

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

79521

**FARKLI YÖNTEMLERLE POLİMERİZE EDİLEN
BAZI AKRİLİK REZİNLERİN BİYOLOJİK
UYUMLARININ İN VİTRO İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dr. GÜLFEM ERGÜN

79521

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. EROL DEMİREL

T.C. GAZİ ÜNİVERSİTESİ
DOKÜMANLAMA MERKEZİ

ANKARA-1998

Sağlık Bilimleri

GAZİ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

ÜYE

ÜYE

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim
üyelerine ait olduğunu onaylım.

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı gerçekleştirmemde büyük katkıları olan Sayın Prof.Dr. Arife Doğan'a, Sayın Doç.Dr. Aykut Özkul'a, radyoaktif madde ile ilgili özverili çalışmasından dolayı Sayın Dr. Üçler Kısa'ya ve her aşamada destek olan danışmanım Sayın Prof.Dr. Erol Demirel'e teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

	sayfa
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
MATERYAL VE YÖNTEM	27
BULGULAR	42
TARTIŞMA	50
SONUÇ	60
ÖZET.....	61
YABANCI DİLDE ÖZET.....	64
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ.....	79

GİRİŞ

Dışhekimliği, biyolojik ve mekanik sınırlar arasında hızla gelişmektedir. Bu alanda kullanıma sunulan materyallerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin yanısıra, biyolojik testlerle de standardize edilmiş olmaları son derece önemlidir. Canlı dokularla sürekli temas halinde olan maddelerin biyolojik yönden uyumlu olmaları gereklidir. Günümüz dışhekimliğinde protez kaide maddesi olarak kullanılan akrilik rezinlerin mekanik, fiziksel ve biyolojik uyumu ile ilgili özelliklerinin istenilen düzeye getirilmesini hedefleyen, zaman ve ekonomik açıdan avantaj sağlayacak yoğun çalışmalar süre gelmektedir.

Çalışmalar genellikle rezinlerin mekanik, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin incelenmesine yönelik olup, biyolojik uyumluluğunun değerlendirildiği araştırmalar kısıtlı sayıdadır. Protez kaide rezinlerine karşı gelişen doku reaksiyonu incelenen konular arasında yer almıştır.Yapılan araştırmalar genellikle protez kaide rezinlerinin in vitro biyolojik uyumlarının değerlendirilmesi ile , artık monomer konsantrasyonunun belirlenmesine yöneliktir. Protez kaide rezinlerinin monomerlerinin lokal iritasyonlara ek olarak, aşırı duyarlılık reaksiyonlarına da neden olduğu ve hatalı polimerize olan ya da tam polimerize olmayan protez kaide rezinlerinde artık monomer olarak kaldığı konusunda görüş birliği vardır.

In vitro araştırmaların sonuçları, in vivo araştırmalardan belirli oranda farklılık göstermekle birlikte, çeşitli maddelere karşı biyolojik reaksiyonların in vitro tetkiklerle araştırılması temel prensip olarak kabul edilmektedir.

Çalışmamızda konvansiyonel yöntem kullanılarak ısı ile, kimyasal yolla ve mikro dalga enerjisi ile polimerize edilen bazı akrilik rezinlerin biyolojik uyumlarının değerlendirilmesi amaçlandı. Üç farklı yöntemle polimerize olan dört ayrı protez kaide rezinlerinin önce monomerlerinin toksik etkileri hücre kültüründe değerlendirildi .Daha sonra farklı yöntemlerle polimerize edilmiş akrilik rezinlerin sitotoksik etkileri in vitro incelenerek karşılaştırıldı.

GENEL BİLGİLER

Protez kaide materyali olarak, geçmişten günümüze kadar, pek çok değişik materyal kullanılmıştır. Tahta, kemik, seramik, metaller, metal alaşımları ve polimerler bunlara birer örnektir. Kullanılan bu materyaller teknolojik ilerlemeler doğrultusunda kendi alanları içinde gelişme göstermişlerdir.

Bu gelişmelere ek olarak 19. yy ortalarına doğru kaide materyali olarak vulkanize lastik kullanılmaya başlanmış, 1855 yılında vulkanize kauçuk veya vulkanit kaide maddesi olarak tanıtılmıştır. Doğal kauçuğun sülfürü ortamda ısıtılması ile elde edilen vulkanit, yapım işlemindeki zorluklar, estetik gereksinimleri karşılayamaması, renk ve boyutsal stabilitesinin olmaması nedeniyle yerini 1937'de Dr. Walter H. Wright tarafından tanıtılan akrilik rezinlere bırakmıştır. 1940'dan sonra plastik endüstrisindeki gelişmeler, akrilik üretimini kolaylaştırmış, 1946'ya kadar protez kaidelerinin hemen hepsi bu materyalden oluşturulmuştur. Günümüzde teknolojik gelişmelere paralel olarak çok değişik yeni plastikler ve polimerler üretilmektedir ^{1,2,3}.

Özellikle polimetil metakrilatlar olmak üzere diğer akrilik polimerler, vinil akrilik, polistren ve epoksi rezinler de protetik amaçla kullanılmaya başlanmıştır. Akrilik rezinler, protez kaidelerinin yapımının, yanısıra, suni dişler, restoratif uygulamalar, tamir materyalleri, ortodontik splintler, yer tutucular, kuron köprü restorasyonlarında fasetler, ölçü kaşıkları, damak yankları obtüratörleri gibi pek çok alanda kullanım imkanı sunmaktadır ^{1,2,3,4}.

Sentetik bir rezinin dişhekimliğinde kullanılabilmesi için kimyasal ve fiziksel özelliklerinin uygun olması, kolaylıkla işlenebilmesi, ve biyolojik uyumunun bulunması gerekir ^{1,2,3,4}.

AKRİLİK REZİNLER

Genel olarak akrilik rezinler etilen türevi olup, bir vinil grubu içerirler. Dişhekimliğinde kullanılan rezinler, iki değişik akrilik rezin dizisinden oluşur:

- 1) Akrilik asit ($\text{CH}_2=\text{CHCOOH}$),
- 2) Metakrilik asit ($\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{COOH}$).

Yaygın olarak kullanılan akrilik rezinler, metakrilik asidin metil esteri olan metil metakrilattır. Metakrilatın polimerizasyonu ile elde edilen dental polimer, polimetil metakrilat (PMMA)'dan oluşur. Bunlar genelde toz, likit veya jel şeklinde bulunurlar; ancak en yaygın kullanımı toz likit kombinasyonudur ^{1,2,3,5,6}.

Toz (Polimer)

İçerisinde genel olarak akrilik kopolimer ya da polimer taneleri, reaksiyon başlatıcı maddeler, pigment ve boyalar, opaklık verici maddeler, plastikleştirici maddeler, organik ve inorganik lifler bulunur. Tozda bulunan polimer tanecikleri, düzensiz yapıda veya küçük tanecikler şeklinde bulunabilirler ¹.

Kimyasal yapı olarak ana madde polimetil metakrilattır. Buna ilave olarak etil, metil, bütıl ve diğer akrilik metakrilatlar eklenerek modifiye edilebilir ¹.

Reaksiyon başlatıcı maddeler genellikle benzoil peroksit veya diizobütıl azonitrıldır. Benzoil peroksit tozda %0,5-1,5 oranında bulunur. Herhangi bir değişikliğe uğramadan kimyasal reaksiyonun ilerlemesine yardımcı olan ajanlardır. Geciktiricinin etkisini azatırlar. Polimerizasyonu hızlandırılır ^{1,3}.

Polimetilmetakrilat saf olarak şeffaftır. Eklenen pigmentlere iyi uyum gösterir. Doku renklerinin verilmesi için civasülfıt, kadmiyum sülfıt, kadmiyum selenit, demiroksit ve karbon siyahı; beyaz renk vermek için metal oksitleri kullanılmaktadır ^{1,3}.

Ayrıca polimerlerin dayanıklılığını artırmak için yapıya alimüna partikülleri, silikonkarbid ve boron nitrit katılır. Çinko oksit, titanyum oksit veya titanyum dioksit opasiteyi sağlamak, boyalı organik lifler ve inorganik tanecikler ise oral mukozada bulunan kan damarlarını taklit etmek için kullanılır ^{1,2,3,6,7,8}.

Likit (Monomer)

Likitin ana maddesini metil metakrilat oluşturur. Buna ilave olarak likidin bekleme süresince polimerizasyonunu engellemek için inhibitör maddeler ilave edilir. Bu madde genellikle %0,003-0,1 oranında hidrokinondur. Metil metakrilat şeffaf bir sıvıdır. Yüksek buhar basıncı oluşturan mükemmel bir organik çözücüdür. Polimerin mekanik özelliklerini etkileyerek, çizilmeye, çatlamaya, kınılmaya karşı direnç sağlayan çapraz bağlantı ajanları içerir. Bu maddeler genellikle glikoldimetakrilattır ^{1, 2, 3}.

Likitler, esas maddeyi oluşturan metil metakrilata diğer akrilik monomerlerin ilave edilmesiyle modifiye edilebilir. Örneğin, mikrodalga enerjisi ile polimerize edilen akrilik rezin likitler, mikrolit olarak üretilmiş olup yapılarına trietilen ya da tetraetilen glikol ilave edilmiştir ki, bunlar her bir uçta reaktif yapıya sahip dimetilakrilattır. Polimerizasyonları ultraviyole, ısı, mikrodalga ve görünür ışın ile aktive edilerek başlatılabilir ^{1,2,3,4,5,6}.

Polimer-Monomer Karışımı

Polimer-monomer karışımının uygun oranda olması sonuç rezinin yapısı açısından oldukça önemlidir. Polimer oranının yüksek oluşu reaksiyon süresini kısaltır ve karışım hamurunun bözülmesini azaltır. Dolayısıyla her polimer küreciğinin ıslanabileceği miktarda monomer kullanılması yeterli olacaktır. Polimer / monomer oranının da genel olarak 3/1 olduğu belirtilmektedir ^{3, 7}.

Polimer ve monomer oranın yanısıra homogen bir yapı içermesi de çok önemlidir. Homojen olmaması protezin dayanıklılığını olumsuz yönde etkilemekte, gözeneklerin artmasına ve rengin bozulmasına neden olmaktadır ^{1,2,3,4,5,6, 8, 9}.

Polimerizasyon:

Polimerizasyon, monomer adı verilen çok sayıda molekülün birleşerek makromolekül veya polimer oluşturduğu bir seri reaksiyondur. Diğer bir deyişle çok sayıdaki bir veya birden fazla tipte düşük ağırlıklı molekülün, yüksek ağırlıklı bir makromolekül oluşturmaya polimerizasyon denilir ⁷.

Polimerin molekül ağırlığı arttıkça materyalin polimerizasyon derecesi de artar. Buradaki polimerizasyon derecesi, polimerizasyonun şekline, içerdiği monomerin türüne ve sayısına göre değişiklik gösterir. Materyalin molekül ağırlığının ve polimerizasyon derecesinin artması fiziksel özelliklerini olumlu yönde etkiler ^{1,2,3,7,8}.

Polimerizasyon Tipleri:

Polimerizasyon değişik mekanizmalarla oluşabilir. Genel olarak kondensasyon polimerizasyonu ve ilave polimerizasyon olmak üzere iki esas tip polimerizasyon vardır. Bunlara ek olarak, daha az oluşan kopolimerizasyon ve çapraz bağlantı polimerizasyonu da sayılabilir ^{2,3,4}.

Dışhekimliğinde kullanılan protez kaide rezinleri polimerizasyon yöntemlerine ve aktivasyon şekillerine göre şöyle sınıflandırılabilir ^{1,3,4}.

I. Isı ile Polimerize Olan Akrilik Rezinler

1. Konvansiyonel muflalama tekniği ile polimerize olan akrilik rezinler

a) Doldurucusuz akrilik rezinler

b) Güçlendirilmiş akrilik rezinler

b₁ Lastik ile güçlendirilmiş olanlar

b₂ Polifibrillerle güçlendirilmiş olanlar

2. Enjeksiyon yöntemi ile polimerize olan akrilik rezinler

II. Kimyasal olarak polimerize olan akrilik rezinler (otopolimerizan rezinler)

1. Konvansiyonel otopolimerizan rezinler

2. Dökülebilir akrilik rezinler

3. Enjeksiyon yöntemiyle muflalama tekniği kullanılarak oda ısısında polimerize olan rezinler.

III. Görünür ışınlı polimerize olan akrilik rezinler

IV. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik rezinler

I. Isı ile Polimerize Olan Akrilik Reziner:

Bu akrilik rezinler genellikle toz likit şeklinde uygulanır. Likit (monomer) saf metilmetakrilattan oluşur. Toz (polimer) genellikle küçük küresel partiküllerden oluşan polimetilmetakrilat tozundan oluşur. Polimer boncuğu ya da incisi olarak adlandırılan bu partiküller monomerin ısı altında karıştırılması ile elde edilir ^{1,3,4,6}.

1. Konvansiyonel Muflalama Tekniği ile Polimerize Olan Akrilik Reziner:

Bu teknik kaide plağı elde etmek için kullanılan klasik yöntemdir. Akrilik rezinin mufla içersindeki protez boşluğuna konup preslenmesi ve sıcak suda polimerize edilmesi ilkesine dayanır.

Akrilik hamurun hazırlanmasında uygun polimer/monomer oranı 3/1 dir. Toz ve likit karıştırıldığı zaman ıslak kum , liflenme , hamur ve lastik olmak üzere dört aşamadan oluşan fiziksel etkileşim görülür. Akrilik rezinlerin hazırlanış aşamasında sıcaklık artışı; hamurlaşma süresini dolayısıyla çalışma süresini kısaltır ^{3,7}.

Son yıllarda akrilik rezinlere cam, karbon, polipropilen, polietilen lifleri ve lastik gibi mekanik özellikleri artırıcı katkı maddeleri eklenerek, güçlendirilmiş akrilik rezinler olarak adlandırılan protez kaide materyalleri geliştirilmiştir. Araştırmacılar, bu materyallerin rutinde kullanılan doldurucusuz konvansiyonel rezinlere göre çok yüksek sıkışma, bükülme (transvers deflection) ve yorulma (Fatigue Strength) dayanıklılığına sahip olduklarını ifade etmektedirler^{10,11,12}.

2. Enjeksiyon Yöntemi ile Polimerize Olan Akrilik Rezinler:

Enjeksiyon yöntemi; akrilik rezinin mufla içerisindeki protez boşluğuna basınçla iletilmesi esasına dayanır. Bu teknikte akrilik rezin hamuru işlem süresince sürekli 6 atmosfer hava basıncı altında enjeksiyon yoluyla mufla içerisindeki protez boşluğuna enjekte edilir ve ısı ile polimerize olur. Mufla içerisindeki protez boşluğuna akrilik rezin enjekte edildiği için bu yöntemde polimerizasyon büzülmesinin kısmen kompanse edildiği belirtilmiştir. Oldukça pahalı bir sistem olması, özel mufla ve yardımcı enjeksiyon ekipmanı gerektirmesi dezavantajıdır^{3,4}.

II. Kimyasal Olarak Polimerize Olan Akrilik Rezinler (Otopolimerizan Rezinler)

Dental amaçlarla ilk olarak II. Dünya Savaşı sırasında Almanya'da kullanılan bu rezinleri, ısı ile aktive edilerek polimerleştirilen rezinlerden ayırmak amacıyla bunlara "kendi kendine polimerize olan", "soğuk" veya "otopolimerizan" rezinler adı verilmiştir. Bunlar genellikle tamir akriliği olarak kullanımının yanı sıra kaide akriliği olarak da kullanılabilmektedir^{1,3}.

Otopolimerizan akrilik rezinlerde, benzoil peroksiti ısıtarak aktive etmek yerine, kimyasal bir aktive edici (tertiary amin) kullanılarak polimerizasyon oda sıcaklığında yapılabilir. Genel olarak kimyasal aktive edici ile ısı ile yapılan aktivasyon kadar iyi bir polimerizasyon elde edilemez^{1,3}.

Dökülebilir akrilik rezinler; kimyasal olarak aktive edilen otopolimerizan rezin sistemlerinin yeni bir tipi olup, akıcı rezinler olarak adlandırılmaktadır. Bu sistem için formüle edilmiş polimer tozları genellikle çok düzenli partiküllere sahiptir. Yüksek oranda büyük molekül ağırlıklı polimer içerdiğinden karıştırma ve dökme aşamasında istenmeyen viskozite artışı önlenmiş olur ^{1,3,4}.

Oda ısısında polimerize olan bazı akıcı rezinler ise, enjeksiyon tekniği ile kalıplanarak şekillendirilen ve kimyasal olarak aktive edilen materyallerdir. Bunlar için özel donanım gerekmektedir ⁴.

III. Görünür Işınla Polimerize Olan Akrilik Rezinler

Görünebilir ışınla polimerize akrilik rezinler uzun süreden beri dental alanda kullanılmaktadır. Protez kaide materyali olarak görünebilir ışınla polimerize popüler materyal Triad sistemi üreten, dimetakrilat matriks, akrilik kopolimer, küçük silika doldurucular ile kamforokinin amin fotoinitiatörünü içermektedir. Polimerizasyon yüksek yoğunlukta kuarts halojen lambaları ile oluşturulan 400-500 nm'lik mavi bir ışınla sağlanır. sistemin özel polimerizasyon üniti ve suni dişleri bulunmaktadır. Rulo ve plaklar şeklinde bulunan hamur kıvamındaki materyal, ışık kontaminasyonundan korunmak için opak plastik ambalajlarda bulunur. ^{13,14}.

Yüksek bir dirence sahip olup tam bir polimerizasyon gösterdikleri için artık monomer bulundurmadıkları belirtilmektedir. Akrilin boyutsal stabilitesi doku uyumu, renk stabitesi memnuniyet vericidir. Şekillendirilmesi kolaydır ¹⁵.

IV. Mikrodalga Enerji ile Polimerize Olan Akrilik Rezinler:

1968'de Nishii ve Hashimoto, rezinlerin mikrodalga enerjisi ile polimerizasyonu tanımlamışlardır ¹.

Bu yöntemde kullanılan mikrodalgayı tanımlayabilmek için enerji kaynaklarını sınıflandırarak düzenleyen elektromagnetik spektrumdan yararlanmak gerekir.

Bu spektrum ses dalgaları, radyo dalgaları, mikrodalgalar, kızıl ötesi ışınlar, ultraviyole ışınları, x-ışını ve gama ışını ve katot ışınları gibi ışınların hepsini kapsamaktadır. Burada mikrodalga, 300-300.000 MHz (mega hertz) frekansa sahip elektromagnetik dalga olarak tanımlanır. Bu mikrodalgalar monomer molekülü tarafından emilerek rezinlerin polimerizasyonunu sağlarlar^{3,16,17,18}.

Mikrodalga uygulaması için magnetron ve klistron olarak bilinen yüksek frekanslı ışınlar üreten özel oskillaör tüplerinden yararlanılır. Mikrodalga frekansları bir dalga rehberi tarafından idare edilir. Mikrodalga enerjisi üretmek için kullanılan mikrodalga oskillaörü, bir magnetron, bir dalga yayıcı ve bir ısı odasından oluşur^{3,16,19,20,21}.

Genel olarak bir rezinin polimerizasyonu için, polimerizasyonu başlatıcı ajan olan benzoil peroksitin parçalanarak serbest radikaller oluşturması gerekmektedir. Bu yöntemde de benzoil peroksitin parçalanması mikrodalga enerjisinin emilerek atomlarda büyük bir titreşim oluşturması ile sağlanır^{1,3,16,19}.

Metilmetakrilat molekülleri mikrodalgaların elektromagnetik sahası içinde 2450 MHz'de, saniyede 5 milyar kez dönme eğilimindedirler. Bu büyük hızdaki hareket sonucu moleküller arası bir sürtünme oluşur. Atomların hızlı titreşimlerinin yanısıra ısı açığa çıkar ve oluşan ısı rezinin polimerizasyonuna katkı sağlar. Bu nedenle genellikle mikro dalga enerjisi ile akrilik rezin polimerizasyonu çalışmalarında 2450 MHz. frekansta ve 12 cm dalga boyunda çalışan mikrodalga fırınları kullanılır^{16,17,19,20,21}.

Günümüzde üretilen mutfak tipi mikro dalga fırınları bu özellikleri taşımaktadır. Mikrodalga fırınlarında metalden yapılmış kaplar ve muflalar kullanılmamaktadır. Bunun sebebi mikrodalgaların metal yüzeylerinden yansıyarak geri dönmesidir. Yansıyan ışınlar metal mufla içindeki rezine ulaşamayacağı gibi fırının magnetronuna da zarar verebilir. Muflalar mikro dalgaları geçiren maddelerden yapılmalıdır; bunlar yüksek dirençli seramik veya kırılmayan camlardan olabileceği gibi tercihen ısı ve basınca dayanıklı fiberle güçlendirilmiş plastikten yapılmış muflalar da olabilmektedir. Bu yöntemde mum modellerin

muflaya alınması konvansiyonel yöntemdeki gibi olup, özel mufla hariç diğer tüm ekipman aynıdır^{3,19,21}.

Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyonda konvansiyonel rezinler kullanılabildiği gibi bu yöntem için özel akrilik rezinlerde geliştirilmiştir. Bu akrilik rezinlerde monomer, konvansiyonel rezinlerden farklı olarak metil ve etil metakrilat karışımından oluşmaktadır^{3,19, 20,21,22,23}.

Konvansiyonel sıcak su banyosu ile yapılan polimerizasyon işlemi sırasında mufla dışındaki ortamın sıcaklığı oldukça yüksek olmasına rağmen, bu sıcaklığın mufla ve alçı model gibi yapılardan geçerek rezine ulaşması uzun zaman alır ve rezine ulaşan ısıda büyük oranda kayıp meydana gelir. Oysa mikrodalga ile elektro manyetik ışının molekül tarafından emilmesi ile polimerleşme başlatıldığı için termal yöntemdeki ısının neden olabileceği yan etkiler görülmez^{3,20}.

Biyolojik Uyum

Biyolojik-uyum; Canlı dokuya yerleştirilen herhangi bir restorasyon veya implantın çevresindeki yumuşak ya da sert dokuda herhangi bir değişikliğe yol açmadan tepkisiz (inert) kalabilmesidir²⁴.

Biyolojik uyum için ; materyalin kimyasal yapısı, restorasyonun tasarımı, elde edilme yöntemleri, mekanik özellikleri, doku ile temasının şekli, yeri ve dokunun özellikleri gibi pek çok faktörün bir arada uyum içinde olması gerekmektedir.Biyolojik uyumu olmayan materyaller; değişik doku reaksiyonlarına neden olurlar^{24,25,26,27}.

Son yıllarda dişhekimliğinde biyolojik uyumluluk konusunda yapılan çalışmalar büyük ölçüde artış göstermiştir. Biyolojik uyumun araştırılmasında standart, basit ve ekonomik olan kısa sürede sonuç veren, asgari sayıda test yönteminin kullanılması tercih edilmektedir.

Bu amaçla FDI (Uluslararası Dişhekimliği Birliği) ISO (Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu) ve ADA (Amerikan Dişhekimliği Birliği) tarafından ortak görüş sağlanmaya çalışılmış ve ulaşılan sonuç bir bildiri ile yayınlanmıştır^{2,24,25,28,29}.

Dişhekimliğinde kullanılan materyaller biyolojik uyumla ilgili olarak beş ana grupta toplanırlar:

- I. Ağız dışında vücudun diğer bölümleri ile yutma, soluma veya dokunma yoluyla temasta olan materyaller
- II. Ağız içindeki yumuşak dokuya temas eden materyaller
- III. Pulpanın çevresindeki yumuşak dokunun sağlığını tehdit edebilecek materyaller
- IV. Kanal dolgu materyalleri
- V. Dişin sert dokularının sağlığını etkileyebilecek materyaller

Bu gruptandırmaya dayalı olarak biyolojik uyumun belirlenmesinde kullanılacak testler, materyalin uygulandığı bölgeye ve beklenen zararlı etkilere göre değişiklik göstermektedir^{2,11,24,28}.

FDI biyolojik testleri şöyle sınıflandırmıştır:

A) Öncül testler	B) İkincil Testler	C) Kullanım Testleri
1. LD50 ağız içi test	1. Kemik implantasyon testi	1. Restoratif materyaller için pulpa ve dentin testi
2. LD50 Karın içi test	2. Oral mukoza membran testi	2. Kuafaj ve pulpatomi materyalleri testi
3. Soluma testi	3. Sensitizasyon testi	3. Endodontik materyal testi
4. Hemolizis testi	4. Subkutanöz implantasyon testi	4. Kemik içi implant materyali testi
5. Ames testi		
6. Styles testi		
7. Dominant letal test		
8. Sitotoksisite testi		

A) Öncül Testler

1- LD50 Ağız içi ve 2- LD50 karın içi testi: Bu testlerde, akut zehirlenmenin özel bir indeksini oluşturabilmek için, seçilen deney hayvanlarının ağırlıklarının her kilogramı için gerekli miktar esas alınarak grubun %50'sini öldürmeye yeterli doz belirlenir. Toksik olduğu düşünülen madde ya ağız yoluyla ya da karın içine enjekte edilerek verilir ²⁸.

3. Soluma testi: Özellikle "aerosol" denilen gaz halindeki maddeler solunum yoluyla deney hayvanlarına verilerek toksisite değerleri belirlenir ²⁸.

4. Hemolizis testi: Tavşan kanı kullanılarak yapılan bu test, denenecek materyalin kanda oluşturduğu hemoliz değerlerine bakılarak bir akut toksisite indeksi oluşturulması esasına dayanır ²⁸.

5. Ames testi: Hücre kültürleri üzerinde yapılan bu testler ile hücredeki mutasyon farklılıkları gözlenerek, materyalin toksisite potansiyeline karar verilir. Ames testinde histidin içermeyen ortamlarda büyümeyen "Selmonella Typhimurium" bakterileri kullanılır. Eğer bu bakteriler bir mutajen ile reaksiyona girerse, normal durumlarına geri dönmek için ters mutasyon gösterecekler ve histidin içermeyen ortamda da büyüyeceklerdir. Böylece seçilen kimyasal maddenin mutajenik potansiyeli hakkında bir indeks elde edilir ^{25,28}.

6. Styles testi: Ames testi gibi bir hücre değişim testidir. Fakat bu yöntemde fibroblast hücre kültürleri kullanılır. Memeli türünden ve benzer bir canlının hücrelerinin kullanılmasının Ames testine göre bir avantaj sağladığı iddia edilir ^{25,28}.

7. Dominant letal test: Farelere yapılan bu test, mutajenik ajanın, üreme üzerine etkisinin araştırılması esasına dayanır ²⁸.

8. Sitotoksisite Testi: Seçilen materyalin uygun hücre kültürlerinde, negatif ve pozitif kontrol materyalleri kullanılarak, hücre büyüme oranı ve hücre tahribatı üzerindeki etkisi esas alınarak değerlendirme yapılan bir yöntemdir. Bu yöntemler oldukça hassas olmalarına karşın, yalnızca materyale karşı ilk toksisiteyi ortaya koymaktadırlar. Materyalin doku ile uzun süreli kontakta olduğu durumlara açıklık getiremezler. Bu nedenle materyale olan öncül tepkiler belirlendikten sonra, subakut toksisite değerlerini yansıtan ikincil testler denenmelidir ^{3,25,28,30,31}.

B) İkincil Testler:

1. Kemik implantasyon testi: Genellikle endodontik materyaller ve implant materyalleri için kullanılabilir. Standart bir yöntem olmamakla birlikte, materyalin direkt olarak kemik içine implantasyonu esasına dayanmaktadır ^{1,28,32,33}.

2. Oral müköz membran irritasyon testi: Test ve kontrol materyallerinin, guinea piglerinin palatal mukozasında özel olarak tasarlanmış 5mm çapında ve glazelenmiş porselenden yapılmış bir apareyin altına konularak, mukozadaki değişikliklerin belirli

sürelerde gözlenmesi ve biopsi örneklerinin alınması şeklinde yapılan testtir. Hamster'lerin yanak mukozası üzerinde de yapılabileceği bildirilmiştir^{25,28}.

3. Sensitizasyon testi: Bu konuda "guinea pig maksimizasyon" testi önerilmektedir. Derinin hassaslaştırılmasını izleyen derideki kızarıklık ve kabarıklıklar kaydedildikten 24 saat ve iki hafta sonra test materyali deri üzerine patch testi ile uygulanır. Deride görülen reaksiyonun şiddetine göre materyalin alerjen olup olmadığına ya da ne derece alerjen olduğuna karar verilir^{25,34,35,36}.

Bu testin insanlarda uygulanması pratikte mümkün değildir. Çünkü duyarılaştırma işleminden sonra kullanılan materyale karşı duyarlılık yıllar sürebilir. Bireyin söz konusu olan madde ile her karşılaşmasında şiddetli reaksiyonlar görülebilir^{28, 34, 37}.

4. Subkutanöz implantasyon testi: Deney hayvanı olarak seçilen rat, guinea pig ve hamster'lerin deri altında derin dermis bölgesine doğrudan plakalar şeklinde, polietilen ya da teflon tüpler içinde veya çubuk şeklinde hazırlanan test örneklerinin cerrahi yöntem kullanılarak yerleştirilmesi esasına dayanır. Materyal şekil verilebilen türden ise hazırlanan belirli bir formda doğrudan, şekil verilmeyen yumuşak türden ise, tüpler içinde yerleştirilmesi tavsiye edilir^{28,32,33,38,39}.

C) Kullanım Testleri

Kullanım testleri, materyalin yerleştirileceği doku üzerindeki direkt etkilerini görebilmek için önerilir. FDI, bu testlerin doğrudan doğruya insanlar üzerinde veya insana yakın yüksek memeli sınıftan hayvanlar üzerinde yapılmasını önermektedir.

1. Restoratif materyaller için pulpa ve dentin testi: Bu test yönteminde, pulpa üzerinde 1 mm sağlam dentin kalıncaya kadar açılan kavitelere yerleştirilen test materyallerinin etkisi, kontrol maddesi olarak kullanılan silikat siman ve saf çinko oksit ojenolün etkisi ile mukayese edilir^{40,41,42}.

2. Kuafaj ve pulpatomi materyalleri testi: Bu test yönteminde, steril bir frez ile perfore edilen pulpa üzerine test materyalleri direkt olarak uygulanır. Kontrol materyali olarak kalsiyum hidroksit patı kullanılır. 3, 90 ve 180 günlük periyotlardan sonra tamir dentini formasyonu ve iltihap belirtileri yönünden incelenir^{25,28,42,43,44}.

3. Endodontik materyal testi: Bu test yönteminde kontrol materyali olarak rezinkloroform ile guttaperka kullanılmaktadır. Testin sonuçları 180 ve 730 gün sonra klinik ve histolojik olarak değerlendirilir^{28,45,46}.

4. Kemik içi implant materyali testi: Kemik ile uzun süre temasta kalması düşünülen malzemelerin deney numunelerinin in vivo olarak toksisiteyi değerlendirilir^{24,29,47,48,49}.

Hücre Kültürü

Hücre kültürleri, canlı dokuların vücut dışında yaşatılmasını, sürekli üretimini ve gelişimini ifade etmektedir. Canlı yapılardan elde edilen dokular, vücut ısısında kültüre edilmekte ve vücudun özgün fizyolojik durumunu taklit eden besleyici sıvılarda beslenerek çoğaltılmaktadır. Besleyici sıvılar, hayvan embriyo ekstratlarını plazma ve serum amino asit ve mineralleri, şeker ve tuzları, vitamin ve antibiyotikleri içermektedir^{1,28,40,50}.

Hücre kültürleri temel olarak, anatomi, fizyoloji biyokimya, mikrobiyoloji, immunoloji ve diğer prelinik bölümlerin, özelleşmiş dallarında kullanılmaktadır. Geleneksel olarak sistemden hücre yapısı çoğalma ve tamir mekanizmalarının değerlendirilmesinde yararlanılmaktadır. Bunların yanısıra hücre kültürleri viroloji ve toksikolojide farklı maddelerin etkinliklerinin saptanmasında geniş kullanım alanı bulmaktadırlar⁵¹.

Bireysel faktörlerden etkilenmemeleri, tekrarlanabilme özellikleri, ara aşamalarda kontrollerinin kolay olması, materyaller arasında parametrik karşılaştırmalara olanak tanımları ve hayvan deneylerinde olduğu gibi canlı varlıkların öldürülmemesi gibi insancıl yaklaşım tercih nedeni olmaktadır. Ancak bu yöntem yalnızca ilk toksisiteyi göstermektedir.

Materyalin doku ile uzun süreli kontakta olduğu durumlarda toksisitenin düzeyi konusunda bilgilendirememektedir⁵¹.

Hücre kültürlerinin elde edilmesinde en önemli konu steril ortamların korunmasıdır. Vücut dışında izole edilmiş hücre veya organlar, enfeksiyonlara karşı koyacak kapasitede değildir. Hücre kültürü çalışmalarında özel ekipman ve malzemenin dikkatli kullanımının yanısıra kontaminasyondan kaçınmak için sterilizasyona azami özen gösterilmelidir^{32,37,52,53}.

Farklı dokulardan üretimi sağlanabilen hücre kültürleri genel olarak:

1. Primer hücre kültürleri
2. Devamlı hücre kültürleri
3. Diploid hücre kültürü

olarak gruplandırılabilir⁵³.

1. Primer hücre kültürleri: Orjinal dokudan yeni ayrılan ve ilk olarak kültür şartlarında bulunan hücreleri içerir. Dokunun fizyolojik durumunu yansıtan bu hücreler, genotipi ve fenotipi yönden orjinal doku hücresi ile aynı özellikleri içerir. Primer kültürlerin kromozomal anomalileri olmadığından daha normal fenotipleri vardır. Ancak bu hücrelerin deneysel çoğalma imkanları sınırlıdır^{54,55}.

Primer hücre kültürleri ilk pasajdan sonra bir kültür ortamından diğerine taşınırlar. Bu işleme subkültür adı verilir. Yeni üretilen hücre kültürleri aynı fonksiyonel özelliklere sahip hücre hatlarını oluştururlar. Hücre hatları, hücrelerin orjinali olan dokunun özelliklerine göre değişmek şartıyla değişken sayılarda subkültüre izin verirler^{11,29,47}.

Primer hücre kültürleri, üretim aşamasındaki zorluklara, hassas hücreler olmaları nedeniyle çalışma esnasında ortaya çıkabilecek sorunlara ve bunların kontrolünün son derece güç olmasına karşın, orjinal fizyolojik durumun ifadesi olmaları nedeniyle pek çok çalışmada örnek sistem oluşturmaktadırlar^{48,56}.

2. Devamlı hücre kültürleri: Subkültürleri sonsuz olarak yapılabilen ve karyotipleri, orjinali olan dokulardan ayrı olarak geliştirilmiş olan kültürlerdir. Araştırmalar herhangi bir kültürün, devamlı doku kültürü olabilmesi için en az 70 defa subkültürünün yapılmış olması gerektiğini göstermiştir ²⁸.

Devamlı hücre çizgileri standart kültür örnekleri olarak embriyonik veya kanserli dokulardan üretilerek kodlanmış ve kullanıma sunulmuştur.

3. Diploid hücre kültürleri: Primer kültürlerin subkültürlerinin yapılmasından elde edilir. Ancak bu kültürler bütün hücrelerin % 85 orjinal olan dokunun karyotipine sahiptir. Diploid kültürlerde bazı hücrelerde kromozom tipleri kaybolabilir ve yerine başka bir tip yerleşir. Bu hücrelere pseudodiploid hücreler adı verilir ²⁸.

Bugüne kadar yapılan çalışmalar, biyolojik uyumun belirlenmesinde uygun testlerin ortaya konması amacıyla yapılan çalışmalar olmayıp, bu konuyla ilgilenen bireylerin dental materyallerin toksik potansiyelini, saptamak amacıyla gerçekleştirdikleri bireysel metodları içermektedir. Bu metodların pek çoğu yeni geliştirilen ilaçların denenmesi amacıyla toksikolojide kullanılan tekniklerden uyarlanmıştır. Ancak ilaçlar çoğu sıvılarda kolayca çözünebilirken, dental materyaller genellikle düşük çözünebilirlik değerleriyle üretilmektedir. Ayrıca şekil, yapı ve etkileşim süreleri gibi farklılıklar metodlarda ve değerlendirme parametrelerinde köklü teknik düzenlemelerin yapılmasını zorunlu kılmıştır ^{28,29}.

Diğer alanlarda olduğu gibi dental materyallerin biyolojik uyumunun saptanmasında kullanılan hücre kültürü teknikleri organ veya doku bağlantısını temsil etmez. Bunlar bağımsız üniteler olarak morfolojileri, DNA ve protein sentezleri ile bilgi kapasitesine sahip tek tek hücreler olarak değerlendirmede kullanılırlar ⁴⁷.

Dental materyallerin sitotoksitesisi in vitro hücre kültürlerinde genel olarak şu şekilde belirlenmektedir ^{51,57}:

1. **Hücre büyümesi:** Hücre sayımı, DNA analizi veya laktik asit oluşumunun saptanması
2. **Mitotik aktivite:** Koloni oluşturma ve koloni oluşturma etkinliğinin saptanması
3. **Oksijen alımındaki ve glikoz metabolizmasındaki değişikliklerin tesbiti**
4. **Membran permeabilite değişiklikleri:** Cr^{51} salınımı, 3H -Thymidine kullanımı ve vital boyalarla boyanma özelliklerinin saptanması
5. **Mitokondrial enzim fonksiyonlarının histokimyasal olarak saptanması.**

Hücre Kültürü Test Yöntemleri

Hücre kültürleri kullanılarak dental materyallerin biyolojik uyumunun belirlenmesi için çok sayıda in vitro testleri bulunmaktadır. FDI (döküman 1980),DIN (ND 1986) ISO (1984) teknik raporlarında önerilen in vitro test yöntemleri şunlardır :

Agar Overlay Test Yöntemi

Katı materyallerin ve katı materyallerden süzülen komponentlerin akut sitotoksisitesinin saptanmasını hedeflemektedir.Test materyali, nötral vital boyayla boyanmış fare fibroblast hücrelerinin L (929) bir takabakasını örten agar tabakasının yüzeyine temasta olacak şekilde yerleştirilmektedir^{58,59,60} .

24 saatlik inkübasyondan sonra sitotoksisitenin etkinliği, toksik maddelerin difüzyon bölgelerindeki hücrelerde yol açtığı boya kaybıyla gösterilebilmektedir.Hücrelerin erimesi (lysis) ise, difüze olan toksik maddelerin konsantrasyonun yüksek olduğu bölgelerde izlenebilir. Sitotoksik cevap; renk değiştiren bölgedeki (zone index 0-5) difüzyon büyüklüğüne bağlı olarak

bir cevap indexi terimi ile ve erimeye uğrayan bölgedeki hücrelerin yüzdesi ile kaydedilmektedir (lysis indexi) ^{28,58,59,60,61,62} .

Zone Indexi

- 0- Örneğin altında ya da çevresinde renk açılması yok.
- 1- Örneğin sınırları içinde renk açılması var.
- 2- Örneğin 5mm çevresinde açılması var.
- 3- Örneğin 10mm çevresinde renk açılması var.
- 4- Örneğin çevresindeki 10mm'den fazla uzaklıkta renk açılması var.
- 5- Petri kutusunun tümünü kaplayan renk açılması var.

Makroskobik olarak yapılan bu değerlendirmenin desteklenmesi ve ayrıntılı incelenmesi için hücre erime indexi yapılır. Mikroskobik olarak yapılan bu inceleme, Inverted mikroskopta hücre erimesi (lysis) çapları ölçülerek gerçekleştirilir ⁵⁸ .

Hücre Erime Indexi

- 0- Görülebilir bir erime yok,
- 1- Zon çapının %20'sinde erime mevcut,
- 2- Zon çapının %20 - %40'ında erime var,
- 3- Zon çapının %40 - %60'ında erime var,
- 4- Zon çapının %60 - %80'inde erime var,
- 5- Zon çapının %80 ve fazlasında erime var.

Agarose Test Yöntemi

1973 yılında Wilsnack ve arkadaşları agar overlaye benzer olan agarose test yöntemini tanıtmışlardır. Agarosedaki difüzyon yeteneğinin daha yüksek olduğunu belirtmişler, agar overlay yönteminin hassasiyetinin artması için agaroseun agarın yerine geçmesi gerektiğini öne sürmüşlerdir^{51,63}.

Millipore Filtre Test Yöntemi

Hücre kültürü testlerinin en büyük eleştiri alan yönlerinden biri, klinik olarak sıklıkla uygun olmayan direk materyal hücre teması olmasıdır. Kaybedilen diş yapısını restore etmek için kullanılan bir çok materyal hücrelerle direk temasta değildir. Materyal filtrenin karşıt yüzeyi ile temas halinde yerleştirilmektedir. Böylece süzülen herhangi bir maddenin hücreler üzerinde herhangi bir toksik etki oluşturabilmesi için 0,45 ml'lık filtre porlarının içine difüze olması gerekmektedir^{28,51,64}.

Değerlendirme; hücre materyal temas sahasında ortaya çıkan test hücrelerinin skorlama sistemine göre yapılır. Skorlama sistemi boyanan alanın koyuluk değerine, çapına, genişliğine etkilenen alana göre değişim göstermektedir^{28,64}.

Bu skorlama sistemine göre materyale cevap şu şekilde sınıflandırılabilir:

- 0- Sitotoksik olmayan cevap (Hücre monolayer'ının tabanı ile kıyaslandığında boyanma yoğunluğunda hiç bir farklılık yoktur.
- 1- Az miktarda sitotoksik cevap (Deney örneğinden daha az çaplı boyanmamış bölge yada boyanma yoğunluğu azalmış bölge olması)
- 2- Orta derecede sitotoksik cevap (7-10 mm genişlikte boyanmamış bölge olması)
- 3- Belirgin sitotoksik cevap (12 mm ya da daha geniş boyanmamış bölge olması)

Millipore filtre test yöntemi, özellikle katılar ve patlarda kullanılmaktadır. Likitlerde bu yöntemle değerlendirilebilir. Sıvı materyali test etmek için maddenin 0,1 ml'si millipore filtre üzerine yerleştirilen selüloz diske emdirilmektedir. Bu metoda boyanan filtrelerin test ortamı daimi bir kaide olarak saklanabilmektedir²⁸.

Krom Salınım Test Yöntemi

(Chromium release method)

Bu yöntemle likitler ve katı materyaller test edilebilmektedir. Teknikte hücreler Na_2CrO_4 ile işaretlenmektedir. Na_2CrO_4 içerisindeki heksavalent Cr^{51} hücreler içerisine girmekte ve hücre proteinleri ile hücresel yapılara tutunarak trivalent forma dönüşmektedir. Bu işaretleme işleminden sonra hücreler materyaller ile direk temasta 4 ile 24 saat inkube edilmektedir. Hücrelerin ölümü ile hücre zarı permeabilitesi değişmekte ve bunun sonucunda hücre dışına çıkan trivalent formdaki Cr^{51} canlı hücreler tarafından tekrar hücre içine alınamamaktadır. Hücre dışına çıkan Cr^{51} 'in radyoaktivitesinin ölçülmesiyle hücre ölümü konusunda net ve kesin bir sayı ve bilgi edinilmektedir. Hücre ölümünü takiben gelişen sublethal değişiklikleri ölçülememektedir^{28,43,51,65,66}.

Aynı test yöntemi hücreler ^3H - Thymidine ile işaretlenerek de gerçekleştirilebilmektedir.

^3H - Thymidine kullanım yöntemi ve Cr^{51} salınım yöntemi için gama spektrofotometresi, likit sintilizasyon sayıcısı ve radyoaktif salınım için bir dispozal sisteme gerek duyulmaktadır^{28,43,51,65}.

Model Kavite Test Yöntemi

Bu yöntemde, polimetil metakrilattan hazırlanmış bir kavite modeli kullanılmaktadır. Kavite tabanına bir filtre ya da dentin tabakası yerleştirilmektedir. Bu tabakanın altında üretilen hücre kültürlerinde, materyalin toksisitesi, sırasıyla lizozomal ve mitokondrial enzim işaretleyicileri olan asit fosfataz ve süksinat dehidrogenazın analizi ile yapılmaktadır^{47,51}.

Diş Kavite Test Yöntemi

Restoratif materyallerin kimyasal toksisitesinin potansiyelini saptamakta kullanılır. İlk basamak dentine uygulanan materyallerden toksik maddelerin difüzyonudur ²⁸.

Genellikle 3.molar dişlerin çekimini takiben fosfat tamponlu salin'de 4⁰C de 3 saat bekletilmektedir. Normal kavite ya da kron preparasyonundan sonra sistem dentin duvarına penetre olabilen madde solüsyonlarını elde etmek için kullanılmaktadır. Pulpa sıvısı ya da preparasyonun pulpal kısmındaki vasat ayrı ayrı fibroblast L(929) monolayeri ile test edilmektedir ⁵¹.

Bu sistem pek çok restoratif materyalin sitotoksitesinin belirlenmesinde kullanılmakta ve in vivo verilerle iyi korelasyon göstermektedir ⁵¹.

Konu ile ilgili çalışmalar

Cruickshank ve arkadaşları ⁶⁷ (1960) lastik ve plastiklerin civciv embriyonik dokusu üzerine toksisitesini incelemişlerdir .

Rosenbluth ve arkadaşları ⁶⁸ (1965) tıbbi alanlarda kullanılan plastik materyallerin sitotoksitesini L 929 fare fibroblast hücrelerinde, materyal ile hücrelerin direk temasta olduğu yöntemi tanıtarak incelemişlerdir.

Stanley ve arkadaşları ⁶⁹ (1967) bağ dokusunun hücre metabolizması üzerinde rezin komponentlerin konsantrasyonlarının etkilerini belirlemek için hücre kültür metodlarını kullanmışlardır .

Kawahara ve arkadaşları ²⁹ (1968) ilk kez dental materyallerin biyolojik uyumunun saptanmasında hücre kültürlerinin kullanımını gerçekleştirmişlerdir.

Leirskar ve Helgeland ²⁹ (1972) gümüş amalgam bakır amalgam, rezinler, silikat siman ve altın alaşımları içeren standart boyutlu dental materyal diskleri üzerinde ve çevresinde insan epitel ve L 929 hücrelerinin büyümelerinin ilk çalışmasını yapmışlardır .

İlk kantitatif in vitro testlerden biri Spanberg ⁵⁵ tarafından (1973) gerçekleştirilmiştir. Biyolojik uyumun saptanması amacıyla "Chromium release" metodunu tanıtmıştır. İmmünolojik çalışmalarda, hedef hücrelerden radyoaktif işaretleyicilerin salınımının saptanması ile hücrelerdeki bozulmanın değerlendirildiği bir metottur.

Spanberg ve arkadaşları ⁶⁵, (1974) polikarboksilat simanların biyolojik uyumunu "Krom salınım" metodu ile araştırmışlardır.

Tyas ⁷⁰, (1977) "Model kavite" yöntemini tanıtmıştır. Polimetil metakrilat'tan hazırlanmış bir kavite modeli kullanılmaktadır. Kavite tabanına bir filtre ya da dentin tabakası yerleştirilmektedir. Bu tabakanın altında üretilen hücre kültürlerinde, materyalin toksisitesi, sırasıyla lizozomal ve mitokondrial enzim işaretleyicileri olan asit fosfataz ve süksinat dehidrogenazın analizi ile yapılmaktadır.

Whennberg ⁶⁴ ve arkadaşları (1979) Millipore filtre metodunu tanıtmışlardır. Bu metotta, hücreler standart filtreler üzerinde üretilmektedir. Denenecek materyaller, filtre üzerine yerleştirilerek filtre petri kutusu içinde sertleştirilmiş olan agar tabakasının üzerine konulmaktadır. Sitotoksitenin tespiti süksinat dehidrogenaz aktivitesinin belirlenmesi ile saptanmaktadır .

Mjör ve arkadaşları ⁷¹, (1982) yaptıkları araştırmada deneysel kavite temizleyici ajanların biyolojik uyumunu insan epitel hücrelerinde "Krom salınım" yöntemi ile araştırmışlardır. Bu çalışmada toksisite, ayrıca hücre çoğalması ve koloni formasyonu parametreleri ile değerlendirilmiştir.

Schmalz ⁵⁸ (1982) dental materyallerin sitotoksitesini test etmek için kullanılan agar overlay yöntemini uygulayan ilk araştırmacılardandır. Test materyalleri, agar tabakasının üst yüzeyine konularak sistem 24 saat 37°C 'de inkübe edilmektedir. Sitotoksiste, örneğin çevresinde materyalden ayrılan komponentlerin oluşturduğu renk açılması zonu ve bu zon içinde hücre tabakasında oluşan değişikliklerin saptanması ile değerlendirilmektedir.

Keech ve arkadaşları ⁶¹ (1983) yayınladıkları makalede, agar overlay yönteminde pozitif kontrol olarak kullanılan dibutil diasetat içeren polyvinil klorid'in kolay bulunamadığını bildirerek, yaptıkları çalışmada pozitif kontrol olarak amonyum molybdat ya da magnezyum klorür kullanımının olumlu sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

Terhune ve Arkadaşları ⁷², (1983) ortodontik yapışma maddelerinin toksisitesini African Green Monkey Kidney epitel hücrelerinde agar overlay yöntemi ile incelemişlerdir.

Niemi ve Hensten – Pettersen ³⁹, (1985) yaptıkları çalışmada Ag-Pd-Cu alaşımlarının sitotoksitesini insan epitel hücrelerinde agar overlay yöntem ile incelemişlerdir.

Feigal ve arkadaşları⁷³ (1985) yaptıkları çalışmada, primer insan pulpa kültürleri ile fare fibroblast devamlı hücre kültürlerinin duyarlılığını, milipore filtre ve agar overlay yöntemleri ile karşılaştırmışlardır.

Hume⁴² (1985) "Diş kavite yöntemini tanıtmıştır. Bu yöntemde, çekilen gömülü üçüncü molarlarda kavite veya kron preparasyonu yapıldıktan sonra da sistem dentin duvarlarından penetre olabilen maddelerin solüsyonunu elde etmekte kullanılmaktadır. Sitotoksikite, pulpal sıvının fare fibroblast hücrelerinde oluşturduğu etkinin, DNA sentezi üzerinde yaptığı değişikliklerin tespiti ile belirtilmektedir.

Hanks ve arkadaşları⁷⁴ (1991) 11 rezin bileşimini Balb / C 3T3 hücrelerinin kültürleriyle muamele etmeden önce Dimetilsülfoksit (DMSO)'da çözüp, 1:1000 oranında dilüe ederek sitotoksik davranışlarını rapor etmişlerdir. ³H-Thymidine kullanım yöntemi ile rezin konsantrasyonlarının It-TdR alımı (DNA sentez hızı), H-losin alımı (protein sentez hızı) veya her kültür için protein alımı göz önünde bulundurarak standart eğrilerini çizmişlerdir. Bu üç biyolojik parametre için Balb/C 3T3 hücre cevaplarının çoğunu rezin bileşikleri için aynı seviyede bulmuşlardır. Ethoxylated Bis-Phenol A dimethacrylat (E-BPA) 10 mmol/L altında 24 saatlik sürede çok toksik olduğu gözlenmiştir.

Lefebvre ve arkadaşları¹³ (1994) görünür ışınla ve kimyasal olarak polimerize olan akrilik rezinlerin biyolojik uyumlarını fare fibroblastları üzerinde agar overlay, Cr⁵¹ release, MTT (Mitokondrial dehidregenez aktivitesi) test yöntemlerini kullanarak incelemişlerdir. Çalışmalarında soğuk akriliğin hücredeki metabolik olayları değişik derecelerde etkilediğini vurgulayarak, dual polimerize rezinlerin, soğuk akriliklere göre daha toksik olduğunu belirtmişlerdir.

Polyzois ve arkadaşları⁷⁵ (1995) agar overlay ve direk temas test yöntemini kullanarak fare fibroblast hücreleri (L 929) üzerinde maxillo fasial protezlerin yapılanmasında kullanılan silikon elastomerlerin sitotoksik davranışlarını incelemişlerdir.

Araştırılan silikon elastomerlerin tümünün 1/1 oranında veya daha fazla hücre lysisine neden olduğu rapor edilmiştir.

Ratansathien ve arkadaşları ⁷⁶ (1995) "dentin bonding" sistem bileşiklerinin ikili kombinasyonlarının sitotoksikite metabolik etkilerini Balb/C 3TC hücreleri üzerinde araştırmışlardır. HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate), BİSGMA (2,2-bis [4-(2-hydroxy - 3 - methacryloxy propoxy), TEGDMA (triethylene - glycol - dimethacrylate), UDMA (urethane dimethacrylate) rezinlerini TC50 değerleri 24 ve 72 saatlik muameleden sonra en toksikten daha az toksik olana doğru şöyle sıralamışlardır (Bis GMA>UDMA>TEGDMA >HEMA). Herhangi bir konsantrasyonda HEMA ve 25 mmol/L'de BİS GMA varsa sinerjik etki bulunmuştur. Dentin bonding ajanlarının polimerize olmamış bileşikleri, pulpada bileşiğin tek başına olduğundan daha düşük seviyelerde toksik reaksiyona neden olma potansiyeline sahip olmalarından dolayı sinerjik etkilerini özellikle önemli olduğu vurgulamışlardır. Bununla birlikte HEMA, 4-META ve TEGDMA gibi düşük molekül ağırlıklı rezinler daha visköz rezinler (BİSGMA VE UDMA) için çözelti gibi davranabilecekleri ve bunları hücrelere ve dokulara daha fazla geçirebilecekleri belirtmişlerdir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Bölümü ve Gülhane Askeri Tıp Akademisi Biyokimya Bölümü Laboratuvarlarında yapılmıştır.

Materyal

Araştırmada değişik yöntemlerle polimerize edilen dört protez kaide rezinin sitotoksitesini incelemek için primer insan gingival fibroblast hücre kültürleri kullanıldı. Test örneklerinin hazırlanması ve deney gruplarının değerlendirilmesi amacıyla seçilen hücre inokulasyonu, agar overlay, milipore filtre, ³H-thymidine kullanım testi için yararlanılan materyaller şunlardır:

Primer insan gingiva fibroblast hücre kültürlerinin hazırlanmasında :

- 1- Operatif olarak steril şartlarda alınan gingiva dokusu
- 2- Hücre tekniğine ait steril pens ve makaslar çeşitli laboratuvar araçları
- 3- Manyetik karıştırıcı (Nuve)
- 4- Etüv (Heraus GMBH Germany)
- 5- Santrifuj makinesi (Heraus Minifare GmbH Germany)

6- Vasat ve solusyonlar:

a) DMEM (Dolbecco's Modifield Essential Medium) (Difco, USA)

-MEM Powdered Tissue (9,2 gr)

-Culture Medium (Biochrome Israil)

-Sodyum bikarbonat (Seromed Germany) 2,0 gr

-Fetal dana serumu (Brochrome Israil) 50,0 ml

b) CMF free PBS (Kalsiyum ve mağnezyum içermeyen fosfat tamponlu salin)

solusyonu :

-Na Cl 80,0 gr

-KCl 2,0 gr

-Na₂ HPO₄ 11,5 gr

- KH₂ HPO₄ 2,0 gr

c) PBS – complete solusyonu

- CMF – PBS Solusyonu 100.0 ml

- Fenol Red (Merck – Germany) 10,0 ml.

- Mg Cl H₂O 0,5 ml

- Ca Cl₂ 11,0 ml.

d) – Tripsin solusyonu

-CMF-PBS Solusyonu 50.0 ml

- Fenol red (Merck, Germany) 110,0 ml

- Tyripsin (Gibco England) 75.0 ml

- Su 500.0 ml

Agar overlay ve milipore filtre yayılım test yöntemleri için :

- 1- Taban alanı 100 mm² yüksekliği 5 mm olan plastik kalıp
 - 2- 90 mm çapında steril petri kutusu
 - 3- Etüv (Herause GmbH Germany)
 - 4- Manyetik karıştırıcı (Magnetic Stirrer Hotplate Gallenkamp U.K)
 - 5- Inverted tissue culture microscope (Olympus – CK Tokyo Japon.)
 - 6- Çeşitli laboratuvar malzemesi
 - 7- Vasat ve solüsyonlar
 - a)CMF free PBS solüsyonu
 - b) PBS complete solüsyonu
 - c) Tripsin Solüsyonu
 - d) Dulbicco's Modified Essential Medium Noble Agar (Difco USA) hacim olarak bir kısım MEM vasatı,
 - e) Nötral Kırmızı Vital Boya / Neutral Red (Edward Gurr. U.K) 0,1 ml
- PBS – Complete Solusyonu 99,0 mL
- 8- Amonyum molibdat
(NH₄, MO₇, 0₂₇, 4 H₂O) (Merck, Germany)

³H Thymidine kullanım testi için :

1. Santrifuj (IEC Model K)
2. Sıvı sintilasyon spektrofotometresi (Packard-Tri Carb Model 3390-01)
3. Laminar Flow Kabin (L.V.F. 101)
4. Karbon dioksit inkübatörü (Lab-Line Instruments)
5. PHD Cell Harvester (Cambridge Technology)
6. Glass Fiber Strips PHD 240-1 (Cambridge Technology)
7. Vorteks (Nuvemix)
8. Otomatik pipetler (50, 100, 500 mikrolitrelik, Gilson)
9. Steril otomatik pipet uçları (Greiner)
10. Steril hücre kültür mikroplateleri (8x12 Greiner)
11. Mikroplate örtüsü (Dynatech)
12. Milipore filtreler (0.22 mikron, sigma)
13. Streptomycin sülfat 25 g (690 Ü/mg, Sigma)
14. Penicillin G (Benzyl penicillin) sodyum tuzu (1630 Ü/mg, sigma)

15. Hepes (N-2) Hydroxyethylpiperazine-N-2 ethane sulfonic acid (sigma)

16. Sodyum bikarbonat (Riedel de Hean ag Seelze)

17. Kültür mediumu: Medium 199, 10 g, (Sigma)

Sodyum bikarbonat 1.65 g/L

Hepes 2.38 g/L

Streptomycin sulfat 100 mg/L

Penicillin G 200.000 Ü/L

18. [Methyl-³H] Thymidine (185 GB q m mol,

5 Cim mol, 0.5 µ c final konsantrasyonu (Amersham)

19. Toluen (Merck)

20. Sintilasyon Sıvısı:

5 g PPD (2.5 Diphenyloxazole) + 0.250 g

POPOP (P-Bis 2.5 phenyloxaylbenzen) alınarak

1 lt Toluen'de çözdürüldü.

Araştırmada kullanılan farklı yöntemlerle polimerize edilmiş dört farklı protez kaide rezini tabloda sunulmuştur:

ÜRÜN ADI	Karıştırma Oranı	
	Monomer / Polimer	Üretici Firma
Acron MC Mikrodalga + konvansiyonel	43 ml / 100 gr	GC Corporation (USA)
QC – 20 Konvansiyonel +mikrodalga	10 ml / 23 gr	De Trey Dentsply (USA)
TAKILON Otopolimerizan	3.5 ml / 5 gr	Rodont (Italy)
Meliodent Otopolimerizan	3.5 ml / 5 gr	Bayer Dental (Germany)

Sitotoksitesi incelenecek farklı yöntemlerle polimerize edilen protez kaide rezinlerinin test örneklerinin hazırlanmasında :

- 1- Beyaz alçı
- 2 - Pirinç mufla
- 3- Fiberle güçlendirilmiş plastik mufla (Acron MC microwavable Flask, GC U.S.A)
- 4- Pembe modelaj mumu (Modelling Wax, Cavex, Holland)
- 5- Mum örneklerin hazırlanmasında kullanılan metal kalıplar
- 6- İzolatör (De Trey, Dentsply, England.)

7- Selefyon kağıdı.

8- Sıcak su polimerizasyon banyosu (Kotterman Labortechnik, Germany)

9- Mikrodalga enerjisi polimerizasyon fırını (100 W, Vestel, Türkiye)



YÖNTEM

Primer İnsan Gingival Fibroblastların Hazırlanması:

Araştırmada primer insan gingival fibroblast (IGF) hücre kültürü kullanıldı. Cerrahi kliniğine ortodontik diş çekimi için gelen bir hastanın çekimini takiben diş çevresinden operatif olarak steril şartlarda alınan gingiva dokusu Fosfat Tampon Solusyonu (PBS) sıvısı içinde laboratuvara ulaştırıldı. Steril bisturi ve makas yardımı ile 1-8 mm³'lük boyutlara küçültülen doku parçaları, bir erlenmayer içine alındı. Antibiyotik içeren PBS ile bir kaç kez yıkanan doku parçalarından fibroblastların elde edilmesi amacıyla enzimatik parçalama tekniği tercih edildi. Daha önce % 1'lik olarak hazırlanan Tripsin enzim solusyonu, PBS yardımıyla son konsantrasyonu % 0.025 olacak şekilde sulandırıldı. Enzim solusyonu doku parçalarının yüzeyini kaplayacak hacimde erlenmayer içine aktarıldıktan sonra, sistem daha önceden 37°C ye ayarlanmış su banyosunda 30 dakika süreyle beklemeye bırakıldı. Bu zaman süresince her 10 dakikada bir 15-20 sn süre ile vorteksleme işlemine tabi tutulan sistemde, doku parçalarından hücrelerin serbest kalışı takip edildi. Süre sonunda doku parçaları erlenme kalacak şekilde bir santrifüj tüpüne aktarılan tripsin solusyonu içindeki hücreler 800-1000 devir/dakika da 10 dakika süre ile santrifüj edilerek, tüp dibinde toplandı. Süpematant konumundaki tripsin solüsyonunun uzaklaştırılmasını takiben, hücre pelleti % 20 Fötal Dana Serum (FDS) içeren Dulbecco's Modified Essential Medium (DMEM) içinde 250.000 hücre/ml olacak şekilde sulandırıldı. Hücreler in vitro kültür için 25 cm² tabanlı hücre kültürü şişelerine (Flask) yerleştirilerek 37°C de inkube edildi.

Kültüre Edilen Hücrelerin Devamlılığı ve Subkültür :

Kültür ortamında 24 saatlik mikroskop kontrolleri ile 48 saat sonra hücre çoğalması tespit edilen IGF hücrelerinin sayısal olarak artırılması amacıyla subkültürleri yapıldı. Kültür ortamındaki hücre üretme medyumunu uzaklaştırıldıktan sonra Versen - tripsin solusyonu ile hücre yüzeyleri yıkandı. Hücrelerin üzerine tekrar aynı solüsyon ilave edilerek, hücrelerin flask zemininden ayrılması amacıyla 37°C' de 3-5 dakika beklendi. Hücre üretme medyumunu içinde 100.000 hücre/ml olacak şekilde süspanze edilen hücreler, ilave flasklara aktarıldı veya test sistemlerinde kullanılmak üzere değerlendirildi. İhtiyaç fazlası IGF hücreleri daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere, 300.000 hücre/ml olacak şekilde % 50 FDS içeren DMEM içinde süspanze edildikten sonra, % 10 Dimetil sülfosit (DMSO) ilavesiyle donduruldu. Hücreler -80°C' de saklandı.

Farklı yöntemlerle polimerize olan protez kaide rezinlerinin monomerlerinin (likitlerinin) biyolojik uyumlarının araştırılma yöntemi:

Akril monomerlerinin hücre kültürleri üzerindeki toksik etkileri her örnekten hazırlanan farklı sulandırmalara ait inokulasyonlardan sonra takip edildi. Bu amaçla daha önce hazırlanan ve subkültürleri yapılan hücre kültürü medyumunu içinde 1/10 dan başlamak üzere, 10'ar katlı 6 basamak sulandırmalar hazırlandı. Elde edilen sulandırmalar inokulasyon öncesi 0.45 nm por büyüklüğündeki milipor filtrelerden süzülerek sterilize edildi. Elde edilen süzüntüler daha önce IGF hücre kültürü üretilmiş 24 gözlü makro tabletlere inokule edildi. Bu amaçla her örnek için 1 adet tablet kullanıldı. Her monomere ait hazırlanmış olan 6 basamak sulandırmadan 4 er adet tablet gözündeki hücre kültürü

medyumu içine 100 µl hacimde inokule edildi. Değerlendirmeler inokulasyonu izleyen 3. 6.

12. 18. ve 24. saatlerde mikroskop kontrolleri ile yapıldı.

Farklı yöntemlerle polimerize edilen akrilik rezinlerin biyolojik uyumunun incelenmesi için primer insan gingival fibroblast hücre kültürü kullanılmış ve deney gruplarının değerlendirilmesi amacıyla 3 farklı hücre kültürü test yöntemi seçilmiştir.

1- Agar overlay testi

2- Milipor Filtre'den yayılım testi

3- ³H Thymidine kullanım testi

Agar Overlay Test Yöntemi :

Test ISO standartları no: 7405'de bildirildiği yönteme göre yapıldı. Bu amaçla, 100 mm çaplı petri kutularına 1.5×10^5 hücre/ml olacak şekilde % 10 FDS içeren DMEM içinde sulandırılan IGF hücrelerinden 15 ml hacimde konuldu. Hücrelerin çökmesi ve petri zeminine tutunması için kırıdatmaksızın 30 dakika süreyle laboratuvar masası üzerinde beklemeye bırakılan petri kutuları, süre sonunda, 37°C' lik ve % 5 CO₂ içeren etüvlerde inkubasyona bırakıldı. Yapılan 24 saatlik mikroskop kontrollerinde monolayer hücre üremesi tamamlanan petriler testte kullanıldı.

% 2' lik olarak hazırlanarak otoklavda steril edilen Noble agar ve 2X DMEM 'un sıcaklıkları 42°C' ye ayarlandıktan sonra eşit hacimlerde karıştırıldılar. Bu karışım, üzerindeki vasatı tamamen aspire edilen ve yüzeyleri PBS ile yıkanan petri kutularında üretilmiş IGF hücreleri üzerine 15 ml hacimde yayıldı. Yarı katı vasat özelliğinde olan bu aganın, hücreler üzerinde donması için laboratuvar ısısında 20 dakika beklendi. Daha sonra

her örnek için bir petri hücre kullanılmak üzere, aşağıda gösterilen protokol uyarınca numune ve kontroller agar yüzeyine, agarda perforasyon yapmadan yerleştirildi. Pozitif kontrol (Toksik) olarak 1 M Amonyum Molibdat çözeltisi steril kurutma kağıdı disklerine emdirilerek agar yüzeyine yerleştirilirken, negatif kontrol amacıyla steril distile su emdirilmiş eşit büyüklükteki kurutma kağıdı diskleri kullanıldı.

Nemli ortamda ve % 5 CO₂' li etüvde inkube edilen sistem, hücresel toksisitenin izlenebilmesi için 4 gün süre ile mikroskopik ve makroskopik kontrollere tabi tutuldu. Süre sonunda bulguların doğrulanması amacıyla, üzerindeki agar tabakası uzaklaştırılan hücreler Giemza ile boyanarak mikroskopta (Inverted tissue culture microscope) incelendi ve hücre bazında toksisite belirtileri arandı.

Milipore Filtre Yayılım Test Yöntemi:

Test ISO standartları no: 7405'de bildirdiği yöntemle göre yapıldı. Testin gerçekleştirilmesi amacıyla 60 mm çaplı plastik petri kutularına % 10 FDS içeren DMEM içinde $1,5 \times 10^5$ hücre/ml olacak şekilde hazırlanmış IGF hücrelerinden 6 ml hacimde konu ve hücrelerin petri zeminine çöküp tutunmaları için kırıdatmaksızın 20 dakika süre ile beklendi. Süre sonunda % 5 CO₂ etüvde 24 saat süreyle inkubasyona terk edildi. Yeterli hücre üremesinin saptandığı anda etüvden alınan petri kutuları içindeki hücre üretme vasatı uzaklaştırıldıktan sonra hücre yüzeyleri PBS ile yıkandı. Daha önceden petri çapına uygun büyüklükte kesilerek otoklavda steril edilen 0.60 nm por büyüklüğüne sahip selüloz asetat membran filtreler ıslatılmış oldukları vasat içinden steril bir pens ile alınarak petri kutuları içinde üretilmiş olan hücrelerin yüzeyine dikkatlice yerleştirildi. Bunu takiben membran filtre üzerine hücrelerin beslenmesi amacıyla idame vasatından (% 10 FDS içeren DMEM) 6 ml hacimde konuldu. Her test numunesi için altı petri kutusu kullanmak kaydı ile standart büyüklükteki test maddelerinden membran filtreler üzerine düzenli olarak yerleştirildi ve ileri inkubasyon için sistem % 5 CO₂ içeren 37°C'lik ortama bırakıldı. Örneklerle ilgili toksisite

kontrolleri inokulasyonu izleyen 6, 12, 24, 36, 48 ve 72. saatlerde test sistemlerindeki membranların uzaklaştırılarak, hücrelerin mikroskopta incelenmesiyle gerçekleştirildi. Test sırasında ayrıca kullanılan membran filtrelerle ilgili olası toksisite kontrolleri de yapıldı.

³H-Thymidine Kullanım Test Yöntemi :

Test mikro sistemde, ISO standartları no: 7405'de bildirilen yöntemde bazı modifikasyonlarla gerçekleştirildi.

Mikrotablet gözlerine, her tablet gözüne 1×10^5 IGF hücresi düşecek şekilde sulandırılan hücre süspansiyonundan 100 µl hacimde yerleştirildi. Bu işlemi takiben tablet gözlerine uygun hacimlerde hazırlanmış örneklerden her hücre konsantrasyonu için 6'şar adet olacak şekilde örnekler yerleştirildi. Sistem 72 saat süreyle 37°C' lik % 5 CO₂ içeren etüvde inkube edildi. Süre sonunda tablette kullanılan her göze 0.5 µcourie dozda ³H-Thymidine ilave edilerek, daha önce belirtilen şartlarda 18 saat süreyle daha inkübasyona devam edildi. Inkübasyon sonunda süpernatant ve örnekler uzaklaştırılarak her gözde bulunan IGF hücreleri % 0.25 tripsin solüsyonu ile tablet zemininden ayrıldı. Cell-harvester'da toplanan hücreler, fiberglas filtre kağıtlarına emdirildikten sonra kurutuldu. 6 ml sintilasyon kokteyli (PPO, POPOP ve toluen) ile muamele edilen numunelere ilgili değerler, β-counter'da cpm (count per minute) olarak kayıt edildi.

Örneklerin Hazırlanma Yöntemi:

Farklı yöntemlerle polimerize olan akrilik rezinlerden agar overlay millipore filtre ve ³H-Thymidine kullanım test yöntemleri için 1 cm çapında 2 mm kalınlığında 108 adet örnek disk hazırlandı. ³H-Thymidine kullanım testi için mikro tabletlere yerleştirilebilmesi amacıyla her bir test materyalinden 6'şar adet olmak kaydıyla 36 adeti 4 mm çapında 1 mm kalınlığında olacak şekilde küçültülmüştür.

Bu örnek şeklinin seçiliş nedenleri:

1. Bir total ya da parsiyel protezde var olan minimum kalınlığa çok yakın olması
2. Tam polimerizasyona izin vermesi
3. Hazırlanan vasatın örnekleri tamamen kaplamasına izin vererek deney sistemine uyum sağlamasıdır.

A- Mikrodalga ve ısı ile polimerize olan protez kaide rezini (ACRON MC):

1.Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon : Bu yöntem kullanılarak her bir test yöntemi için 6'şar tane olmak üzere 1 cm çapında 2 mm kalınlığında 18 adet diskin mum örnekleri metal kalıplar yardımıyla hazırlandı ve bilinen klasik yöntemle özel fiberle güçlendirilmiş plastikten yapılmış mikrodalga muflasına alındı. Mufladan, mumların uzaklaştırılmasından sonra Acron MC akriliği cam bir kap içersinde toz-likit oranı 100 gr: 43 ml. olacak şekilde karıştırılıp, bu karışım 25°C'de 20 dk'lık ön polimerizasyon sağlandıktan sonra hamur kıvamına gelen akrilik mufladaki örnek boşluklarına uygulandı. İki kez tekrarlanan prova işleminden sonra birikt görevini yapmak üzere ,özel üç adet silikon bronzdan yapılmış vida muflaya vidalandı. Bu şekilde 2450 MHz.'de 500 W'taki mikrodalga fırınına yerleştirildi. 3 dk'lık ışınlama uygulandı.Fırından çıkarılan muflalar oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı Bu şekilde elde edilen akril örneklere tesviye ve polisaj işlemi uygulandı.

2. Isı (Konvansiyonel) ile polimerizasyon :

Bu yöntemle 1 cm çapında 2 mm kalınlığında 18 adet örnek diskin mum örnekleri metal kalıplar yardımıyla şekillendirilmiş ve bilinen klasik yöntemle pirinç muflalara alınarak akril tepimime hazır hale getirilmiştir. Daha sonra Acron MC akriliği cam bir kap içersinde toz likit oranı 100 gram : 43 ml. olacak şekilde karıştırılıp bu karışım 25°C de 20 dakikalık ön polimerizasyon sağlandıktan sonra pirinç muflalar içersindeki örnek boşluklarına uygulandı.

İki kez tekrarlanan prova kapanışından sonra 10 dakikalık presleme yapıldı, sonra birite alınarak 70°C de ki su banyosuna konuldu. Suyun kaynama derecesine ulaşması beklendi. 25 dakika kaynar su sıcaklığında bekletildi. Bu şekilde elde edilen akril örneklere tesviye ve polisaj işlemi uygulandı.

B. Isı ile polimerize olan protez kaide rezini (QC-20):

1- Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yöntemi kullanılarak: Daha önce belirtilen sayı ve şekilde hazırlanan örnekler mikrodalga muflasına alınarak akril tepimine hazır hale getirilmiştir. De Trey's QC. 20 toz likit oranı hacim / ağırlık 10 ml: 23 gr olacak şekilde hazırlanıp 20 dk. ön polimerizasyon için bekletildikten sonra, hamur kıvamına gelen akrilik mufladaki örnek boşluklarına uygulandı. İki kez prova kapanışı yapıldı. Daha sonra brit görevini yapmak üzere, özel üç adet silikon bronzdan yapılmış vida muflaya vidalandı. 2450 MHz'de 500 W'taki mikrodalga fırınına yerleştirildi. 3 dk. lık ışınlama uygulandı. Fırından çıkarılan muflalar oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Bu şekilde elde edilen akril örneklerine tesviye polisaj işlemi uygulandı.

2. Isı (Konvansiyonel) ile polimerizasyon: Bu yöntemle daha önce belirtilen şekil sayıda hazırlanan örnekler pirinç muflalara alınarak akril tepimine hazır hale getirilmiştir. De Trey's QC-20 20°C de toz likit oranı hacim/ağırlık 10 ml: 23 gr olacak şekilde hazırlanıp 20 dk. ön polimerizasyon için bekletildikten sonra, tepilme kıvamına gelen akrilik mufladaki örnek boşluklarına uygulandı. İki kez prova kapanışı yapıldı. Britte alındıktan sonra mufla kaynar suya batırılarak, suyun tekrar kaynama ısısına gelmesi beklenip bu andan itibaren 20 dk. kaynatıldı. Bu işlemden sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Mufladan çıkarılan örneklere tesviye polisaj işlemi uygulandı.

C.Kimyasal olarak polimerize olan rezin :

Takilonun daha önce belirttiği şekilde hazırlanan mum örnekleri pirinç muflaya alındıktan sonra akril tepimine hazır hale getirilmiştir. 23°C de toz/likit oran 5/3,5. olacak şekilde cam kaptaki karıştırılarak hazırlandı. 2 dk'lık manipulasyon süresi içinde mufladaki

mek boşluklarına uygulandı. Polimerizasyon 14 dk. tamamlandı. Mufladan çıkanlan meklere tesviye polisaj yapıldı.

Meliodent akrilik rezini, daha nce belirtildiği şekilde hazırlanan mum mekler pirinç muflaya alındıktan sonra akril tepimine hazır hale getirilmiştir. 23°C de Toz likit oranı 5 kısım toz, 3,5 kısım likit olacak şekilde cam kapta karştırılarak hazırlandı. 3 dk'lık maniplasyon sresi içinde mufladaki meklerin boşluklarına uygulandı. Polimerizasyon 14 dakikada tamamlandı. Mufladan çıkanlan meklere tesviye, polisaj yapıldı.



BULGULAR

Hücre Kültürü :

Laboratuvar çalışmaları sırasında hazırlanan İGF hücre kültürünün yüksek üreme potansiyeline sahip bir hücre hattı olduğu gözlemlendi. Tez çalışmaları sırasında hücrenin 9 kez subkültürü yapıldı.

Monomerlerin Toksisite Özellikleri :

Dört ayrı akril monomerinden 1/10 'dan başlamak üzere 10'ar katlı altı basamak sulandırılmış numune hazırlandı. Bunlar hücre kültürü vasatı içine uygulanarak protez kaide rezinlerinin monomerlerinin hücre kültürleri üzerindeki toksik etkileri değerlendirildi.

Yapılan kontroller neticesinde test edilen dört monomerin farklı zamanlarda da olsa hücreler üzerine toksik etkilerinin olduğu tespit edildi. Boyanan preparatlarda, yapılan sitopatolojik değerlendirme sonucunda temel toksisite bulgusu olarak nukleus hiperkromazisi tesbit edildi. Bu bulgu hücre ölümüne neden olan kromatin fragmantasyonu olarak tanımlandı. Akril çözücülerinin zamana bağlı olarak tespit edilen toksisite yüzdeleri aşağıdaki tabloda sunulmuştur.

ISS *	Sulandırma	MONOMERLERDE % TOKSİSİTE**			
		ACRON MC	QC - 20	TAKILON	MELİODENT
3	10 ⁻¹	100	25	25	25
	10 ⁻²	50	-	-	-
	10 ⁻³	-	-	-	-
	10 ⁻⁴	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	-	-	-	-
6	10 ⁻¹	100	50	100	100
	10 ⁻²	100	-	25	-
	10 ⁻³	25	-	-	-
	10 ⁻⁴	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	-	-	-	-
12	10 ⁻¹	100	100	100	100
	10 ⁻²	100	100	100	100
	10 ⁻³	100	25	100	50
	10 ⁻⁴	50	-	-	25
	10 ⁻⁵	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	-	-	-	-
18	10 ⁻¹	100	100	100	100
	10 ⁻²	100	100	100	100
	10 ⁻³	100	100	100	100
	10 ⁻⁴	100	50	50	100
	10 ⁻⁵	100	-	25	50
	10 ⁻⁶	100	-	-	25
24	10 ⁻¹	100	100	100	100
	10 ⁻²	100	100	100	100
	10 ⁻³	100	100	100	100
	10 ⁻⁴	100	100	100	100
	10 ⁻⁵	100	100	100	100
	10 ⁻⁶	100	100	100	100

* ISS : İnokulasyon sonrası saat

** - $\frac{\text{Toksik göz sayısı} \times 100}{\text{Kullanılan göz sayısı}}$

Üçüncü saat sonunda 10^{-1} sulandırmada ACRON-MC 'nin monomerinde %100'lük toksisite (Resim-4) görülmesine karşın QC-20 ,Takilon ,Meliodent monomer numunelerinde % 25 'lik toksisite (Resim-2) bulgusu saptandı. Üçüncü saatin sonunda 10^{-6} sulandırmada dört akril monomerinin hiç birinde toksisite bulgusuna rastlanmadı (Resim-1)

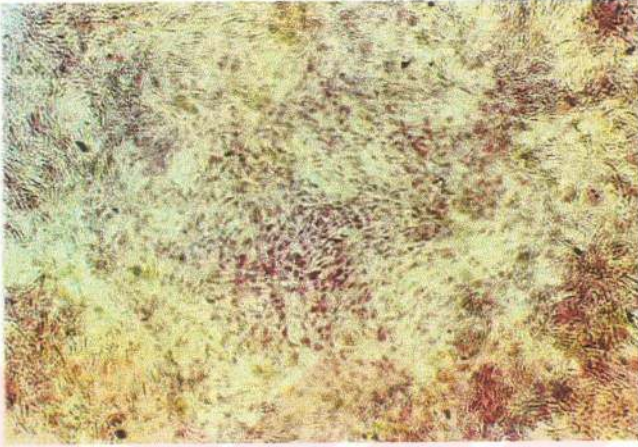
Altıncı saat sonunda 10^{-1} sulandırmada ACRON MC monomerinde de % 100 ,QC-20 'de %50 (Resim-3), Takilon ve Meliodent 'te % 100'lük toksisite gözlemlendi.Altıncı saatin sonunda 10^{-6} 'lık sulandırmada akril monomerlerinde toksik bulguya rastlanmadı.

On ikinci saat sonunda 10^{-1} sulandırmada dört akril monomerinde de % 100'lük toksisite gözlenirken ,sulandırma oranları arttıkça toksik özellikleri azalmıştır. 10^{-3} sulandırmada ACRON MC %100, QC-20 %25 ,Takilon %100,Meliodet % 50 , 10^{-4} sulandırmamada ACRON-MC % 50 ,Meliodent %25 toksisite bulgusu vermiş QC-20 ve takilon monomerlerinde toksisite gözlenmemiştir. 10^{-5} ve 10^{-6} oranındaki sulandırma numunelerinin hiç birinde toksisite gözlenmemiştir.

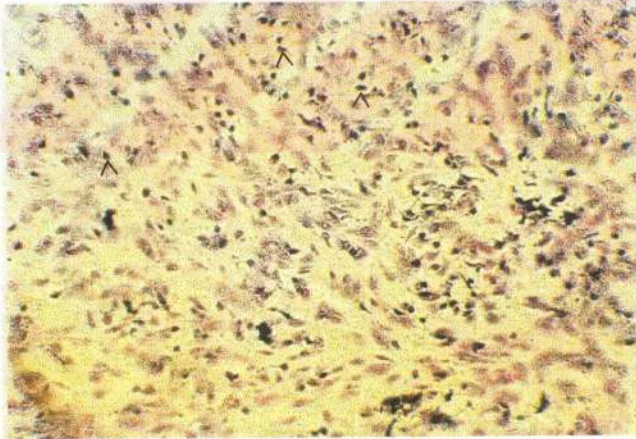
On sekizinci saat sonunda yapılan incelemede 10^{-1} sulandırmada akril monomerlerinin tümünde %100 'lük toksisite izlenmiştir. Bu oran 10^{-4} sulandırmada QC-20 ve takilonda %50 'ye düşmüş , 10^{-5} sulandırmada ACRON MC %100'lük toksisite oranını korurken ,bu oran Meliodent'te %50 'ye ,Takilonda %25'e inmiş, QC-20'de ise toksisite görülmemiştir. 10^{-6} sulandırmada ACRON MC % 100'lük toksik özelliğini korumuştur.QC 20 ve Takilonda toksik bulgu yokken Meliodet'te de oran % 25 'e düşmüştür.

Yirmi dördüncü saatte akril monomerlerinin tümü farklı sulandırmalarda % 100'lük toksisite bulgusu vermiştir.

Araştırmamızda protez kaide rezinlerinin monomerlerinin toksisite değerleri sulandırma oranı arttıkça azalma göstermiş,ancak yirmi dördüncü saatin sonunda toksisite değerleri eşitlenmiştir.



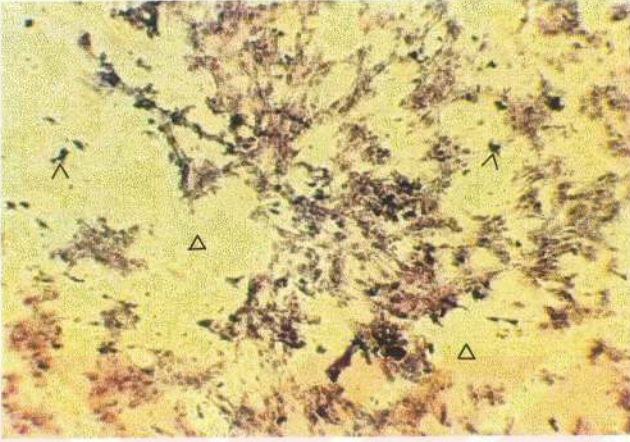
Resim-1 : Sağlıklı İGF hücre kültürü (Giemsa boyama x 250)



Resim-2 : %25 toksik bulgu belirlenen İGF hücre kültürü

(Giemsa boyama x 250 immersion)

>Nukleus hiper kromazisi

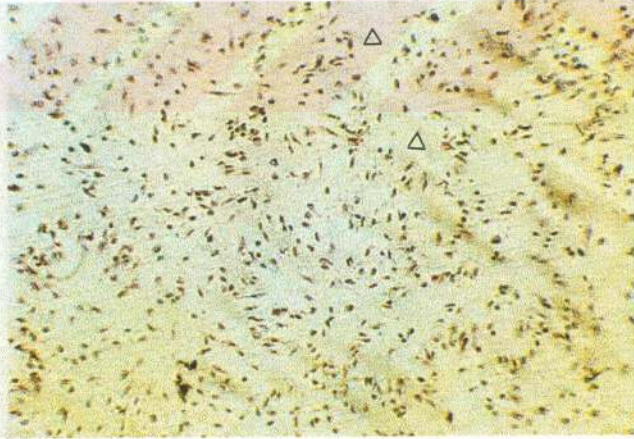


Resim-3 : %50 toksik bulgu belirlenen İGF hücre kültürü

(Giemsa boyama x 250 immersion)

>Nukleus hiper kromazisi

Δ Hücrelerin döküldüğü alan

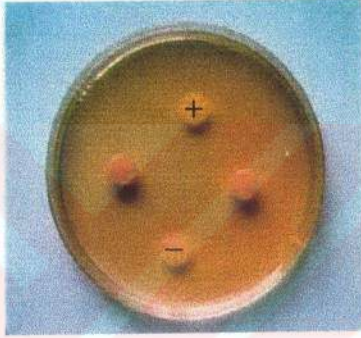


Resim - 4 : %100 toksik bulgu belirlenen İGF hücre kültürü (Giemsa boyama x 250)

Δ Hücrelerin yaygın olarak döküldüğü alan

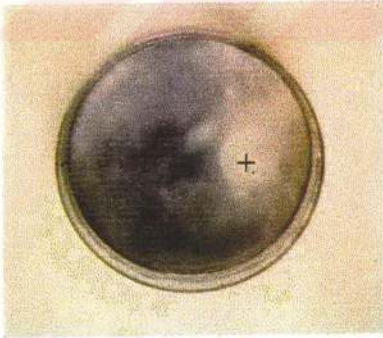
Agar Overlay Testi :

Bu test neticesinde 12'şer saat aryla 4 gün süre ile kontrol edilen polimerize olmuş protez kaide rezin disk örneklerinin hiç birisinde toksisite bulgusu saptanamadı. Pozitif kontrol (TOKSİK) olarak kullanılan 1 M Amonyum Molibdat çözeltisi emdirilmiş kurutma kağıdına ait bölgedeki hücrelerde ise % 100 oranında toksik etki bulunmuştur.



Resim – 5 : Agar overlay yönteminde örneklerin yerleştirilmesi

+ , - kontrol test örnekleri



Resim – 6 : Agar tabakası kaldırıldıktan sonra + kontrol (Amonyum molibdat)

altındaki hücrelerde görülen zon

Millipore Filtreden yayılım Testi :

0.60 nm por ölçüsüne sahip selüloz asetat membran filtre ile hücre yüzeyinden ayrılan numunelerin 72 saat süren kontrolleri sonunda numunelere ait petri kutularının hiç birisinde hücresel toksisite bulgusuna rastlanmadı.

³H-Thymidine Kullanım Testi :

Bu teknik ile gerek iki farklı yöntem (konvansiyonel ve mikrodalga) kullanılarak hazırlanan test örnekleri gerekse otopolimerizan akril örneklerinde farklı bulgular elde edildi. β sayıcısından okunan verilerin değerlendirmelerinde, ACRON-MC'nin mikrodalga ve konvansiyonel olarak ısı ile polimerize edilmiş örneklerinde, Meliodet (otopolimerizan) akril örneklerinde kontrol test gözlerine oranla önemli derecelerde hücresel inhibisyon saptandı. QC-20 (mikrodalga ve ısı ile polimerize edilmiş) ve Takilon (otopolimerizan) isimli ürünlerin test edildiği sistemlerde ise önceki bulguların aksine hücre proliferasyonu şeklinde yorumlanabilecek rakamsal veriler elde edildi. Bu testle ilgili veriler aşağıdaki tabloda sunulmuştur.

Test Materyali	n	Ortalama cpm	S	% İnhibisyon***
ACRON- MC Isı (Konvansiyonel) Yöntemi	6	530.3	± 2.76	16
Kontrol	6	619.3	± 6.23	
ACRON- MC Mikrodalga Yöntemi	6	521.3	± 8.07	22
Kontrol	6	635.3	± 8.97	
QC 20 (Konvansiyonel) Isı Yöntemi	6	265.3	± 7.81	-25
Kontrol	6	198.3	± 12.79	
QC 20 Mikrodalga Yöntemi	6	285.3	± 4.98	-13
Kontrol	6	248.3	± 11.13	
Meliudent	6	234.3	± 8.50	7
Kontrol	6	250.3	± 9.92	
Takilon	6	501.3	± 13.02	-53
Kontrol	6	233.3	± 6.84	
Toksik (Amonyum Molibdat)Negatif Kontrol	6	157.3	± 8.16	12.4
Kontrol	6	352.3	± 10.3	

* n = Kullanılan göz sayısı

** S = Standart Sapma

*** % İnhibisyon = $\frac{K-N}{N} \cdot 100$

N

TARTIŞMA

Akrilik rezinler ; günümüzde protetik tedavide en çok kullanılan kaide materyalleridir. Genellikle akrilik kaide yapımında ısı (konvansiyonel) ile polimerize olan akrilikler kullanılmaktadır. Protez kaide plağı yapımında kullanılan bu akrilik rezinlerin allerjik reaksiyonlara neden olabilen artık monomer miktarı, boyutsal stabilite değişiklikleri ve klinik kullanım ömrünün kısa olması gibi olumsuz özellikleri araştırmacıları daha iyi özellikli akrilik rezinler ve polimerizasyon yöntemleri geliştirmek üzere çalışmalara yöneltmiştir.

Son yıllarda popülerlik kazanan mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik rezinlerin, daha homojen kitle oluşturduğu dokulara daha iyi uyum sağladığı, polimerizasyon süresi bakımından çok ekonomik olduğu ileri sürülmüştür. İlk kez 1968 yılında Masamichi Nishiio tarafından denenen tekniğin konvansiyonel ısı ile polimerizasyon yöntemine oranla belirli mekanik üstünlüklere sahip olduğu ileri sürülmekte, konu ile ilgili araştırmalar devam etmektedir ^{9, 16,17,19} .

Kimyasal olarak polimerize olan akrilik rezinler, genellikle tamir akriliği olarak kullanımının yanı sıra kaide akriliği olarak da kullanılabilir. Bunlar temelde ısı ve mikrodalga ile polimerize olan akrilik rezinlere benzer bir yapı göstermelerine karşın reaksiyon başlatıcı ajan benzoil peroksidin serbest radikaller oluşturmalarının kimyasal bir aktivatörle sağlanması ile farklılık göstermektedir^{1,2,4} .

Kimyasal olarak polimerize olan rezinlerin partikül yapıları düzensizdir. Düşük molekül ağırlıklı polimer partiküllerinin oranı daha fazla olduğu için yapısı daha zayıf ve esnektir. Daha kısa zamanda plastik deformasyona uğrarlar. Polimerizasyonları hızlıdır ancak tam olmadığı için polimerizasyondan sonra değişik oranlarda artık monomer saptanmıştır ^{1,2,3,4,5,6,77,78,79,80,81} .

Gelişen teknolojiye ve farklı gereksinimlere bağlı olarak giderek çeşitlilik kazanan protez kaide rezinlerinin sahip olması gereken en önemli özelliklerden bir tanesi, temas edecekleri, içinde yer alacakları biyolojik çevre ile uyumlu olmalarıdır. Kullanıma sunulan

protez kaide rezinlerinin kullanım klavuzlarında genellikle fiziksel özelliklerine ilişkin bilgiler bulunurken, klinik açıdan önemli olan biyolojik uyumluluk, allerjenite potansiyeli gibi özellikler bildirilmemektedir. Oysa ki protez kaide rezinlerinin toksik, karsinojenik ve allerjik potansiyele sahip olduğuna ilişkin yayınlar mevcuttur ^{8,23,24,26,27,35,38 82,83,84,85,86,87,88,89,90,91}.

Ülkemizde rutin olarak kullanılan farklı yöntemlerle polimerize olan protez kaide rezinlerinin biyolojik uyumlarını araştıran kapsamlı bir çalışma bulunmaması göz önünde bulundurularak, bu konudaki eksikliğin giderilmesi amacıyla bu araştırma planlanmıştır. Farklı yöntemlerle polimerize olan dört değişik protez kaide rezinin önce monomerlerinin hücre inokülasyonu ile, daha sonra polimerize edilmiş protez kaide rezinlerinin biyolojik uyumları hücre kültürü yöntemi olan agar overlay, millipore filtre ve ³H-Thymidine kullanım testleri ile araştırılmıştır.

Kimyasal toksisitenin belirlenmesinde hayvan deneklerin kullanımı, bir ya da birkaç deneğe pekçok işlemin bir arada uygulanmasını gerektirmektedir. Bu testler biyolojik etkileşimler sonucu anlamlı sonuçlar vermemektedir. Hayvan deneklerinin kullanımı, işlem sayısının azaltılabildiği durumlarda yararlı olmaktadır. Ayrıca son yıllarda bilimsel araştırmalarda hayvan deneklerin kullanımı toplumlar tarafından sorgulanmaktadır. Aynı şekilde bu seviyede insan deneklerin kullanımı belirgin etik sorunları beraberinde getirmektedir ^{43,46,49,56,92}.

Ağızda yeni uygulandıkları durumda, henüz tam olarak polimerize olmamış materyallerin test hücreleri ya da dokuları ile herhangi bir immünolojik etkileşim olmadan teması, gerçek akut kimyasal toksisitenin belirlenmesinde yararlı olmaktadır. Bu da, hücre kültürü test yöntemlerinin kullanımı ile sağlanabilir ⁴³.

Hücre kültürü test yöntemleri, belirli laboratuvar şartlarında kesin kurallar dahilinde gerçekleştirilebilmektedir. Bu nedenle kontrol edilebilme olanakları yüksektir ve tekrarlanabilme özellikleri vardır. Ayrıca sonuçlar daha kısa sürede alınabilmektedir ^{43,56,92}.

Browne ⁴³, hücre kültürü tekniklerinin biyolojik uyumun tespitinde, erken toksisitenin belirlenmesinde kullanımını tavsiye etmiştir.

Kawahara ve arkadaşları ⁴¹ hücre kullanılan in vitro metodların kontrol edilebildiğini ve yüksek istatistiksel bilgi verdiğini bildirerek klinik kullanımdan önce dental materyallerin analitik – biyolojik cevaplarının in vitro çalışmalarla tespit edilmesi gerektiğini belirtmiştir.

Dişhekimliğinde kullanılan materyallerin çeşitli özelliklerinin araştırılmasında farklı yöntemlerin kullanılması elde edilen bulguların değerlendirilmesinde ve birbiri ile karşılaştırılmasında güçlükler neden olmaktadır. Dental materyallerin özelliklerinin incelendiği özel raporların hazırlanması bu güçlüklerin büyük oranda ortadan kalkmasını sağlamıştır. Bu nedenle araştırmamızda 1984 yılında Federation Dentaire Internationale (FDI) ve International Organization For Standardization (ISO) tarafından hazırlanan 7405 no'lu teknik rapordan yararlanılmıştır.

Test yöntemi olarak, bu raporda ön görülen agar overlay, millipore filtre ve modifiye edilmiş ³H- Thymidine kullanım hücre kültürü yöntemleri seçilmiştir. Bu test yöntemlerinde hücre materyal teması farklı yöntemlerle sağlanmaktadır. Agar overlay yönteminde hücreler ile materyallerin arasında materyallerden ayrışabilen maddelerin içersine diffüze olabildiği geçirgen bir agar tabakası vardır. Millipore filtre yönteminde hücreler ile materyal arasında 0,45 mL'lik filtre porları bulunmaktadır. Materyallerden ayrışabilen maddelerin hücreler üzerinde herhangi bir toksik etki oluşturabilmesi için filtre porlarının içine diffüze olması gerekmektedir. ³H-Thymidine kullanım yöntemi ise, doğrudan hücre materyal temasını gerektirmektedir. Temas şekillerindeki bu farklılık materyallerin farklı uygulamalarında biyolojik uyumlarının değerlendirilmesinde yararlı olmuştur.

Araştırmamızda kullanılan her üç yöntemde de toksisite materyallerin hücre membranı permeabilitesi üzerine yaptıkları etki ile değerlendirilmektedir. Agar overlay yönteminde bu etkinin tespiti canlı hücrelerin vital boya ile boyanması yoluyla yapılırken

millipore filtre yönteminde hücre materyal temas sahasında ortaya çıkan test hücreleri skorlanmakta, skora boyanan alanın koyuluk değerine, çapına, genişliğine, etkilenen alana göre değişim göstermektedir. ³H-Thymidine kullanım yönteminde hücrelerin permeabilite değişikliğine bağlı olarak hücre dışına çıkan radyo aktif madde miktarı ölçülmektedir. Aynı etkinin farklı yöntemlerle tespiti yöntemlerin hassasiyetleri konusunda karşılaştırılmalı bilgi edinilmesini sağlamıştır.

Protezin yerleştirilmesinden sonra alttaki epitelin ülserasyonu söz konusu olduğunda bu hücreler protez kaide rezinleriyle karşı karşıya kaldıkları için insan gingival hücrelerinin kullanımı tercih edilmiştir. Araştırmamızda hassasiyetleri nedeni ile primer gingival fibroblast hücre kültürleri kullanılmıştır. Her üç yöntemde de aynı hücre tipinin kullanımı hassasiyet dereceleri değişik olan farklı tipte hücre kültürlerinin sonuçlarda farklılık oluşturmamasını sağlamıştır.

Araştırmacılar dental materyallerin sitotoksitesinin değerlendirilmesi amacıyla ³H-Thymidine test yöntemini ve insan gingival fibroblast hücrelerinin kullanımını önermişlerdir ^{26,54,74,93,94}.

Thomas ve arkadaşları ⁴⁷ (1985) hamsterların yanak poşlarına yerleştirdikleri polikarbonat rezin,vinyl rezin ve akrilik rezin disklerin biyolojik uyumlarını incelemişlerdir. Resin disklerin yerleştirildiği poşun mukoz membranı üzerinde yaptıkları incelemelerde rezinlerin hiçbirinin önemli reaksiyon göstermediklerini ortaya koymuşlardır. Ancak polikarbonat rezin ve vinil rezinin histopatolojik kriterler üzerinde akrilik rezinden daha iyi doku uyumu gösterdiklerini belirtmişlerdir. Polivinilklorit ve akrilik rezinin her ikisini gösterdikleri inflamasyon yoğunluğunun eşit olduğunu vurgulamışlardır. Sonuçlar için olası açıklamayı artık monomer ve akrilik rezinin pişirilme yöntemi ile ilişkilendirmişlerdir.

Stysiak ¹² (1980) %99'luk saf metil metakrilat ile protetik akrilik materyalin monomerinin sitotoksitesine 11 günlük civciv embriyo kalplerinden alınan embriyonel fibroblast hücreleri üzerinde değerlendirmiştir. Protetik monomeri, saf monomere oranla

oldukça sitotoksik bulmuştur. Bunu da protetik monomer içersindeki katkı maddelerine bağlamıştır.

Köküslü ve arkadaşları⁹⁵ (1993) saf metil metakrilatın üç farklı konsantrasyonun sitotoksik etkisini fibroblastlar üzerinde araştırmışlardır. Metil metakrilatın dozuyla artan oranda sitotoksik etkiden söz etmişler, protetik açıdan fazla orandaki artık monomerin doku reaksiyonu başlatma olasılığını vurgulamışlardır.

Aydın ve arkadaşları⁹⁶ (1991) bir konvansiyonel otopolimerizan tamir akriliğine ve ağız ısısında polimerize olan iki sert astar maddesine ait üç akrilik monomerinin sitotoksitesini fibroblast hücre kültürleri üzerinde araştırmışlardır. Üç akril monomerinin de kuvvetli sitotoksik potansiyele sahip olduklarını ve test maddeleri arasında sitotoksite derecesi yönünden önemli bir farklılık bulunmadığını ortaya koymuşlardır. Aydın ve arkadaşları otopolimerizan tamir akril likiti olarak Takilon ürününün monomerinin sitotoksitesini değerlendirmişlerdir. Takilon monomerinin ilk 18 saatin sonunda %0.1 lik konsantrasyonda bile %100 sitotoksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu sonuçları, çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla aynı doğrultudadır.

Protez kaide rezin monomerlerinin toksik özelliğini ortaya koyan çalışmalarda, monomerlerin toksik özellik taşıdığına ilişkin görüş birliği dikkat çekmektedir.

Yaptığımız çalışmada üç farklı yöntemle polimerize edilen, dört farklı protez kaide rezinin monomerlerinin tümünün, farklı sulandırma ve zaman periyotlarında sitotoksik etkiye sahip olduğu, sitotoksite derecesi yönünden test örnekleri arasında önemli farklılık bulunmadığı görülmüştür.

Önceki çalışmalar saf metil metakrilatın, protetik akril monomerine oranla çok daha az sitotoksik özellik gösterdiğini ortaya koymuştur^{14,29}.

Test ettiğimiz protez kaide rezinlerinin monomerlerinde görülen sitotoksite, saf metil metakrilata ilave edilen çapraz bağlantı ajanları (glikol dimetakrilat, tretilen, tetraetilen) ve inhibitör maddelere (hidrokinon) bağlı olarak geliştiğini düşündürmektedir.

Akrilik rezin kaideli protez kullanan hastalarda, bazen protezle ilişkili mukozal dokularda semptomatik inflamatuvar reaksiyonlar gözlenebilmektedir. Bu tür reaksiyonlar protezin lokal irritasyonuna bağlı travmatik ve kandidal enfeksiyonlar ve sistemik hastalık semptomlarından kaynaklanabildiği gibi protez kaide rezinlerinin neden olduğu toksik nedenlerle de ortaya çıkabilmektedir. Polimetil metakrilat esaslı protez kaide rezinlerinin kullanımı sırasında ortama saldıgı artık monomer yani metil metakrilat, gözlenen bu tür reaksiyonların en önemlisini oluşturur ^{15, 27,32,47,80,81,84,85,88,95,96,97,98,99,100}.

Metil metakrilat tek başına toksik bir maddedir. Bu maddenin çok az bir miktarının bile polimerize olmuş rezin içinde serbest kalması duyarlılığı yüksek olan bireylerde allerjik reaksiyon oluşması için yeterlidir. Ancak bir çok araştırmacıya göre toksisite oluşması için artık monomer miktarının belli limitlerin üzerinde olması gerekmektedir. Bu nedenle değişik analiz yöntemleri kullanılarak farklı yöntemlerle polimerize olan birçok rezinin artık monomer miktarı saptanmaya çalışılmıştır ^{78,79,80,81,83,97,100,101,102,103,104,105,106,107}.

Kalıpçılar ve arkadaşları¹⁰⁴ yüksek basınçlı sıvı kromatografi tekniği kullanarak konvansiyonel olarak ısı ile polimerize olan akrilik rezinlerde % 0,23 – 0,52 , oda ısısında kimyasal olarak polimerize olan akrilik rezinlerde ise % 0,22-0,54 oranında artık monomer miktarı saptamışlardır.

Huggett ve arkadaşları¹⁰⁵ (1984) yüksek sıcaklıkta ve uzun süre polimerize edilen akriliklerde 70°C'de 7 saat yada 14 saat gibi uzun süreli polimerizasyonlara, 100°C'de kaynatma işlemi ilave edildiğinde gaz likit kromatografi tekniği ile artık monomer miktarını % 0,19 - 0,26 olarak saptamışlar ve eğer kaynatma yapılamıyorsa yüksek sıcaklıkta kısa süreli polimerizasyonun tercih edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Jerolimov ve arkadaşları¹⁰⁶ (1985) yine 70-C'de 7 saat olarak yapılan uzun süreli polimerizasyona 100°C'de 3 saatlik bir kaynatma eklendiğinde % 0,21 gibi minimal düzeyde bir artık monomer oranını gaz likit kromatografi yöntemi ile tespit etmişlerdir.

Tsuchiya ve arkadaşları⁸³ (1994) ısı, mikrodalga ve kimyasal yolla polimerize olan protez kaide rezinlerinden formaldehit ve metil metakrilat sızıntısını bunların sitotoksik potansiyellerini in vivo ve in vitro olarak incelemişlerdir. Akrilik rezinlerin her üçünde de in vivo ve in vitro şartlar altında formaldehit ve metil metakrilat salındığını ortaya koymuşlar; ancak önemli salınımın otopolimerizan akrilde görüldüğünü bildirmişlerdir. Mikrodalga ve ısı (konvansiyonel) ile polimerize olan rezinlerde; salınım oranını çok daha düşük bulmuşlardır. Formaldehit ve metil metakrilat konsantrasyonlarının zamana bağlı değişik bağıntı gösterdiğini; iki farklı salınım profili ortaya koyduğunu vurgulamışlardır. İlk fazda, (Daldırmanın ilk günü için sınırlandırılmış) önemli salınımın daldırmadan hemen sonra olduğu ve uzun süreli salınımı azalttığı; son fazında otopolimerizan disklerin daldırmadan sonra bir aya kadar gözleendiği faz olduğunu bildirmişlerdir. In vitro deneylerde tükrükten çıkarılan formaldehit pik yüksekliklerini in vivo deneylerki sonuçlardan daha yüksek bulmuşlardır. In vivo ve in vitro deneylerdeki süzölme derecelerinin farkının; tükrük tarafından yutma ve sulandırmanın bir sonucu olarak formaldehit konsantrasyonunda bir azalma kaydedilebileceği şeklinde açıklamışlardır. Daha önceki araştırmalarda hücre proliferasyonunun metil metakrilat tarafından etkilendiğinin rapor edildiğini vurgulamalarına rağmen çalışmalarında metil metakrilatın hücre proliferasyonu üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığını gözlemişlerdir.

Akrillerin sitotoksik bulgularının sızan formaldehit miktarındaki artışa göre yükseldiğini belirtmişlerdir. Formaldehitin tüm salınım konsantrasyonlarında sitotoksik olduğunu , daha düşük konsantrasyonlarda metil metakrilattan daha fazla sitotoksikite gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Sonuç olarak total yada parsiyel protezlerin hastaya takılmadan önce suda bekletilmesinin ön salınım ile hem metil metakrilatı hemde formaldehiti önemli oranda uzaklaştıracağını, özellikle astarlama ve protez kaide maddesi olarak kullanımı sırasında, ağıza yerleştirilmeden önce sitotoksik potansiyelini azaltmak için sıcak suya (50°C) daldırılmasının yararlı olacağını belirtmişlerdir.

Araştırmacılar polimerize olan protez kaide rezinlerinden süzülen artık maddelerin (metil metakrilat, formaldehit) sitotoksisiteye yol açtığı konusunda fikir birliğine sahiptirler 12,26, 83,84,95,96,99,100,107 .

Fronzoza ve arkadaşları ⁹⁴ (1993) in vitro olarak polimetil metakrilat ve polystyrene (PS) partiküllerinin insan fibroblastlarına sitotoksik etkisini DNA ve protein sentezi üzerindeki etkileriyle incelemişlerdir. Araştırmalarında PMMA ve PS partiküllerini fibroblastlarla inkube edip, ³H-Thymidine ilave etmişlerdir. ³H-Thymidine eklenmesiyle PMMA'a maruz kalan hücrelerde 48 saati takiben anlamlı bir şekilde artış olduğunu ifade etmişlerdir. ¹⁴Cleucine ve ¹⁴C-proline ile muamele ederek , protein sentezindeki belirgin artışı da gözlemişlerdir. Immunoenzimatik olarak tahlil edilen prostoglandin (PG)E₂ sekresyon düzeyinin PMMA'da değişme göstermediğini, PS partiküller ile işlem gören fibroblast hücrelerinde proliferasyon ve protein sentezi aktivitelerinde değişime uğramadığını saptamışlardır. Sonuçta PMMA partiküllerinin insan fibroblastlarına sitotoksik etkisi olmadığını, fakat bunların hücre proliferasyonunu ve protein sentezi aktivasyonunu stimüle ettiğini ortaya koymuşlardır. Polimetil metakrilat; ortopedik amaçla yerleştirilen sabit protezlerin aseptik olarak gevşemesinin, radyolusent fibröz bir membran oluşumunun, inflamatuvar hücrelerin akümüasyonu ve osteolizisle karakterize olduğunu belirterek; kemik ve yapıştırıcı ajan ara yüzündeki fibroblastların sayılarının ve biosentez aktivitelerinin artışının radyolusent membran oluşumu ile ilgili olduğunu çalışma hipotezi olarak ortaya koymuşlardır. Çalışmamızda otopolimerizan akril Takilon'da %53, konvansiyonel ısı ile polimerize akril QC-20'de %25, mikrodalga ile polimerize olan QC-20'de %13 oranında fibroblastlarda görülen hücre proliferasyonu Fronzoza ve arkadaşlarının bulguları ile aynı doğrultudadır.

Sheridan ve arkadaşları ²⁶ (1997) ısı (konvansiyonel), otopolimerizan ve mikrodalga yöntemi ile polimerize olan üç değişik protez kaide rezininden kopan parçalarını insan gingival fibroblastların mitokondrial fonksiyonları üzerinde etkilerini araştırmışlardır. Sonuçta; ısı mikrodalga ve kimyasal olarak aktive olan protez kaide

rezinlerinin gingival fibroblast kültürlerinde sitotoksik bileşikler saldıklarını; kimyasal olarak polimerize olan rezin disklerden kopan parçaların , hem mikrodalga hemde ısı ile aktive edilen rezinlerden önemli derecede daha sitotoksik olduğunu bildirmişlerdir. Ancak mikrodalga ile polimerize olan ACRON-MC'nin 96. saatte önemli derecede sitotoksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu sonuç çalışmamızda yer alan ACRON-MC mikrodalga protez kaide rezinin sitotoksik sonuçları ile paralellik göstermektedir. Sheridan ve arkadaşlarının insan gingival fibroblastlarının mitokondrial fonksiyonları üzerine yaptıkları çalışmanın sonuçları (ACRON-MC), çalışmamızdaki ³H-Thymidine kullanım testinin hücrelerin permeabilite değişikliğine bağlı olarak hücre dışına çıkan radyoaktif madde miktarı ile yapılan ölçümleri ile gerçekleştirilen iki farklı hücre kültürü yönteminde sonuçlar paralellik göstermiştir.

Çalışmamızda konvansiyonel olarak ısı, kimyasal ve mikrodalga ile polimerize edilmiş örnek disklerde agar overlay ve millipore filtre yayılım test yönteminde sitotoksik bir bulguya rastlanmamıştır. Ancak daha duyarlı olan ³H-Thymidine test yönteminde değişen oranlarda sitotoksikite göstermişlerdir. Agar overlay ve millipore filtre yayılım test yönteminde sitotoksik bulgu vermemelerini hücre ile materyal arasında yer alan agar tabakasının ve millipore filtrenin toksisiteye yol açabilecek polimerize olmayan komponentlerin yada polimerizasyonda ortaya çıkan toksik ürünlerin filtrasyonuna yeterli geçişi sağlayamamış olmasına bağlamaktayız.

Hücre ile örnek disklerin doğrudan temasının söz konusu olduğu ³H-Thymidine testi sonucunda kültüre edilen IGF hücre kültürleri üzerinde iki farklı etki tesbit edilmiştir. DNA sentez inhibisyonu ve hücresel proliferasyon olarak adlandırılacak etki dışında nötr bir bulgu elde edilmemiştir. Araştırma sonucunda beklenen bulgu toksisite olması itibarıyla araştırmada kullanılan test materyallerinin üç adedi (Meliodent, ACRON-MC mikrodalga ve ACRON-MC ısı ile polimerize örnekler) bu şekilde ifade edilirken, hücre proliferasyonu tesbit edilen üç test materyali (Takilon, QC-20 mikrodalga ve ısı ile polimerize örnekler) için benzer sınıflandırma yapılamamaktadır. Ancak bu sonuç, Frondoza ve arkadaşlarının IGF hücre kültürleri üzerinde PMMA'nın sitotoksikitesini inceledikleri

alışmalarında belirttikleri PMMA'ın hücre proliferasyonuna neden olduğu bulgusu ile paralellik göstermektedir.

³H-Thymidine testi sonucunda elde edilen bulgular, materyallerin hazırlanma tekniğinin ötesinde, bileşimsel özelliklerinden kaynaklanan etkilerinin olduğunu düşündürmektedir. Bulgular bölümünde verilen tablolarda görüleceğı üzere toksik veya proliferatif olarak tesbit edilen örnekler, mikrodalga ya da konvansiyonel olarak ısı ile hazırlama yöntemi kullanılması sonucu değıştirmemiştir. Uygulama sırasında dikkat edilmesi gereken unsur, hazırlama tekniğinin yanısıra kullanılan materyallerin yapısal özellikleri olmalıdır. Diğer taraftan araştırmanın tümü göz önüne alındığında elde edilen bulguların uygulamadaki geçerliliğı açısından in vivo kontrollerinin yanısıra, kullanılan test sistemlerindeki moleküler verilerin de incelenmesi zorunluluğı göz önüne alınmalıdır. Sonuç olarak in vitro çalışma sitotoksik etkinin metil metakrilata bağılı olabileceğı dikkat çekmektedir. Bunun yanısıra gerek polimer gerekse monomerde yer alan katkı maddelerinin değışik oranlarda etki ettiğı düşünülebilir.

SONUÇ

Bu araştırmada kullanıma sunulan ısı,mikrodalga ve kimyasal yola polimerize olan protez kaide rezin monomerlerinin hücre inokülasyonu ile, polimerize edilmiş rezin örneklerinin agar overlay, millipore filtre ve ^3H -Thymidine kullanım test yöntemleri ile sitotoksiteleri belirlendi. Sonuçta:

- 1- Farklı yöntemlerle polimerize olan dört protez kaide rezinin monomerleri 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} sulandırma oranlarında; 3, 6, 12, 18, 24 saatlik hücre inokülasyonu sonrası incelendiklerinde farklı sitotoksik etki göstermişlerdir. 3, 6, 12, 18. saatte monomerlerde sulandırma oranı arttıkça sitotoksite azalmış ancak 24. saatte monomerlerin tümünde her sulandırma oranında %100'lük sitotoksik etki görülmüştür. ACRON-MC mikrodalga akriliğinin monomeri, QC-20, Takilon ve Meliodent'e oranla daha sitotoksik bulgu vermiştir.Bunu sırası ile Takilon, Meliodent ve QC-20 izlemiştir.
- 2- Polimerize edilmiş rezin diskler agar overlay ve millipore filtreden yayılım testinde sitotoksik bulgu vermemiştir.
- 3- ^3H -Thymidine kullanım testinin genel değerlendirmesi sonucunda, örneklerden İGF hücre kültürleri üzerinde DNA sentezi inhibisyonu ve hücresel proliferasyon olmak üzere iki farklı etki tesbit edilmiştir. Bu etkinin dışında nötr bir bulgu elde edilememiştir. 90 saatlik testlerde, ACRON-MC'nin mikrodalga yöntemi ile polimerize edilmiş numunelerinde %22 hücre inhibisyonu görülmüştür. ACRON-MC'nin ısı ile polimerize edilen örneklerinde bu oran % 16'ya düşmüştür.Otopolimeizan akrilik rezinlerden Meliodent % 7 hücre inhibisyonu göstermiş, Takilonda ise % 53 hücre proliferasyonu görülmüştür. QC-20'nin ısı ile polimerize edilen örneklerinde %25, mikrodalga ile polimerize edilen örneklerinde ise % 13 hücre proliferasyonuna rastlanmıştır.

ÖZET

Bu çalışmada ısı (konvansiyonel), kimyasal ve mikrodalga enerjisi ile polimerize olan dört farklı protez kaide rezinin önce hücre inokulasyonu ile monomerlerinin in vitro sitotoksitesi araştırıldı. Daha sonra polimerize edilmiş dört farklı protez kaide rezinin sitotoksitesi, agar overlay, millipore filtre ve ³H-Thymidine kullanım hücre kültürü test yöntemleri ile değerlendirildi.

Operatif olarak steril şartlarda alınan gingiva dokusundan üretilen Primer İnsan Gingival Fibroblast (IGF) hücre kültürleri hücre inokulasyonu, agar overlay ve millipore filtre testinde kullanılmak üzere hazırlandı.

Protez kaide rezinlerinin monomerlerinin hücre kültürü üzerindeki toksik etkileri ISO standartları No: 7405'e uygun olarak her numunedan hazırlanan farklı sulandırmalara ait inokulasyonlardan sonra izlendi. Bu amaçla hücre kültürü vasatı içinde 1/10'dan başlamak üzere, 10'ar katlı 6 basamak sulandırmalar hazırlandı. Elde edilen numuneler inokulasyon öncesi 0,45 nm por büyüklüğüne sahip millipore filtreden süzülerek sterilize edildi. Hazırlanan süzüntüler daha önce IGF hücre kültürü üretilmiş 24 gözlü makrotabletlere inoküle edildi. Bu amaçla her numune için bir adet tablet kullanıldı. Her monomere ait hazırlanmış olan 6 basamak sulandırmadan dört adet tablet gözündeki hücre kültürü vasatı içine 100 µl hacimde inokule edildi. Değerlendirmeler inokulasyonu izleyen 3, 6, 12, 18 ve 24. saatlerde mikroskop kontrolleri ile yapıldı.

ISO standartları No: 7405'e uygun olarak farklı yöntemlerle polimerize edilmiş protez kaide rezin disklerin sitotoksitesi in vitro agar overlay test yöntemi ile araştırıldı. Bu amaçla 100 mm çaplı petri kutularına $1,5 \times 10^5$ hücre/ml olacak şekilde % 10 FDS içeren DMEM içinde sulandırılan IGF hücrelerinden 15 ml hacimde konuldu. 37°C 'de %5 CO₂ içeren etüvlerde inkubasyona bırakıldı. Eklenen agar vasatı üzerine, her petri kutusuna ikişer adet olmak üzere örnek disklerle birlikte pozitif ve negatif kontrol örnekleri

yerleştirildi. Hücresel toksisitenin izlenebilmesi için dört gün süre ile mikroskopik ve makroskopik kontrolleri yapıldı. Süre sonunda toksik etkiler zon ve hücre erime indekslerine göre tesbit edildi. Bulguların doğrulanması için agar tabakası uzaklaştırılan hücreler giemza ile boyanarak mikroskopta (Inverted tissue culture microscope) incelendi. Hücre bazında toksisite belirtileri arandı. Agar overlay testinde dört gün süre ile kontrol edilen polimerize edilmiş protez kaide rezin disk örneklerinin hiç birinde toksik bulgu saptanamadı. Pozitif kontrol olarak kullanılan 1M amonyum molibdat çözeltisi emdirilmiş kurutma kağıdına ait bölgedeki hücrelerde ise %100 oranında toksik etki bulunmuştur.

ISO standartları No: 7405 'e uygun olarak millipore filtreden yayılım test yöntemi ile farklı yöntemlerle polimerize edilmiş protez kaide rezin disklerinin sitotoksitesi in vitro olarak araştırıldı Test için 60 mm çaplı plastik petri kutularına %10 FDS içeren DMEM için $1,5 \times 10^5$ hücre/ml olacak şekilde hazırlanmış İGF hücrelerinden 6 ml hacimde konuldu ve %5 CO₂ etüvde 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Otoklavda steril edilen 0,60 nm por büyüklüğüne sahip selüloz asetat membran filtreler ıslatılmış oldukları medium içinden alınarak petri kutuları içinde üretilmiş olan hücrelerin yüzeyine yerleştirildi. Her test numunesi için altı petri kutusu kullanmak şartı ile standart büyüklükteki test örneklerinden membran filtreler üzerine düzenli olarak yerleştirildi. İleri inkübasyon için sistem % 5 CO₂ içeren 37°C 'lik ortama bırakıldı. Numunelerle ilgili toksisite kontrolleri inokülasyonu izleyen 6, 12, 24, 36, 48 ve 72. saatlerde test sistemlerindeki membranlar uzaklaştırılarak hücrelerin mikroskopta incelenmesiyle gerçekleştirildi. Ayrıca test sırasında kullanılan membran filtrelerle ilgili toksisite kontrolleri yapıldı. 72 saat süren kontrolleri sonunda numunelere ait petri kutularının hiç birisinde hücresel toksisite bulgusuna rastlanmadı.

³H-Thymidine kullanım testi, mikro sistemde ISO standartları No:7405'de bildirilen yöntemde bazı modifikasyonlarla gerçekleştirildi. Mikrotabllet gözlerine, her tabllet gözüne 1×10^5 İGF hücresi düşecek şekilde sulandırılan hücre süspansiyonundan 100 µl hacimde yerleştirildi. Tabllet gözlerine uygun hacimlerde hazırlanmış polimerize olmuş protez kaide rezin disklerinden her hücre konsantrasyonu için altışar adet olacak şekilde örnekler

yerleştirildi. Sistem 72 saat süreyle 37°C 'lik % 5 CO₂ içeren etüvde inkübe edildi. Süre sonunda tablette kullanılan her göze 0,5 µ courie dozda ³H-Thymidine eklenerek ,18 saat süreyle inkübasyona devam edildi. Cell harvester'da toplanan hücreler, fiber glas filtre kağıtlarına emdirildikten sonra kurutuldu.6 ml sintilasyon kokteyli (PPO, POPOP, TOLUEN), ile muamele edilen numunelerle ilgili değerler β - Counter'dan cpm olarak kayıt alındı. Bu test sonucunda bulgu kimyasal yolla polimerize olan Takilonun numunelerinde % 53 hücre proliferasyonu ,QC-20 konvansiyonel ısı ile polimerize olan numunelerde % 25 mikrodalga ile polimerize olan numunelerde ise % 13 hücre proliferasyonu, ACRON-MC mikrodalga ile polimerize olan numunelerde % 22 hücre inhibisyonu konvansiyonel ısı ile polimerize olan numunelerinde %16 hücre inhibisyonu şeklinde gözlemlendi. En az sitotoksik bulguyu % 7 hücre inhibisyonu ile otopolimerizan akril olan Meliodent verdi.



SUMMARY

In this study in vitro cytotoxicity of monomers of four different denture base resins which were polymerized by chemical, heat, and microwave energy were analysed by inoculation method. Additionally, the cytotoxicity of these four different polymerized denture base resins were evaluated by means of agar overlay, millipore filter, and ^3H -Thymidine incorporation cell culture test methods.

Primary human gingival fibroblastic cell cultures obtained from gingival biopsy tissues under sterile conditions were prepared to use in cell inoculation, agar overlay, and millipore filter tests.

The toxic effects of monomer on cell culture were observed after inoculations of different dilutions prepared from each specimen in accordance with ISO Technical Report No: 7405. For this reason six-stepped dilutions, which were started from 1/10 and ended at $1/10^6$, were prepared in cell culture medium. Obtained specimens were sterilized by filtering from a millipore filter having a pore size of 0.45 μm before inoculation. Prepared filtrates were inoculated in 24 well macrotablets in which previously human gingival fibroblast cells were cultured so, a tablet was used for each specimen. Six-stepped dilutions of 100 μl volume prepared from each of the four monomers were inoculated into the cell culture mediums which were placed in four units well tablets. Evaluations were made on the 3rd, 6th, 12th, 18th, and 24th hours following inoculation procedure by means of microscopic controls.

The cytotoxicity of denture base resin discs, which were polymerized by different methods in accordance with ISO Technical Report No: 7405, were studied by means of in vitro agar overlay test method. For this reason, human gingival fibroblasts (1.5×10^5 cell/ml

per dish) in 15 ml of Dulbecco's Minimal Essential Medium (DMEM) supplemented with 10 % fetal bovine serum (FBS) were seeded into the petri dishes having a diameter of 100mm. These petri dishes were incubated for 96 hours at 37⁰ C in 5 % CO₂ . Over the added agar medium, together with the sample dishes positive and negative control samples, two samples were placed into every petri dish. To follow the cellular toxicity, microscopic and macroscopic controls were done for four days. At the end of this period, toxic effects were determined according to the zone and cytolysis indexes. Cells of which agar layer had been removed by the corroboration of the data, were stained with giemza and then examined under an inverted tissue culture microscope. The toxicity symptoms were searched at the cellular level. None of the polymerized denture base resin disc samples, which were controlled for four days in the agar overlay test, showed toxicity symptoms. Proportionally 100 % toxic effect was found in the cells on zone belonging to the blotting paper which has absorbed the 1M Ammonium molybdate solution used as a positive control.

The in vitro cytotoxicity of denture base resin discs which were polymerized with different methods were investigated with millipore filter test method in accordance with ISO Technical Report No: 7405. For the test , human gingival fibroblasts ($1,5 \times 10^5$ cell/ml per dish) in 6ml of Dulbecco's Minimal Essential Medium (DMEM) supplemented with 10 % fetal bovine serum (FBS) were seeded into the plastic petri dishes having a diameter of 60mm. These petri dishes were incubated for 24 hours at 37⁰ C in 5 % CO₂ incubator. 0,60 µm pore sized and sterilized (in autoclav) cellulose acetate membran filters are taken from the medium in which they were got wet, and they were settled on the surface of the cells which were produced in petri dishes. Using six petri dishes for every test sample, standard sized test samples were placed on to the membran filters in order. For improved incubation, this system was left in a medium containing 5 % CO₂ at 37⁰ C. The toxicity controls related to the samples were materialized with the investigation of cells under microscope after removing the membrans in test systems in the 6th, 12th, 24th, 36th, 48th, and 72nd hours following the inoculation. Moreover, toxicity controls, that were related with the membran

filters used during test, were done. After a 72 hours lasting period, in none of the petri dishes, containing samples, cellular toxicity symptoms were found.

³H-Thymidine incorporation test was materialized in the micro system using certain modifications for ISO Technical Report No:7405. In each well of the microtablets a volume of 100 μ l, 1×10^5 human gingival fibroblast cell containing diluted cell suspension was placed. Polymerized denture base resin discs, which were prepared in appropriate volume to tablet wells, were placed (six samples) for each cell concentration. This system was incubated for 72 hours at 37⁰ C in 5 % CO₂. At the end of this period in each well used in the tablet 0,5 μ courie ³H-Thymidine was added and then it was continued to incubation for 18 hours. Cells that were collected in the cell harvester, were dried after having been absorbed to the fiber glass filter papers. Values related to specimens treated with 6 ml scintillation cocktail (PPO, POPOP, TOLUEN) were recorded in the β -counter as cpm. At the end of this test, observed findings were as following:

53 % cell proliferation in the chemically polymerized Takilon samples,

25 % cell proliferation in the heat-polymerized QC-20 samples,

13 % cell proliferation in the microwave polymerized QC-20 samples,

22 % cell inhibition in the microwave polymerized ACRON-MC samples, and

16 % cell inhibition in the heat-polymerized ACRON-MC samples. The least cytotoxic finding was obtained from autopolymerized acrylic Meliodent with a result of 7 % cell inhibition.

KAYNAKLAR

1. CRAIG, R.G., PEYTON, F.A.: Restorative Dental Materials, 9th ed., The C.V. Mosby Co., St Louis, (1993).
2. ANDERSON, J.N.: Applied Dental Materials, 5th ed., Black Well Scientific Publications, London, (1976).
3. ZALMOĞLU, A., CAN, G., ERSOY E., AKSU, L.: Diş Hekimliğinde Maddeler Bilgisi, 1. Baskı, A.Ü. Ankara, (1993).
4. PHILLIPS, R.W.: Skinner's Science of Dental Materrals 9th ed., W.B. Saunders Co., (1991).
5. O'BRIEN, W.J.: Dental Materials: Properties And Selection, 1st ed., Quintessence Publishing Co. Inc., Chicago, (1989).
6. WINKLER, S.: Denture Base Resins, Dent. Clin, North. Am., 28 (2), 287-297, (1981).
7. STEVANS, M.P.: Polymer Chemistry, 2nd ed., Oxford Uni. Press, Newyork, (1990).
8. TAKAMATA, T., SETCOS, J.C.: Resin Denture Bases: Review of Accurary and Methods of Polymerization. Int. J. Prosthod. 2, 255-562, (1989).
9. DONAVAN, T.E., HURST, R.G., CAMPAGNI, W.V.: Physical Properties of Arcylic Resin Polymerized by Four Different Techniques, J. Prosthet. Dent., 54 (4), 522-524, (1985).
10. MELO, J.F., GJERDET N.R., ERICHSEN S.E.: Metal Release from Cobalt-Chromium Partial Dentures in the Mouth. Acta Odontol. Scand. 41(1), 71-74, (1983).

11. WATANABE, A., CHANG, P.I., MASUHARA, E.: Evaluation of the Biologic Effects of Dental Materials Using a New Cell Culture Technique. *J. Dent. Res.* 61(8), 1024-1227, (1982).
12. STYSIAK, D.Z.: Experimental Investigations on the Cytotoxic Nature of Methyl Methacrylate *J. Prosthet. Dent.* 44 (1),13-16,(1980).
13. LEFEBVRE, A.C., KNOERNSCHILD, K.L., SCHUSTER, G.S.: Cytotoxicity of Eluates From Light-Polymerized Denture Base Resins.*J. Prosthet. Dent.* 72, 644-650, (1994).
14. LEFEBVRE, C.A., SCHUSTER, S.G.: Biocompatibility of Visible Light-Cured Resin Systems in Prosthodontics. *J. Prosthet. Dent.* 71, 178-185, (1994).
15. OGLE, R.E., SORENSEN, S.E., LEWIS, E.A.: A New Visible Light-Cured Resin System Applied to Removable Prosthodontics. *J. Prosthet. Dent.* 56, 497-506, (1986).
16. DE CLERCK, J.P.: Microwave Polymerization of Acrylic Resins Used in Dental Prostheses, *Dental Technol.*, 57 (5), 650-658, (1987).
17. SHLOS BERG, S.R., GOODACRE, C.J., MUNOZ, C.A., MOORE, K.B., SCHNELL, R.C.: Microwave Energy Polymerization of Poly (Methylmethacrylate) Denture Base Resin. *Int. J. Prosthodont.*, 2 (5), 453-458, (1989).
18. WEI, J.B., SHIDAKER, T., HAWLEY, M.C.: Recent Progress in Microwave Processing of Polymers and Composites. *Polym. Sci.*, 4 (1), 18-23, (1996).
19. TRUONG, V.T., THOMAZS, F.G.V.: Comparison of Denture Acrylic Resins Cured by Boiling Water and Microwave Energy. *Aust. Dent. J.*, 33 (3), 201-204, (1988).
20. SANDERS, J.L. LEVIN, B., PEITZ, P.V.: Comparison of the Adaptation of Arcylic Resin Cured by Microwave Energy and Convantional Waterbath. *Quint. Int.* 22 (3), 181-186, (1991).

21. BAFILE, M., GRASER, G.N., MYERS, M.L., LI, E.K.H.: Porosity of Denture Resin Cured by Microwave Energy, J. Prosthet. Dent., 66 (2), 269-274, (1991).
22. TURK, M.D., RICHARDS, M.W.: Microwave Processing for Denture Relines, Repairs, and Rebase, J. Prosthet. Dent. 69 (3), 340-343, (1992).
23. MCKINSTRY, R.E., ZINI, I.: How to Make Microwaveable Denture Flasks, J. Prosthet. Dent., 63 (1), 104-114, (1990).
24. EDGERTON, M., LEVINE, J.M.: Biocompatibility: Its Future in Prosthodontic Research. J. Prosthet. Dent. 69, 406-415, (1993).
25. SMITH, D.C.: Tissue Reaction to Noble and Base Metal Alloys. 3th ed. , Vol IV, Boca Raton Crc., Florida, (1982).
26. SHERIDAN, P.J., KOKA, S., EWOLDSSEN, N.O., LEFEBURE, A.C., LAVIN, M.T.: Cytotoxicity of Denture Base Resins. Int. J. Prosthodont. 10, 73-77, (1997).
27. HOCHMAN, N., ZALKIND, M.: Hypersensitivity to Methyl Methacrylate Mode of Treatment. J. Prosthet. Dent. 77, 93-96, (1997).
28. TECHNICAL REPORT :Biological Evaluation of Dental Materials ,ISO No :7405, (1984).
29. HANKS, C.T., WATAHA, J.C., SUN, Z.: In vitro Models of Biocompatibility: a Review Dent. Mater. 12, 186-193, (1996).
30. EXBRAYAT, P., MAGLOIRE, H., HARTMAN, D.J.: Evaluation of the Biocompatibility of a Ni-Cr-Mo Dental Alloy with Human Gingival Explant Culture In Vitro Morphological Study, Immunodetection of Fibronectin and Collagen Production. Biomater. 8 (3), 385-392, (1987).

31. HENSTEN-PETTERSEN, A., HELGELAND, K.: Evaluation of Biologic Effects of Dental Materials Using Four Different Cell Culture Techniques. *Scand. J. Dent. Rest.* (81), 291-296, (1977).
32. KALLUS, T.: Evaluation of the Toxicity of Denture Base Polymers after Subcutaneous Implantation in Guinea Pigs. *J. Prosthet. Dent.* 52 (1), 126-134, (1984).
33. NATIONAL INSTITUTE OF DENTAL RESEARCH: Workshop: Biocompatibility Of Metals In Dentistry. *J. Am. Dent. Assoc.* 109 (6), 469-474, (1984).
34. MAGNUSSON, B., KLIGMAN, A.M.: The Identification of Contact Allergens by Animal Assay, the Guinea Pig Maximization Test. *J. Invest. Dermatol.* 52(3), 268-279, (1969).
35. KALLUS, T.: Enhanced Tissue Response to Denture Base Polymers in Formaldehyde-Sensitized Guinea Pigs. *J. Prosthet. Dent.* 52 (2), 292-299, (1984).
36. FEDERATION DENTAIRE INTERNATIONALE.: Recommended Standard Practices for Biological Evaluation of Dental Materials. *Int.Dent. J.* 30, 140, (1980).
37. MONDELLI J., NEVALDO, A.: Tissue Response to Base Metal Alloys. *J. Prosthet. Dent.* 22 (2), 230-233, (1969).
38. BESSING, C., KALLUS, T.: Evaluation of Tissue Response to Dental Alloys by Subcutaneous Implantation. *Acta Odontol. Scand.* 45 (2), 249-255, (1987).
39. NIEMI, L., HENSTEN-PETTERSEN, A.: In Vitro Cytotoxicity Of Ag-Pd-Cu Based Casting Alloys. *J. Biomed. Mater. Res.* 19, 549-561, (1985).
40. GERSTNER, R.: Tissue Cultures of Pulpal Elements.: *Oral Surg.* 32 (3), 473-486, (1971).

41. KAWAHARA, H., YAMAGAMI, A., NAKAMURA, M.: Biological Testing of Dental Materials by Means of Tissue Culture. *Int. Dent. J.* 18 (2), 443-446, (1986).
42. HUME, W.R.: A New Technique for Screening Chemical Toxicity to the Pulp from Dental Restorative Materials and Procedures. *J. Dent. Res.* 6 (11), 1322-1325, (1985).
43. BROWNE, R.M.: The In Vitro Assessment of the Cytotoxicity of Dental Materials. *Int. End. J.* 21, 50-58, (1988).
44. HUME, W.R., MOUNT, G.J.: In Vitro Studies on the Potential for Pulpal Toxicity of Glass Ionomer Cements. *J. Dent. Rest.* 676, 915-918, (1988).
45. HUME, W.R.: Methods of Assessment In Vitro of Restorative Material Cytotoxicity Using an Intact Human Dentine Diffusion Step. *Int. End. J.* 21, 85-88, (1988).
46. LEVY, B.: Discussion of : Proposal for Biological Testing of Dental Materials. *Int. Dent. J.* 210 (20), 491-492, (1970).
47. THOMAS, P. G., ADRIAN, J.C., BANKS, K.E., ROBINSON, J.A., PEAGLER, F.D.: Biocompatibility Evaluation of Resins in Hamsters. *J. Prosthet. Dent.* 53 (3), 428-430, (1985).
48. MJÖR, A. J., HENSTEN-PETTERSEN, A.: The Biological Compatibility of Alternative Alloys. *Int. Dent. J.* 33 (1) 35-39, (1983).
49. PILLIERO, S.J., CARSON, S., LI CALZI, M., PENTEL, L., PILLIERO, J.A., KAUFMAN, E.G., SCHULMAN, A., WILLIGAN, A.D.: Biocompatibility Evaluation of Casting Alloys in Hamsters. *J. Prosthet. Dent.* 41 (2), 220-223, (1979).

50. MJÖR, J. A.: Current Views on Biological Testing of Restorative Materials. J. Oral Rehabil. 17, 503-507, (1990).
51. HENSTEN-FETERSEN, A.: Comparision of the Methods Available for Assessing Cytotoxicity in. End. J. 21, 89-99, (1988).
52. KAWAITARA, H.: Cellular Responses to Implant Materials .: Biological, Physical and Chemical Factors. Int. Dent. J. 33 (4), 350-375 (1983).
53. KISA, Ü.: Hücre Çoğalma Siklusuna Etki Eden Faktörler. Doktora Tezi, G.A.T.A Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, (1993).
54. CAUGHMAN, W.F., CAUGHMAN, G.B., DOMINIY, W.Y., SCHUSTER, G.S.: Glass Ionomer and Composite Resin Cement, Effect on Oral Cells. J. Prosthet. Dent. 63 (5), 513-521 (1990).
55. SENGBERG, L.: Kinetic and Quantitative Evaluation of Material Cytotoxicity In Vitro Oral Surg. 35, 389-401, (1973).
56. BROWNE, R.M.: The In Vitro Assessment of the Cytotoxicity of Dental Materials- Does It Have A Role? Int. End. J. 21, 50-58, (1988).
57. YEŞİLSOY, C., FEIGAL, R. J.: Effects of Endodontic Materials on Cell Viability Across Standart Pore Size Filters. J. End. 11 (9), 401-407, (1985).
58. SEHMALZ, G.: Agar Overlay Method. Int. End. J. 21, 59-66, (1988).
59. POLYZOIS, L.G., HENSTEN-PETTERSEN, A., KULLMANN, A.: An Assessment of the Physical Properties and Biocompatibility of Three Silicone Elastomers. J. Prosthet. Dent. 71 (5), 500-504, (1994).

60. LEFEBVRE, A.C., SEHUSTER, S.G., RICHARDSON, W.D., BARRON, J.D.: The Cytotoxic Effects of Denture Base Resin Sealants. *Int. J. Prosthodont.* 5, 558-562. (1992).
61. KEECH, B.H., MC CAROLL, B.: Alternatives to Polyvinylchloride as the Positive Control Materials for Tissue Culture Agar Overlay Assay, Transactions of the 9th Annual Meeting of the Society for Biomaterials. Abstract No: 69 Alabama, (1983) .
62. HANKS, T.C., ALDERSON, M., CRAIG, R.G.: Cytotoxic Effects of Dental Cements on Two Cell Culture Systems. *J. Oral Pathol.* 10, 101-112, (1981).
63. POLYZOIS, G.L., HENSTEN-PETERSEN, A., KULLMAN, A.: Effects of RTC-Silicone Maxillofacial Prosthetic Elastomers on Cell Cultures. *J. Prosthet. Dent.* 71, 505-510, (1994).
64. WENNBERG A.: In Vitro Assessment Of The Biocompatibility Of Dental Materials the Millipore Filter Method. *Int. End. J.* 21, 67-71. (1988)
65. SPANBERG, L.S.W., NAZHAN, S.: The Radiochromium Release Method for Evaluation of Cytotoxicity In Vitro. *Int. End. J.* (21), 72-78, (1988).
66. KAN, K.C., MESSER, L.B., MESSER, H.H.: Variability in Cytotoxicity and fluoride Release of Resin-Modified Glass-Ionomer Cements. *J. Dent. Res.* 76 (8), 1502-1507, (1997).
67. CRUICKSHANK, C.N.D., Hooper, C., LEWIS H.B.M., MAC DOUGALL, J.D.B.: The Toxicity of Rubbers and Plastics Used in Transfusion-Giving Sets. *J. Clin. Path.* 13, 42-50, (1960).
68. ROSENBLUTH, S.A., GUESS, W.L., WEDINGTON, G.R, AUTSAN, J.: Tissue Culture Method for Screening Toxicity of Plastic Materials to be Used in Medical Practice. *Pharm. Scien.* 54 (1), 156-159, (1965).

69. STANLEY, H.R., SWERDIOW H, BUONOCORE M.G.: Pulp Reactions to Anterior Restorative Materials. J. Am. Dent. Assoc. 75, 132-141, (1967).
70. TYAS, M. J.:A Method for the In Vitro Toxicity Testing of Dental Restorative Materials. J. Dent. Res. 56 (10) 1285-1290 (1997).
71. MJOR, L. A., HENSTEN-PETTERSEN, A., BOWEN, R. L.:Biological Assessments of Experimental Cavity Cleaners : Correlation between In Vitro and In Vivo Studies. J. Dent. Rest. 61 (8), 967-972, (1982).
72. TERHUNE, W. F., SYDISKIS, R. J., DAVIDSON, W. M.:In Vitro Cytotoxicity of Orthodontic Bonding Materials. Am. J. Orthod. 83 (6) 501-506, (1983).
73. FEIGAL, R. J.,YEŞİLSOY, C., MESSER, H. H., NELSON, J.: Differential Sensitivity of Normal Human Pulp and Transformed Mouse Fibroblast to Cytotoxic Challenge. Arc of Oral Biol. 30 (8) 609-613, (1985).
74. HANKS, C.T., STRAWN, S.E., WATAHA, J.C., CRAIG, R.G.: Cytotoxic Effects of Resin Components on Cultured Mammalian Fibroblasts. J. Dent. Res. 70 (11), 1450-1455, (1991).
75. POLYZOIS, L.G., HENSTEN-PETTERSEN, A., KULLMAN, A.:Effect of RTC-Silicone Maxillofacial Prosthetic Elastomers on Cell Cultures. J.Prosthet. Dent. 71, 505-510, (1994).
76. RATANASATHIEN, S., WATAHA, J.C.,HANKS, C.T., DENNISON, J. B.: Cytotoxic Interactive Effect of Dentin Bonding Components on Mouse Fibroblasts. J. Dent. Rest. 74 ,37 ,Abstr.No. 204, (1995).
77. JEROLOMOV, V., HUGGET, R., BROOKS, S.C., BATES, J.F.: The Effect of Variations in the Polymer/Monomer Mixing Ratios on Residual Monomer Levels and

- Flexural Properties of Denture Base Materilas, Quint. Dent. Technol., 9 (7), 431-434, (1985).
78. AKSTIN, A.T., BASKER, R.M.: The Level of Residual Monomer in Acrylic Denture Base Materials. Brit. Dent. J. 149, 281-286, (1980).
79. FIETCHER, A.M., PURNAVEJA, S., AMIN, W.M., RITCHIE, G.M., MORADIANS, S., DODD, A.W.: The Level of Residual Monomer in Self-Curing Denture-Base Materials J. Dent. Res. 62 (2), 118-120, (1983).
80. AUSTIN, A.T., BASKER, R.M.: The Level of Residual Monomer in Acrylic Denture Base Materials, Brit. Dent. J., 18, 281-286, (1990).
81. DAVY, K.W.M., BRADEN, M.: Residual Monomer in Acrylic Polymers, Biomaterials, 12, 540-544, (1991).
82. DENLİ, N.: Protez Materyali Olarak Ağızda Kullanılan Akrilik Türevlerinin Sebep Oldukları Reaksiyonlar ve Önlemleri Üzerine Çalışmalar. Doktora Tezi. A.Ü. Diş. Hek. Fak. Ankara. (1985)
83. TSUCHIYA, H., HOSHINO, Y., TAJIMA, K., TAKAGI, N.: Leaching and Cytotoxicity of Formaldehyde and Methyl Methacrylate from Acrylic Resin Denture Base Materials. J. Prosthet. Dent. 71, 618-624, (1994).
84. HOCHMAN, N., ZALKIND, M.: Hypersensitivity to Methyl Methacrylate: Mode of Treatment. J. Prosthet. Dent. 77, 93-96, (1997).
85. VAINIOTALO, S., ZINNITNG, A., JACOBSSON, S., NICKELS, J., KOSKINEN, H., SAVOLAINE, N.H. :Toxicity of Polymethylmethacrylate Thermodegradation Products. Arch. Toxicol. Suppl. 55, 137-142, (1984).
86. WATAHA, J.C., HANKS, S.E., FAT, J.C.: Cytotoxicity of Components of Resins and Other Dental Restorative Materials. J. Oral Rehabil. 21, 453-463, (1994).

87. STANLEY, H.R., BOWEN, R.L., FOLIO, J.: Compatibility of Various Materials with Oral Tissue. II: Pulp Responses to Composite Ingredients. J. Dent. Res. 58 (5), 1507-1517, (1979).
88. ZAKI, S.H., KETZAN, K.J., CARRAU, R.L.: Hypersensitivity to Temporary Soft Denture Liners: A Clinical Report. J. Prosthet. Dent 73, 1-3, (1995).
89. COX, C.F.: Biocompatibility of Dental Materials in the Absence of Bacterial Infection Operative Dent. 12, 146-152, (1987).
90. WILTSHIRE, W.A., FERREIRA, M.R., UGTHELM, A.J.: Allergies to Dental Materials. Quint. Int. 27, 513-520, (1996).
91. TURRELL, A.J.W.: Etiology of Inflamed Upper Denture-Bearing Tissues. Brit. Dent. J. 7, 542-546, (1996).
92. AUTIAN, J.: The Use of Rabbit Implants and Tissue Culture Tests for the Evaluation of Dental Materials. Int. Dent. J. 20, 481-490, (1970).
93. HANKS, C.T., CRAIS, R.G., DIEHL, M.L., PASHLEY, D.H.: Cytotoxicity of Dental Composites and Other Materials in a New In Vitro Device. J. Oral Pathol. 17, 396-403, (1988).
94. FRONDOZA, G.C., TANNER, T.K., JONES, C.L., HUNGERFORD, D.S.: Polymethylmethacrylate Particles Enhance DNA and Protein Synthesis of Human Fibroblasts In Vitro. J. Biomed. Mater. Res. 27, 611-617 (1993).
95. KÖKÜSLÜ, C., DOĞAN, A., BEK, B., KARADEMİR, N., DEMİREL, E.: Metil Metakrilat Monomerin Fibroblastlar Üzerine Etkisinin In Vitro Olarak Değerlendirilmesi. G.Ü. Diş. Hek. Fak. Derg. 10 (1) 67-74,(1993).

96. AYDIN, A.K., ÖZGÜÇ, M., BURGU, İ., KARAOĞLU, T., KANSU G.: Otopolimerizan Akrilik Monomerlerinde Sitotoksisite Derecesinin Karşılaştırılması. A.Ü. Diş. Hek. Fak. Derg. 18 (1), 1-6, (1991).
97. BAKER, S., BROOKS, S.C., WALKER, D.M.: The Release of Residual Monomeric Methyl Methacrylate from Acrylic Application in The Human Mouth: An Assay for Monomer in Saliva. J. Dent. Res. 67, 1295-1299, (1988).
98. NAKAMURA, M., KAWARA, H.: Long-Term Biocompatibility Test of Denture Base Resins In Vitro. J. Prosthet. Dent. 52 (5), 694-699, (1984).
99. WEAVER, E.R., GOEBEL, M.W.: Reactions to Acrylic Resin Dental Prostheses. J. Prosthet. Dent. 43 (2), 138-142, (1980).
100. STAFFORD, G.D., BROOKS, S.C.: The Loss of Residual Monomer from Acrylic Orthodontic Resins. Dent. Mater. 1, 135-138, (1985).
101. HENSTEN-PETTERSEN, A., JACOBSEN, N.: Toxic Effects of Dental materials. Int. Dent. J. 41, 265-273, (1991).
102. MUNKSGAARD, E.C.: Toxicology Versus Allergy in Restorative Dentistry. Adv. Dent. Res., 6, 17-21, (1992).
103. OYSAED, H., RUYTER, I.E., SJØVIK-KLEVEN, I.J.: Release of Formaldehyde from Dental Composites. J. Dent. Res. 67, 1289-1294, (1988).
104. KALPÇILAR, B., KARAĞAÇLIOĞLU, L., HASANREİSOĞLU, U.: Evaluation of the Level of Residual Monomer in Acrylic Denture Base Materials Having Different Polymerization Properties. J. Oral Rehabil. 18, 399-401, (1991).
105. HUGGET R. , ZISSIS A. , HARISON A. , DENNIS A. : Dimensional Accuracy and Stability of Acrylic Resin Denture Bases J. Prosthet. Dent. 68, 634-640 (1992).

106. JEROLIMOV, V., HUGGETT, R., BROOKS, S. C., BATES, J. F.:The Effect of Variations in the Polymer /Monomer Mixing Ratios on Residual Monomer Levels and Flexural Properties of Denture Base Materials. Quint. Dent. Tech. 9, 431-434, (1985).
107. NAKAMURA, M., KAWAHARA, H.: Long-Term Biocompatibility Test of Denture Base Resins In Vitro. J. Prosthet. Dent. 52 (5), 694-699, (1984).



ÖZGEÇMİŞ

1963 yılında Çankırıda doğdum. İlköğrenimi Mimar Kemal İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimimi Ankara Kocatepe Mimar Kemal Lisesi'nde tamamladım. 1986 yılında A.Ü. Dişhekimliği Fakültesi'nden mezun oldum. 1987 yılında S.S.K. Diş Tedavi Protez Merkezi'nde görev aldım. 1992 yılında G.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı'nda doktora öğrenimime başladım. Halen G.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk annesiyim.