 48-49).

Likit; PMMA protez kaide materyallerinin likitinin esas maddesi genellikle saf haldeki metilmetakrilat (MMA) olmasına rağmen bazen diğer akrilik monomerleri ile modifiye edilebilir. Likit monomer, düşük viskoziteye sahiptir; ısı, ışık ve oksijenden etkilenir. Bu nedenle raf ömrünü uzatmak için düşük miktarda (%0,006 veya daha az) hidrokinon eklenir ve koyu renkli cam şişelerde muhafaza edilir (1, 35, 50).

Glikol dimetakrilat, dibütil fitatlat gibi bileşikler, polimer içindeki çapraz bağları artırarak materyalin fiziksel ve mekanik dayanıklılığını artırmaktadırlar; aynı zamanda kimyasal yapı olarak MMA ile aynı olduğundan iki polimer zinciri arasında köprü görevi yaparak polimer zincirinin büyümesini de sağlarlar (35, 47). Otopolimerize akrilik rezinlerin içerisine aktive edici ajan tersiyer amin olan dimetil-p-toluidin; fotopolimerize akrilik rezinlerin içerisine ise kamferokinon eklenmektedir (38,49).



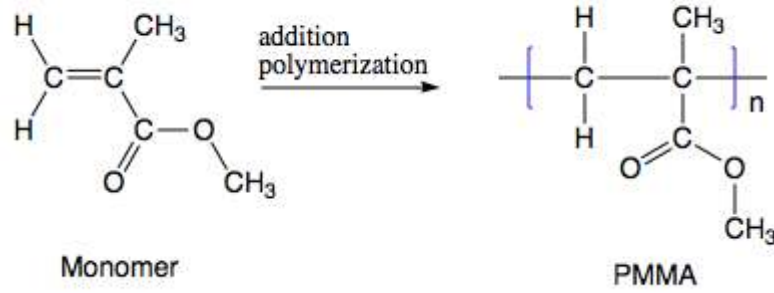
Şekil 1. Metakrilik asitin kimyasal formülasyonu.

Tablo 3. Akrilik kaide materyallerinin kompozisyonu (38).

Komponent	İçerik
<u>Toz</u>	
Polimer	Polimetilmetakrilat boncuklar
Başlatıcı	Peroksitler genellikle benzoil peroksit
Pigment	Kadmiyum tuzları ve organik boyalar
<u>Likit</u>	
Monomer	Metil metakrilat
Çapraz Bağlayıcı Ajan	Etilenglikol Dimetakrilat
İnhibitör	Hidrokinon
Aktivatör	N N'-dimetil-p-toluidin

PMMA'nın polimerizasyonu

Zincir oluşmasını sağlayan MMA (Metilmetakrilat) monomerin 'Serbest Radikal Katılma Polimerizasyonu' ile akrilik kaide rezinler polimerize olurlar (1, 33, 48).



Şekil 2. MMA'nın katılma polimerizasyon reaksiyonu ile PMMA'ya dönüşümü (1).

Başlatıcı radikallerin serbest radikale dönüşmesi; organik/hidrojen peroksit, azo/diazo gibi bileşiklerin ısıya, ışığa (Ultraviyole) veya yüksek enerjili radyasyona (Gama Işını) maruz kalarak bozunmasının akabinde reaksiyonun başlamasıyla meydana gelir (1, 33). Başlama aşamasını sırasıyla yayılma ve sonlanma aşamaları takip eder.

Konvansiyonel ısıyla polimerize olan akrilik rezinlerde başlatıcı ajan olarak genellikle benzoil peroksit yer alır, kimyasal polimerize olanlarda ise tersiyer amin olan dimetil-p-toluidin görev almaktadır (1, 37, 51).

Yayılma aşamasında ise oluşan serbest radikaller, metil metakrilat monomeriyle reaksiyona girer ve yeni kökler oluşturarak reaksiyon zincirini devam ettirirler. Sonlanma aşamasında iki büyük zincirin radikalleri arasında kovalent bağ oluşarak polimere dönüşüm sağlanmış olur. Her zaman polimerizasyon reaksiyonu sonucunda belli bir miktar reaksiyona girmemiş artık monomer (Rest monomer) kalır (1, 48, 52-53).

2.2.3.1. PMMA'nın fiziksel özellikleri

PMMA, akrilat ailesine ait amorf polimerlerden birisidir. 100-130 °C sıcaklıklar arasında camsı geçiş gösterir, berrak ve renksiz bir polimerdir (1, 35, 54). PMMA, UV radyasyona maruz bırakıldığında sadece küçük değişimler meydana gelir, güneş ışığına karşı yüksek dirence sahiptir. Ancak darbe ve yorulma dirençleri zayıftır (1, 54). Termal stabilitesi oldukça iyidir, 70°C den 100 °C kadar sıcaklıklara dayanabilir.

Kırılma indisi olup 1.490 oldukça iyi optik özelliklere sahiptir, insan dokularıyla uyumlu olarak renklendirilebilir (2, 54).

Tablo 4. Isı ile polimerize akrilik rezinlerin fiziksel özellikleri (55).

Özellik	Değerler
Çözünürlük (Hidrokarbon)	0.04 gcm ⁻²
Çözünürlük (Suda)	0.02 mg.cm ⁻²
Su Emilimi	0.69 mg.cm ⁻²
Elastikiyet modülü	3.8.10 ³ MPa
Orantısal limit	26 MPa
Kompresif direnç	76 MPa
Gerilme direnci	48-62 MPa
Uzama miktarı (%)	%1-2
Darbe dayanımı	0.98-1.27 J
Sertlik	18-20 KHN
Yorulma direnci	1.5.10 ⁶ döngü 17.2 MPa
Termal iletkenlik	5.7.10 ⁻⁴ °C/cm
Termal genişleme katsayısı	81.10 ⁻⁶ /°C
Camsı Geçiş Sıcaklığı	125°C

2.2.3.2. PMMA'nın kimyasal yapısı

PMMA, IUPAC ismiyle poli (1-Metoksikarbonil)-1metil etilen) hidrokarbon olup, poli (2-Metilpropenat) ester bağına sahip, metilmetakrilat monomerinden oluşturulan sentetik bir polimerdir (30).

a) Çözünürlük

Genel tanımıyla çözünürlük, katı, sıvı veya gaz haldeki bir maddenin, sıvı veya gaz olan bir çözücü ile homojen bir çözelti veya karışım oluşturma yeteneğidir (56). Temel olarak çözünürlük maddenin ve çözücünün fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlıdır.

Çözünürlük; ortamın ısısı, çözünme süresi, solüsyonun yoğunluğu, materyalin kalınlığı ve şekli, monomerin yapısı, çapraz bağlantının şekli ve miktarı, doldurucunun tipi ve hacmine bağlıdır (56-57). Çözücü içinde ilk olarak PMMA'ta şişme meydana gelir, ardından yüzeyinde yumuşak tabaka oluşarak karmaşık bir çözünme işlemi gerçekleşir (1,56-57). Çözünme sırasında, akrilik rezinlerden çözücüye az miktarda başlatıcı ve plastikleştirici ajanlar, en çok da reaksiyona girmemiş artık monomerler geçer (56-58). PMMA en iyi çözücüsünde bile homojen karışım oluşturmada, çözücünün polimere difüzyonu şeklinde çözünmeden birkaç dakika kalabilir.

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin ağız ortamında çözünmemesi istenir (1-2). PMMA tiner, alkol, kloroform gibi organik çözücülerde çözünür (56). ISO standartlarına göre protez kaide materyali en fazla 0.08mg/cm² çözünmelidir, daha fazla olması durumunda materyal başarısız kabul edilmektedir. Sudaki çözünürlükleri ısı ile polimerize akriliklerin 0.02mg/cm², otopolimerizan akriliklerin ise 0.05mg/cm² 'tir (9, 24, 59).

b) Su emilimi

Polar bir molekül olduğundan ve molekülleri arasındaki mesafenin fazla olmasından dolayı PMMA'ta da diğer organik materyallerdeki gibi uzun dönemde yavaş su emilimi gerçekleşir (37, 56). ISO standartlarına göre bir materyalin diş hekimliğinde kullanılabilmesi için 0.8mg/cm² den daha fazla su emilimi göstermemelidir (60).

Difüzyon, mikromoleküllerin makromoleküllerin arasına girip gerilimi azaltıp, protezde boyutsal değişikliğe sebep olmaktadır. Akrilik rezinlerde su emilimiyle birlikte %1'lik ağırlık artışı ve %0.023 boyutsal artış meydana gelmektedir. Bu boyutsal değişim protezin uyumunu olumsuz yönde etkilemektedir (48, 54, 61).

2.2.3.3. Farklı polimerizasyon yöntemlerine göre PMMA rezinler

D) Isı ile polimerize olan akrilik rezinler

Günümüzde ısı ile polimerize akrilik rezinler fiziksel, biyolojik ve estetik protez kaide materyali olarak sıkça kullanılmaktadır. Isı ile polimerize akrilik rezinlerde, başlatıcı ajanın aktive olması için 65-70 °C sıcaklıklara kadar ısıtılması gerekmektedir (37, 49). Gereken ısı, konvansiyonel olarak suda kaynatma veya mikrodalga fırın gibi yöntemlerle sağlanır. Piyasada genellikle toz likit ikili formda bulunmaktadır (1, 49).

Isı ile polimerize PMMA tozu içerisinde: PMMA tanecikleri, başlatıcı (Benzoil peroksit), plastikleştirici (Dibutil ftalat), opaklaştırıcı ajanlar (Titanyum ve çinko oksit), lif ve çeşitli pigment boyalar içerir. Sıvı bileşen içeriğinde ise MMA monomer, etilen glikol dimetakrilat çapraz bağlantı ajanı ve hidrokinon inhibitör olarak bulunmaktadır (62).

Polimerizasyon reaksiyonu, her iki bileşenin karıştırılmasıyla başlar ve başlatıcıyı etkinleştirmek için ısı enerjisine (Örneğin bir su banyosuna) ihtiyaç duyar. Isıtıldığında başlatıcı olan benzoil peroksit, karbondioksit (CO_2) ayırır ve serbest radikaller oluşturur (63). Kademeli olarak yükseltelen sıcaklık derecelerinde polimerizasyonun, iyi fiziksel özellikler sağlayabilmektedir ancak boyutsal stabilizasyonun bozulmasına ya da pörozite oluşumuna neden olabilmektedir (64).

Tablo 5. Isı ile polimerize PMMA'nın polimerizasyon siklusları (12).

Isıl döngü	Sıcaklık	Süre	Terminal Kaynatma	Referans
1	74 °C	8 saat	Yok	(37)
2	74 °C	8 saat	1 saat	(37)
3	74 °C	3 saat	1 saat	(42)
4	73.9 °C	12 saat	Yok	(65)
5	70 °C	3 saat	1 saat	(66-67)
6	100 °C	20 dakika	Yok	(67)

1. Konvansiyonel basınçla kalıplama tekniği kullanılarak ısı ile polimerize olan akrilik rezinler

Muflalama metodu, protez kaide üretimi için en sık kullanılan yöntemdir. Mufla içerisinde alçı ya da silikon alçıdaki negatif boşluklara akril hamurunun koyulup preslenmesini takiben, sıcak su banyosunda akriliğin polimerizasyonu sağlanır. Akril hamur, üretici talimatları doğrultusunda hacimsel olarak toz/likit oranı 3:1 olacak şekilde karıştırılır. Katılan polimer miktarı arttırıldığında polimerizasyon süresi ve polimerizasyon büzülmesi azalmaktadır ancak polimer kürelerinin ıslatılabilmesi ve homojen olabilmesi için likitin gereken miktarda ilave edilmesi gerekmektedir (25). Toz-likit karışımında ıslak kum, liflenme, hamur ve lastik safhaları sırasıyla meydana gelir (2, 48). Hamur aşamasındayken muflaya yerleştirilmesi gerekir (1-2, 8, 65).

Klasik muflalama metodunda su banyosundaki kaynatma işlemi uzun süreli (yavaş kaynatma) ya da kısa süreli (Hızlı kaynatma) olarak yapılabilmektedir. Isı kaynağı olarak ısıtmalı bir su banyosunun yerine kuru hava fırını (66), buhar (66-67), kırmızı ötesi ışın (infrared-IR) gibi yöntemler de kullanılabilmektedir (68-69). Son zamanlarda otoklav polimerizasyon yöntemi geleneksel yöntemle alternatif bir metod olarak geliştirilmiştir (69-70). Bu yöntem kolaydır ve kısa sürede yüksek polimerizasyon derecesine sahip akrilik rezinler elde edilebilmektedir (70-71).

Otoklav polimerizasyonu, geleneksel ısı polimerizasyonla kıyaslandığında daha yüksek sıcaklıklarda polimerizasyon işlemi gerçekleştirilebilmektedir. Yapılan çalışmalarda otoklav ile polimerize yöntemiyle elde edilen PMMA'nın geleneksel yöntemle elde edilenlere göre daha yüksek gerilme mukavemeti ve iyi mekanik özellikler gösterdiği bildirilmiştir (72).

2. Enjeksiyonla kalıplama tekniği kullanılarak ısı ile polimerize edilen akrilik rezinler

Akrilik rezinin 6 atm hava basıncı altında enjeksiyon yöntemiyle mufla içerisindeki kalıba yerleştirilip ve ısı ile polimerize edilme yöntemidir (37, 73).

Enjeksiyon kalıplama tekniği kullanılarak polimerize edilen akrilik rezinlerin polimerizasyon büzülmesinin azaldığı, artık monomerin daha az olduğu, akriliğin detaylara daha iyi yerleştiği ve daha homojen olduğu gösterilmiştir. Ancak zel ekipmanlarının pahalı olması gibi dezavantajları vardır (1, 73).

II) Kimyasal olarak polimerize edilen akrilik rezinler (Otopolimerizan akrilik rezinler)

a) Konvansiyonel akrilik rezinler

Otopolimerize akrilik rezinler, ısı ile polimerize olanlardan farklı olarak tersiyer aromatik amin içermektedirler (1-2). Tersiyer amin başlatıcı olarak görev yaparak polimerizasyon reaksiyonunu başlatırlar; böylece ek ısı gerektirmeden oda sıcaklığında polimerize olabilirler. Bu özelliklerinden dolayı soğuk akrilik ya da kendi kendine polimerize akrilik olarak da adlandırılırlar (1-2, 9). Toz-likit karışımı hazırlandıktan sonra mufla içerisindeki boşluğa yerleştirilir, 20-30 dakika içinde ilk sertleşme gerçekleşir. Ancak polimerizasyon derecesi ısı ile sertleşenlere göre daha düşüktür. Bu nedenle artık monomer miktarı, polimerizasyon büzülmesi ve porözite miktarı daha fazladır (35, 49). Daha iyi bir boyutsal stabilite için mufla içerisinde uzun süreli basınç altında bekletilmesi önerilmiştir (48).

b) Akışkan akrilik rezinler

Polimer tanecikleri küçük ve düzenli yapıda olan, akışkanlığı yüksek ve kimyasal olarak polimerize olan yeni tip akrilik rezinlerdir. Doku uyumları oldukça iyidir, muflalama işlemleri basittir. Ancak bazı dezavantajları vardır: Çok sayıda hava kabarcığı oluşabilmektedir, plastik dişlerle bağlantısı zayıftır ve özel ekipman-teknik hassasiyet gerektirir (54).

III) Işık ile polimerize edilen akrilik rezinler

Görünür ışıkla sertleşen akrilik rezinler olarak da bilinirler ve bazı kompozit bileşenleri içermektedirler. Uretan dimetakrilat, akril kopolimerleri, silika doldurucular ve kamforokinon içerirler. Polimerizasyon işlemi kendine özgü tabla ve sistemde; 400-500 nm dalga boyundaki halojen lambalardan üretilen mavi ışıkla

sağlanır. Muflalama, mum eritme ve presleme işlemleri olmadığından yapımı basittir ve kısa sürede tamamlanır. Bu akrilik rezinler ışık geçirmez kaplarda kullanıma hazır olarak bulunmaktadır (1, 2, 48, 74). Işıkla sertleşen PMMA materyallerinin mekanik özellikleri; geleneksel ısı ile polimerize edilen PMMA'dan daha düşüktür ve bu nedenle kullanımları, özel ölçü kaşığı, kaide plağı ve tamir işlemleriyle sınırlıdır (1, 74).

Tablo 6. Işıkla polimerize olan akrilik rezinlerin içeriği (36).

Rezin içeriği
Uretan dimetakrilat
Silikan mikroparçalar
Yüksek molekül ağırlıklı akrilik rezin monomerleri
PMMA boncukları
Kamforokinon

IV) Mikrodalga enerjisi ile polimerize edilen akrilik rezinler

Mikrodalga enerjisi, PMMA'ın polimerizasyonunu sağlamak ve polimerizasyon derecesini artırmak için kullanılabilecek başka bir ısı enerjisi kaynağıdır. Polimerizasyonu sağlamak için mikrodalga enerji kaynağı ve metal olmayan muflalar gereklidir. Polimerizasyonunda karbon fiberle güçlendirilmiş plastik muflalar kullanılmaktadır. Monomer moleküllerinde elektromanyetik alan içerisinde MHz frekans dalgalarının etkisiyle dönme hareketi meydana gelir (75).

Dönme hareketiyle moleküler düzeyde sürtünmeden kaynaklı ısı oluşur, oluşan ısı polimerizasyonu sağlar (1, 2, 75). Mikrodalga enerjisiyle polimerize olan akrilik rezinlerin, ısı ile polimerize olanlara göre; polimerizasyon büzülmesi daha az veya benzer, boyutsal stabilitesi ve fiziksel özellikleri ise daha iyi veya benzer olduğu gösterilmiştir (2, 75). Bu yöntemin en önemli avantajı çok kısa sürede rezinin polimerizasyonunu sağlamasıdır. Dezavantajı ise özel plastik mufla gerektirmesi ve bu muflaların birkaç kullanımdan sonra deforme olmasıdır (1, 45, 75).

V) Gamma ışını ile polimerize olan akrilik rezinler

Gama ışınıyla polimerizasyon metodu diş hekimliğinde sık kullanılan bir metot olmasa da polimer endüstrisinde sıkça kullanılmaktadır. Gamma ışınları, dalga boyları küçük elektromagnetik ışınlardır ve UV ışınlarla benzerlerdir.

Gama ışını radyoaktif izotop çekirdekten yayılır ve enerji seviyesi yüksektir ve derinlere penetre olabilirler (6, 76). Yüksek penetrasyon özelliğine sahip olduğundan materyallerde ısı artışına sebep olmadan, polimerizasyon derecesini ve hızını artırarak monomerlerin etkin bir şekilde polimere dönüşümünü sağlayabilirler (73, 76).

VII) CAD/CAM teknolojisinde kullanılan akrilik rezinler

a. Eksiltmeli (Prepolimerize blokların kazıma yöntemiyle) üretilen akrilik kaide rezinleri

Prepolimerize akrilik diskler, CAD/CAM teknolojisinde kullanılmak üzere polimerizasyon işlemi üretici tarafından gerçekleştirilmiştir. Üretim sürecinin detayları ticari bir sır olsa da bazı aşamalar aynıdır.

Toz ve likit uygun oranlarda karıştırılır, hamur kalıplara yerleştirilir, preslenir ve kademeli olarak artan sıcaklıklarda ve basınçta polimerize edilir (77-78). Böylelikle, porozite oluşmadan polimerizasyon derecesi arttırılmaktadır (78). Sonuçta; çok uzun polimer zincirlerine, düşük artık monomer içeriğine ve yüksek sertliğe sahip bir ürün ortaya çıkmaktadır (30, 78). Genellikle 25 mm kalınlığında 98-100 mm çapında yüksek sıcaklık ve basınç altında üretilen akrilik bloklardır.

Yüksek derecede çapraz bağa sahip, artık monomer miktarı daha az, porozite içermeyen, su emiliminin ve plak tutulumunun geleneksel yöntemle göre daha az olduğu bildirilmiştir (79-80).

CAD/CAM sistemiyle prepolymerize akriliklerden yapılan protezlerde dijital veriler depolanabildiği için protezlerin kopyalarının elde edilmesi ve standardizasyonun sağlanabilmesi mümkündür. Protez kaidesi prepolymerize akrilik bloklardan millenerek üretildiğinden boyutsal büzülme problemi ortadan kalkar ve uyumu daha iyi olan kaideler yapılır (80-81).

Şeffaf, farklı beyaz ve pembe renk tonlarında monokromatik veya polikromatik prepolimerize akrilik bloklar piyasada bulunmaktadır. Böylece bir bloktan kron ve köprülerin kole ve insizal kısımlarının farklı renk tonlarında yapılması mümkündür (78, 81).

b. Eklemeli (3B yazıcılarda) üretilen akrilik kaide rezinleri

Üç boyutlu yazıcılarda üretim teknolojisi, tam protez üretiminde de kullanılmaya başlanmıştır. 3B yazıcılarda tam protez üretiminde polimerize edilmemiş akrilik rezinler kullanılarak eklemeli üretim gerçekleştirilir. Üretim yapıldıktan sonra polimerizasyonun tamamlanması için UV ışıkla polimerizasyon işlemi tamamlanır. Üretilen tam protez platformdan sökülürken protezde deformasyon meydana gelebilmektedir. Rezinin üzerindeki katmanda polimerizasyonu tamamlanmamış monomerlerin ve artıkların uzaklaştırılması için uygun bir çözücü ile yıkama işlemi yapılır.

Eklemeli üretimin avantajları arasında yüksek boyutsal doğruluk, kazıma ile protez üretimi yöntemine kıyasla daha az malzeme israfı olmaktadır. Dezavantajları ise katman katman üretime bağlı merdiven etkisinin oluşması, üretim platformundan sökülürken deformasyon oluşma riski, geleneksel yöntemle kıyasla daha düşük estetik görünüme sahip olması sayılabilir (82). Henüz çok yeni olan bu yöntemle tam protezlerin üretimi geliştirilmeye açıktır (83).

2.2.3.4. Polimerizasyon derecesi ve artık monomer

Polimer materyallerde karbon çift bağlarının ($C=C$), tek bağa ($C-C$) dönüşüm miktarına polimerizasyon derecesi denmektedir (46). Akrilik rezinler çeşitli polimerizasyon metotlarına rağmen tüm MMA monomerlerinin polimere dönüşümü tamamen gerçekleşmez, polimerizasyon reaksiyonuna girmemiş rezidüel monomer (artık monomer) kalır (1, 47, 84-85). Artık monomerin varlığı ve miktarı materyalin mekanik (1, 86), fiziksel (1, 24, 87) ve biyolojik (1, 88) özelliklerini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir.

Rezidüel monomer miktarıyla orantılı olarak kaidenin; yüzey sertliği (86, 89), su emilimi (59, 90), porözite miktarı (91-92), renk değişimi (93) gibi özellikleri olumsuz etkilenmektedir.

Reaksiyona girmemiş MMA monomerin; suya, tükürüğe ve yapay tükürüğe salınım yapmaktadır (94). Kaidenin dokuya bakan yüzeyinde tükürük filmi içerisinde depolandığı ve temas ettiği oral mukoza dokularında irritasyona, inflamasyona ve alerjik reaksiyonlara sebep olabilmektedir (1, 95-96). Klinik semptomlar arasında ise en sık oral mukozada eritem, erozyon ve dilde yanma hissi rapor edilmiştir (94-95).

Polimer/monomer oranı, artık monomer miktarıyla doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir (47, 88). Yüksek polimer oranıyla (5:3) (toz:likit) hazırlanan rezinlerin, daha düşük oranda (4:3) hazırlananlara göre daha düşük artık monomer içermektedir (97). Yani polimer oranı arttıkça artık monomer oranı azalmaktadır. Ancak PMMA karışımının farklı toz-likit oranlarında hazırlanması; klinik kullanımını zorlaştırarak ya çok sert ya da çok akıcı olmasına sebep olmaktadır (98). Polimerizasyon reaksiyonu sonrasında polimer ağına sıkıca dahil olmayan ve daha sonra ağız ortamına salınım yapan materyallerin büyük bölümünü MMA oluşturmaktadır (35, 99, 100). Ayrıca PMMA protez kaidelerinde dibütilfitalat (84), hidrokinon (101), formaldehit (102-103), benzoil peroksit (49, 102), benzoik asit (104-105), metakrilik asit (104, 106) ve metil benzoat (85, 101) gibi kimyasal maddelerin çok düşük oranlarda kaldığı veya salındığı da bildirilmektedir.

Daha sonra bu bileşenler lokal veya sistemik yan etkilere neden olabilir. Artık monomer konsantrasyon miktarı aşağıda belirtilen çeşitli parametrelere ve birbiriyle ilişkili faktörlere bağlıdır (107):

- Polimerizasyon metodu
- Polimerizasyon siklusu
- Postpolimerizasyon treatment

Polimerizasyon siklusunun artık monomer miktarına etkisi

Polimerizasyon ısısının ve zamanının artırılmasına bağlı olarak artık monomer miktarının azaldığı ve daha az sitotoksik etkiye sebep olduğunu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (108-109). PMMA'nın 100°C'den daha az ısı ile ısıtılması, 100°C'den daha fazla ısı ile ısıtılmasından daha yüksek MMA monomerin kaide içerisinde kalması ile sonuçlanmaktadır. Polimerizasyon siklusunda terminal kaynatma (100°C'de kaynatma) uygulamanın artık monomer miktarını azalttığı belirtilmektedir (1, 71).

Polimerizasyon metodunun etkisi

Isı enerjisi, MMA moleküllerinde hareketliliği arttırarak daha yüksek polimerizasyon derecesini oluşturarak daha az artık monomer oluşmasını sağlamaktadır. Bu nedenle kimyasal yolla polimerize olan akrilik rezinlerin, ısı veya mikrodalga enerjisiyle polimerize olanlara göre daha fazla artık monomer içerdiği birçok çalışmada bildirilmiştir (66, 84, 86, 110).

Otopolimerize akrilik rezinlerde, ısı ile polimerize rezinlere göre daha yüksek artık monomer olduğu gözlenmiştir. Mikrodalga enerjisi monomer moleküllerinde yüksek frekansta hareket meydana getirdiği için iç ısı artmaktadır. İç ısıнын artması monomerin polimere daha büyük oranda dönüşümüne sebep olur. Bu da artık monomer miktarının otopolimerize akrilik rezinlere göre daha az olduğunu gösterir (111).

Vallittu ve ark. sıcaklık, süre ve polimerizasyon tipinin (ısı ve otopolimerizasyon) artık MMA miktarı üzerindeki etkisini değerlendirdikleri çalışmada, reaksiyonun barbitürik asit tarafından başlatılan otopolimerize akrilik rezin ve benzoil peroksit tarafından aktive edilen ısıyla polimerize rezini karşılaştırmışlardır.

Otopolimerize rezinlerin, ısıyla polimerize edilmiş rezinlerden daha yüksek artık MMA içerdiği bulunmuştur (112).

Post-polimerizasyonun artık monomer miktarına etkisi

Artık monomer miktarını azaltmak ve artık monomere bağılı olarak ortaya çıkan olumsuz etkileri ortadan kaldırmak için post-polimerizasyon yöntemleri önerilmiştir. Bu yöntemler; sıcak su içerisine daldırmak, mikrodalga veya otoklav ile postpolimerizasyon yöntemleridir (113-115).

Önerilen mikrodalga ışınlaması, protezlerin dezenfeksiyonu sağlamanın yanı sıra direkt kullanılan otopolimerize besleme akriliklerinin post-polimerizasyonunu da sağlayarak artık monomer miktarını %25 oranında azalttığı, bükülme direncini arttırdığı ve sitotoksisiteyi azalttığı gösterilmiştir (113). Diğer bir post-polimerizasyon yöntemi ise otoklav ile sıcak uygulamadır.

Temel fonksiyonu sterilizasyon sağlamak olan otoklav, basınçlı su buharı ile doymuş bir ortamda akriliğin post polimerizasyonunda veya polimerizasyonunda kullanılabilir. Diğer metodlara kıyasla daha yeni ve az tercih edilen otoklav ile sıcak uygulama, polimerize olmuş rijit polimer ağı içinde reaksiyona girmemiş monomer ve radikallerin hareketliliğini artırır, polimer zincirleri arasında yeni bağlar kurulmasını sağlar (72, 115). Işıkla polimerize olan kompozit rezinlerin mekanik özelliklerini iyileştirmek amacı ile post-polimerizasyon yöntemi olarak otoklav ile sıcak uygulamasını kullanmışlardır (116).

2.2.3.5. Artık monomer miktarının tespit edilmesinde kullanılan yöntemler

Diş hekimliğinde kullanılan polimerlerin artık monomer miktarlarının kantitatif - kalitatif saptanması için farklı analiz metotları kullanılmaktadır.

Tablo 7. Artık monomer miktarının belirlenmesinde kullanılan analiz metotları (117).

Kalitatif ve kantitatif metotlar	
Ayırıcı termal analiz (Diferansiyel scanning kalorimetri) (DSC)	
Fourier transform-infrared spectroscopy (FTIR)	
Katı faz nükleer manyetik rezonans (NMR)	
UV spektrofotometre	
Multiple internal reflection spektroskopi (MIR)	
Kromatografiler	
	➤ Gaz kromatografisi (GC) ➤ Yüksek basınçlı likit kromatografisi (HPLC) ➤ Likit kromatograf/kütle spektrometri (LC-MS) ➤ Elektrospray iyonizasyon/kütle spektrometrisi ➤ Micellar elektrokinetik kromatografi

2.2.3.5.1. Kromatografi

‘Kromatografi’ bir karışımdaki bileşenlerin, iki ayrı çözücü içerisindeki fizikokimyasal özelliklerinden yararlanılarak, birbirlerinden ayrılmasının sağlandığı yöntemdir (117). Bu yöntemde çalışma düzeneği sabit faz ve mobil faz olmak üzere iki bileşenden oluşur. Sabit faz sıvı veya katı-sıvı karışımı şeklinde bulunmaktadır. Mobil faz ise gaz veya sıvı haldedir ve bu fazdaki bileşenler, sabit fazdan geçiş hızlarına göre ayrılmaktadırlar. Mobil faz; gaz ise gaz kromatografisi, sıvı ise sıvı kromatografisi olarak isimlendirilir (118).

Mobil fazın içerisinde yer alan bileşenler, sabit faza ait dolgu maddesiyle non-kovalent etkileşimlere bağlı olarak bir miktar alıkonma meydana gelir. Çözeltide bulunan her bileşen için farklı miktarlarda alıkonma meydana gelir.

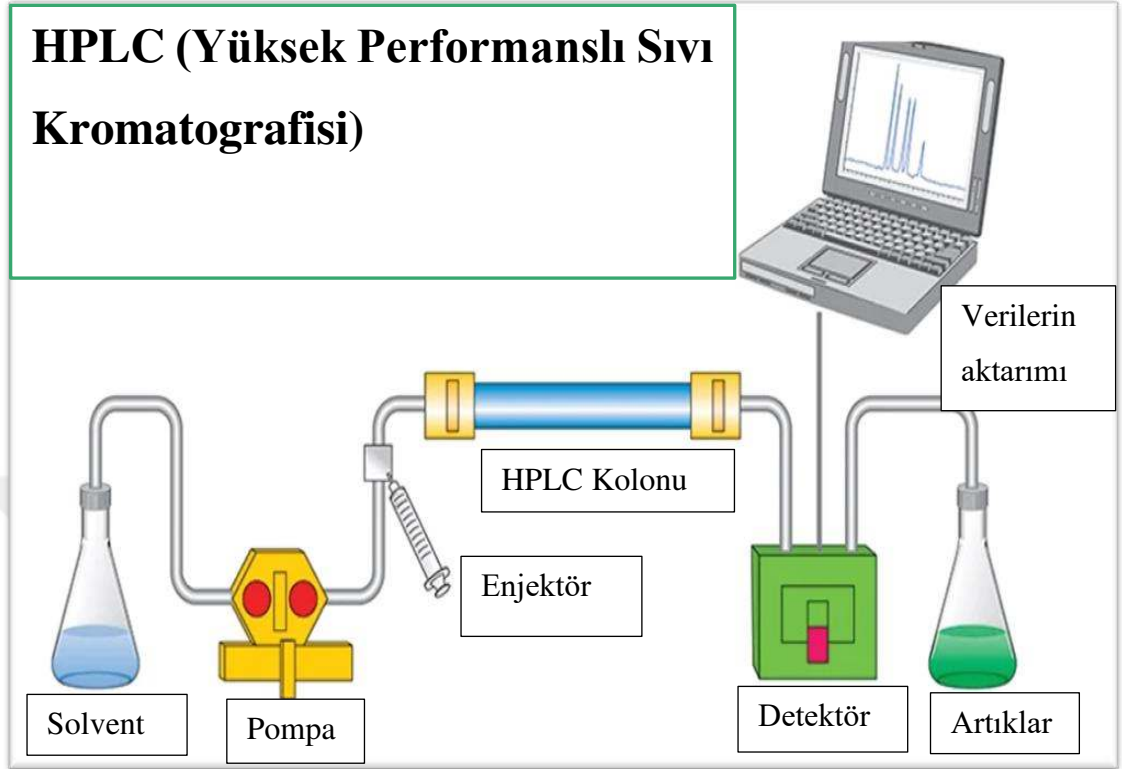
Sabit fazın sonlarında, bileşenler farklı alıkonma zamanları ve hızlarında ilerledikleri için birbirinden ayrılmış olarak sabit fazı farklı zamanlarda terk ederler. Böylece sabit fazdan çıkan bileşenlerin derişimleri ölçülür ve y ekseninde hareketli fazın hacmine veya zamana göre işaretlenerek kromatogram grafikleri oluşturulur. Oluşturulan y eksenini, kullanılan dedektörün ölçtüğü fiziksel özelliği (absorbans, fluoresans, iletkenlik, akım, kırılma indisi vb.), X-ekseni ise genellikle dakika cinsinden zamanı gösterir. Y-ekseninde oluşan pik şeklindeki eğrilerin her biri analizlenen derişime ait bir bileşeni göstermektedir. Bu piklere ait değerler (pik alanı, yüksekliği, vb.) kullanılarak kalitatif ve kantitatif analizler yapılmaktadır (119-120).

2.2.3.5.1.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Kimyasal bileşiklerin karışımlarını analiz etmek ve niteliklerini tespit etmek amacıyla endüstrinin birçok dalında kullanılan analitik bir ayırıştırma metodudur. Küçük dolgu maddeleri ile doldurulmuş, bir kolonda yüksek basınç altında yapılmaktadır. HPLC sisteminin en önemli kısmını, ayırma işlemi gerçekleştiren kolon oluşturur. Hareketsiz faz (sabit faz) mikrometre büyüklüğünde poröz partiküllerden oluşur ve mobil faz yüksek basınç oluşturan pompa sistemi sayesinde kolona doğru sürüklenir. Kromatografik süreç kolonun üst kısmına solüsyonun enjekte edilmesi ile başlar. Komponentler(bileşenler) analitik olarak ayrılarak, hareketli faz kolona doğru pompalanır. Kolondan geçen bileşenler dedektör tarafından algılanarak dar bir band veya pik olarak sistemde kaydedilir (121).

HPLC kromatografik işlemlerin, yüksek basınç altında; yüksek çözünürlüklü ve hızlı ayrılma sağlanarak daha verimli sonuç alınmasını sağlar. HPLC; farmakoloji, gıda ve endüstriyel ürün sektörlerinde, organik ve inorganik bileşiklerin ayrılması ve tespitinde en çok kullanılan analitik ayırıştırma metodudur (118, 122).

Kromatografi sistemlerinin bileşenleri temel olarak benzerdir. Sistemlere göre sadece bazı özellikleri ve boyutları farklılıklar gösterir. HPLC sistemindeki ekipmanlar; pompa, kolon fırını, kolon, dedektör (DAD), oto örnek alıcı (auto sampler), çözücü degazzeri, kolon bypass vanası ve verilerin kaydedilmesini sağlayan bilgisayar ve bilgisayar yazılımı bulunmaktadır (4). (Şekil 3)



Şekil 3. HPLC (Yüksek performanslı sıvı kromatografisi) sistemi enjektör, pompa, kolon, dedektör ve verilerin kaydedildiği sistemden oluşur.

a) Enjektörler

Numuneler, sabit faz (kolon) öncesinde mobil faza enjektöre gönderilir. Enjekte edilen numune, yüksek basınçta hareket eden hareketli faza karışır ve hareketli fazda çözünmüş halde kolonun üstüne ulaşır. Örneklerin enjeksiyonu için daha çok otomatik olanlar kullanılsa da manuel enjektörler de kullanılabilmektedir (4).

b) Pompalar

Pompa, yüksek basınçlı sıvı kromatografi uygulamalarında hareketli fazı oluşturan solventin; enjektör, kolon ve dedektör içerisinden, basınç altında sabit veya değişen bir hızda geçmesini sağlar (4). Kromatografi analizlerinde birçok pompa tipi kullanılabilmektedir. Pompaların özellikleri ve kullanım amaçları, yapıldıkları malzemeye göre veya akış hızına göre farklılıklar göstermektedir (121).

c) Kolonlar

Örneklerdeki bileşenlerin hassas çözünürlükle ayrımı kolon ile mümkün olmaktadır. Kolon imalatında paslanmaz çelik, teflon, cam veya PEEK (polieter eterketon) gibi materyaller sıkça tercih edilmektedir. Kolonun ayırım gücü ve performansı kolon iç yüzeyine yapılan kaplamada kullanılan materyalin kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre değişmektedir. Polimerlerin ayrıştırılma mekanizmasına göre sıvı kromatografisinde farklı materyal ve boyutlarda kolonlar kullanılmaktadır (4, 117).

Kolonunun iç çapı, kolona yüklenecek analizi yapılacak materyal miktarını belirleyen ve duyarlılığını etkileyen önemli bir faktördür. İç çap arttırıldığında akış hızı ve doldurma hacmi artar ancak; piklerin çözünürlüğünün ve duyarlılığının azalmasına neden olur. Kolonun uzunluğu arttıkça bileşenlerin ayrımı daha iyi olmakta ancak analiz süresi uzadığından daha çok hareketli faz harcanmasına sebep olmaktadır (121).

d) Dedektörler

Bileşenlerin retansiyon (alıkonma) zamanlarına göre dedektör içerisinden geçerken miktar tayinlerinin yapıldığı ekipmandır. Dedektörün seçimi yapılırken; örneğin tipi ve konsantrasyonu, hassasiyeti, kullanılan solüsyon ve yıkama şekillerine dikkat edilmelidir. Yüksek basınç sıvı kromatografide kullanılan birçok dedektör çeşidi vardır. En yaygın kullanılan dedektörlerden bazıları şunlardır: kırıcı indeks, ultraviyole, floresans, radyokimyasal, elektrokimyasal, kütle, nükleer magnetik rezonans ve ışık saçılımı detektörleridir (117). UV emilim dedektörü, seçilen dalga boyundaki ışık emilimini ölçer ve kromoforik gruplar içeren polimerlere uygulanabilir ve en sık kullanılan dedektördür. UV dedektörlü HPLC sistemleri, çözelti içerisindeki bileşikler hassas olarak ayırabildiğinden; dış hekimliğinde kullanılan materyallerin düşük konsantrasyonlarda sıvı ortama saldıkları artık monomerin kantitatif tayininde çoğunlukla kullanılmaktadır (4, 117). UV dedektörlü HPLC sistemleri, çok düşük konsantrasyon olan 1 µg/mL oranında bile hassas sonuçlar veren dedeksiyon limitine sahiptirler (122). Ayrıca, bu yöntemde bütün işlemler oda sıcaklığında gerçekleştirilebildiğinden artık monomer miktarının tespitinde daha doğru sonuçlar verebileceği bildirilmektedir (117, 122).

2.3. Biyouyumluluk

Biyouyumluluk, 'bir materyalin sistemik-lokal toksisite ya da alerjik, mutajenik ve karsinojenik etkilere sebep olmadan, dokularla uyumlu biyolojik cevaplar oluşturması' olarak tanımlanmaktadır (123-124).

Materyalin biyouyumlu olarak nitelendirilmesi için tamamen inert olmasına gerek yoktur. Uygulanan materyal tamamen inert olmasa da konakta uygun bir cevap sağlayabiliyorsa biyouyumlu bir materyal olarak tanımlanabilir (123, 125). Biyouyumluluk, materyal ile biyolojik sistem arasında sürekli bir etkileşim olduğundan statik bir durum değil, dinamik ve devam eden bir durumdur. Hem materyal biyolojik ortamı etkilemekte hem de biyolojik sistem materyali etkilemektedir (126-127).

Protetik bir materyalin dayanıklılık, estetik ve klinik uygulama kolaylığı gibi özelliklerinin yanı sıra sahip olması gereken temel özelliklerinden biri de biyouyumluluğudur (1,128). Materyallerin ideal olarak ağız içerisindeki sert ve yumuşak dokular için zararsız olması gerekmektedir. Zararlı lokal veya sistemik etkilere sebep olan toksik bileşenlerden arındırılmış olması gerekmektedir (129). Bu sebeple de materyallerin klinik uygulamalarına geçilmeden önce dokular üzerindeki lokal ve sistemik etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir.

Protetik materyaller en çok ağız mukozası ve dişetinde meydana gelmektedir (127, 130). PMMA materyaller hafif sitotoksik ya da orta seviyeli sitotoksik materyaller olmasına rağmen, hastalarda bölgesel tahriş, hassasiyet, oral mukozada inflamasyon, ülserasyon, ağız dokularında yanma hissi, labiyal ödem gibi belirti ve semptomlara sebep olabilmektedir (107, 131-132).

Literatürde reaksiyona girmeden kalan akrilik rezin monomerlerinin; sitotoksik, genotoksik, kanserojenik, mutajenik, ve teratojenik etkilerinin araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır (128, 133).

2.3.1. Biyouyumluluğun değerlendirilmesinde kullanılan testler

Dental materyallerin klinik kullanımından önce çeşitli testlerle biyouyumluluklarının değerlendirilmesi gerekir. Bu değerlendirmelere genellikle hücre kültürleri ile yapılan in-vitro testler ile başlanmaktadır. Hücre kültürü çalışmalarında biyouyumlu olduğu gösterilen materyaller daha sonra in-vivo testlerle değerlendirilmektedir. Bu testlerin sonucunda olumlu veriler elde edildiğinde gönüllü insanlar üzerinde uygulanan kullanım testleri ile ilgili çalışmalara geçilmektedir (134).

- İn vitro Testler (Başlangıç Testleri)
- İn vivo Testler (Hayvan Deneyleri)
- Kullanım testleri (123).

Invitro testler

Materyallerin sitotoksik özelliklerini belirlenmesi için uygulanan başlangıç testleridir. İnvitro biyouyumluluk testleri; test edilen materyalin dokular üzerine veya içerisine yerleştirildiğinde oluşacak biyolojik reaksiyonların, laboratuvar ortamındayken değerlendirilmesini sağlamaktadır. Bu testlerin avantajları arasında; çok sayıda numune üzerinde çalışma imkân sağlaması, tekraredilebilirliği, hızlı sonuçlar vermesi, kolay uygulanabilmesi ve düşük maliyetli olması sayılabilmektedir (96, 128, 135). Bu avantajlarından dolayı yeni üretilen ve ya geliştirilen materyallerin biyouyumluluklarının değerlendirilmesinde ilk sırada yer almaktadırlar (136). İnvitro testler ile materyallerin sitotoksikite, genotoksikite, mutajenite, östrojenite, teratojenite ve sistemik toksisitelerinin incelenebilmektedir.

Invivo testler (Hayvan deneyleri)

Hayvan deneyleri invitro test yöntemlerinden sonra, klinik kullanım testlerinden ise önce uygulanan yöntemlerdir (108). Test edilen materyal, köpek, domuz, fare, kuş, kedi, koyun, maymun gibi deney hayvanlarının dokularına yerleştirilmektedir. Biyolojik cevabın değerlendirilmesinde, oral muköz membran irritasyon testi, sensitizasyon testi ve kemik içi ya da deri altı implantasyon testi kullanılmaktadır (125).

İnvivo hayvan deneylerinde, kompleks organizmadaki dokuların biyolojik cevabı, invitro testlere göre daha anlamlıdır. Ancak, bu testlerin kontrol edilmeleri daha zor olup, deney süreleri daha uzundur. Ayrıca yüksek maliyetli ve etik açıdan tartışmalı testlerdir (1, 123, 125).

Kullanım testleri

Kullanım testleri, klinik uygulama testleri olarak da adlandırılabilir. İnvitro ve invivo değerlendirmelerde biyoyumlu olduğu gösterilen materyaller, gönüllü insanlar üzerinde değerlendirilmektedir. Test edilen materyal, klinik kullanımına uygun olarak gönüllü deneğe uygulandıktan sonra biyolojik reaksiyonlar değerlendirilmektedir. Bu testlerin değerlendirilmeleri uzun periyotlarda gerçekleşir, kontrol edilmeleri ve yorumlanmaları zordur. Komplikasyon ihtimali oldukça fazladır. Ayrıca, etik açıdan tartışmalı ve yüksek maliyetlidirler (123, 128).

2.3.1.1. Invitro sitotoksikite test yöntemleri

Sitotoksikite, 'moleküler olaylar sonucu makromoleküllerin sentezlenmesinin engellenmesine bağlı olarak, hücrelerin fonksiyon ve yapılarında hasarlar meydana gelmesi' olarak tanımlanmaktadır (137). Sitotoksikite test değerlendirilmesi sonucunda; hücrelerin canlılık oranı, hücrelerin proliferasyon miktarı, hücrelerin membran ve organellerinin sağlamlılığı, protein, DNA, makromoleküllerin sentezi ve enzim aktivitesi gibi değerlendirmeler yapılmaktadır (108). İnvitro sitotoksikite testlerinde tek bir hücre kültürünün değerlendirildiğinden, canlı organizmaların sahip olduğu enflamatuar sistem, immün ve dolaşım sistemi gibi kompleks sistemler değerlendirilememektedir. Bu sebeple kompleks canlı organizmalardaki biyolojik reaksiyonların değerlendirilmesinde yetersiz kalmaktadır (1, 125, 138).

Sitotoksikite testlerinde materyallerin ağız dokularına uygulandığında meydana gelebilecek reaksiyonların, laboratuvar ortamındayken ortaya çıkarılması amaçlanmaktadır. Diş hekimliği materyallerinin biyolojik uyumluluğu, genellikle sitotoksikite testleri ile değerlendirilmektedir (125).

Diş hekimliğinde kullanılan materyaller uygulandığı bölgeye ve beklenen zararlı etkilere göre farklılık gösterdiğinden beş grupta incelenirler ve buna uygun olarak test yöntemleri değişiklik gösterir.

Bu gruplar:

1. Ağız içindeki yumuşak dokularla temasta olan materyaller
2. Pulpanın sağlığını etkileyebilecek olan materyaller
3. Periodontal dokuları ve diş sert dokularını etkileyebilecek olan kök kanal dolgu materyalleri
4. Dişin mine dentin gibi sert dokularının sağlığını etkileyebilecek restoratif materyaller
5. Ağız dışındaki vücudun diğer bölümleri ile yutma, inhalasyon veya dokunma yoluyla temasta olan materyaller

ISO 10993 standartlarına göre dental materyallerin in vitro olarak sitotoksitelerinin değerlendirilmesinde,

◆ Direkt hücre kültürü

Direkt temas testi

Ekstrakt testi

◆ Bariyer test yöntemi

◆ Agar difüzyon testi

◆ Filtre difüzyon testi

◆ Dentin bariyer testi kullanılmasını önerilmektedir (129-130,139).

2.3.1.1.1. Hücre kültürü

Dental materyallerin biyouyumluluğunun değerlendirilmesinde hücre kültürü testleri, maliyetlerinin düşük olması ve kontrol edilmelerinin kolay olması gibi avantajlarından dolayı sıklıkla kullanılmaktadır (140). Hücre kültürü çalışmalarında hücrelerin sayısı, hücresel fonksiyonlar, hücre canlılık oranı, hücrelerin proliferasyon hızları değerlendirilebilmektedir. İnsan, fare, maymun, tavşan gibi canlıların dokuları parçalanarak elde edilen hücrelerin hücrelerin invitro şartlarda üremeleri sağlanmaktadır. Hücrelerin canlılığının devamlılığının sağlanabilmesi için hücreler, fizyolojik şartların taklit edildiği hücre medyumları içerisinde; tuz, tamponlayıcı madde, amino asit, vitamin gibi besleyici sıvılar içeren tüp veya şişelerde muhafaza edilip çoğaltılabilmektedir (134).

Primer hücreler ve devamlı hücreler olmak üzere iki tip hücre bulunmaktadır (138). Primer hücre kültürleri, dokulardan ayrılan hücrelerin 24 saatten daha uzun sürelerde kültüre edilerek elde edilebilmektedir. Ancak, primer hücrelerin insanlardan izole edilerek kültürlerinin oluşturulması zordur ancak dokuların özelliklerini devamlı hücrelere göre daha iyi yansıtmaktadırlar. Dişeti ve pulpa fibroblastları, primer hücrelerdir.

Devamlı hücreler, sürekli çoğalabilme özelliğine sahiptirler ve bir takım transformasyona uğramışlardır. Devamlı hücreler transformasyona uğradıklarından primer hücreler kadar dokuların özelliklerini yansıtamamaktadırlar. (1) (134). Dental materyallerin in vitro sitotoksitelerinin değerlendirilmesinde genellikle L-929, 3T3 fare fibroblast hücreleri gibi primer hücreler yada insan dişeti fibroblast hücreleri, insan epitelyal hücreleri, periodontal ligament hücreleri gibi devamlı hücreler de kullanılabilmektedir (141).

a) Direkt kontakt testi

Direkt kontakt testinde, sitotoksitesi değeriendirilecek olan numuneler, doğrudan hücrelerin üzerine yerleştirilmektedir. Bu yöntemde, test edilecek numune ile hücreler fiziksel temas halindedir. Hücrelerin doğrudan numune üzerinde üremeleri sağlanarak kültür elde edilmektedir (142-143). Direkt kontakt testi hassas sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır.

b) Ekstrakt yolu ile temas testi

Ekstrakt yolu ile temas testinde bir çözücü içerisinde materyalden çözünen bileşenlerin hücreler ile temas ettirilerek hücreler üzerindeki sitotoksitesi incelenmektedir. Çözücü sıvı olarak medyum, fizyolojik tuz solüsyonu gibi çözücüler kullanılabilmektedir (137). Materyalin sitotoksite derecesinin hassas bir şekilde belirlenebilmesi için ekstraksiyon işlemi, materyalin klinik kullanım ortamını taklit etmeli ve materyalin kimyasal yapısında değışime sebep olmamalıdır. Ekstrakt içine sızan materyalin bileşenlerin konsantrasyonu; materyalin yüzey alanına, ekstraksiyon sıvısının hacmine, materyalin pH'sına, kimyasal çözünebilirliğine, difüzyon oranına, osmolaritesine, ortamın ısısına, zamana bağı olarak değışmektedir (134, 144).

2.3.2. Sitotoksite sonuçlarının değeriendirilmesi

Dental materyallerin sitotoksitesini değeriendirilirken hücre canlılığı, hücre proliferasyonu, hücre membran geçirgenliği, DNA, RNA ve protein sentezi, metabolik olayların değeriendirilmesi gibi biyolojik faktörler incelenmektedir. Materyallerin sitotoksitelerini değeriendirmede,

- Canlılık değeriendirme testleri
- Hücre proliferasyonu değeriendirme testleri
- Metabolik aktivite değeriendirme testleri kullanılmaktadır (134).

2.3.2.1. Canlılık değerlendirme testleri

Canlılık değerlendirme testleri, uygulanan materyalin toksik etkisi sonucu hücre kültürü ortamında canlı kalabilen hücre oranının belirlenmesinde kullanılan, kısa zamanda hızlı sonuç veren testlerdir. Kolorimetrik ve floresans ölçüm yapmaya izin veren bu testler, membran bütünlüğü bozulmuş hücre içerisine giren tripan mavisi, eritrosin gibi boyalarla ya da diasetil florasan ya da nötral kırmızı gibi boyaların membran bütünlüğünü koruyan canlı sağlam hücrelerin içerisine girmesi sağlanarak hücre canlılıklarının değerlendirildiği testlerdir (134). Tripan mavisi, nötral kırmızısı, naftalin siyahı gibi boyalarla hücre canlılık değerlendirilebilmektedir (134, 145).

2.3.2.2. Hücre proliferasyonu değerlendirme testleri

Materyalden salınan bileşenlerin kültür içerisindeki hücre proliferasyonuna etkisinin belirlenmesinde kullanılan testlerdir. Bu yöntemler az sayıda örneklerin incelendiği çalışmalarda kullanılabilir. Materyalin hücreler üzerine ekimi yapıldıktan sonra hücre sayımları yaparak büyüme eğrisine göre sitotoksikite değerlendirilmektedir. Kolorimetrik ^3H -timidin ve Bromodeoksiuridin testi hücre proliferasyonunun değerlendirildiği yöntemlerdir (134).

2.3.2.3. Metabolik aktivite değerlendirme testleri

Metabolizma aktivite testleri uzun periyotlarda meydana gelecek toksik etkinin değerlendirilmesinde kullanılan testlerdir. Materyalin hücreler üzerindeki proliferatif, metabolik, enzim aktivitelerindeki değişimler spektrofotometreyle ölçülerek, materyalin biyoyumluluğu değerlendirilir. Bu yöntemle materyalin uzun dönem toksisitesi değerlendirilebilmektedir. MTT, XTT, MTS, WST-1, LDH ve alamar mavisi testleri hücrelerin metabolik aktivitelerini değerlendirme yöntemlerindendir (125, 134).

a) MTT testi (Mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesi)

MTT (3- (4, 5dimetiltiazol -2)-2, 5- difenil tetrazolyum bromür), suda çözünebilen bir tetrazolyum tuzudur (214). Kolorimetrik MTT test yöntemiyle, sarı renkli MTT'yi mor, çözünmeyen formazan kristallerine dönüştüren mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesini değerlendirilmektedir.

Kültür ortamındaki canlı hücrelerin mitokondrilerinde bulunan süksinat dehidrogenaz enzimi sarı renkli tetrazolyum tuzları parçalayarak çözünmeyen mor formazon kristallerine dönüşmesini sağlar (142, 146-147). Materyalin toksik etkisi sebebiyle hücrenin dehidrogenaz enzim aktivitesi etkilenirse formazan kristalleri oluşamaz sadece mitokondrinin aktif olduğu hücrelerde dönüşüm sağlanır (134). Bu mekanizmaya göre oluşan formazan kristallerinin miktarı materyalin sitotoksik etkisinin derecesini gösterir (142, 148).

MTT testi, hızlı ve hassas sonuçlar vererek materyallerdeki çok düşük toksisitelerin bile değerlendirilebilmesini sağlamaktadır ve bu testle çok sayıda örneğin sitotoksitesinin daha az deneysel aşama ile değerlendirilmesi mümkündür. Bu test yöntemi avantajlarından ve güvenilir sonuçlar verdiği için dolayı sitotoksikite değerlendirmelerinde sıklıkla kullanılmaktadır (149-150).

3. MATERYAL ve METOD

Bu in vitro çalışma, Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Organik Kimya Laboratuvarı, Dicle Üniversitesi Sürekli Eğitim ve Araştırma Merkezi Araştırma Laboratuvarı ve Van Yüzüncüyıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Merkezi Analitik Kimya Laboratuvarında yapıldı.

Çalışmamızda üç farklı yöntemle polimerize edilen akrilik örneklerin, yüksek performanslı sıvı kromatografi ile artık monomer miktar tayini ve sitotoksosite tespitleri in vitro koşullarda yapılmıştır. Sitotoksosite deneyi için n=6 toplam 72 örnek; artık monomer deneyi için ise n=6 toplam 18 PMMA rezin örnekler hazırlandı.

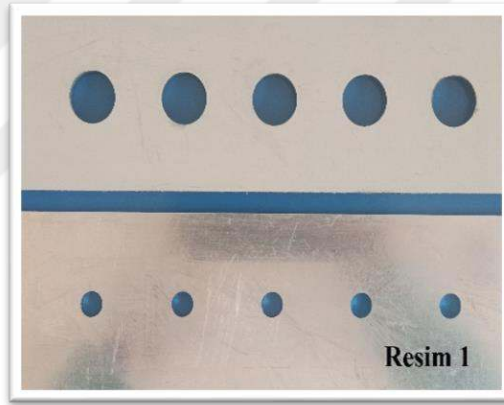
Tablo 8. Çalışmamızda kullanılan materyaller ve polimerizasyon yöntemleri.

Materyal	İçerik	Marka	Polimerizasyon yöntemi
Meliodent	PMMA	Meliodent, Bayer Dental, Newbury, Berkshire, UK	Geleneksel ısı ile polimerizasyon
Meliodent	PMMA	Meliodent, Bayer Dental, Newbury, Berkshire, UK	Otoklavda polimerizasyon
M-PM Disk	PMMA	M-PM™ DISC (Merz Dental GmbH, Lütjenburg, Almanya)	Prepolimerize akrilik blok

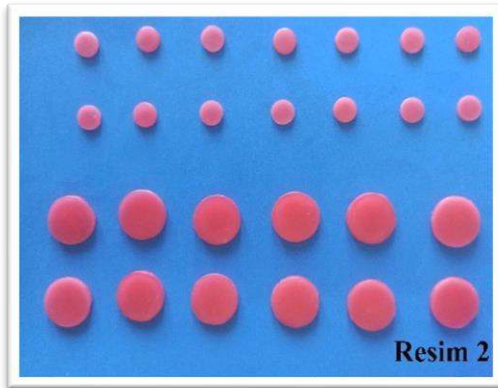
3.1. PMMA örneklerin hazırlanması

3.1.1. Konvansiyonel yöntem ve otoklav yöntemiyle PMMA örneklerin hazırlanması

Örneklerin standart boyutlarda hazırlanması için her bir test yöntemine uygun olarak şekillendirilmiş, paslanmaz çelikten kalıplar hazırlandı (Resim 1). Geleneksel yöntem ve otoklavda polimerize edilecek akrilik rezinlerin üretiminde kullanılacak olan standart boyutlarda mum örnekler hazırlandı. Pembe plaka mumlar (Modelling wax, Cavex Haarlem, Nederland) eritilerek paslanmaz çelik kaptaki negatif boşluklara dökülerek iki cam levha arasında sıkıştırıldı ve standart boyutlarda mum örnekler hazırlandı (Resim 2). Sitotoksite deneyi için 10 mm çapında 1 mm kalınlığında; artık monomer deneyi için ise 20 mm çapında 2 mm kalınlığında mum örnekler elde edildi.

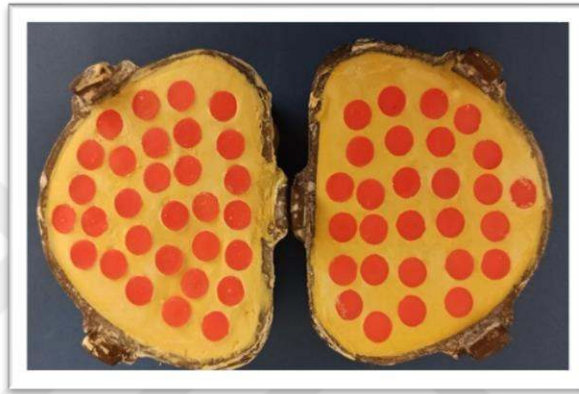


Resim 1. Mum örneklerin elde edilmesi için hazırlanan paslanmaz çelik kalıp.

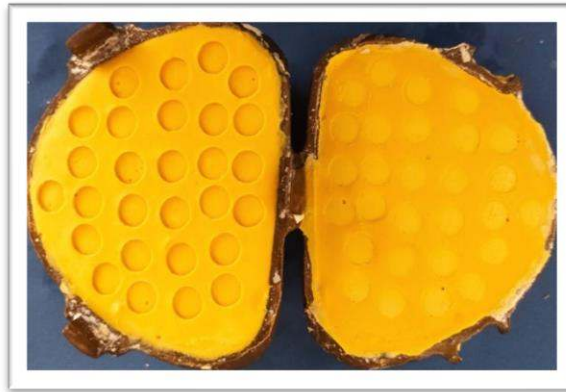


Resim 2. Standart boyutlarda hazırlanan mum örnekler.

Elde edilen mum örnekler, tip III sert alçı (Denstone 3, Heraeus Kulzer, Armonk, NY) kullanılarak muflaya alındı (Resim 3). Mum eliminasyonu işlemi sonrasında alçı yüzeylere iki tabaka lak (Imiseal, IMICRYL, Turkey) uygulandı (Resim 4). Üreticinin önerilerine uygun olarak ısı ile polimerize olan PMMA (Meliodent, Bayer Dental, Newbury, Berkshire, UK) 23,4 gr toza ve 10 ml likit oranında olacak şekilde karıştırıldı ve oluşan akril hamuru muflaya yerleştirildi. Muflalar 15 dk süreyle hidrolik pres yardımıyla 200 bar basınç altında preslendi, taşan fazlalıklar kontrol edilerek uzaklaştırıldı.



Resim 3. Negatif boşluk oluşturmak için muflaya yerleştirilen mum örnekler.



Resim 5. Akril tepimi için oluşturulan negatif boşluklar.

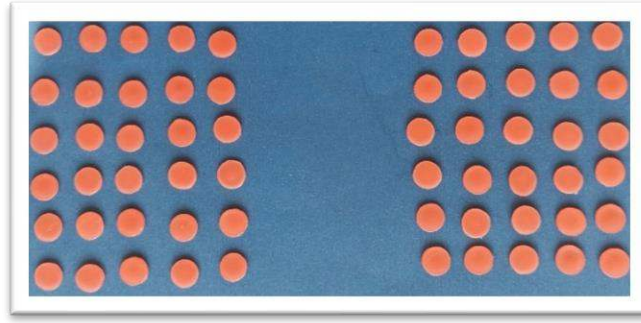
Preslenmeyi takiben geleneksel yöntem için, muflalar soğuk su dolu ısıtma kaplarına yerleştirilerek su kaynadıktan sonra 30 dk süre boyunca kaynatıldı.

Otoklavla polimerizasyon için ise, muflalar Zealway GR60DA otoklav cihazında 3 atm basınç altında 60°C de 30 dk, takiben 130°C de 20 dk süre ile bekletildi.



Resim 5. Polimerizasyon işleminin gerçekleştirildiği otoklav cihazı.

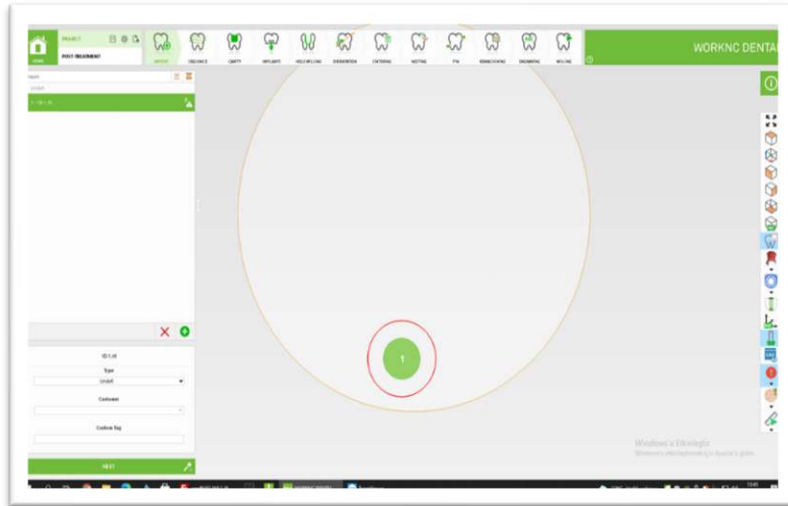
Muflalardan çıkarılan örnekler sırasıyla 800 grenli ve 2000 grenli (Waterproof silikon carbide paper, English Abrasives Ltd., London, UK) zımparalarla su soğutması altında manuel olarak zımparalandı. Örnek yüzeylerinde mikroçatlaklara neden olmamak için tesviye ve cilalamada türlü aletler kullanılmadı, böylelikle yüzey standardizasyonu sağlandı. Zımparalanan örneklerin, dijital kumpasla çapları ve kalınlıkları ölçüldü ve hassas terazi (AB204-S/FACT, Mettler Toledo, USA) ile ağırlıkları tartıldı ve kaydedildi. Örnekler test yapımına kadar ısı ve ışıktan etkilenmemesi için karanlıkta -18°C buzdolabında saklandı.



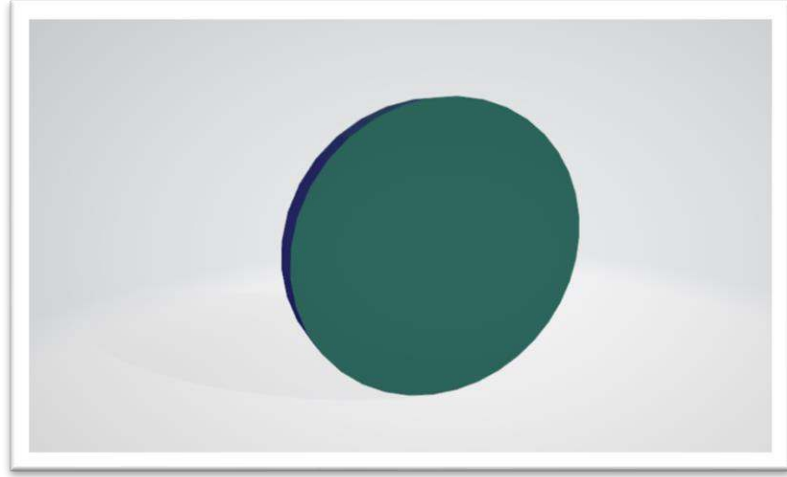
Resim 6. Otoklavla ve geleneksel yöntemle elde edilen PMMA rezin örnekler.

3.1.2. Prepolimerize akrilik rezin örneklerin hazırlanması

CAD/CAM teknolojisinde kullanılan M-PM™ Disk (Merz Dental GmbH, Lütjenburg, Almanya) prepolimerize akrilik bloklardan örnekler elde etmek için ilk olarak Yenadent CAD 5.1 (Yenadent Ltd, İstanbul, Türkiye) bilgisayar programı ile tasarımı yapıldı (Resim 7). Örneklerin tasarımı, artık monomer deneyi için 20 mm çap ve 2 mm kalınlık; sitotoksisite deneyi için ise 10 mm çap ve 1 mm kalınlık olarak yapıldı. REDON GTR freze cihazına yerleştirilen prepolimerize akrilik rezin diskleri yapılan tasarıma göre kazınarak standart boyutlarda diskler elde edildi (Resim 8-12).



Resim 7. Yenadent CAD 5.1 bilgisayar programı ile disklerin tasarımı.



Resim 8. Tasarımı yapılan diskin STL dosyasındaki görüntüsü.



Resim 9. Merz dental prepolimerize akrilik disk.



Resim 10. Redon GTR cihazına akrilik diskin yerleştirilmesi.

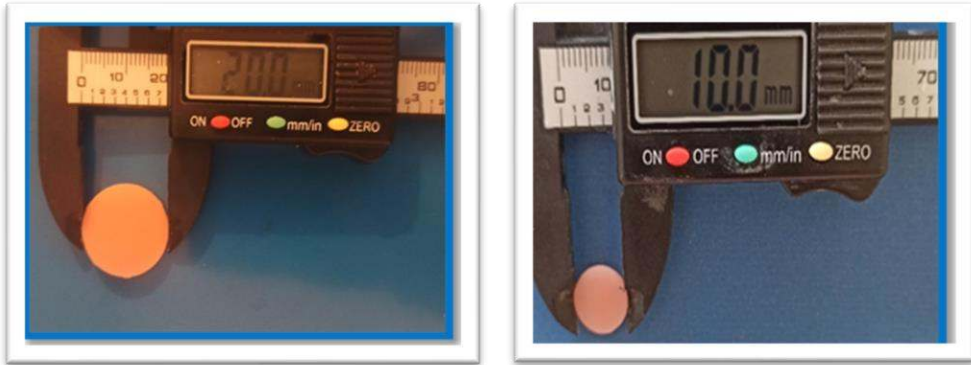


Resim 11. Prepolimerize akrilik diskin Redon GTR cihazı ile kazınması.



Resim 12. Kazınma işlemleri tamamlanmış akrilik blok.

Freze edilen örnekler, 800 grenli ve 2000 grenli (Waterproof silikon carbide paper, English Abrasives Ltd., London, UK) zımparalarla su soğutması altında manuel olarak zımparalandı. Zımparalanan örnekler, dijital kumpasla çapları ve kalınlıkları ölçüldü, hassas terazi (AB204-S/FACT, Mettler Toledo, USA) ile tartıldı ve kaydedildi. Örnekler test yapımına kadar ısı ve ışıktan etkilenmemesi için karanlıkta -18°C buzdolabında saklandı.



Resim 13. Örneklerin boyutlarının ölçülmesi.

3.2. Artık Monomer Deneyi

Artık monomer miktarının analizi ISO 1567 no'lu standartlara göre yürütüldü. Artık monomer miktarının ağırlıkça yüzdelерinin hesaplanması için, polimerizasyonları tamamlanıp buzdolabında bekletilen örneklere hiçbir uygulama yapılmadan hassas terazide (AB204-S/FACT, Mettler Toledo, USA) tartılıp ağırlıkları kaydedildi (Resim 14).



Resim 14. Örneklerin hassas terazi ile tartılması.

Örneklerin artık monomer miktarının belirlenmesinde kullanılacak HPLC analizi için ekstraksiyon düzeneyi hazırlandı (Resim 15). Ekstraksiyon işlemiyle rezin örneklerin içerisindeki reaksiyona girmemiş MMA'ın metanole geçmesi sağlandı. Cam balon içerisine PMMA örnekler ve 40 ml metanol (Lab-Scan Analytical Sciences, Ireland) konuldu.

Düzenekteki metanol ve akrilik rezini içeren balonu ısıtmak için cam balon, su dolu beher içerisine yerleştirilerek sıcaklığı ayarlanabilen ısıtıcı üzerine yerleştirildi. Metanolün kaynama derecesi 64-65°C olduğu için ısıtıcı düzenek bu dereceye ayarlanarak metanolün kaynaması sağlandı. Bu uygulamayla gaz haline dönüşen metanolün, PMMA rezin içerisine girerek artık monomere ulaşımı sağlandı. Geri soğutucularda dolaşan suyun etkisi ile buharlaşan metanol ve MMA tekrar sıvı hale geçerek cam balon içerisinde birikmiştir. Bu işlem her bir örnek için 6 saat uygulandı.



Resim 15. Hazırlanan düzende MMA monomerinin metanole geçişinin sağlanması (Ekstraksiyon düzeneği).

MMA salınım işlemi tamamlandıktan sonra örneklerin ekstraksiyonları ışık geçirmeyen cam şişelere koyularak HPLC analiz deneyine kadar 2°C buzdolabında saklandı (Resim 16).



Resim 16. Artık monomer deneyi için hazırlanan solüsyonların karanlık şişelere yerleştirilmesi.

3.2.1. HPLC analizi ile MMA konsantrasyon miktarının tespiti

Tüm örneklerin monomer salınım işlemleri tamamlandıktan sonra metanole geçen rest monomer miktarını belirlemek amacı ile HPLC (High Performance Liquid Chromatography, Agilent 1100 HPLC, England) cihazı ve C18 kolonu kullanılmıştır (Resim 17).



Resim 17. Çalışmamızda kullanılan Agilent 1100 HPLC cihazı.

HPLC cihazında hareketli faz (taşıyıcı faz) olarak %70 metanol ve %30 su karışımı kullanıldı. Analize geçmeden önce cihazın pompa akış hızı 8 ml/dakika'ya, dedektörün dalga boyu 205nm' ye, kolon sıcaklığı 25 °C'ye, enjeksiyon hacmi 10 μ l'ye ayarlandı (Resim 18).



Resim 18. HPLC cihazına yerleştirilmek üzere hazırlanan solüsyonlar.

Örneklerdeki MMA konsantrasyonunu belirleyebilmek için cihazdan bilinen konsantrasyonlarda MMA solüsyonları hazırlandı. Bu stok çözeltisi, 0.25 g metilmetakrilat 100 ml metanol (MeOH) içerisinde çözdürölerek hazırlandı.

Stok 1; stok çözeltisinden 25 µl alınıp, 1000 µl metanolele tamamlanarak 16000 kat seyreltildi.

Stok 2; stok çözeltisinden 50 µl alınıp, 1000 µl metanole tamamlanarak 8000 kat seyreltildi.

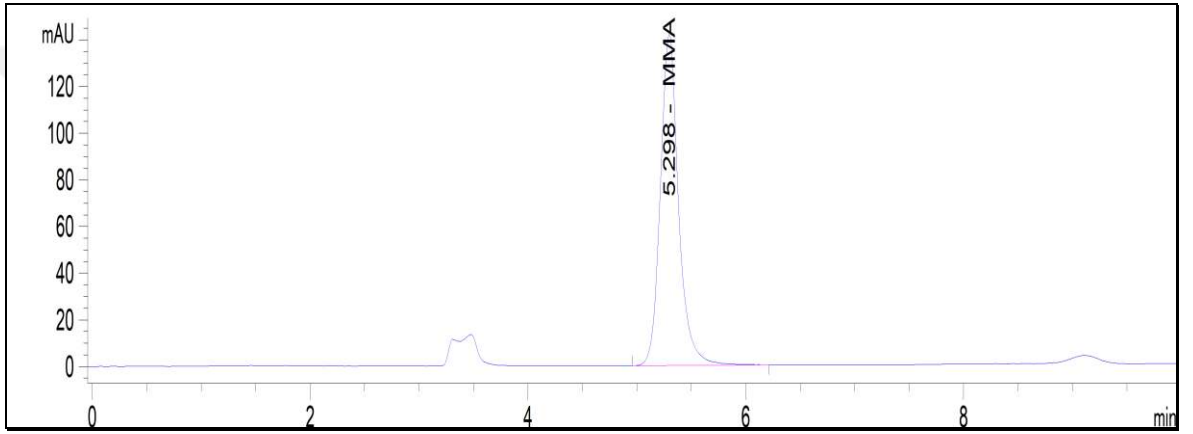
Stok 3; stok çözeltisinden 80 µl alınıp, 1000 µl metanol tamamlanarak 5000 kat seyreltildi.

Stok 4; stok çözeltisinden 50 µl alınıp, 1000 µl metanole tamamlanarak 4000 kat seyreltildi.

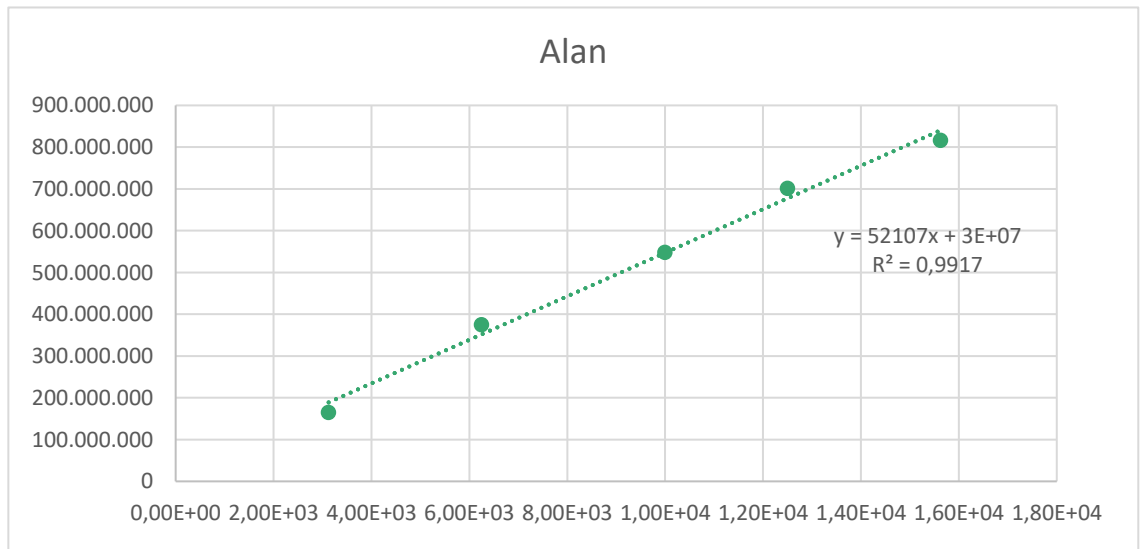
Stok 5; stok çözeltisinden 25 µl alınıp, 1000 µl metanole tamamlanarak 3200 kat seyreltildi.

Bu solüsyonlar HPLC cihazından geçirildi ve MMA monomerine ait piklerin yüksekliği ve lokalizasyonu tespit edildi.

Çalışmamızda HPLC analizinden geçen standart stok çözeltilerdeki MMA monomerine ait pikler 5,2. dakikada oluştu. MMA ait piklerin lokalizasyonlarından yararlanılarak, bilinmeyen konsantrasyondaki örnek solüsyonlarının MMA pikleri kromatogram üzerinde belirlendi (Şekil 4). Elde edilen piklerden standart monomer piklerinin alanları hesaplandı. Standart solüsyonların bilinen konsantrasyonlarından yararlanılarak 220 nm dalga boyunda oluşturduğu piklerin seviyesindeki absorpsiyon değerleri ölçülerek bir standart kalibrasyon grafiği hazırlandı (Şekil 5). Bu kalibrasyon grafiğin basit lineer regresyon eşitliği kullanılarak pik alanlarına karşılık gelen örneklerdeki MMA konsantrasyonları bulundu.



Şekil 4. Konsantrasyonu bilinen MMA solüsyonuna ait kromatogram ve MMA ait pik.



Şekil 5. Lineer kalibrasyon grafiği.

Lineer kalibrasyon grafiğine göre oluşan denklem: $y = 52107x + 3E+07$

x = Konsantrasyon

y = Alan

R^2 = Korelasyon katsayısı

Örneklerdeki MMA konsantrasyonları belirlendikten sonra, ağırlık yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$MMA\ miktarı(\%) = \frac{\text{Örnekteki MMA monomer miktarı (mgr)}}{\text{Örneğin ağırlığı(mgr)}} \times 100$$

Tüm örneklere ait ağırlıkça (%) MMA miktarları bu formüle göre hesaplandı.

3.3. Sitotoksisite Deneyi

Çalışmamızda farklı yöntemler uygulanarak polimerizasyonları tamamlanan akrilik rezin örneklerin 1., 2., 3. ve 5. günlerde elde edilen salınım ekstraktlarının 3T3 fare fibroblast hücrelerinde oluşturdukları sitotoksik etkileri değerlendirildi. Sitotoksisite deneyi, ISO 10993-5 protokolüne uygun olarak yürütüldü.

3.3.1. PMMA örneklerinin salınım ekstraktlarının elde edilmesi

PMMA örnekler, ‘Örneklerin hazırlanması’ bölümünde anlatılan prosedüre göre üretildi. Her grup için 6’şar örnek ISO 10993-5 nolu ‘sitotoksisite in vitro yöntemler’ protokolüne uygun olarak, örneklerin yüzey alanlarının $0.5-6\text{ cm}^2$ ’lik değer aralığında olacak şekilde 10 mm çapında 1 mm kalınlığında disk şeklinde hazırlandı.

Her polimerizasyon siklusu için hazırlanan toplam 84 adet akrilik rezinden rastgele 72 adet deney örneği seçildi.

Laminar flow kabin (Thermo Scientific) içinde örnekler 6 kuyucuklu hücre üretme kaplarına aktarıldıktan sonra, UV ışıkla 45 dakika bekletilerek sterilizasyon işlemleri tamamlandı (Resim 19, 20).



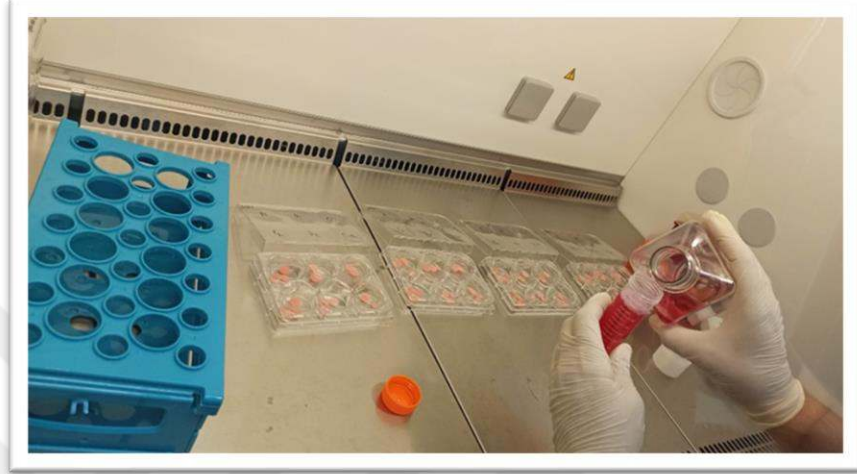
Resim 19. 6 kuyucuklu hücre üretme kabı içerisindeki PMMA rezin örnekler.



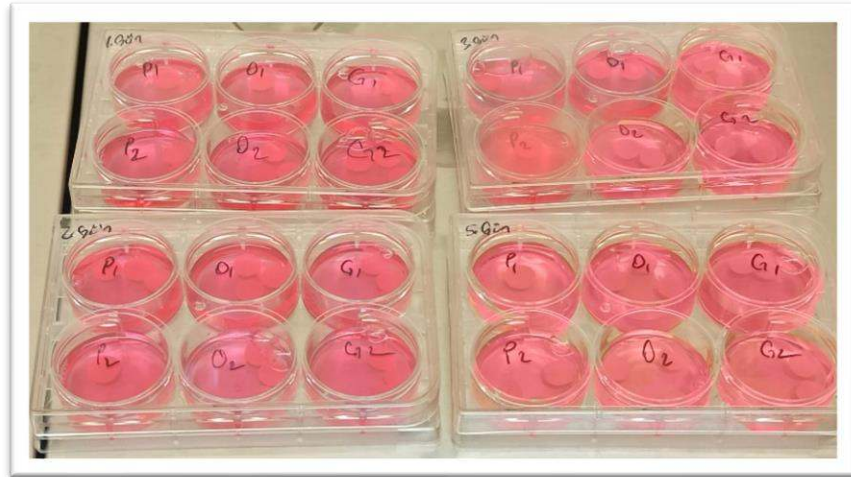
Resim 20. Laminar flow kabin içerisinde 6 kuyucuklu hücre üretme kapları içerisindeki PMMA rezin örnekler

Sterilizasyon işleminden sonra örneklerin üzerlerine, örneklerin yüzey alanı /vasat oranı; $0,5-6 \text{ cm}^2/\text{ml}$ olacak şekilde DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) (Sigma- Aldrich, USA) besi yeri eklendi. Hücre kültürü üretme besiyeri %10 oranında fetal dana serumu (FBS), 10 mM HEPES, 4mM glutaminli 100 IU/ml

penisilin/streptomisin içeren DMEM besiyeri kullanıldı (Resim 21, 22) . Örneklerin; 1., 2., 3. ve 5. günlerde periyotlarında salınım ekstraktlarını elde etmek için %5 CO₂ içeren 37 °C 'deki inkübatörde (New Brunswick, Galaxy 170R) six pleytler inkübasyona bırakıldı.



Resim 21. PMMA örneklerin üzerine besi yerinin eklenmesi.



Resim 22. PMMA örnekler üzerine eklenen besi yerinin görünümü.

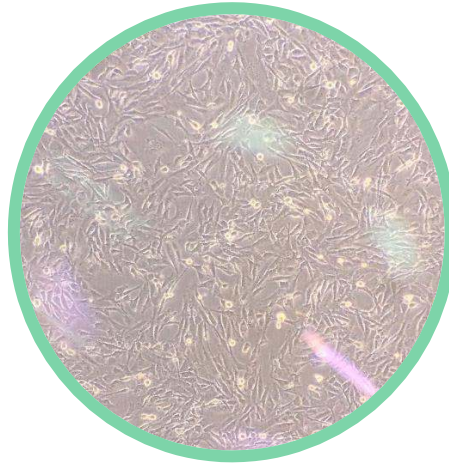
Belirlenen periyotlar sonunda salınım ekstraktlar, laminar flow kabininde pipetler yardımıyla 15ml'lik steril tüpler içerisine yerleştirilip, -20 dereceye kaldırıldı (Resim 23).



Resim 23. PMMA rezin örneklerin salınım ekstraktlarının koyulduğu steril tüpler.

3.3.2. Hücre kültürünün hazırlanması

3T3 fare fibroblast hücreleri, 75 cm² lik kültür kabında (TPP, Tissue Culture Dish, Switzerland) DMEM (Sigma-Aldrich, USA) hücre kültür medyumuna içerisinde %10 oranında Fetal Bovine Serum (FBS, Sigma- Aldrich, USA), %1 oranında antibiyotik solüsyonu (100 IU/mL penicillin, 100 µg/mL streptomisin, Biological Industries, Haemek, Israel), %1 oranında L-Glutamine (L-Glutamine Solution, 200 mM, Biological Industries, Haemek, Israel), %1 oranında vitamin solüsyonu (MEM-Vitamins Solution 100X, Biological Industries, Haemek, Israel), %2 oranında non-esansiyel amino asit içeren solüsyon (MEM-Eagle nonessential aminoacid solution 100X, Biological Industries, Haemek, Israel) ilave edilerek % 5 CO₂, 37 °C inkübasyona bırakıldı (Resim 24, 25).



Resim 24. 3T3 fare fibroblast hücreleri.



Resim 25. DMEM besi yeri (Sigma-Aldrich).

Aktif ve kültür kabı yüzeyini %90-95 oranında kaplamış logaritmik üreme fazında olan hücreler, kültür kabı yüzeyinden ayrılarak hücre süspansiyonu hazırlandı. Hücre sayımı için 0.9 ml hücre süspansiyonuna 0.1 ml tripan mavisi solüsyonu ilave edildi. Hemasitometre ile ışık mikroskobunda hücrelerin canlılıkları kontrol edilerek hücre sayımı yapıldı.

96 kuyucuklu hücre üretme kapları için gerekli olan hücre sayısı hesaplandı ve bu sayıdaki hücre %10 FBS ve %1 antibiyotik içeren DMEM (Sigma-Aldrich) besi ortamıyla homojenize edilerek 4×10^4 hücre/ml olacak şekilde hücre süspansiyonu hazırlandı.

Hazırlanan hücre süspansiyonu 96 kuyucuklu hücre üretme kaplarına 100 ml/kuyucuk olacak şekilde taksim edildi ve inkübatörde 24 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda 96 kuyucuklu hücre üretme kaplarındaki hücreler inverted doku kültürü mikroskobunda (Olympus CKX41) üremeleri kontrol edildikten sonra kültür ortamındaki DMEM besi ortamı aspire edilerek uzaklaştırıldı. Yerine daha önceden hazırlanan ekstratlar -20°C 'den çıkartılarak sıcak su banyosunda 37°C sıcaklığa getirildikten sonra 100 μl /göz olarak taksim edildi. Daha sonra 96 kuyucuklu pleytler %5 CO_2 li inkübatörde 24 saat inkübasyona bırakıldı.



Resim 26. 96 kuyucuklu pleyt içerisindeki 3T3 hücreleri üzerine ekstraktların yerleştirilmesi .

3.3.3. MTT testinin uygulanması

MTT (Bioshop, Canada), fenol kırmızısı içermeyen RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, USA) besi yeri ortamı ile karıştırılıp homojenize edilerek final konsantrasyonu 5 mg/ml MTT solüsyonu hazırlandı (Resim 27).



Resim 27. MTT tuzu (Bioshop, Kanada).

96 kuyucuklu hücre üretme kaplarındaki ekstraksiyon sıvıları ve hücre artıkları uzaklaştırıldı. Hücre üretme kaplarına 100 µl/kuyucuk olacak şekilde DMEM besi ortamı ve 20 µl/kuyucuk MTT solüsyonu koyularak karanlık ortamda 37°C’de %5 CO₂’li inkübatörde 4 saat süre ile bekletildi. 96 kuyucuklu hücre üretme kaplarına %10’luk SDS (SDS, Bioshop) çözeltisi 100 µl/kuyucuk olacak şekilde eklendi. Formazan kristallerinin tamamen çözünerek mor renge dönüşümü gözlenen hücre üretme kapları, Mikroplate okuyucuya (Anthos-Zenith, USA) yerleştirildi.

Absorbans ölçümleri 570 nm dalga boyunda yapıldı. Çalışmadaki hücre kontrol grubu, sadece 3T3 fare fibroblast hücreleri ve besi ortamından oluşmakta, PMMA rezin örneklerinden elde edilen salınım ekstraktlarını içermemektedir. Hücre kontrol grubunun ortalama değeri %100 kabul edildiğinde oluşan absorbans değerlerine göre diğer gruplarda oluşan absorbans değerlerinin basit oran hesabıyla % hücre canlılık değerleri hesaplandı.

$$\text{Hücre canlılık değeri}(\%) = \frac{\text{Deney gözündeki ortalama absorbans yoğunluğu}}{\text{Kontrol gözündeki absorbans yoğunluğu}} \times 100$$

3.4. İstatistiksel değerlendirme

Çalışmamızda artık monomer deneyinden elde edilen verilerin istatistiksel analizinde Lisanslı IBM SPSS 21 paket programı kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılımdan gelme durumları araştırılırken birim sayıları nedeniyle Shapiro Wilk's testinden yararlanıldı. Sonuçlar yorumlanırken anlamlılık düzeyi olarak 0,05 kullanılmış olup; $p < 0,05$ olması durumunda değişkenlerin normal dağılımdan gelmediği, $p > 0,05$ olması durumunda ise değişkenlerin normal dağılımdan geldikleri tespit edildi.

Gruplar arasındaki farklılıklar incelenirken değişkenlerin normal dağılımdan gelmemesi durumunda Mann Whitney U ve Kruskal Wallis-H Testlerinden yararlanılmıştır. Kruskal Wallis-H Testinde anlamlı farklılıkların görülmesi durumunda Post-Hoc Çoklu Karşılaştırma Testi (Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U) ile aralarında farklılık olan gruplar belirlenmiştir.

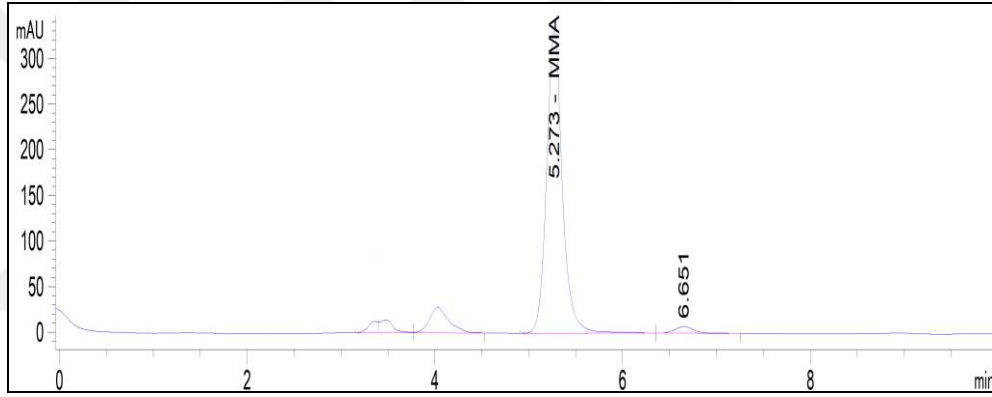
Çalışmamızda sitotoksosite deneyinden elde edilen verilerin istatistik analizinde GraphPad Prism Versiyon 8 (GraphPad Software, San, CA, ABD) programı kullanıldı. Hücre canlılık değerlerinin gruplararası karşılaştırmalarında one way ANOVA varyans analizi ile incelenirken parametrelerin normal dağılımdan gelmemesi durumunda ($p < 0,05$) ise Tamhane post Hoc karşılaştırma testi, normal dağılım göstermesi durumunda ($p > 0,05$) ise Tukey post Hoc testleri kullanıldı.

4. BULGULAR

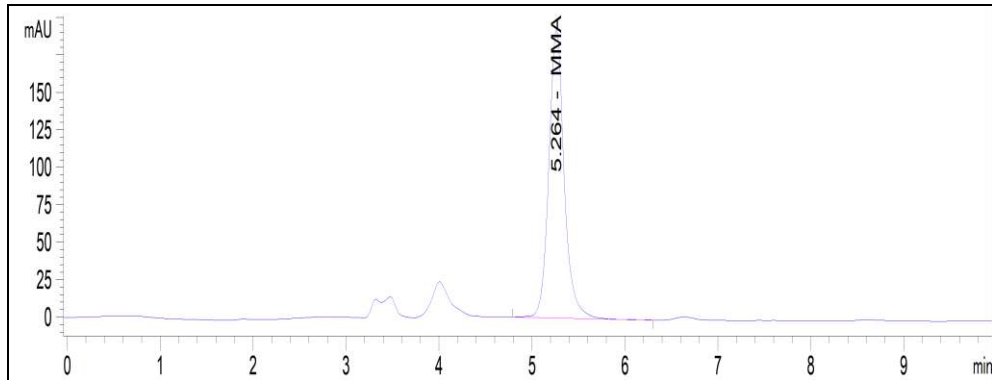
Farklı polimerizasyon yöntemleriyle elde edilen PMMA rezin örneklerdeki artık MMA monomer analiz bulguları ve sitotoksisite deney bulguları iki bölümde incelendi.

4.1. Artık monomer analiz bulguları

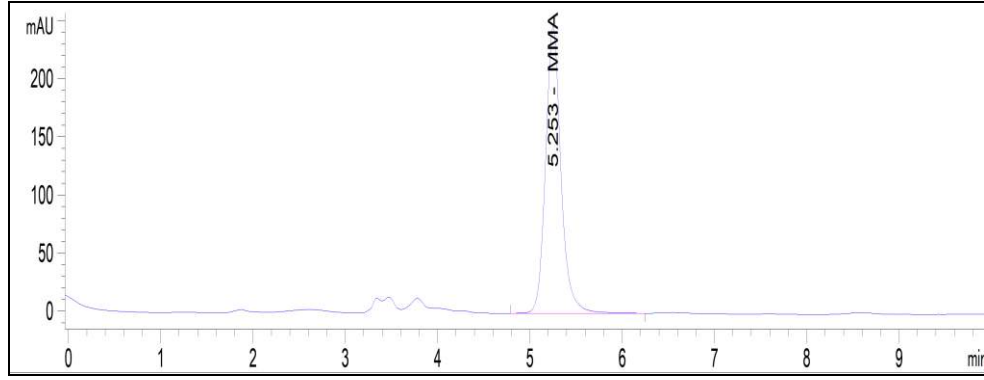
Artık monomer miktarlarının tespiti için öncelikle MMA monomeri için standart bir monomer kromatogramı elde edildikten sonra bu kromatogramlardan yararlanılarak 3.2.1 bölümünde anlatıldığı üzere her bir örnekten elde edilen kromatogramlardaki (Şekil 6-8) artık monomer miktarları ağırlıkça % olarak hesaplandı.



Şekil 6. Geleneksel ısı ile polimerize edilen PMMA rezinden elde edilen solüsyona ait kromatogram.



Şekil 7. Otoklavda polimerize edilen PMMA rezinden elde edilen solüsyona ait kromatogram.



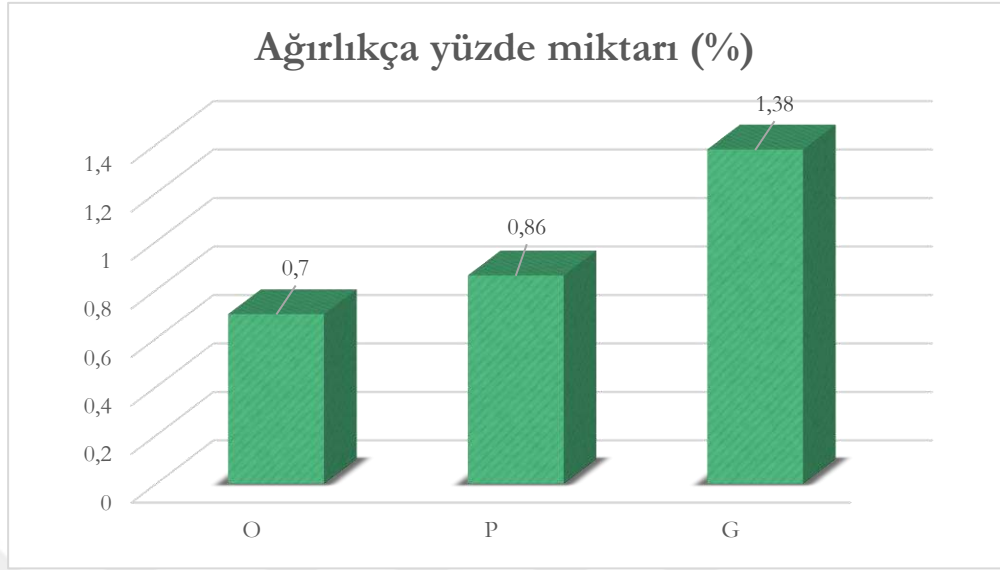
Şekil 8. Prepolimerize PMMA rezinden elde edilen solüsyona ait kromatogram.

Farklı polimerizasyon yöntemiyle elde edilen akrilik rezinlerin reaksiyona girmeyen MMA miktarları değerlerinin ortalamaları, standart sapmaları, minimum ve maksimum değerleri Tablo 9 'de verilmiştir. Buna göre en yüksek değer geleneksel ısı ile polimerize edilen örneklerde, en düşük değer ise otoklavda polimerize edilen örneklerde görülmüştür.

Tablo 9. Örneklere ait artık MMA miktarının ağırlık (%) bakımından gruplar arası farklılık (Geleneksel ısı ile polimerize örnekler: **G**, otoklavda polimerize edilen örnekler: **O**, prepolimerize örnekler: **P**)

		Grup				Analiz Sonucu			
		Mean	Median	Min	Max	Sd	Mean Rank	H	p
Ağırlıkça yüzde miktarı (%)	O	0,7	0,68	0,635	0,817	0,06	3,83	14,363	0,001
	P	0,86	0,88	0,781	0,922	0,05	9,17		
	G	1,38	1,35	1,239	1,69	0,16	15,5		
	Toplam	0,98	0,88	0,635	1,69	0,31	O-G		

Artık MMA miktarı ağırlık (%) bakımından karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$). O grubunun artık MMA miktarı G grubuna göre anlamlı derecede düşüktür.



Şekil 9. G, O, P gruplarının artık MMA miktarlarına ait ortalama değerler (%).

Tablo 10. Artık MMA miktarının ağırlık (%) bakımından O ve P grupları arası farklılık.

		Grup					Analiz Sonucu		
		Mean	Median	Min	Max	Sd	Mean Rank	z	p
Ağırlıkça yüzde miktarı (%)	O	0,7	0,68	0,635	0,817	0,06	3,83	-2,562	0,01
	P	0,86	0,88	0,781	0,922	0,05	9,17		
	Toplam	0,98	0,88	0,635	1,69	0,31			

G grubu göz ardı edildiğinde, artık MMA miktarı bakımından O ve P grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$). O grubunun artık monomer miktarı P grubuna göre anlamlı derecede düşüktür.

Tablo 11. Artık MMA miktarının ağırlık (%) bakımından O ve G grupları arası farklılık.

		Grup					Analiz Sonucu		
		Mean	Median	Min	Max	Sd	Mean Rank	z	p
Ağırlıkça yüzde miktarı (%)	O	0,7	0,68	0,635	0,817	0,06	3,5	-2,882	0,004
	G	1,38	1,35	1,239	1,69	0,16	9,5		
	Toplam	0,98	0,88	0,635	1,69	0,31			

P grubu göz ardı edildiğinde; artık MMA miktarı bakımından O ve G grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). O grubunun artık MMA miktarı G grubuna göre anlamlı derecede düşüktür.

Tablo 12. Artık MMA ağırlık (%) bakımından P ve G grupları arası farklılık.

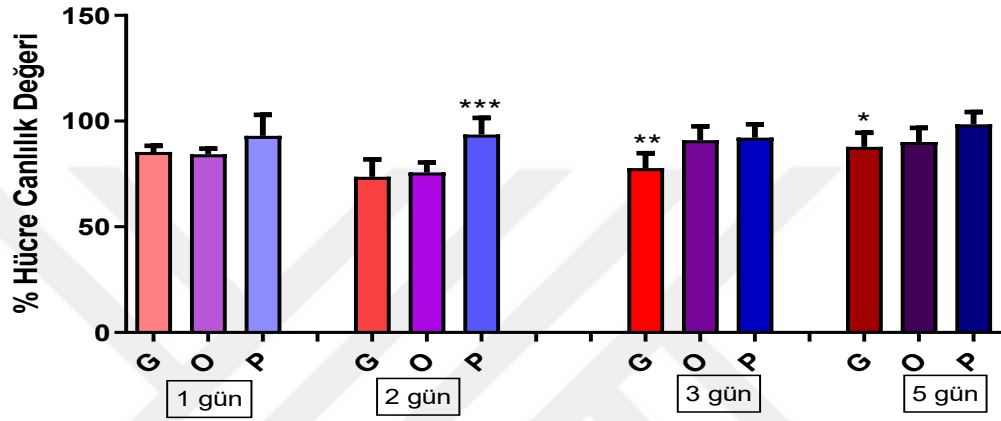
		Grup					Analiz Sonucu		
		Mean	Median	Min	Max	Sd	Mean Rank	z	p
Ağırlıkça yüzde miktarı (%)	P	0,86	0,88	0,781	0,922	0,05	3,5	-2,882	0,004
	G	1,38	1,35	1,239	1,69	0,16	9,5		
	Toplam	0,98	0,88	0,635	1,69	0,31			

O grubu göz ardı edildiğinde; artık MMA miktarı bakımından P ve G grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). P grubunun artık MMA miktarı G grubuna göre anlamlı derecede düşüktür.

4.2. MTT sitotoksosite deney bulguları

Sitotoksosite deney bulguları için MTT testinden elde edilen absorbans değerleri 3.3.3. bölümünde anlatıldığı üzere her gruba ait hücre canlılık yüzdeleri hesaplandı.

Farklı polimerizasyon yöntemiyle elde edilen akrilik rezinlerin ve farklı inkübasyon periyotlarının MTT sitotoksosite test sonucu hücre canlılık değer ortalamaları Şekil 10'de gösterilmiştir.



Şekil 10. Farklı yöntemlerle polimerize PMMA rezinlerin 1.,2.,3. ve 5. Gün periyotlarındaki hücre canlılık değerleri (%) bakımından grupların ortalamaları (*: $p<0,05$, **: $p<0,01$, ***: $p<0,001$)

1, 2, 3 ve 5 gün periyotlarında PMMA rezin örneklerden elde edilen ekstraktların hücre canlılık değerleri karşılaştırıldığında, %73,67 değeriyle en sitotoksik etkinin geleneksel yöntemle polimerize edilen PMMA örneklerin 2. günün sonunda; en az sitotoksik etkinin ise 5. gün sonunda prepolimerize PMMA rezinden elde edilen ekstrakta olduğu görüldü.

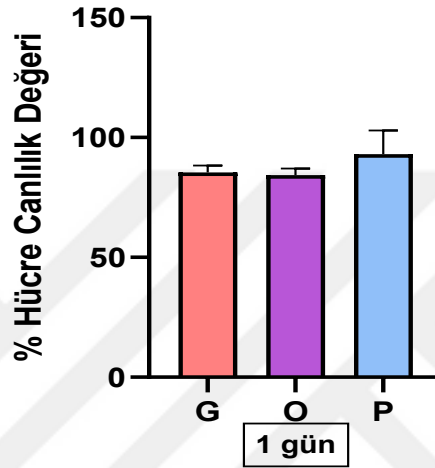
Çalışmamızda örneklerin farklı polimerizasyon yöntemlerine ve farklı inkübasyon periyotlarına göre hücre canlılık değerleri 2 başlık altında toplandı;

4.2.1. Farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA rezinlerin dört farklı inkübasyon periyodunda sitotoksisitelerinin karşılaştırılma bulguları,

4.2.2. Farklı inkübasyon periyotlarında aynı yöntemle polimerize edilen PMMA rezinlerin sitotoksisitelerinin karşılaştırılma bulguları.

4. 2. 1. Farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA rezinlerin dört farklı inkübasyon periyodunda sitotoksitelerinin karşılaştırılma bulguları

1 günlük inkübasyon periyodunda PMMA rezinlerin hücre canlılıkları değerlendirildiğinde en yüksek canlılık değeri %93,01 prepolimerize, en düşük canlılık değeri ise %84,29 ile otoklavda polimerize olan PMMA rezine aittir ancak gruplar arası anlamlı farklılık tespit edilmemiştir($p \geq 0.05$).

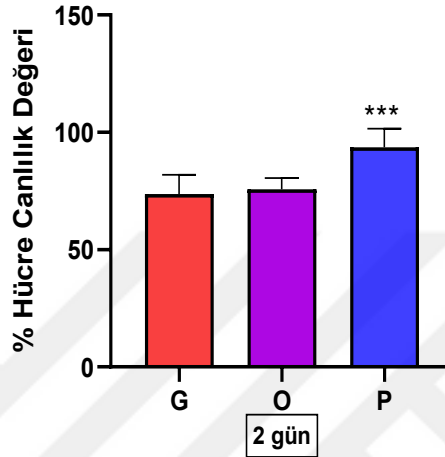


Şekil 11: Farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA rezinlerin 1. Gün periyodundaki hücre canlılık değerleri (%)

Tablo 13: 1. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri bakımından grupların karşılaştırılması.

1.gün		Grup				Analiz Sonucu			
		Mean	Median	Min	Max	Sd	Mean Rank	F	p
Hücre canlılık değerleri (%)	G	85,40	84,53	82,62	90,22	2,896	1,295	2,624	0,1134
	O	84,29	83,38	82,11	88,28	2,733	1,366		
	P	93,01	91,33	82,45	110,9	9,907	4,045		
	Toplam	262,7	259,24	247,18	289,4	15,536			

2 günlük inkübasyon periyodunda PMMA rezinlerin hücre canlılıkları değerlendirildiğinde en yüksek canlılık değeri %93,61 prepolimerize, en düşük canlılık değeri ise %73,67 ile geleneksel yöntemle polimerize edilen PMMA rezin örneklerde gözlemlendi. Geleneksel ile prepolimerize gruplar arasında ve otoklav ile prepolimerize gruplar arasında anlamlı farklılık gözlemlenmiştir ($p<0.001$).

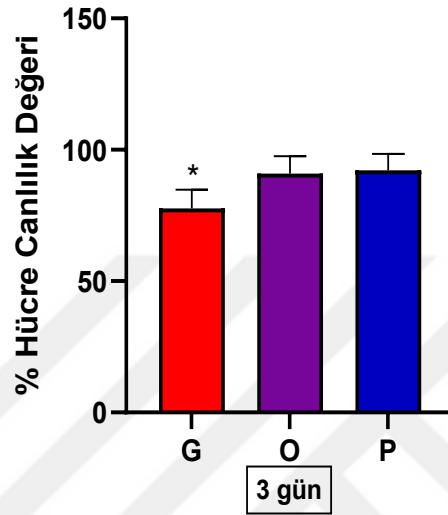


Şekil 12. Farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA rezinlerin 2. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri (%) (***: $p<0,001$) .

Tablo 14. 2. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri bakımından grupların karşılaştırılması.

2. Gün		Grup				Analiz Sonucu			
		Mean	Median	Min	Max	Sd	Mean Rank	F	p
Hücre canlılık değerleri (%)	G	73,67	77,69	60,10	80,10	8,218	3,675	13,88	0,0005
	O	75,73	76,17	68,78	81,01	4,775	1,949		
	P	93,61	91,87	84,25	103,9	7,935	3,240		
Toplam		243,01	245,73	213,13	265,01	20,928	(G-P), (O-P)		

3 günlük inkübasyon periyodunda PMMA rezinlerin hücre canlılıkları değerlendirildiğinde en yüksek canlılık değeri %92,22 prepolimerize, en düşük canlılık değeri ise %77,74 ile geleneksel yöntemle polimerize olan PMMA rezin örneklerde gözlenmiştir. Geleneksel ile prepolimerize gruplar arasında ve geleneksel ile otoklav gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p<0.01$).

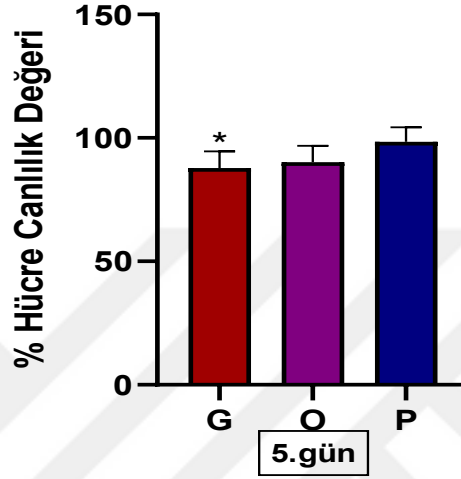


Şekil 13. Farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA rezinlerin 3. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri (%) (*: $p<0,05$).

Tablo 15. 3. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri bakımından grupların karşılaştırılması.

3. Gün		Grup				Analiz Sonucu			
		Mean	Median	Min	Max	Sd	Mean Rank	F	p
Hücre canlılık değerleri (%)	G	77,74	78,46	68,54	87,93	7,10	2,899	8,54	0,0038
	O	90,25	87,87	84,42	99,9	6,554	2,931		
	P	92,22	90,82	85,57	101,4	6,246	2,55		
	Toplam	260,21	257,15	238,53	289,23	19,9	(G-P), (O-P)		

5 günlük inkübasyon periyodunda PMMA rezinlerin hücre canlılıkları değerlendirildiğinde en yüksek canlılık değeri %98,45 prepolimerize, en düşük canlılık değeri ise %87,82 ile geleneksel yöntemle polimerize olan PMMA rezin örneklerde gözlemlendi. Geleneksel ile prepolimerize grupları arasında istatistiksel anlamlı farklılık gözlemlendi ($p < 0.05$).



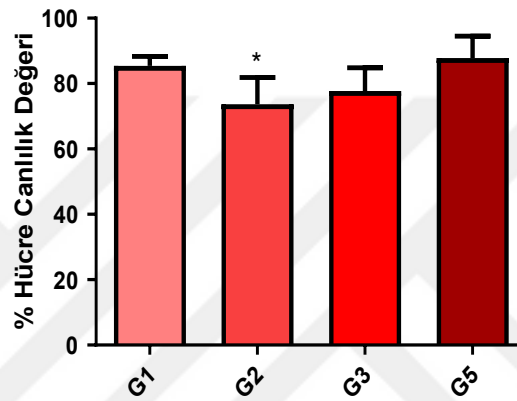
Şekil 14. Farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA rezinlerin 5. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri (%) (*: $p < 0,05$).

Tablo 16. 5. Gün periyodundaki hücre canlılık değerleri bakımından grupların karşılaştırılması.

5. Gün		Grup				Analiz Sonucu			
		Mean	Median	Min	Max	Sd	Mean Rank	F	p
Hücre canlılık değerleri (%)	G	87,82	87,79	78,30	97,20	6,703	2,998	4,359	0,0337
	O	90,19	90,27	80,47	99,09	6,605	2,696		
	P	98,45	99,82	89,28	105,7	2,696	2,383		
	Toplam	276,46	277,88	248,05	301,99	16,004	(G-P)		

4.2.2. Farklı inkübasyon periyotlarında aynı yöntemle polimerize edilen PMMA rezinlerin sitotoksisiteilerinin karşılaştırılma bulguları

Geleneksel yöntemle polimerize edilen PMMA rezinlerin 1., 2., 3. ve 5. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri karşılaştırıldığında en yüksek canlılık değeri %87,82 ile 5. gün, en düşük hücre canlılık değeri ise %73,67 ile 2. gün periyodunda görüldü ($p<0.05$). 2. gün periyodundaki hücre canlılık değeri ile 5. gün periyodu değerleri arasında anlamlı farklılık gözlemlendi ($p<0.05$).

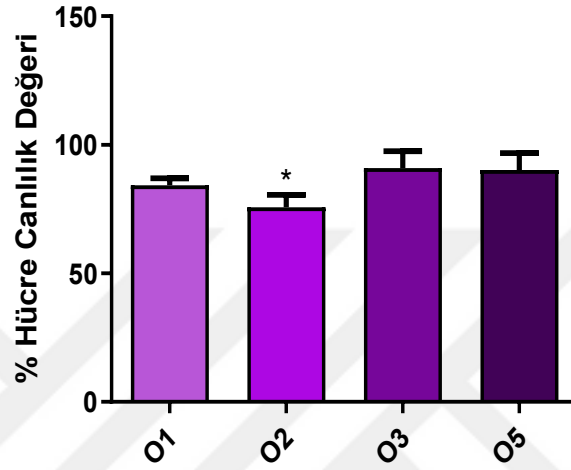


Şekil 15. Geleneksel yöntemle polimerize edilen PMMA rezinin 1., 2., 3. ve 5. gün periyotlarında hücre canlılık değerleri (%) (*: $p<0,05$).

Tablo 17. Geleneksel yöntemle polimerize edilen PMMA rezinlerin periyotlara göre hücre canlılık değerleri.

Geleneksel		Grup				Analiz Sonucu			
		Mean	Median	Min	Max	Sd	Mean Rank	F	p
Hücre canlılık değerleri (%)	1. Gün	85,40	84,53	82,62	90,22	2,896	1,295	5,101	0,0106
	2. Gün	73,67	77,69	60,10	80,10	8,218	3,675		
	3. Gün	77,74	78,46	68,54	87,93	7,10	2,899		
	5. Gün	87,82	87,79	78,30	97,20	6,703	2,998		

Otoklavda polimerize edilen PMMA rezinlerin 1., 2., 3. ve 5. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri karşılaştırıldığında en yüksek canlılık değeri %90,25 ile 3. gün, en düşük canlılık değeri ise %75,73 ile 2. gün periyodunda görüldü. 2. gün periyodundaki hücre canlılık değeri ile 3. ve 5. gün periyodu değerleri arasında anlamlı farklılık gözlemlendi($p<0.01$).

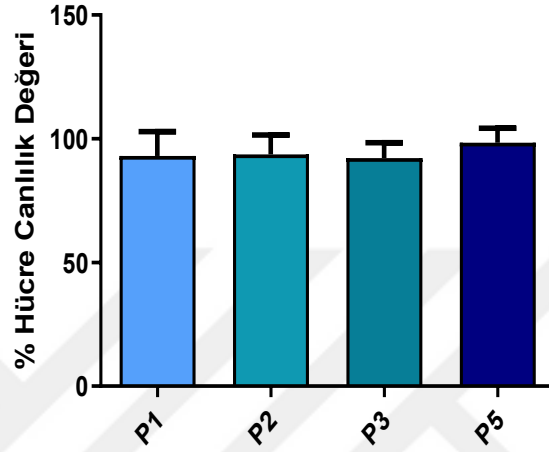


Şekil 16. Otoklav yöntemiyle polimerize edilen PMMA rezinin 1.,2.,3. ve 5. gün periyotlarında hücre canlılık değerleri (%) (*: $p<0,05$).

Tablo 18. Otoklavda polimerize edilen PMMA rezinlerin periyotlara göre hücre canlılık değerleri.

Otoklav		Grup				Analiz Sonucu			
		Mean	Median	Min	Max	Sd	Mean Rank	F	p
Hücre canlılık değerleri (%)	1. Gün	84,29	83,38	82,11	88,28	2,733	1,366	9,213	0,0008
	2. Gün	75,73	76,17	68,78	81,01	4,775	1,949		
	3. Gün	90,25	87,87	84,42	99,90	6,554	2,931		
	5. Gün	90,19	90,27	80,47	99,09	6,605	2,696		

Prepolimerize PMMA rezinlerin 1., 2., 3. ve 5. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri karşılaştırıldığında en yüksek canlılık değeri %98,45 ile 5. gün, en düşük canlılık değeri ise %93,01 ile 1. gün periyodunda görüldü. Prepolimerize rezin grupların 1., 2., 3. ve 5. gün periyotlarında hücre canlılık değerleri arasında anlamlı farklılık bulunmadı.



Şekil 17. Prepolimerize PMMA rezinlerin 1., 2., 3. ve 5. gün periyotlarında hücre canlılık değerleri (%).

Tablo 19. Geleneksel yöntemle polimerize edilen PMMA rezinlerin periyotlara göre hücre canlılık değerleri.

Prepolimerize		Grup				Analiz Sonucu			
		Mean	Median	Min	Max	Sd	Mean Rank	F	p
Hücre canlılık değerleri (%)	1. Gün	93,01	91,33	82,45	110,9	9,907	4,045	0,8102	0,5031
	2. Gün	93,61	91,87	84,25	103,9	7,935	3,24		
	3. Gün	92,22	90,82	85,57	101,4	6,246	2,55		
	5. Gün	98,45	99,82	89,28	105,7	2,696	2,383		

4. TARTIŞMA

PMMA rezinler diş hekimliği kliniklerinde en sık kullanılan materyallerdir. Günümüzde teknolojinin ilerlemesine ve çok sayıda farklı kaide materyalleri keşfedilmesine rağmen tam veya parsiyel dişsizliklerin rehabilitasyonunda PMMA rezinlerden üretilen hareketli protezler halen en sık yapılan protetik restorasyonlardan biridir. PMMA rezinin, üretim sürecinin basit ve maliyetinin az olması, üstün fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olması ve tesfiye-polisaj işlemlerinin kolay olması gibi avantajlarından dolayı uzun bir klinik kullanım geçmişi vardır (1, 47). Bununla birlikte, birkaç sınırlayıcı özelliği bulunmaktadır (47). Bunların en önemlileri; boyutsal stabiliteyi, fiziksel, mekanik ve biyolojik özelliklerini etkileyen polimerizasyon zincirine katılmayan artık MMA monomerleri içermeleri, darbe dayanımının düşük olması ve *Candida albicans* gibi mikroorganizmaların rezinlere tutunmasıdır (151-152). Resin içerisindeki yüksek oranda artık MMA miktarı, materyalin su emilimi, sertliği, boyutsal stabilitesi, çekme ve esneme dayanıklılığı gibi mekanik özelliklerini de olumsuz yönde etkilediği birçok çalışmada gösterilmiştir (113, 153). Protez kaide rezinlerinde MMA'nın az bir miktarının bile serbest kalması, duyarlılığı yüksek olan bireylerde oral mukozada irritasyon, inflamasyon ve alerjik reaksiyona neden olabildiği gösterilmiştir. Ancak toksisite oluşturmaya doza bağlıdır; bu nedenle artık monomer miktarının belli limitlerin üzerinde olmaması gerekmektedir (107). Yapılan çalışmalarda dokular tarafından majör reaksiyonlara neden olmadan tolere edilebilecek MMA seviyeleri belirlenmeye ve PMMA'tan sızan bileşenlerin azaltılması için yöntemler bulunmaya çalışılmıştır (60, 88, 132). Doğan ve ark. yaptıkları çalışmada, artık MMA monomer seviyesi yüksek olduğu belirlenen akrilik resin örneklerin çekme dayanıklılığının daha az, su emiliminin ise daha fazla olduğunu bunun sebebi olarak polimer matriks içindeki polimerize olmamış monomerlerin plastizer etkilerinden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir (154). Kaide rezinin içerisindeki artık monomer miktarının azaltılması PMMA rezinin dokularla olan biyoyumluluğunu arttırdığı gibi mekanik ve fiziksel özellikleri de olumlu yönde artıracaktır. Bu nedenlerle biz de PMMA rezinin polimerizasyon dönüşüm derecesini artırarak artık monomer konsantrasyonunu azaltılmasını amaçladığımız çalışmamızda farklı yöntemlerle polimerize edilen PMMA rezinlerin, artık MMA miktarlarını ve sitotoksitelerini inceledik.

Literatürde PMMA rezinlerin polimerizasyonunda çok sayıda farklı yöntemler uygulanmasına rağmen, bütün monomerlerin polimere dönüşümünün tamamlanamadığı ve protez kaidesi içerisinde kalan reaksiyona girmemiş MMA monomerin ağız ortamına salınım yaptığı birçok çalışmada gösterilmiştir (84, 100, 112).

Serbest radikal katılma polimerizasyonu ile oluşan PMMA gibi polimerlerin içerisinde artık monomer miktarının sıfırlanmasının imkânsız olduğu Trommsdorff-Norrish etkisi veya jel etkisi gibi mekanizmalarla açıklanmaktadır. Bu mekanizmaya göre MMA monomerin polimerizasyonu sırasında, reaksiyon hızı ve polimerizasyon derecesi eş zamanlı olarak önemli ölçüde artmaktadır. Bu hızlanma ile birlikte sistem daha viskoz hale gelir (155). Polimerizasyon ilerledikçe, sistem katılaşır. Sonuç olarak, serbest monomerlerin difüzyonunun engellenmesine ve sonlandırma aşamasının yavaşlamasına sebep olur. Kısaca özetlenecek olursa; Trommsdorff-Norrish etkisi reaksiyon ısısının ve hızının artmasına sebep olurken sonlandırma reaksiyonunun yavaşlamasına neden olmaktadır (155). Bu mekanizmaya bağlı olarak istenilen sıfır artık monomer sağlanamaz ancak çeşitli polimerizasyon veya postpolimerizasyon yöntemleriyle artık monomer miktarının azaltılabileceği çok sayıda çalışmada bildirilmiştir. PMMA rezinler, ortam koşullarına, polimerizasyon yöntemlerine ve ısı transferinin verimliliğine bağlı olarak değişen oranlarda artık monomer konsantrasyonu içermektedirler (112, 156).

Otopolimerize PMMA rezinler, ısı ile polimerize olan PMMA rezinlerle kıyaslandığında daha fazla artık monomer içerdiğini ve bunun nedeninin camsı geçiş ısısının düşük olmasından kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (157). PMMA rezinlerin camsı geçiş ısısı arttıkça, moleküler zincir hareketleri ve MMA'nın immobilizasyonunun nötralize olduğu ve böylece rezindeki monomerlerin polimerizasyon kabiliyetinin arttığı bilinmektedir (153, 158). Isı ile polimerize edilen rezinlerin farklı polimerizasyon yöntemleriyle polimerize edildiğinde polimerizasyon dönüşümlerinin benzer olduğuyla ilgili görüşler olmasına rağmen, yüksek basınç (159-160) ve ısısının bununla birlikte uzatılmış işlem süresinin polimere dönüşüm derecesini arttırmada etkili olduğu gösterilmiştir (99).

Literatürde otoklavda polimerize yönteminin ısı post-polimerizasyon işlemi olarak kullanılabileceği gibi güncel yaklaşımlarda akrilik rezinlerin polimerizasyonunda da kullanılabileceği belirtilmektedir (159, 161). Yapılan çalışmalarda otoklavda polimerizasyon yöntemiyle elde edilen örneklerin geleneksel yöntemle polimerize edilen rezinlerden daha iyi fiziksel özelliklere ve boyutsal stabiliteye sahip olduğu ve artık monomer miktarının daha az olduğu aynı zamanda post-polimerizasyon yöntemi olarak kullanıldığında akrilik rezinlerin fiziksel özelliklerini iyileştirdiği gösterilmiştir (115, 159).

Yüksek basınç altında polimerizasyon, monomer moleküllerini yakınlaştırmak ve serbest hacmin azalmasını sağlayarak moleküler eşleşme olasılığını ve polimerizasyon zincirin uzamasını artırır (162). MMA'nın yüksek basınç altında polimerleşmesinin poroziteyi ve düzensizliği azalttığı ve PMMA parçacıkları ile matriks arasındaki uyumu destekleyerek daha homojen rezin oluşmasını sağladığı bildirilmektedir (162-163). Bu bilgilere dayanarak çalışmamızda akrilik rezin örneklerin polimerizasyonları yüksek sıcaklık ve basınç altında yapıldı.

Durkan ve ark.'nın geleneksel su banyosu ve otoklavda polimerize edilen akrilik rezinlerin transvers kuvvetler karşısındaki mukavemetlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, otoklavda polimerize edilen örneklerin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek mukavemet gösterdiğini bildirmişlerdir (161).

Deste ve ark. geleneksel su banyosu ve otoklav polimerizasyonunun maksiller tam protez kaidelerinin internal adaptasyonuna etkilerini karşılaştırmış ve otoklavda polimerize olanların internal adaptasyonlarının daha iyi olduğu sonucuna varmışlardır (164).

Durkan ve ark. geleneksel ısı, otoklav ve mikrodalga polimerizasyon yöntemlerinin bükme-çekme mukavemetlerine etkisini inceledikleri çalışmada, otoklav polimerizasyon yönteminin camsı geçiş sıcaklığını artırarak mekanik ve dinamik özelliklerini iyileştirdiğini belirtmişlerdir (72).

Salwan ve ark. iki farklı otoklav polimerizasyon döngüsüyle polimerize edilen PMMA'lar ile (hızlı 121°C 15 dk, yavaş 121°C 30 dk) konvansiyonel ısı ile polimerize

edilen PMMA’larda enine mukavemet, darbe mukavemeti, yüzey sertliği ve pürüzlülüğü karşılaştırmışlardır (165). Mekanik özellikler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken yüzey pürüzlülüğü açısından anlamlı bir fark bulmuşlardır. Sonuç olarak otoklav polimerizasyon yönteminin geleneksel su banyosu yöntemine alternatif bir yöntem olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (165). Otoklavda polimerizasyonun, geleneksel su banyosuna göre ısıyı daha homojen yayarak artık monomer miktarı daha az, çapraz bağlantı sayısı daha fazla olan homojen rezin elde edilmesini sağlayacağı bildirilmiştir (165).

Yeni polimerizasyon teknikleri ile elde edilen rezinler altın standart olarak kabul edilen geleneksel ısı ile polimerize edilen akrilik rezinlerden daha gelişmiş özelliklere sahip veya eşit olmalıdır. Bu nedenle çalışmamızda basit protokollerle klinik pratiğinde kullanılabilecek ve geleneksel yöntemle elde edilen akrilik rezinlerden daha iyi özelliklere sahip olduğu Durkan ve ark., Salwan ve ark., Ayaz ve ark. tarafından belirtilen otoklavla polimerizasyon yöntemini karşılaştırdık (72,159,165).

CAD/CAM sistemiyle hareketli protezlerin üretimi prepolimerize PMMA bloklardan frezelenerek oluşturulmaktadır (78). CAD/CAM prepolimerize PMMA bloklar endüstriyel olarak standardize edilmiş parametrelere uygun olarak yüksek sıcaklık ve basınç altında polimerize edilmektedir. Standart koşullarda polimerizasyonu sağlanan bu bloklar, mikro yapıları ve mekanik özellikleri bakımından yüksek kaliteye sahiptirler (83, 166). Geleneksel yöntemlerle yapılan protezlerin yapım aşamaları, klinisyenlerin ve diş teknisyeninin becerisine bağlı olduğundan üretilen protezler farklı kalitelerde olabilmektedir. CAD/CAM teknolojisiyle hareketli protez üretildiğinde standart bir kalite yakalanmaktadır. Literatürde prepolimerize akrilik rezinlerin fiziksel, mekanik ve yüzey özelliklerinin geleneksel polimerize edilen akrilik rezinlerden daha iyi olduğu gösterilmiş (83, 167-168), ancak sitotoksiteleri ve artık monomer içerikleriyle ilgili çok fazla çalışma bulunamamıştır (83).

Akrilik rezinlerin artık monomer miktarları ve biyouyumluluklarıyla ilgili çalışmalar sınırlı olduğundan çalışmamızda farklı akrilik rezinlerin artık MMA miktarlarını ve sitotoksitelerini karşılaştırmayı amaçladık.

PMMA rezin içerisinde kalan reaksiyona girmeyen MMA monomer konsantrasyonunun saptanmasında kızılötesi spektroskopisi, gaz kromatografisi (GC), gaz-sıvı kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve ultraviyole spektrofotometri (UVS) gibi çeşitli teknikler kullanılabilir (106, 113, 153, 169). Literatürde HPLC kullanılarak akrilik rezinlerdeki artık monomer konsantrasyonlarının incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır (112-113,170). HPLC analizi diğer yöntemlerle kıyaslandığında; hassasiyetinin yüksek olması, yüksek sıcaklıklar gerektirmeden oda sıcaklığındaki materyallere uygulanabilmesi, yüksek doğruluk derecesi ve hızlı sonuç verebilmesi gibi avantajlarından dolayı dental polimerle ilgili araştırmalarda en çok kullanılan yöntemdir (170-171). Köroğlu ve ark., Wei ve ark., Steinmassl ve ark., Ertem ve ark. PMMA rezinlerin bekletildiği ekstraktlardaki artık MMA miktarının belirlenmesinde HPLC yöntemini kullanmışlardır (168, 172-174). HPLC analiz yöntemi akrilik rezinler için en güvenilir sonuçları verdiğinden biz de çalışmamızda metanol içerisine sızan MMA konsantrasyon miktarının tayininde bu analiz yöntemini kullandık.

HPLC analizinde C4, C8, C18 gibi kolonlar yaygın olarak kullanılmaktadır. C4 kolonu genellikle proteinler için, C18 kolonu ise dental monomerler gibi küçük moleküller için tercih edilmektedir. Köroğlu ve ark, Arslan Güner ve ark., Wei ve ark çalışmalarında C18 kolonunu kullanmışlardır (172-173, 175). Biz de tez çalışmamızda MMA konsantrasyon miktarının tespitinde C18 kolonunu kullandık.

Literatürde PMMA rezinlerden salınan MMA monomer miktarını HPLC analizini kullanarak değerlendiren çalışmalar ekstraksiyon işlemi; distile su, tükürük, etil alkol, metanol, aseton, etil alkol-distile su karışımı, n-bütanol gibi organik çözücüler kullanmışlardır (168, 176-177). Yapılan çalışmalarda ekstraksiyon işlemlerinde metanolün sudan daha etkili olduğu ve artık bırakmadan, kolay uzaklaştırılabilen bir çözücü olduğu için kullanılmasının daha uygun olduğu bildirilmiştir (178-179). Bu nedenlerle biz de rezin içerisinde kalan maksimum MMA'nın solüsyona geçmesini sağlayabilmek için ekstraksiyon prosedürleri sırasında PMMA'nın en iyi çözücülerinden olan %99,5 saflıktaki metanolü kullandık.

ISO 1567'ye göre HPLC sisteminde taşıyıcı faz olarak asetonitril/deiyonize su veya metanol/deiyonize su karışımlarının kullanılabileceği bildirilmiştir (180). Metanol ve deiyonize su karışımı, daha hassas stabil bir ayırım gerçeklemesine ve tekrarlanan retansiyon zamanlarında daha stabil piklerin oluşmasına imkân sağlamaktadır (181-182). Bu nedenlerle çalışmamızda mobil faz olarak %70 metanol ve %30 oranında deiyonize su karışımını kullandık.

Protez kaidelerinin şekli, boyutu ve kalınlığı oral mukozaya, kretlere ve bulunduğu bölgeye bağlı olarak değişmektedir (158). PMMA kaide rezininin kalınlığı artık monomer miktarını etkilemektedir. Ayaz ve ark., Ertem ve ark., Arslan Güner ve ark. farklı polimerizasyon yöntemlerinin artık monomer miktarına etkisini inceledikleri çalışmalarında 20 mm çapta 2 mm kalınlıkta rezinler kullanmışlardır (159, 174-175). Biz de mevcut çalışmalarla karşılaştırma yapabilmek için akrilik rezin örnekleri ISO 1567 standartlarına uygun olarak 20 mm çapında 2 mm kalınlığında hazırladık (159, 174-175).

Literatürde otoklavda polimerizasyon yöntemiyle elde edilen rezinlerin mekanik fiziksel özelliklerinin incelendiği birçok çalışma olmasına rağmen artık monomer miktarıyla ilgili sınırlı çalışma mevcuttur (159, 163). Ayaz ve ark. geleneksel su banyosu yöntemi ile otoklavda farklı sürelerde polimerize edilen akrilik rezinlerin artık monomer miktarını ve yüzey sertliğini karşılaştırmışlardır (159). Otoklavda polimerize rezinlerin daha az artık monomer içerdiği ve yüzey sertliğinin daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Otoklavda daha uzun süre bekletilen grubun ise daha az artık monomer içerdiğini ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirtmişlerdir (159). Bu bilgiler ışığında biz de çalışmamızda porozite oluşmasına neden olmasını engellemek ve daha iyi özelliklere sahip rezinler elde etmek için, otoklav örneklerinin polimerizasyon işlemi, 3 atm basınç altında 60°C'de 30 dk bekletip kademeli olarak sıcaklık artırılarak 130°C'de 20 dk bekletilerek tamamlandı.

Keul ve ark. basınçlı (2 bar) ve basınçsız ortamda 55°C'de enjeksiyon ve döküm yoluyla polimerize ettikleri akrilik rezinlerin artık monomer miktarlarını analiz etmişler. Döküm yöntemi uygulanan tüm grupların enjeksiyon yönteminden daha yüksek MMA miktarı içerdiğini ve basınç altında polimerize edilen grupların MMA konsantrasyon değerlerinin daha az olduğunu bildirmişlerdir (160).

Becerra ve ark. (2021) yüksek basınçta otoklavda polimerize edilen, konvansiyonel ısı ile polimerize edilen ve CAD/CAM prepolimerize PMMA rezinlerin eğilme mukavemeti, elastikiyet modülü, sertlik, yoğunluk, viskoelastik özelliklerini karşılaştırmışlardır (162). Yüksek basınç altında yapılan polimerizasyonun rezinlerin mekanik özelliklerini belli oranda iyileştirse bile en iyi sonucun CAD/CAM prepolimerize PMMA'da olduğunu bildirmişlerdir (162).

Ayaz ve ark. geleneksel ısı ile polimerize edilen akrilik rezinler ile otoklavda farklı sürelerde polimerize edilen akrilik örneklerin artık MMA miktarlarını ve yüzey sertliklerini karşılaştırmışlardır (159). Daha uzun süre otoklavda polimerize edilen grupta en az artık MMA saptanmış olup bu grubun en yüksek yüzey sertliğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bunun otoklav polimerizasyonu sırasında uygulanan basıncın, MMA monomer moleküllerinin polimer matrisine difüzyonunu arttırdığından dolayı olabileceğini bildirmişlerdir (159).

Geleneksel yöntemde polimerizasyon sırasında muflanın dış kısmı ile muflanın ortası arasında ısı farkı oluşmaktadır. Muflanın dış kısmındaki ısı yaklaşık 100°C iken orta kısmında daha düşüktür (115). Ayrıca suyun kaynama sıcaklığı 100 °C olduğundan sıcaklığın artırılması ve artık monomer miktarının minimuma indirilmesi mümkün olamamaktadır. Çalışmamızda Ayaz ve ark. (159), Becerra ve ark.(162), Keul ve ark. (160) çalışmalarıyla paralel olarak, otoklavda polimerize edilen akrilik rezinlerin artık MMA konsantrasyon değerleri, geleneksel yöntemle elde edilen rezinlerden düşük konsantrasyonda bulunmuştur. Bunun nedeninin çalışmamızla paralellik gösteren diğer çalışmalarda da belirtildiği gibi yüksek sıcaklığın moleküllerin hareketliliğini arttırdığını, yüksek basıncın ise serbest hacmi azaltarak moleküller arasındaki mesafeyi azalttığını, bunların sonucu olarak da polimerizasyon derecesinin artıp reaksiyona girmemiş MMA monomer miktarının azaldığı düşünülmektedir.

Literatürde CAD/CAM teknolojisiyle protez üretiminin birçok avantajı bildirilmiştir. Prepolimerize PMMA bloklardan standart koşullarda üretilen protezlerin fiziksel ve mekanik özelliklerinin arttığı bildirilmiştir (162, 167). Ancak literatürde prepolimerize CAD/CAM teknolojisiyle üretilen rezinler ile geleneksel ısı

ile polimerize edilen rezinlerin artık monomer miktarlarının karşılaştırıldığı yeterli çalışma bulunmamaktadır (168).

Steinmassl ve ark. yaptıkları çalışmada on farklı maksiller model için dört farklı CAD/CAM sistemi (Baltic Denture System, Vita Vionic, Wieland Digital Dentures, Whole You Nexteeth) kullanarak maksiller tam protez üretmişler ve konvansiyonel ısıyla polimerize edilen protezlerle kıyaslamışlardır (168). Hazırlanan protezlerin artık monomer miktarları değerlendirilmiş ve artık monomer miktarının protez yüzey alanları ve yoğunluğu ile aralarındaki korelasyona bakılmış. Artık monomer miktarı ile protezin yoğunluğu ve yüzey alanı arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunmamıştır. Baltic dental sistemin protez yoğunluğu ve ağırlığı en yüksek olmasına rağmen salınan artık monomer miktarının en az olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte geleneksel ısı ile polimerize ve dört CAD/CAM sistemiyle üretilen protezlerin artık monomer konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Baltic dental sistemin en düşük artık monomere sahip olması iki farklı sebebe bağlanmıştır. Birincisi yüksek oranda çapraz bağ içermesi nedeniyle yüzeydeki monomer miktarının az olup distile su içerisine geçişinin az olmasıdır. İkincisi diğer tüm CAD/CAM sistemlerinde dişlerin diş soketlerine metakrilat bazlı bonding ajanlarla yapıştırılıyor olmasına karşın Baltic dental sistemde bu ajanlar kullanılmadığından artık monomer miktarı artmamaktadır (168).

Engler ve ark (2020) yaptıkları çalışmada sekiz farklı CAD/CAM polimerini (Avadent Base, Avadent teeth, PMMA Multiblank, PMMA Monoblank, Temp Premium, Telio CAD, Ceramill Temp, Shofu Block HC) ve geleneksel ısı ile polimerize PMMA rezin örneklerini 1, 7, 30, 60 gün süreyle 37 °C'de distile suda bekletmiş ve artık MMA konsantrasyonlarını UV spektrofotometriyle değerlendirmişlerdir (183). 1. gün sonunda en fazla artık monomer miktarı Shofu blok grubunda tespit edilmiş olup, bu blokların kompozit esaslı olmasına bağlanmıştır. 1. günün sonunda Avadent grubundaki artık MMA miktarı, geleneksel ısı ile polimerize rezinden daha az olmasına rağmen, yaşlandırmadan sonra 30 ve 60. günde geleneksel PMMA rezinlerden daha fazla artık MMA içerdiğini ancak istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir (183).

Ayman yaptığı çalışmada; ısı ile polimerize PMMA rezin ve CAD/CAM prepolimerize PMMA rezin (Polident, Volcja Draga, Slovenia) örnekleri 2 ve 7 gün distile suda bekletip elde solüsyonların artık monomer miktarlarını, eğilme modülüslerini ve direçlerini karşılaştırmıştır (184). Elde edilen solüsyonların artık MMA miktarının tespitinde GC kullanmışlardır. Prepolimerize akrilik rezin örneklerin, ısı ile polimerize akriliklere göre artık monomer miktarının daha az ve elastikiyet modülünün ve eğilme dirençlerinin istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Mekanik özelliklerinin daha iyi olmasını ve artık monomer miktarının daha az olmasını prepolimerize akrilik bloklarda çapraz bağlantı miktarının fazla olmasından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir (184).

Wei ve ark. konvansiyonel PMMA rezinler (Vertex acrylic resin, Protemp 4) ve CAD/CAM PMMA rezinlerin (Organic EcoPink prepolimerize PMMA blok, Die material) insan dişeti fibroblast (HGF-1) hücreleri üzerine biyolojik etkilerini ve artık monomer miktarlarını karşılaştırmışlardır (173). Resin örnekleri 3 gün boyunca hücre besiyerinde bekletip elde ettikleri ekstraktların hücre proliferasyonuna etkilerini ve artık MMA miktarını HPLC analizinde değerlendirmişler. Artık monomeri sadece geleneksel PMMA ve Protemp rezinde tespit etmişler, CAD/CAM polimerlerinde ise tespit edilmemiştir (173).

CAD/CAM prepolimerize akrilik rezinlerin artık monomer içeriğiyle ilgili literatürde yeterli sayıda çalışma olmamakla birlikte varolan çalışmalarda geleneksel polimerize PMMA rezinlere göre artık monomer miktarının daha az olduğu ya da fark olmadığı gibi çelişkili sonuçlar bulunmaktadır (167-168). Ayman (184), Wei ve ark. (173) 'nın çalışmalarının sonuçlarıyla paralellik gösteren bizim çalışmamızda geleneksel ısı ile polimerize akrilik rezin örneklerin artık monomer miktarı ($1,38 \pm 0,16$), prepolimerize akrilik rezinlerden ($0,86 \pm 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Literatürde yapılan çalışmalarda prepolimerize akrilik rezin örnekler distile suda ya da besiyerinde bekletilerek elde edilen solüsyonlardaki MMA miktarı analiz edildiğinden solüsyonlara geçen artık MMA miktarının daha az olabileceğini, çalışmamızda ise rezinlerin içerisindeki artık monomer geçişi daha kolay olan metanol kullandığımızdan kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz (170, 173). Ayrıca çalışmamızdaki tüm gruplardan elde edilen artık

monomer miktarı ISO standartlarında belirtilen %2,2 sınırının altında olup elde edilen artık monomer yüzde değerleri literatürdeki çalışmaların değer aralığına uygunluk göstermiştir.

Biyouyumluluk veya doku uyumluluğu, bir materyalin amaçlandığı gibi uygulandığında uygun bir konak yanıtı ile uyumlu performans gösterme yeteneği olarak tanımlanmaktadır (5, 107). PMMA rezinlerde, monomerlerin polimerlere dönüşüm oranının artması kaide materyallerinin biyouyumluluklarının optimize edilmesinde oldukça önemlidir (185). Literatürde PMMA rezinlerin polimerizasyonunda pek çok yöntem denenmiş olmasına rağmen rezin içerisinde bir miktar reaksiyona girmeyen MMA olduğu bildirilmiştir (47). Eksik polimerizasyon işlemi protez kaidesinden; formaldehit, metakrilik asit, benzoik asit, dibütil fitalat, fenil benzoat, fenil salisilat ve özellikle MMA monomeri gibi toksik kimyasal materyallerin ağız ortamına salınmasına neden olur (157, 186).

PMMA rezinlerin biyouyumluluğuyla ilgili literatürde çok sayıda in vitro ve in vivo çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda PMMA protez kaide rezinlerinden salınan artık MMA monomerin, ağız mukozasında irritasyona, enflamasyona ve tip IV hipersensitif reaksiyonlara sebep olabileceği çok sayıda çalışmada bildirilmiştir (105, 107). PMMA rezinlerden yapılan kaidelerin dokular üzerindeki sitotoksik etkileri, klinik gözlemlerle (96, 105), hayvan modellerinde (187-189) ve in vitro hücre kültürlerinde birçok araştırmada rapor edilmiştir (5, 88, 133, 190-191). Primer kültürlü diş pulpası, diş eti ve periodontal bağ dokusu hücreleri üzerinde yürütülen çalışmalarda, hücresel düzeyde hem polimerize PMMA rezinin hem de artık MMA monomerlerinin genotoksik etkilere, hücre döngüsü bozukluklarına ve hatta apoptoza neden olduğu vurgulanmıştır (192). MMA monomerinin moleküler düzeydeki etki mekanizması, serbest radikallerin oluşumunu ve oksidatif stres oluşumunu başlatarak sitokinlerin salgılanmasına sebep olmaktadır (186, 192). Yang ve ark., Kökuslu ve ark. yaptıkları çalışmada, MMA monomerinin konsantrasyon miktarı arttığında hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerin arttığını bildirmişlerdir (193-194).

Dental materyallerin invitro yöntemlerle test edilmesi invivo test yöntemlerine göre deneysel kontrolü basit, tekrarlanabilir ve uygun maliyetlidir. Invitro hücre kültürü testleri; maliyetli, farklı değişkenler nedeniyle sonuçların değişebileceği tartışmalı hayvan deneylerine iyi bir alternatiftirler (107). Bu özelliklerinden dolayı biz de çalışmamızda invitro hücre kültürü testi kullandık. PMMA rezinlerin sitotoksik özelliklerini belirlenmesinde günümüze kadar yapılan araştırmalarda; insan dişeti fibroblastları (HGF-1) (173, 195-197), oral epitelyal hücreler (133, 191, 198, 133), fare fibroblast hücreleri (199-200), fare dişeti fibroblastları (197, 201-202) gibi çeşitli hücre dizilerinin kullanıldığı görülmektedir. Taira ve ark., MMA monomerinin sitotoksik etkisini dört farklı fibroblast kültüründe (L929, 3T3, C3H10T1, MC3T3-E1) 6 gün süre ile incelemişlerdir (199). Hücre kültürlerinin hepsinde de MMA monomerin sitotoksik etki gösterdiği ve 3T3 fare fibroblast hücrelerinin MMA monomerine karşı en hassas hücreler olduğunu belirtmişlerdir (199). Bu bilgiler ışığında, farklı polimerizasyon yöntemleriyle elde edilen PMMA örneklerimizin biyouyumluluklarının değerlendirildiği in vitro çalışmamızda 3T3 fare fibroblast hücrelerini tercih ettik.

Sitotoksikite testlerinde hücre ölümü, materyallerin biyouyumluluğunun değerlendirilmesinde en önemli kriterlerden biridir (201, 203-205). Hücre aktivasyonunun değerlendirildiği MTT testi, sitotoksikite testleri içerisinde uygulama kolaylığı, hızlı sonuç elde edilmesi, tekrarlanabilirliği, çok sayıda örneğin test edilmesini sağlaması ve materyallerin çok düşük seviyedeki toksisitelerin değerlendirilmesine imkân vermesi gibi avantajlarından dolayı hücre kültürü araştırmalarında oldukça sık kullanılmaktadır (202). Schweikl ve ark., diş hekimliği materyallerinin sitotoksik etkilerini inceledikleri çalışmalarında nötral kırmızı, MTT, ve kolorimetrik hücre çoğalmasını ölçen test yöntemlerinin hassasiyetlerini karşılaştırmışlar ve MTT testinin güvenilir, ekonomik ve hassas bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir (206). Bean ve ark., çok sayıda örneğin eş zamanlı olarak test edilebilmesini sağlayan MTT test yönteminin, hücre içi biyokimyasal aktivitelerdeki değişiklikleri göstermesi ve tekrarlanabilir sonuçlar sağlamasından dolayı tercih edilmesi gerektiğini vurgulamışlardır (207). Bahsedilen avantajlarından ve literatürdeki mevcut çalışmalarla sonuçlarımızı karşılaştırmak için çalışmamızda örneklerin sitotoksikite testlerinin değerlendirilmesinde MTT testini kullandık.

Materyallerin hücreler üzerine sitotoksiteleri; hücrelerin test edilen materyalle direk teması, indirek teması ve ekstraksiyon sıvılarının direk teması olmak üzere üç şekilde değerlendirilebilmektedir. Saw ve ark., kompozit materyallerin L-929 hücrelerine sitotoksik etkilerini üç farklı temas yöntemi ile incelemişlerdir. Direk ve indirek temas yöntemlerinde benzer sonuçlar elde edilmesine rağmen, ekstraksiyon sıvılarının teması sonucu elde edilen verilerin hassasiyetinin daha az olduğu ve direk temas yöntemiyle daha hassas sonuçlar elde edildiğini belirtmişlerdir (208-209). Direkt temas testi materyalin sitotoksik etkisinin hassasiyetini artırırken bununla birlikte hücrelerin materyalin yüzey pürüzlülüğünden, yüzey enerjisinden etkilenmesine ve yanıltıcı sonuçların olmasına da sebep olabileceği bildirilmiştir (167). ISO 10993-5 standartlarında, sitotoksikite testi ile biyouyumluluğu değerlendirilen materyalin klinik kullanımını mümkün olduğunca simüle etmesi gerektiği belirtilmektedir (210). Protez kaidelerin oral mukoza hücreleriyle direkt olarak temasta olmayıp, tükürüğe salınan komponentlerinin oral mukoza ile temasta olması ve bu döngünün taklit edilebilmesi için araştırmamızda ekstraksiyon test yöntemini tercih ettik.

ISO standartlarına göre biyouyumluluğu değerlendirilecek örneklerin, sitotoksikite deney düzeneğinde besi yeri içine tamamen gömülmesi ve yüzey/vasat oranının $0.5-6 \text{ cm}^2 / \text{ml}$ olması gerekmektedir (210-212). Protez kaide kalınlığı minimum 1 mm olmaktadır. Bu bilgiler doğrultusunda 10 mm çapında ve 1 mm kalınlıkta hazırlanan PMMA rezin örneklerin sitotoksik etkilerini karşılaştırdık (210-212).

Ebrahimi Saravi ve ark., Tay ve ark., Milena kostic ve ark. ve Bural ve ark, polimerizasyon yöntemleri, sıcaklık, polimerizasyon döngüsü ve akrilik rezinin saklanma süresi gibi faktörlerin artık monomer miktarını değiştirebileceğini bunun da materyalin sitotoksitesini etkileyebileceğini bildirmişlerdir (157, 189, 213-214). Ebrahimi Saravi ve ark. (213), 1 ve 24 saatlik inkübasyondan sonra otopolimerize rezinin ısıyla polimerize rezinden daha sitotoksik etki gösterdiğini; benzer şekilde Ata ve Yavuzylmaz (157), 24 saatlik bir süre içinde otopolimerize rezinin daha sitotoksik olduğunu bildirmiştir. Otopolimerize PMMA rezinlerin ısı ile polimerize

olanlardan daha fazla artık monomer saldığı bunun nedeninin ise düşük sıcaklıklarda moleküler zincir hareketindeki azalmadan kaynaklanabileceği bildirilmiştir (213).

Otopolimerize PMMA rezinlerin, su banyosu veya mikrodalga ısıması gibi post-polimerizasyon ısı uygulamaları yapılmasının rezinlerin artık monomer miktarını azaltarak daha biyouyumlu rezinler elde edilebileceği bildirilmiştir (215). Bural ve ark. (132) yaptıkları çalışmada, uzun süreli polimerizasyon dleri ve post-polimerizasyon işlemleri yapılan rezinlerin daha az artık monomer içerdiklerini ve daha az sitotoksik etki gösterdiklerini bildirmişlerdir. Raszewski, farklı polimerizasyon yöntemleriyle (ısı ile polimerize, basınç altında otopolimerize ve düşük sıcaklıklarda otopolimerize) hazırlanan PMMA rezinlerin artık monomer konsantrasyonunu ve epitel hücrelerine (Vero CCL-81) sitotoksik etkisilerini MTT testi ile bir karşılaştırmışlardır (216). En yüksek artık monomer miktarını ve sitotoksik etkiyi basınç ve ilave sıcaklık uygulanmayan otopolimerize akrilik rezinlerde gözlemlemişlerdir (216).

Çalışmamızda klinikte minimal sitotoksisiteye sahip bir materyal seçimine yardımcı olmak amacıyla farklı polimerizasyon yöntemlerini karşılaştırma için yüksek sıcaklık ve basınç altında alternatif bir polimerizasyon yöntemi olan otoklavda polimerize PMMA rezini kullandık (107, 109). Otoklavda polimerize edilen rezinler tüm periyotlarda geleneksel ısı ile polimerize edilenlere göre daha yüksek canlılık değerı göstermesine rağmen sadece 3. günde elde edilen değerler istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

Güncel CAD/CAM prepolimerize PMMA rezinlerin mekanik ve fiziksel özellikleriyle ilgili literatürde çok sayıda çalışma mevcutken biyouyumluluğuyla ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Bu nedenle, alışmamızda CAD/CAM prepolimerize PMMA rezinlerin biyouyumluluklarını değerlendirdik. Bizim çalışmamızla paralellik gösteren Wei ve ark. (173), Souza ve ark. (217), Shim ve ark. (182), Campaner ve ark. (201), Pagano ve ark. (205) CAD/CAM teknolojisinde kullanılan prepolimerize PMMA rezinlerin, geleneksel ısı ile polimerize rezinlerden daha az sitotoksik etki gösterdiği ve daha biyouyumlu materyaller olduğunu bildirmişlerdir (173, 201, 205, 217-218). Çalışmamızla çelişkili olarak Srinivasan ve ark., geleneksel yöntemle polimerize edilen PMMA rezinlerle prepolimerize rezinlerin sitotoksik etkileri

karşılaştırıldığında fark olmadığını bildirmişlerdir (167). Ancak bu çalışmada hücreler direk rezinlerin üzerine koyulduğundan materyallerin yüzey özelliklerinden etkilenmiş olabileceği belirtilmiştir.

Srinivasan ve ark. tam protezlerin üretiminde kullanılan prepolimerize akrilik bloklardan (AvaDent) CAD/CAM’de millenerek hazırladıkları örneklerle, 3D printerda üretilen PMMA rezin örneklerin (NextDent Base) biyouyumluluklarını, mekanik özelliklerini ve yüzey pürüzlülüklerini incelemişler (83). CAD-CAM ile millenerek hazırlanan ve hızlı prototiplenme yöntemiyle hazırlanan PMMA rezinlerin, biyouyumluluk ve yüzey pürüzlülüğü açısından benzer olduğu ve CAD/CAM’de frezelenerek oluşturulan rezinlerin, hızlı prototipleme yöntemiyle hazırlanan rezinlerden daha üstün mekanik özellikler gösterdiğini belirtmişlerdir (83).

Srinivasan ve ark. CAD/CAM prepolimerize PMMA rezin (Avadent) ile geleneksel ısıyla polimerize edilen PMMA rezinin (Aesthetic Red) biyouyumluluğunu, mekanik özelliklerini ve yüzey pürüzlülüğünü karşılaştırmışlardır (167). Rezinler, hücreler üzerinde hafif ya da nonsitotoksik etki göstermişlerdir ve grupların biyouyumlulukları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ancak prepolimerize PMMA rezinin mekanik özelliklerinin daha iyi olduğu bulunmuştur (167).

Pagano ve ark. (2021) CAD/CAM prepolimerize PMMA rezinler ile konvansiyonel otopolimerize rezinlerin mekanik özelliklerini ve insan epitel hücreleri üzerine 3 ve 24 saatlik periyotlarla sitotoksik etkilerini değerlendirmişlerdir (205). Prepolimerize PMMA rezinlerin hücreler üzerinde 3 saat periyodunda hafif sitotoksik, 24 saat periyodunda ise non-sitotoksik olduğu ve otopolimerize PMMA rezinlere göre daha biyouyumlu olduğu ve daha iyi mekanik özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir (205).

Wei ve ark. 4 farklı polimerin konvansiyonel kaide ve geçici kron PMMA’ları ile CAD/CAM kaide ve geçici kron PMMA’larının, insan dişeti fibroblast (HGF1) hücreleri üzerine biyolojik etkilerini ve artık monomer miktarlarını karşılaştırmışlardır (173). CAD/CAM PMMA rezinlerinde hücre proliferasyonunun daha çok olduğunu biyouyumluluklarının daha iyi olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonuçlarla paralellik

gösteren bizim çalışmamızda da 1. gün periyodundaki 3T3 fare fibroblast hücrelerinde tüm gruplarda hafif sitotoksik etki görülmesine rağmen hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (173).

Zamana bağlı olarak sitotoksik etkinin incelendiği çalışmamızda geleneksel ısı ile polimerize rezinlerde günlere göre sırasıyla %85,40, %73,67, %77,74, %87,82 canlılık değerleri gözlenmiştir. En düşük canlılık değeri 2. günde görülürken bu değer ilerleyen günlerde artmıştır. Literatürde bizim çalışmamızın aksine PMMA rezinlerin günlere bağlı hücreler üzerindeki en sitotoksik etkilerinin ilk 1. günde gözlemlendiği bildirilmektedir. Huang ve ark., ısı, ışık ile ve oto polimerize rezinlerin 1, 3 ve 5. gün ekstraktların insan oral epitel hücresi KB hücre hattı ve oral epitel fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini MTT testi ile karşılaştırmışlardır (196). Tüm rezinlerin sitotoksik etki gösterdiğini ve bu etkinin en çok 1. günde olduğunu ve giderek azaldığını bildirmişlerdir (196). Ata ve Yavuzylmaz farklı protez kaide materyallerinin L-929 fare fibroblast hücreleri üzerindeki 1 saat ve 1, 3, 5 ve 7 günlük ekstraksiyonlarının sitotoksik etkisini MTT testi ile değerlendirmişler; ısı ile polimerize rezin 1. günde sitotoksik etkisinin en fazla olduğu giderek bu etkinin azaldığını bildirmişlerdir (157). Lefebvre ve ark. rezinlerin 1. ve 2. günlerdeki hücrelerin sitotoksik etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında; her iki günde de oral epitel hücreleri üzerinde toksik etkiye sahip olduklarını ancak 2. günde hücre canlılık yüzdesinin 1. güne göre daha fazla olduğunu belirtmişlerdir (191). Ancak, çalışmamızla paralel olarak 2. günde en sitotoksik etkinin görüldüğü çalışmalarda mevcuttur.

Demir ve ark. ısı ile polimerize PMMA rezin ile hipoalerjenik kaide rezinlerinin (Puran HC, Acron MC, Promysan star) 3T3 fare fibroblastları apoptoz ve nekroza bağlı sitotoksik etkilerini incelemişlerdir (219). 1 ve 2 günlük periyotlarla elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlarının hücrelerdeki sitotoksik etkilerini değerlendirmişler. 2 günlük ekstraktların 1 günlük ekstraktlarla karşılaştırıldığında daha sitotoksik olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ve en sitotoksik etkinin geleneksel ısı ile polimerize PMMA rezinler olduğunu bildirmişlerdir (219). Sipahi ve ark. yaptıkları çalışmada farklı yöntemle polimerize edilen (ısı, ışık, mikrodalga, otopolimerize, enjeksiyonla) PMMA rezinlerin 2. gün ve 5. gün

periyotlarındaki insan dişeti fibroblast hücreleri üzerine sitotoksitelerini MTT testiyle incelemişler. 2. gün hücre canlılık değerlerinin diğer günlere göre daha az olduğunu ve en sitotoksik etkinin ise otopolimerize PMMA’larda gözlemlendiğini bildirmişlerdir (202). En yüksek hücre canlılık değeri mikrodalga ile polimerize rezinlerde ve sonra sırasıyla ışıkla polimerize, enjeksiyonla polimerize, ısı ile polimerize rezinlerde gözlemlemişlerdir (202).

Çalışmamızda en az hücre canlılık değeri 2. gün periyodunda görülürken bu değer 3. ve 5. gün periyotlarında artış görülmektedir. Teorik olarak düşünüldüğünde, ekstraktlardaki MMA miktarının sabit veya artan bir değer ile sonuçlanması beklenir (95, 160) ancak elde edilen değerler ve diğer çalışmalardaki sonuçlar da gözönüne alındığında, ilerleyen periyotlarda sitotoksik etkinin azalmasının ve hücre canlılık değerlerinin artmasının sebebi olarak besi yerine salınan artık MMA veya diğer sitotoksik moleküllerin buharlaşmasından veya hücreler tarafından metabolize edilmesinden (157) ya da MMA'nın metakrilik aside hidrolizi (95) veya formaldehite oksidasyonundan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda prepolimerize rezin örneklerin, otoklavda polimerize edilenlere göre çok az da olsa daha az artık monomer içermesine rağmen, sitotoksikite testinde daha az sitotoksik etki göstermesinin sebebinin; Steinmassl ve ark (168) belirttiği üzere yüksek yoğunluklu rezinler olduğundan dolayı ve besi yerinin çok iyi bir çözücü olmadığından az miktarda MMA ve toksik molekül geçişinin olduğu ancak metanol iyi bir çözücü olduğundan rezin içerisindeki MMA’ın geçişinin daha fazla olduğunu düşünmekteyiz (167-168). Ergün ve ark. protez kaide rezinlerinin sitotoksitelerinin likite ilave edilen çapraz bağlantı ajanlarına (Glikol dimetakrilat, treetilen, tetraetilen) ve inhibitör maddelere (hidrokinon) bağlı olarak da artabileceğini ifade etmişlerdir (220). Ayrıca besi yerine sadece MMA değil çeşitli toksik materyallerin de salınabileceği bu nedenle otoklav rezinlerinden MMA monomerinden farklı toksik materyallerin salınabileceğinin kanısındayız. Rezinlerden salınan materyallerin incelenerek hücreler üzerinde hangi değişikliklere sebep olduğuyla ilgili daha güvenilir bilgiler elde edilebilmesi için bu konuda daha fazla in vitro ve in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. SONUÇLAR

Farklı polimerizasyon yöntemleri uygulanan akrilik kaide rezin materyallerinde sitotoksitelerini ve artık monomer miktarlarını incelediğimiz tez çalışmamızda;

1) Yüksek ısı ve basınç altında otoklavda polimerizasyon yöntemiyle elde edilen akrilik rezinlerin, geleneksel yöntemle elde edilen rezinlere göre daha az artık monomer içerdiği ve daha az sitotoksik etki gösterdiği,

2) CAD/CAM prepolimerize rezinler, konvansiyonel ısı ile polimerize rezinlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az artık monomer içerdiği ve daha az sitotoksik etki gösterdiği,

3) Otoklavda polimerize edilen rezinler, prepolimerize rezinlerden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az artık monomer içerdiği,

4) Periyotlara göre rezinlerin sitotoksiteleri değerlendirildiğinde, en yüksek sitotoksik etkinin 2. günde geleneksel ısı ile polimerize rezinlerde, en düşük sitotoksik etkinin ise 5. günde prepolimerize rezinlerde olduğu,

5) Geleneksel yöntemle polimerize edilen rezinlerin 2. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri ile 1., 3. ve 5. gün periyot değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu,

6) Otoklavda polimerize rezinlerin 2. gün periyodundaki hücre canlılık değerleri ile 3. ve 5. gün periyot değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu sonuçlarına varıldı.

6. KAYNAKÇA

1. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. Phillips' science of dental materials. 12th ed: Elsevier Health Sciences; 2012, p: 83-123.
2. Çalikkocaoglu S. Dişhekimliğinde Maddeler Bilgisi (Metal Olmayan Maddeler), İstanbul, Yeditepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi; 2000, p: 76-98.
3. Jadhav SS, Mahajan N., Sethuraman R., Comparative evaluation of the amount of the residual monomer in conventional and deep-frozen heat cure polymethylmethacrylate acrylic resin: an in vitro study J. Indian Prosthodont, 2018; (18), p: 147-153.
4. Huber U, Majors RE. Principles in preparative HPLC, Germany, Agilent Technologies; 2004, p: 2-70.
5. Elshahawy WM, Watanabe I, Kramer P. In vitro cytotoxicity evaluation of elemental ions released from different prosthodontic materials. Dent 2009; 25: 1551-1555.
6. Çehreli MC, Şahin S, Ergunay K, Ustaçelebi S, Sevil UA. Cytotoxicity of eluates from a gamma-ray-polymerized poly(methyl methacrylate), J. Biomater. Appl. 2004(18), p: 223-231.
7. Woelfel JB. Processing complete dentures. Dent Clin North Am 1977; 21(2): 329-38.
8. McCABE, J. Applied Dental Materials. 7th Ed., London: Blackwell Scientific Publications, 1990; Chapter 2,12,13.
9. Can G, Ersoy E, Aksu L, Zaimoğlu A, Diş hekimliğinde maddeler bilgisi, Ankara, A.Ü. Diş Hek. Fak. Yayınları, 1993; p: 56-89.
10. Craig RG, Dental Polymers. In: Restorative Dental Materials. 8th ed. Missouri: The C.V. Mosby Company, 1989; p: 123-45.
11. Johnson WW, The history of prosthetic dentistry. J Prosthet Dent 1959; 9: 841-6.

12. Zafar MS., Prosthodontic Applications of Polymethyl Methacrylate (PMMA): An Update. *Polymers (Basel)*. 2020; Oct 8; 12(10): 2299.
13. Redtenbacher J, Ueber die zerlegungsprodukte des glyceryloxydes durch trockene destillation. *Justus Liebigs Ann. Chem.* 1843; 47, 113–148.
14. Rueggeberg FA, From vulcanite to vinyl, a history of resins in restorative dentistry. *J. Prosthet. Dent.* 2002; (87): 364–379.
15. Neher HT, Acrylic resins. *Ind. Eng. Chem*; 1936, 28: 267–271.
16. Peyton FA, History of resins in dentistry. *Dent. Clin. North Am.* 1975; 19, 211–222.
17. DiMaio FR, The science of bone cement: A historical review. *Orthopedics* 2002; 25, 1399–1407.
18. Kraft J, Polymethylmethacrylate A review. *J. Foot Surg.* 1977; 16, 66–68. .
19. Frazer RQ, PMMA: An essential material in medicine and dentistry. *J. Long. Term. Eff. Med.* 2005; 15, 629–639.
20. Zidan S, Investigating the mechanical properties of ZrO₂-impregnated PMMA nanocomposite for denture-based applications. *Materials* 2019; 12, 1344.
21. Chen S, TiO₂ and PEEK reinforced 3D printing PMMA composite resin for dental denture base applications. *Nanomaterials* 2019; 9, 1049.
22. Shakeri F, Nodehi A, Atai M, PMMA/double-modified organoclay nanocomposites as fillers for denture base materials with improved mechanical properties. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 2019; 90, 11–19.
23. Anusavice KJ. *Phillips' science of dental materials*. 11 th Ed. St. Louis: Saunders: Elsevier Science Ltd., 2003; p:91-133.
24. Phoenix RD. Denture base materials. *Dental clinics of North America*, 40, 1, 1996; 113-20.

25. O'Brien WJ, Dental Materials and Their Selection. 3th ed. Canada. Quintessence Publishing Company 2002; p: 145-67.
26. Woelfel JB, Newer materials and techniques in prosthetic resin materials. Dental Clinics of North America. 1971 Jan;15(1):67-79.
27. Maeda Y, Minoura M, Tsutsumi S, Okada M, Nokubi T, A CAD/CAM system for removable denture. Part I: Fabrication of complete dentures. International Journal of Prosthodontics. 1994 Jan 1;7(1).
28. Kawahata N, Ono H, Nishi Y, Hamano T, Nagaoka E, Trial of duplication procedure for complete dentures by CAD/CAM. Journal of oral rehabilitation. 1997 Jul;24(7):540-8.
29. Kanazawa M, Inokoshi M, Minakuchi S, Ohbayashi N. Trial of a CAD/CAM system for fabricating complete dentures. Dent Mater J. 2011;30(1):93-6.
30. Bidra AS, Taylor TD, Agar JR, Computer-aided technology for fabricating complete dentures: systematic review of historical background, current status, and future perspectives. The Journal of prosthetic dentistry. 2013 Jun 1;109(6):361-6.
31. Goodacre CJ, Garbacea A, Naylor WP, Daher T, Marchack CB, Lowry J. CAD/CAM fabricated complete dentures: concepts and clinical methods of obtaining required morphological data. The Journal of prosthetic dentistry. 2012 Jan 1;107(1):34-46.
32. McLaughlin JB. Complete denture fabrication with CAD/CAM record bases. The Journal of prosthetic dentistry, 2015, 114(4), 493-497.
33. Malcom PS. Polymer Chemistry: An Introduction. 3rd ed.; Oxford University Press: NY, p: 167–176, 256–276.
34. Ma PX. Polymers and Polymerization. In W. J. 2008, p:24-72.
35. O'Brien, Dental Materials and Their Selection (Fourth edition). Illinois: Quintessence Publishing Co, Inc, 75-90.

36. Can G, Ersoy AE, Aksu ML, Diş Hekimliğinde Maddeler Bilgisi (İkinci Baskı). Ankara: Yurt-Mim Yayıncılık, 2014, 18-21, p:91-122.
37. Phillips RW, Skidders Science of Dental Materials, 9th edn, WB Saunders, Philadelphia. Deg. 1991, p: 177–213.
38. McCabe JF, Walls A, Applied Dental Materials. 9th ed. Oxford, UK: Willey-Blackwell; 2013, p: 112-3.
39. Powers JM, Wataha JC. Dental Materials-E-Book: Properties and Manipulation, 10th ed.: Elsevier Mosby, 2014, p.:163-187.
40. Bhowmick AK, Stephens HL. 2001Handbook of elastomers. 2nd ed.: CRC Press, p:109-133.
41. ISO-7405, Dentistry Preclinical Evaluation of Biocompatibility of Medical Devices Used in Dentistry Test Methods for Dental Materials. International Standarization, Organization for 2013.
42. Kaplan R. Isı ve mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik kaide rezinlerinde dental fiber sistemlerinin etkilerinin in vitro olarak değerlendirilmesi A. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2002, Ankara
43. Çehrelı MC, Şahin S, Ergunay K, Ustaçelebi S, Sevil UA, Cytotoxicity of eluates from a gamma-ray-polymerized poly(methyl methacrylate),” J. Biomater. Appl., vol. 18,(2004) p: 223-231
44. Phillips R, Phillips' science of dental materials. 10th edition. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996, p: 237-271
45. Van Krevelen DW, Nijenhuis KT, Properties of Polymers; Elsevier: Amsterdam, (2000) p: 106, 322.
46. Hassan M, Asghar M, Din SU, Zafar MS, Thermoset Polimetakrilat Esaslı Dental Uygulamalar için Malzemeler. Elsevier; Amsterdam, Hollanda; 2019. Bölüm 8; p:273–308.

47. Umar A, Karim ABD, Khairil JB, Nor, A Review of the Properties and Applications of Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA). *Polymer Reviews*, 2015, 55. 1-28.
48. Zaimoğlu A, Can G, Ersoy E, Aksu L, Diş hekimliğinde maddeler bilgisi, Ankara, A.Ü. Diş Hek. Fak. Yayınları, 1993, p: 56-89.
49. Craig RG, Powers JM, Wataha JC, *Dental Materials: Properties and Manipulation* (7th Ed) Mosby Inc; 2000.
50. Young BC, A Comparison of Polymeric Denture Base Materials. Master Thesis, University of Glasgow. Scotland. 2010.
51. Barron DJ, Rueggeberg FA, Schuster GS, A comparison of monomer conversion and inorganic filler content in visible light-cured denture resins. *Dent Mater* 1992;8:274-277.
52. Ferracane JL, Greener EH, Fourier transform infrared analysis of degree of polymerization in unfilled resins methods comparison. *J Dent Res* 1984;63:1093-1095.
53. Jerolimov V, Krhen J, Besic J, The role of residual monomer in PMMA powder and methods of polymerization in the finding of residual monomer in poly(methylmethacrylate) denture base. *Acta Stomatol Croat* 1991;25:17-23.
54. Karaağaçlıoğlu L, Kalıpçılar B, Hasanreisioğlu U, Oda sıcaklığında Polimerize Olan Enjeksiyon Akriliklerinin Su Emilimi Çözünürlük ve Yüzey Özelliklerinin Değerlendirilmesi. *A. Ü. Diş Hek. Fak. Derg.* 1988; 15(1): 59-63
55. Alla RK, Raghavendra Swamy K, Vyas R, Konakanchi A, Conventional and contemporary polymers for the fabrication of denture prosthesis: Overview, composition and properties. *Int. J. Appl. Dent. Sci.* 1, 2015: 82-89.
56. Evchuk, IY et al. "Solubility of polymethyl methacrylate in organic solvents", *Russian Journal of Applied Chemistry* 2005, 78(10), 1576–1580.

57. Ban M, Yuhara T, “Chemical resistance of DLC thin film deposited PMMA substrates”, Surface and Coatings Technology. 2009, 203(17–18), 2587–2590.
58. Karacaer Ö, Darendeliler Yaman S, Gül Değim Z, Kompozit Rezin Materyallerin Su Emilimi ve Çözünürlüğü. A. Ü. Diş Hek. Fak. Der; 2001,11(3), 7- 10.
59. Pfeiffer P, Rosenbauer EU, Residual methyl methacrylate monomer, water sorption, and water solubility of hypoallergenic denture base materials. The Journal of prosthetic dentistry, 2004, 92.1: 72-78.
60. ISO: Dentistry-Denture base polymers (2013).ISO 20795-1:2013. 20795-1:2013, ISO: Dentistry-Denture base polymers (2013).
61. Ernst-Ulrich, Residual methyl methacrylate monomer, water sorption, and water solubility of hypoallergenic denture base materials. The Journal of prosthetic dentistry, 2004, 92.1: 72-78..
62. Kost J, Langer R, Responsive polymeric delivery systems, Advanced Drug Delivery Reviews 2012, p:327–341.
63. Haiba L et al. Heating/ ethanol-response of poly methyl methacrylate (PMMA) with gradient pre-deformation and potential temperature sensor and anti-counterfeit applications, Smart Mater.
64. Girish KG, Munichandraiah N, Poly(methylmethacrylate) magnesium triflate gel polymer electrolyte for solid state magnesium battery application”, Electrochimica Acta , 2002, 47 (7),1013–1022.
65. Braden M, Clarke RL, Nicholson J, Parker S, Polymeric Dental Materials, Springer-Verlag Heidelberg, Germany,1997.
66. Lai CP, Tsai MH, Chen M, Chang HS, Tay HH, Morphology and properties of denture acrylic resins cured by microwave energy and contentional water bath. Dent Mater 2004;20:133-14.

67. Wong DM, Cheng LY, Chow TW, Clark RK, Effect of processing method on the dimensional accuracy and water sorption of acrylic resin dentures. *J Prosthet Dent* 1999;81:300-304.
68. Wolfaardt J, Cleaton-Jones P, Fatti P, The influence of processing variables on dimensional changes of heat-cured poly(methyl methacrylate). *J Prosthet Dent* 1986;55:518-525.
69. Chamberland C, Chronological Reference Marks. Paris; Pasteur Institute: 2007, p: 1-19.
70. Abdulwahhab SS, High-impact strength acrylic denture base material processed by autoclave. *J Prosthodont Res* 2013; 57:288-93.
71. Gad MM, Fouda SM, ArRejaie AS, Al-Thobity AM, Comparative effect of different polymerization techniques on the flexural and surface properties of acrylic denture bases. *J Prosthodont* 2019; 28:458-65.
72. Durkan R, Oyar P, Comparison of mechanical and dynamic mechanical behaviors of different dental resins polymerized by different polymerization techniques. *Niger J Clin Pract* 2018; 21:1144-9.
73. Memon MS, Yunus N, Razak AA, Some mechanical properties of a highly cross-linked, microwave polymerized, injection-molded denture base polymer. *Int. J. Prosthodont.* 2001, 14: 214-218.
74. Fellman S, Visible light-cured denture base resin used in making dentures with conventional teeth. *J Prosthet Dent* ;62:356–9. 1989.
75. Spasojević Pavle et al, Influence of microwave heating on the polymerization kinetics and application properties of the PMMA dental materials. *Journal of Applied Polymer Science*, 2011, 119.6: 3598-3606.
76. Usanmaz A, Eser Ö, Doğan A, Thermal and dynamic mechanical properties of - ray cured poly (methyl methacrylate) used as a dental-base material. *J Appl Polym Sci* 2001; 81: 1291-6.

77. Fernandez MA, Nimmo A, Behar-Horenstein LS, Digital denture fabrication in pre-and postdoctoral education: a survey of US dental schools. *J Prosthodont* 2016; 25: 83- 90.
78. Infante L, Yılmaz B, Mcglumphy E, Finger I, Fabricating complete dentures with CAD/CAM technology; *J. Prosthet. Dent.*, May;111(5):351- 5. 2013.
79. Srinivasan M, Kamnoedboon P, McKenna G, Angst L, Schimmel M, Özcan M, Müller F, CAD-CAM removable complete dentures: A systematic review and meta-analysis of trueness of fit, biocompatibility, mechanical properties, surface characteristics, color stabilit.
80. Saad YM, Abdelhamid AM, ElShabrawy SM, Laboratory evaluation of pre-polymerized denture base material used for CAD/CAM complete denture manufacturing. *Alex Dent J.* 2018;43(3):94–101. .
81. Sun BJ, Ammon D, Multiple layered denture block and/or disk. European Patent, 2018;WO2018009518A1. <https://patents.google.com/patent/WO2018009518A1/en>. Accessed on April 20, 2020.
82. Barazanchi A, Li KC, Al-Amleh B, Lyons K, Waddell JN, Additive technology: update on current materials and applications in dentistry. *Journal of Prosthodontics.* 2017;26(2):156-63.
83. Srinivasan M, Kalberer N, Kamnoedboon P, Mekki M, Durual S, Özcan M, Müller F, CAD-CAM complete denture resins: an evaluation of biocompatibility, mechanical properties, and surface characteristics, *Journal of Dentistry*, Volume 114,2021,103785,.
84. Lung CY, Darvell BW, Methyl methacrylate in poly(methyl methacrylate) validation of direct injection gas chromatography. *J Chromatogr A*, 2004, 17;1061:93-98.
85. Lygre H, Solheim E, Gjerdet NR, Berg E, Leaching of organic additives from dentures in vivo. *Acta Odontol Scand*, 1993;51:45-51.

86. Lee SY, Lai YL, Hsu TS, Influence of polymerization conditions on monomer elution and microhardness of autopolymerized polymethyl methacrylate resin. *Eur J Oral Sci*, 2002;110:179-183.
87. Kasina SP, Ajaz T, Attili S, Surapaneni H, Cherukuri M, Srinath HP, To evaluate and compare the porosities in the acrylic mandibular denture bases processed by two different polymerization techniques, using two different brands of commercially available denture base resins - an in vitro study. *J Int Oral Health*, 2014 Feb;6(1):72-7.
88. Kedjarune U, Charoenworluk N, Koontongkaew S, Release of methyl methacrylate from heat-cured and autopolymerized resins: Cytotoxicity testing related to residual monomer. *Aust Dent J* 1999;44:25-30.
89. Honorez P, Catalan A, Angnes U, Grimonster J, The effect of three processing cycles on some physical and chemical properties of a heatcured acrylic resin. *J Prosthet Dent* 1989;61:510-517.
90. Jagger RG, Effect of the curing cycle on some properties of a polymethylmethacrylate denture base material. *J Oral Rehabil* 1978;5:151- 157.
91. Sanders JI, Levin B, Reitz PV, Porosity in acrylic resins cured by microwave energy. *Quint Int*, 18; 453-456. 1987.
92. Oliveira VM, Leon BL, Del Bel Cury AA, Consani S, Influence of number and position of flasks in the monomer release, Knoop hardness and porosity of a microwave-cured acrylic resin. *J Oral Rehabil* 2003;30:1104- 1108.
93. Arab J, Newton JP, Lloyd CH, The effect of an elevated level of residual monomer on the whitening of a denture base and its physical properties. *J Dent* 1989;17:189-194.
94. Basker RM, Collier J, Smith E, Bartle KD, Frere B, Wong L, Variation of residual monomer content of poly(methyl methacrylate) dental resins with time, and the influence of water immersion. *Clin Mater* 1989;4:173-182.

95. Baker S, Brooks SC, Walker DM, The release of residual monomeric methyl methacrylate from acrylic appliances in the human mouth: An assay for monomer in saliva J Dent Res 1988;67:1295-1299.
96. McCabe JF, Basker RM, Tissue sensitivity to acrylic resin. A method of measuring the residual monomer content and its clinical application. Br Dent J 1976;140:347-350.
97. Lamb DJ, Ellis B, Priestley D, The affects of process variables on levels of residual monomer in autopolymerizing dental acrylics resin. J Dent, 1983, v.11, n.1, p:80-88.
98. Jorge JH, Giampaolo ET, Machado AL, Vergani CE, Cytotoxicity of denture base acrylic resins: a literature review. J. Prosthet. Dent.; (2003). 90: 190–193.
99. Bartoloni JA, Murchison DF, Wofford DT, Sarkar N, Degree of conversion in denture base materials for varied polymerization techniques. J Oral Rehabil 2000;27:488-493.
100. Duray SJ, Gilbert JL, Lautenschlager EP, Comparison of chemical analysis of residual monomer in a chemical-cured dental acrylic material to an FTIR method. Dent Mater 1997;13:240-245.
101. Mikai M, Koike M, Fujii H, Quantitative analysis of allergenic ingredients in eluate extracted from used denture base resin. J Oral Rehabil 2006;33:216-220.
102. Ruyter IE, Physical and chemical aspects related to substances released from polymer materials in an aqueous environment. Adv Dent Res 1995;9:344-347.
103. Ruyter IE, Release of formaldehyde from denture base polymers. Acta Odontol Scand 1980;38:17-27.
104. Koda T, Tsuchiya H, Yamauchi M, Hoshino Y, Takagi N., Kawano J, Leachability of denture-base acrylic resins in artificial saliva, Dental Materials, Volume 6, Issue 1, 1990, Pages 13-16,

105. Mikai M, Koike M, Fujii H, Quantitative analysis of allergenic ingredients in eluate extracted from used denture base resin. *J Oral Rehabil* 2006;33:216-220.
106. Bartoloni JA, Murchison DF, Wofford DT, Sarkar NK. Degree of conversion in denture base materials for varied polymerization techniques. *J Oral Rehabil*. 2000 Jun;27(6):488-93.
107. Gautam R, Singh RD, Sharma VP, Siddhartha R, Chand P, Kumar R, Biocompatibility of polymethylmethacrylate resins used in dentistry. *J Biomed Mater Res Part B* 2012;100B:1444–1450.
108. Hensten-Pettersen A, Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. *Int Endod J*. 1988;21:89-99.
109. Harrison A, Huggett R, Effect of the curing cycle on residual monomer levels of acrylic resin denture base.
110. Lung CYK, Darvell BW, Minimization of the inevitable residual monomer in denture base acrylic,” *Dent. Mater.*, vol. 21, pp. 1119-1128, 2005.
111. De Clerck JP, Microwave polymerization of acrylic resins used in dental prostheses. *J Prosthet Dent*. 1987 May;57(5):650-8. doi: 10.1016/0022-3913(87)90353-2. PMID: 329863.
112. Vallittu PK, Ruyter IE, Buykuilmaz S, Effect of polymerization temperature and time on the residual monomer content of denture base polymers. *Eur J Oral Sci* 1998; 106: 588– 593.
113. Urban VM, Machado AL, Oliveira RV, Vergani CE, Pavarina AC, Cass, QB, Residual monomer of reline acrylic resins Effect of water-bath and microwave postpolymerization treatments. *Dent Mater* 2007;23(3):363-8.
114. Vergani CE, Seo RS, Pavarina AC, dos Santos Nunes Reis JM. Flexural strength of autopolymerizing denture reline resins with microwave postpolymerization treatment. *J Prosthet Dent*. 2005 Jun;93(6):577-83.

115. Durkan R, Gürbüz A, Yılmaz B, Özel MB, Bağış B, Effect of autoclave postpolymerization treatments on the fracture toughness of autopolymerizing dental acrylic resins. *J Appl Biomater Funct Mater* 2012;10(1):37-42.
116. Soares CJ, Pizi EC, Fonseca RB, Martins LR, Mechanical properties of light-cured composites polymerized with several additional post-curing methods. *Oper Dent* 2005;30(3):389-94.
117. Lodder RA, High performance liquid chromatography (HPLC): A users guide. Erisim, 2005.
118. Levin S. Fundamentals of liquid chromatography. <http://www.forumsci.co.il/HPLC/profrom.html>.
119. Kılınç ME, Kromatografik yöntemler ve HPLC yöntemi (2006).
120. Altıntaş S, Farklı Rezin Simanların Artık Monomer Salınımının In Vitro Şartlarda incelenmesi Doktora Tezi, 2007, S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
121. Yıldız A, Genç Ö, Enstrümenal Analiz. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, A-64; 1993, 421-38.
122. Adamovics JA, Chromatographic Analysis of Pharmaceuticals. second ed. New Jersey, Mercel Dekker Inc,1997.
123. Wataha JC, Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J Prosthet Dent*. 2001;86(2):203–209.
124. Avsever H, Dişhekimliğinde kullanılan materyallerin biyouyumluluk değerlendirme yöntemleri. 2009;10(2):41–49. .
125. Uzun İH, Bayindir F. Dental materyallerin biyouyumluluk test yöntemleri. *Acta Odontologica Turcica*. 2011;28(2):115–122.
126. Selimović-Dragaš M, Huseinbegović A, Kobašlija S, Hatibović-Kofman SA, comparison of the in vitro cytotoxicity of conventional and resin modified glass ionomer cements. *Association of Basic Medical Sciences*. 2012;12(4):273–278.

127. Tadin A, Marovic D, Galic N, Kovacic I, Zeljezic D, Composite-induced toxicity in human gingival and pulp fibroblast cells. *Acta Odontol Scand.* 2014;72(4):304–311.
128. Cao T, Saw TY, Heng BC, Liu H, Yap AUJ, Ng ML, Comparison of different test models for the assessment of cytotoxicity of composite resins. *J Appl Toxicol.* 2005;25(2):101–108.
129. Lim S, Yap A, Loo C, Ng J, Goh C, Hong C, Comparison of cytotoxicity test models for evaluating resin-based composites. *Human & experimental toxicology.* 2016;36(4):339-348.
130. Murray P, Godoy CG, Godoy FG, How is the biocompatibility of dental materials evaluated? *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2007;12(11):258-266.
131. Goiato, Marcelo C, Acrylic Resin Cytotoxicity for Denture Base-Literature Review. *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University* vol. 24,4. 2015; p: 679-86.
132. Bural C, Aktaş E, Deniz G, Ünlüçerçi Y, Bayraktar G. Effect of leaching residual methyl methacrylate concentrations on in vitro cytotoxicity of heat polymerized denture base acrylic resin processed with different polymerization cycles. *J Appl Oral Sci.* 2011 Aug;19(4):306-12.
133. Huang FM, Tai KW, Hu CC, Chang YC, Cytotoxic effects of denture base materials on a permanent human oral epithelial cell line and on primary human oral fibroblasts in vitro. *Int J Prosthodont.* 2001 Sep-Oct;14(5):439-43.
134. Tuncer S, Demirci M, Dental materyallerde biyoyumluluk değerlendirmeleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi.* 2011;21(2):141–149.
135. Geurtsen W, Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2000;11(3):333–355.
136. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z, In vitro models of biocompatibility: a review. *Dental Materials.* 1996;12(3):186–93.

137. Murray P, Godoy CG, Godoy FG, How is the biocompatibility of dental materials evaluated? *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2007;12(11):258-266.
138. Schmalz G, Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Investig*. 1997;1(4):154–162.
139. Şişman R, Aksoy A, Yalçın M, Karaöz E, Cytotoxic effects of bulk fill composite resins on human dental pulp stem cells. *J Oral Sci*. 2016;58(3):299–305.
140. Ünal F, Duran Ö, Işık N, Yılmaz G, Farklı yöntemlerle polimerize olan reçinelerin sitotoksitelerinin incelenmesi: in vitro çalışma. *İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 1996;30(4),195-197.
141. Imirzalioglu P, Alaaddinoglu E, Yılmaz Z, Oduncuoglu B, Yılmaz B, Rosenstiel S, Influence of recasting different types of dental alloys on gingival fibroblast cytotoxicity. *J Prosthet Dent*. 2012;107(1):24–33.
142. Ozdemir KG, Yilmaz H, Yilmaz S, In vitro evaluation of cytotoxicity of soft lining materials on L929 cells by MTT assay. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2009;90(1):82–86.
143. Moharamzadeh K, Brooki IM, Van Noort R, Biocompatibility of resin-based dental materials. *Materials (Basel)*. 2009;2(2):514–548. .
144. ISO Dentistry, Preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry 'Test methods for dental materials.' 2009. 7405.
145. Freshney FI, Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique. Fifth Edition. John Wiley & Sons; 2005. p:359-73.
146. Fotakis G, Timbrell JA, In vitro cytotoxicity assays: Comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicol Lett*. 2006;160(2):171–177.
147. Ferrari M, Fornasiero MC, Isetta AM, MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro. *J Immunol Methods*. 1990;131(2):165–172.

148. Abe K, Matsuki N, Measurement of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction activity and lactate dehydrogenase release using MTT. *Neurosci Res.* 2000;38(4):325–329.
149. Niu QX, Zhao CY, Jing ZA, An evaluation of the colorimetric assays based on enzymatic reactions used in the measurement of human natural cytotoxicity. *J Immunol Methods.* 2001;251(1–2):11–19.
150. Kiliç K, Kesim B, Sümer Z, Polat Z, Öztürk A. Tam seramik materyallerinin biyouyumluluğunun mtt testi ile incelenmesi. 2010;19(2):125–132.
151. Ucar Y, Akova T, Aysan I, Mechanical properties of polyamide versus different PMMA denture base materials. *J Prosthodont.* 2012;21(3):173–6.
152. Awad AK, Jassim RK, The effect of plasma on transverse strength, surface roughness and Candida adhesion of two types of acrylic denture base materials (Heat cure and light cure) *J Bagh Coll Dentistry.* 2012;24:10–17.
153. Bayraktar G, Guvener B, Bural C, Uresin Y, Influence of polymerization method, curing process, and length of time of storage in water on the residual methyl methacrylate content in dental acrylic resins. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2006 Feb;76(2):340-5.
154. Dogan A, Bek B, Cevik NN, Usanmaz A, The effect of preparation conditions of acrylic denture base materials on the level of residual monomer, mechanical properties and water absorption. *J Dent* 23(1995):13–318.
155. Zhan P, Chen J, Zheng A, Shi H, Fuxiu Chen F, Wei D, Xu X, Guan Y, The Trommsdorff effect under shear and bulk polymerization of methyl methacrylate via reactive extrusion, *European Polymer Journal*, Volume 122, 2020, 109272.
156. Vallittu PK, Miettinen V, Alakuijala P, Residual monomer content and its release into water from denture base materials. *Dent Mater* 1995; 11: 338- 42.

157. Ata SO, Yavuziyilmaz H, In vitro comparison of the cytotoxicity of acetal resin, heat-polymerized resin, and autopolymerized resin as denture base materials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009; 91, 905–909.
158. Vallittu P, Ruyter Ie, Buyukilmaz S, Effect of polymerization temperature and time on the residual monomer content of denture base polymers. *Eur. J. Oral Sci.,* 1998,106: 588-593.
159. Ayaz EA, Durkan R, Koroglu A, Bagis B, Comparative effect of different polymerization techniques on residual monomer and hardness properties of PMMA-based denture resins. *J Appl Biomater Funct Mater.* 2014 Dec 30;12(3):228-33.
160. Keul C, Seidl J, Güth JF, Liebermann A, Impact of fabrication procedures on residual monomer elution of conventional polymethyl methacrylate (PMMA)-a measurement approach by UV/Vis spectrophotometry. *Clin Oral Investig.* 2020 Dec;24(12):4519-4530.
161. Durkan R, In vitro comparison of autoclave polymerization on the transverse strength of denture base resins. *Dental materials journal* vol. 27,4 (2008): 640-2.
162. Becerra J, Mainjot A, Hüe O, Sadoun M, Nguyen JF, Influence of High-Pressure Polymerization on Mechanical Properties of Denture Base Resins. *Journal of Prosthodontics,* 2021; 30(2), 128-134.
163. Gökyay GD, Durkan R, Oyar P, Gurbuz A, The effect of autoclave and heat polymerization techniques of internal adaptation of acrylic resins. *J Dent Fac Atatürk Uni.* 2020; 30: 614-9.
164. Deste G, Durkan R, Oyar P, Gürbüz A, Akrilik reçinelerin iç adaptasyonunda otoklav ve ısı polimerizasyon tekniklerinin etkisi" *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 30. 2020; 614-619.
165. Salwan SA, Widad AHA, The effect of autoclave processing of heat cured denture base material. *J Bagh College Dentistry* 2012; 24(3):13-17.

166. Bitencourt SB, Kanda RY, de Freitas Jorge C, Barão VA, Sukotjo C, Wee AG, Long-term stainability of interim prosthetic materials in acidic/staining solutions. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 2020;32(1):73-80.
167. Srinivasan M, Gjengedal H, Cattani-Lorente M, Moussa M, Durual S, Schimmel M, Müller F, CAD/CAM milled complete removable dental prostheses: An in vitro evaluation of biocompatibility, mechanical Properties, and surface roughness. *Dent Mater J*. 2018 Jul 2.
168. Steinmassl PA, Wiedemair V, Huck C, et al. Do CAD/CAM dentures really release less monomer than conventional dentures? *Clin Oral Investig*. 2017;21(5):1697-1705.
169. Yılmaz H, Aydın C, Caglar A, Yasar A, The effect of glass fiber reinforcement on the residual monomer content of two denture base resins. *Quintessence Int*. 2003; 34(2): 148-153.
170. Ayman AD, The residual monomer content and mechanical properties of CAD\CAM resins used in the fabrication of complete dentures as compared to heat cured resins. *Electronic physician*. 2017; 9(7), 4766. (2017).
171. Gündüz T, 2002. *İnstrümental Analiz*. 6. Baskı. Ankara, Gazi Kitabevi, s. 1115-76.
172. Köroğlu A, Farklı Yöntemlerle Polimerize Edilen Fiberle Güçlendirilmiş Akrilik Rezinlerin Artık Monomer Miktarının ve Bazı Fiziksel Özelliklerinin Değerlendirilmesi. Doktora. Ankara: Ankara Üniversitesi: 2007.
173. Wei X, Pan Y, Wang M, Wang Y, Lin H, Jiang L, Lin D, Cheng H, Comparative analysis of leaching residual monomer and biological effects of four types of conventional and CAD/CAM dental polymers: an in vitro study. *Clin Oral Investig*. 2022 Mar;26(3):2887-28.
174. Ertem, G, Şimşek, E, Karacaer Ö. İki farklı polimerizasyon yönteminin polietilen fiberle güçlendirilmiş akrilik rezinlerin artık monomer miktarına etkisi, *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2011; 28(1), 9-16.

175. Arslan Güner Ç, Karacaer Ö, Doğan A, Cam Fiber ve İki Farklı Polimerizasyon Yönteminin Polimetil Metakrilatların Artık Monomeri Üzerine Etkisi 2010.
176. Spahl W, Budzikiewicz H, Geurtsen W, Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. J Dent, 26, 1998, p:137-45.
177. Singh RD, Gautam R, Siddhartha R, Singh BP, Chand P, Sharma VP, Jurel SK, High performance liquid chromatographic determination of residual monomer released from heatcured acrylic resin. An in vivo study. J Prosthodont, 22(5), 2013, 358-61.
178. Austin AT, Basker RM, The level of residual monomer in acrylic denture base materials. Br Dent J 1980; 149: 281- 6. .
179. Kawaguchi M, Takahashi Y, Fukushima T, Hobu T, Effect of light exposure duration on the amount of leachable monomers, from light-activated relene materials. J Prosthet Dent 1996; 75: 183- 7.
180. (ISO), International organization for standardization, Dentistry denture base polymers. ISO/Technical Report No 1567/ Switzerland; 1999.
181. Guzzetta A, Reverse Phase HPLC Basics for LC/MS,2001.
182. Shim JS, Watts DC, Residual monomer concentrations in denture-base acrylic resin after an additional, soft-liner, heat-cure cycle. Dent Mater 1999; 15: 296- 300.
183. Engler M, Güth JF, Keul C, Erdelt K, Edelhoff D, Liebermann A, Residual monomer elution from different conventional and CAD/CAM dental polymers during artificial aging. Clin Oral Investig. 2020 Jan;24(1):277-284. .
184. Ayman, A. D. The residual monomer content and mechanical properties of CAD\CAM resins used in the fabrication of complete dentures as compared to heat cured resins. Electronic physician, 9(7), 2017, 4766.

185. Bural C, Aktaş E, Deniz G, Ünlüçerçi Y, Bayraktar G, Effect of leaching residual methyl methacrylate concentrations on in vitro cytotoxicity of heat polymerized denture base acrylic resin processed with different polymerization cycles. *J Appl Oral Sci* 201.
186. Kojima N, Yamada M, Paranjpe A, Tsukimura N, Kubo K, Jewett A, Ogawa T. Restored viability and function of dental pulp cells on poly-methylmethacrylate (PMMA)-based dental resin supplemented with N-acetyl cysteine (NAC), *Dent Mater*, 2008 Dec, 24(12):1686-93
187. Nagem-Filho H, Chiodi NJ, Araujo PA, Biocompatibility of acrylic resins implants in connective tissue *Estomatol & Cult*, 7 (1973), p: 120-123.
188. Kallus T, Evaluation of the toxicity of denture base polymers after subcutaneous implantation in guinea pigs *J Prosthet Dent*, 52 (1984), pp. 126-134.
189. Kostić M, Stanojević J, Tačić A, Gligorijević N, Nikolić L, Nikolić V et al. (2020), Determination of residual monomer content in dental acrylic polymers and effect after tissues implantation, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 34:1, 254-263.
190. Wennberg A, Hasselgren G, Tronstad L, A method for toxicity screening of biomaterials using cells cultured on millipore filters *J Biomed Mater Res*, 13 (1979), pp. 109-120.
191. Lefebvre CA, Schuster GS, Caughman GB, Caughman WF, Effects of denture base resins on oral epithelial cells *Int J Prosthodont*, 4 (1991), pp. 371-376.
192. Krifka S, Spagnuolo G, Schmalz G, Schweikl H. A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers. *Biomaterials*. 2013 Jun;34(19):4555-63.
193. Yang HW, Chou LS, Chou MY, Chang YC, Assessment of genetic damage by methyl methacrylate employing in-vitro mammalian test system. *Biomaterials* 2003; 24: 2909- 14.

194. Kökuslu C, Doğan A, Bek B, Karademir N, Demirel E, Metil metakrilat monomerinin fibroblastlar üzerine etkisinin in vitro olarak değerlendirilmesi. GÜ Diş Hek Fak Der, 1993; 10: 67- 74. .
195. Pituru SM, Greabu M, Totan A, Imre M, Pantea M, Spinu T, Tancu AMC, Popoviciu NO, Stanescu II, Ionescu E, A review on biocompatibility of PMMA based dental materials for interim prosthetic restorations with a glimpse into their modern manufacturing techniques. *Materiaşs*(Basel).2020 jun 28;13(13):2894.
196. Huang FM, Tai KW, Hu CC, Chang YC, Cytotoxic effects of denture base materials on a permanent human oral epithelial cell line and on primary human oral fibroblasts in vitro. *Int J Prosthodont* 2001; 14(5): 439-43.
197. Cimpan MR, Matre R, Cressey LI, Tysnes B, Lie SA, Gjertsen BT, Skaug N. The effect of heat and auto-polymerized denture base polymers on clonogenicity, apoptosis, and necrosis in fibroblasts: denture base polymers induce apoptosis and necrosis. *Acta Odontol Scand*. 2000 Oct, 58(5),217-28.
198. Barron DJ, Schuster GS, Caughman GB, Lefebvre CA, Biocompatibility of visible light-polymerized denture base resins. *Int J Prosthodont*; 1993,6:495-501.
199. Taira M, Nakao H, Matsumoto T, Takahashi J, Cytotoxic effect of methyl methacrylate on 4 cultured fibroblasts. *Int J Prosthodont* 2000; 13(4): 311-5.
200. Imazato S, Horikawa D, Ogata K, Kinomoto Y, Ebisu S, Responses of MC3T3-E1 cells to three dental resin-based restorative materials. *J Biomed Mater Res A* 2006; 15; 76(4): 765-72.
201. Campaner M, Takamiya AS, Bitencourt SB, Mazza LC, de Oliveira SHP, Shibayama R, Barao VAR, Sukotjo C, Pesqueira AA, Cytotoxicity and inflammatory response of different types of provisional restorative materials. *Arch Oral Biol* (2020),111:104643.
202. Sipahi C, Özen J, Ural AU, Dalkız M, Beydemir B, Beş farklı protez kaide materyalinin gingival fibroblastlar üzerine olan etkilerinin incelenmesi. *Gülhane Tıp Der* 2005; 47: 275-8.

203. Schmalz G, Schuster U, Koch A, Schweikl H, Cytotoxicity of low pH dentin-bonding agents in a dentin barrier test in vitro. *J Endod* 2002(3); 28: 188-192.
204. Vajrabhaya LO, Pasasuk A, Harnirattisai C, Cytotoxicity evaluation of single component dentin bonding agents. *Oper Dent* 2003; 28(4):440-4.
205. Pagano S., Lombardo G., Caponi S., Costanzi E., Di Michele A., Bruscoli S, Bio-mechanical characterization of a CAD/CAM PMMA resin for digital removable prostheses, *Dental Materials*, Volume 37, Issue 3, 2021.
206. Schweikl H, Schmalz G, Toxicity parameters for cytotoxicity testing of dental materials in two different mammalian cell lines. *Eur J Oral Sci* 1996; 104(3): 292-9.
207. Bean TA, Zhuang WC, Tong PY, Eick JD, Chappelow CC, Yourtee DM, Comparison of tetrazolium colorimetric and ⁵¹Cr release assays for cytotoxicity determination of dental biomaterials. *Dent Mater* 1995; 11(5): 327-331.
208. Rizo-Gorrita M, Herráez-Galindo C, Torres-Lagares D, Serrera-Figallo M-Á, Gutiérrez-Pérez JL, Biocompatibility of Polymer and Ceramic CAD/CAM Materials with Human Gingival Fibroblasts (HGFs). *Polymers*. 2019; 11(9):1446.
209. Saw TY, Cao T, Yap AU, Lee Ng MM, Tooth slice organ culture and established cell line culture models for cytotoxicity assessment of dental materials. *Toxicol In Vitro* 2005; 19(1): 145-54.
210. International Organization for Standardization. Biological Evaluation of Medical Devices-Part 5: Tests for In Vitro Cytotoxicity. ISO Standard 10993-5, 1999.
211. Schmalz G, Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials advantages and limitations. *J Dent* 1994; 22: 6-11.
212. International Standard 7405. “Dentistry- preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry – test methods for dental materials.” International Organization for Standardization. Geneva; 1997. ISO 7405, 1997.

213. Ebrahimi Saravi M, Vojdani M, Bahrani F, Evaluation of cellular toxicity of three denture base acrylic resins. *J Dent (Tehran)*; 2012, 9, 180–188.
214. Tay LY, Herrera DR, Quishida CC, Carlos IZ, Jorge JH, Effect of water storage and heat treatment on the cytotoxicity of soft liners. *Gerodontology*; 2012, 29, 275–280.
215. Bural C, Aktaş E, Deniz G, Ünlüçerçi Y, Kızılcın N, Bayraktar G. Effect of post-polymerization heat-treatments on degree of conversion, leaching residual MMA and in vitro cytotoxicity of autopolymerizing acrylic repair resin, *Dent Mater*. 2011; 27, 1135–114.
216. Raszewski Z. Influence of polymerization method on the cytotoxicity of three different denture base acrylic resins polymerized in different methods. *Saudi journal of biological sciences* vol. 27,10 (2020); 2612-2616.
217. Souza IR, Pansani TN, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Cytotoxicity of acrylic resin-based materials used to fabricate interim crowns. *J Prosthet Dent*. 2020 Jul;124(1):122.e1-122.e9
218. Shim JS, Kim HC, Park SI, Yun HJ, Ryu JJ, Comparison of various implant provisional resin materials for cytotoxicity and attachment to human gingival fibroblasts. *Int J Oral Maxillofac Implants* (2019); 34(2):390–396.
219. Demir E, Kansu G. Hipoalerjenik akrilik kaide içinin fibroblastlar üzerinde apoptoz ve nekroza üzerinde sito kullanım alanlarının incelenmesi tez.
220. Ergün G, Sağesen LM, Doğan A, Özkul A, Demirel E. Metilmetakrilat monomerlerinin primer insan gingival fibroblastları üzerine sitotoksik etkisinin in vitro değerlendirilmesi. *GÜ Diş Hek Fak Der* 2006; 23: 97- 103.

7. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı soyadı	Kübra KIZILOVA
Yabancı dil	İngilizce, Almanca
İletişim adresi	Dicle Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Protetik Diş Tedavisi ABD, 21280, DİYARBAKIR

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Nermin Mehmet Çekiç Anadolu Lisesi, Ankara, 2012
Lisans	Kırıkkale Üniversitesi, 2012-2017
Yüksek Lisans	Dicle Üniversitesi, 2018-2022

8. BENZERLİK RAPORU

uzmanlık tez

ORJİNALLİK RAPORU

% **15**
BENZERLİK ENDEKSİ

% **14**
İNTERNET KAYNAKLARI

% **4**
YAYINLAR

% **3**
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikerisim.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	%4
2	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	%2
3	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%2
4	acikarsiv.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
5	acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%1
6	www.journals.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
7	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<%1
8	afyonluoglu.org İnternet Kaynağı	<%1
9	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1