



**İMLANTLARDA KULLANILAN FARKLI SİMANLARIN
SİTOTOKSİSİTESİNİN İN-VİTRO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Kübra AMAÇ

**UZMANLIK TEZİ
PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

EKİM 2021

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Kübra AMAÇ

13/10/2021

İMLANTLARDA KULLANILAN FARKLI SİMANLARIN SİTOTOKSİSİTESİNİN İN-VİTRO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

(Uzmanlık Tezi)

Kübra AMAÇ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

Ekim 2021

ÖZET

İmplant üstü restorasyonlarda sıklıkla siman tutuculu restorasyonlar tercih edilmektedir ve restorasyonla implant arasındaki bağlantı siman aracılığıyla sağlanmaktadır. Biyouyumluluk, bir materyalin uygulandığı bölgede uygun biyolojik cevabı oluşturabilmesidir. Bu çalışmanın amacı 7 farklı implant yapıştırma simanının sitotoksitesinin in vitro ortamda değerlendirilmesi ve hücrelerde meydana gelen morfolojik değişimlerin SEM ile görüntülenmesidir. Çalışmada 7 farklı siman grubu ve bir kontrol grubu olmak üzere 8 farklı grup oluşturuldu. Örnekler steril koşullarda teflon kalıplarda disk şeklinde hazırlandı. Ekstrakt metodu için, UV ışık altında steril edilen diskler 24 saat boyunca hücre kültürü besiyerinde 37°C, %5 CO₂, %95 nem içeren inkübatörde bekletilerek ekstraktlar hazırlandı. Hücre hatları laboratuvarında hücre kültürü modülünde 25 cm² ve 75 cm²'lik flasklarda, %5 CO₂, %95 nem içeren karbondioksitli inkübatör ortamında tutularak çoğaltıldı. Çoğalan hücrelerin tripsin kullanılarak yüzeyden ayrılması sağlandı ve 1x10⁵ hücre/cm² olacak şekilde 96 kuyucuklu plakaya yerleştirildi. Ardından 96 kuyucuklu plakaya, direkt temas metodu için diskler, ekstrakt metodu için %100, %50, %25, %12,5 konsantrasyonda ekstraktlar yerleştirildi ve hücreler yerleştirildi. Ekilen hücreler 24 saat inkübatörde bekledikten sonra XTT metodu ile hücre canlılığı değerlendirildi. Direkt temas metodu ve ekstrakt metodunda her iki hücre için polikarboksilat simanın en sitotoksik siman olduğu bulundu. Ekstrakt metodu için her iki hücre de %100 konsantrasyonda bütün simanlar sitotoksik etki gösterdi. Ekstrakt metodunda HGF hücresi için Oxford CEM simanın en az sitotoksik olan siman olduğu, MC3T3-E1 Subclone 4 hücresi için Harvard simanın en az sitotoksik siman olduğu bulundu. Direkt temas metodunda her iki hücre için Harvard simanın en az sitotoksik siman olduğu tespit edildi.

Bilim Kodu : 10101.07
Anahtar Kelimeler : Siman, sitotoksitesite, in vitro
Sayfa Adedi : 83
Danışman : Prof. Dr. Bilge TURHAN BAL

IN-VITRO EVALUATION OF CYTOTOXICITY OF DIFFERENT CEMENTS USED
IN IMPLANTS
(Speciality Thesis)

Kübra AMAÇ

GAZİ UNIVERSITY
FACULTY OF DENTISTRY

October 2021

ABSTRACT

Cement-retained restorations are usually preferred in implant supported restorations and the connection between the restoration and the implant is provided by cement. Biocompatibility is the appropriate biological response where the materials are applied. The purpose of the present study is to evaluate the cytotoxicity of seven different implant luting cements in vitro and to observe the morphological changes in the cells by SEM. In the study, 8 different groups were determined, including 7 different cement groups and a control group. Specimen cement pellets were molded using polytetrafluoroethylene polymer molds under sterile conditions. For the extract method, the extracts were prepared by keeping the discs sterilized under UV light for 24 hours in a cell culture medium at 37°C, 5% CO₂, 95% humidity. Cell lines were confluent in the cell culture module in 25 cm² and 75 cm² flasks in a carbon dioxide incubator with 5% CO₂ and 95% humidity. To prepare confluent cell cultures, cell lines were removed from their culture flask using 1× trypsin and seeded to 96-well cellular culture plates at a density of 1×10⁵ cells/cm². Then, discs for the direct contact method, extracts for the extract method and cells were placed in the 96-well plate. Cell viability was evaluated by XTT method after inoculated cells were kept in the incubator for 24 hours. Polycarboxylate cement is the most cytotoxic cement for both cells in the direct contact method and the extract method. For the extract method, all cements at 100% concentration showed cytotoxic effect in both cells. In the extract method, Oxford CEMENT is the least cytotoxic cement for HGF cell, and Harvard cement is the least cytotoxic cement for MC3T3-E1 Subclone 4 cell. In the direct contact method, Harvard cement is the least cytotoxic cement for both cells. In the direct contact method, Harvard cement is the least cytotoxic cement for both cells.

Science Code : 10101.07
Key Words : Cement, cytotoxicity, in vitro
Page Number : 83
Supervisor : Prof. Dr. Bilge TURHAN BAL

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi boyunca bilgisi, tecrübesi, ilgisi ve hoşgörüsüyle destek olan, yardımını esirgemeyen, bu çalışmanın yönlendirilmesi ve sonuçlandırılmasında büyük emeği olan, meslek ahlakını ve hekimlik anlayışını örnek aldığım sayın danışman hocam Prof. Dr. Bilge TURHAN BAL'a,

Eğitim sürecim boyunca her zaman anlayışlı olan ve hiçbir zaman yardımını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Cemal AYDIN'a,

Yıldırım Beyazıt Üniversitesi'ndeki sitotoksiste çalışmalarımı yürütmeme imkan sağlayan, bilgi, deneyim, güleryüzüyle destek olan Dr. Öğr. Üy. Mustafa GÜNGÖRMÜŞ'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca tüm bilgi ve deneyimini benimle paylaşan Prof. Dr. Seçil KARAKOCA NEMLİ, Doç. Dr. Merve BANKOĞLU GÜNGÖR ve diğer tüm değerli öğretim üyelerine,

Bu süreç boyunca her zaman yanımda olan, desteğini esirgemeyen, insani yönünü örnek aldığım, birlikte çalışmaktan keyif aldığım meslektaşım ve çok sevgili arkadaşım Arş. Gör. Engin ESENTÜRK'e ve tüm asistan arkadaşlarıma,

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan anneme, babama, kardeşlerime ve teyzeme,

03/2020-13 nolu BAP projesi desteği ile tez çalışmama destek sağlayan Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Dental İmplantların Tarihsel Gelişimi	3
2.2. Dental İmplant.....	4
2.2.1. Dental implantların sınıflandırılması.....	4
2.2.2. İmplant destekli protezlerin sınıflandırılması.....	5
2.2.3. İmplant destekli sabit protezler.....	6
2.3. Dental Simanlar.....	8
2.3.1. Dental simanların tarihçesi	9
2.3.2. Dental simanların sınıflandırılması	10
2.3.3. Dental simanların ideal özellikleri.....	11
2.3.4. Fosfat bazlı simanlar.....	11
2.3.5. Fenolat bazlı simanlar.....	12
2.3.6. Polikarboksilat simanlar	12
2.3.7. Cam iyonomer simanlar	12
2.3.8. Rezin simanlar	13

	Sayfa
2.3.9. İmplant simanları.....	14
2.3.10. Artık simanın periodontal dokulara etkisi	17
2.4. Biyouyumluluk.....	18
2.4.1. Biyouyumluluğun bileşenleri	19
2.4.2. Dental materyallerin biyouyumlulukları	19
2.4.3. Biyolojik uyum testleri için standartlar	20
2.4.4. Dental materyaller için biyolojik uyum testler	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. Çalışmanın Tasarımı	33
3.2. Deney Örneklerinin Hazırlanması	33
3.3. Hücre Kültürü Teknikleri.....	38
3.3.1. Hücre hattının açılması.....	38
3.3.2. Hücrelerin çoğaltılması	40
3.3.3. Hücrelerin pasajlanması	40
3.3.4. Hücrelerin dondurulması ve saklanması.....	41
3.4. Ekstrakt Testi Metodu.....	41
3.4.1. Ekstraksiyon sıvısının hazırlanması	41
3.5. Direkt Temas Testi.....	42
3.5. XTT Testinin Uygulanması	43
3.6. Hücre Morfolojilerinin Değerlendirilmesi	45
3.7. İstatistiksel Yöntem.....	45
4. BULGULAR	47
4.1. XTT Testi ile Elde Edilen Canlılık Oranı (%) Bulguları	47
4.1.1. Ekstrakt testi metodu bulguları.....	47
4.1.2. Hücre Kültürü Direkt Testi Metodu Bulguları	54
4.2. Mikroskopik Bulgular	56

Sayfa

4.2.1. HGF hücrelerinin simanlarla 24 saat inkübasyonundan sonra hücrelerin SEM görüntüleri.....	56
4.2.2. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin simanlarla 24 saat inkübasyonundan sonra hücrelerin SEM görüntüleri.....	58
5. TARTIŞMA.....	61
6. SONUÇLAR.....	71
KAYNAKLAR.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	83



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Biyolojik testler için FDI sınıflaması.....	22
Çizelge 2.2. Biyouyumluluk test yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları.....	23
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan simanların özellikleri.....	36
Çizelge 4.1. Siman ekstraktlarının HGF hücre kültürüne eklendikten 24 saat sonra kültürdeki hücre canlılıkları	48
Çizelge 4.2. HGF hücrelerinin %100 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları	48
Çizelge 4.3. HGF hücrelerinin %50 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları	49
Çizelge 4.4. HGF hücrelerinin %25 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları	49
Çizelge 4.5. HGF hücrelerinin %12,5 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları	50
Çizelge 4.6. Siman ekstraktlarının MC3T3-E1 Subclone 4 hücre kültürüne eklendikten 24 saat sonra kültürdeki hücre canlılıkları	51
Çizelge 4.7. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin %100 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları.....	52
Çizelge 4.8. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin %50 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları.....	52
Çizelge 4.9. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin %25 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları.....	53
Çizelge 4.10. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin %12,5 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları.....	53
Çizelge 4.11. Hücrelere materyaller eklendikten sonra hücre canlılıkları	55
Çizelge 4.12. HGF hücrelerinin direkt temas testi sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları	55
Çizelge 4.13. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin direkt temas testi sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları	56

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Biyouyumluluk çalışmalarında önerilen ilk piramit şeması.....	31
Şekil 2.2. Biyouyumluluk çalışmalarında önerilen yeni piramit şeması	32
Şekil 4.1. HGF hücrelerinin ekstrakt testi metodunda canlılık oranı bulguları.....	47
Şekil 4.2. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin ekstrakt testi metodunda canlılık oranı bulguları	51
Şekil 4.3. HGF ve MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin direkt temas testi metodunda canlılık oranı bulguları	54



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. MIS crown set implant simanı	33
Resim 3.2. Harvard implant simanı.....	34
Resim 3.3. Oxford CEM implant simanı.....	34
Resim 3.4. Cem implant simanı	34
Resim 3.5. Premier implant simanı	34
Resim 3.6. Estemp implant simanı.....	35
Resim 3.7. Adhesor carbofine çinko polikarboksilat siman.....	35
Resim 3.8. Pozitif kontrol grubu lateks	35
Resim 3.9. Siman örneklerini hazırlamak için kullanılan teflon kalıp.....	37
Resim 3.10. Örnekleri sertleştirmek için kullanılan ışık cihazı	37
Resim 3.11. İnkübatör ve laminar akım hücre kültürü kabini	38
Resim 3.12. Azot tankı	39
Resim 3.13. Sıcaklık ayarlı su banyosu ve santrifüj cihazı	39
Resim 3.14. İnvert mikroskop.....	40
Resim 3.15. Hücre sayım cihazı	41
Resim 3.16. Her iki yüzü UV ile steril edilmiş örnekler	42
Resim 3.17. Hücre kültürü ekstrakt testi metodu için falkon tüplerde ekstraktların hazırlanması.....	42
Resim 3.18. 96 kuyucuklu hücre kültürü kabına yerleştirilmiş örnekler.....	43
Resim 3.19. Sitotoksite testi için hazırlanan XTT solüsyonu görseli	44
Resim 3.20. XTT testinde kullanılan çok kuyucuklu plaka okuyucu cihazı	44
Resim 3.21. Mikroskopik inceleme için kullanılan taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve ışık kameranin görüntüsü	45
Resim 4.1. HGF hücrelerinin simanlarla 24 saat inkübasyonundan sonra hücrelerin SEM görüntüleri.....	57

Resim**Sayfa**

Resim 4.2. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin simanlarla 24 saat inkübasyonundan sonra hücrelerin SEM görüntüleri	59
---	----



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°	Derece
3T3	Fare embriyo fibroblast hücresi
ANOVA	Analysis of variance, değişken analizi
bis-GMA	Bisfenol A glisidilmetakrilat
C	Centigrade, santigrat
cm	Centimeter, santimetre
DMEM	Dulbecco's modification of Eagle medium (Dulbecco modifiye Eagle'ın medyumunu)
DNA	Deoksiribo nükleik asit
FBS	Fetal bovine serum, sığır fetüsü serumu
FDI	Dünya Dişhekimleri Birliği
HEMA	2-hidroksietil metakrilat
HGF	İnsan fibroblast hücresi
ISO	Uluslararası Standartlar Örgütü
in vitro	Cam içinde, Latince
in vivo	Canlı vücut içinde, Latince
L929	Fare fibroblast hücreleri
LDH	Laktat dehidrojenaz
LED	Light emitting diode, ışık yayan diyot
MC3T3 E1 Subclone 4	Fare preosteoblast hücresi
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromid
nm	Nanometre
pH	Power (potential) of hyrdogen, hidrojen kuvveti
PSG	Penisilin-Streptomisin-Glutamin
SEM	Scanning Electron Microscope, Taramalı Elektron Mikroskobu
TEGDMA	Trietilen glikol dimetakrilat
UDMA	Üretan dimetakrilat

Simgeler	Açıklamalar
UV	Ultraviyole
vb	Ve benzeri
WST-1	2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum
XTT	2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid
µl	Mikrolitre



1. GİRİŞ

Modern diş hekimliğinde eksik dişlerin restorasyonu implant ve implant üstü protezlerle yapılmaktadır. İmplantın uzun dönem başarısını sağlayan önemli unsurlardan birisi protetik restorasyondur. İmplant üstü restorasyonlar vida tutuculu restorasyonlar ve siman tutuculu restorasyonlar olmak üzere 2'ye ayrılmaktadır. Günümüzde siman tutuculu restorasyonlar, avantajlarından dolayı sıklıkla tercih edilmektedir. Siman tutuculu restorasyonlarda restorasyon implanta siman aracılığıyla tutunmaktadır. İmplant üstü restorasyonlarda doğal dişlerden farklı olarak 2 metal yapının birbiri ile bağlantı kurması gerekmektedir. Bu amaçla implant üstü restorasyonları yapıştırmak için implant simanları geliştirilmiştir.

İmplant üstü restorasyonları yapıştırırken siman çevre dokuya taşmaktadır. Taşan siman temizlenemezse o bölgedeki yumuşak dokuda ve kemik dokusunda inflamasyonlar ve ileri dönemde kemik kayıpları meydana gelebilmektedir. Siman ile ilişkili periimplantitis sıklıkla görülen bir komplikasyondur. Simana bağlı periimplantitis hem siman çevresinde oluşan plağa bağlı bakteriyel kolonizasyon ile hem de siman içeriğinden salınan kimyasalların çevre dokuya zarar vermesiyle açıklanmaktadır.

Biyouyumluluk, bir materyalin uygulandığı bölgede uygun biyolojik cevabı oluşturabilmesidir. Biyouyumluluk konusundaki geleneksel yaklaşım, materyalin ağız dokularında önemli yan etkiler oluşturmaması olarak ifade edilebilir. Biyouyumluluk, herhangi bir dental restoratif materyalin temel gereksinimlerinden birisidir. Dental materyallerin biyouyumlulukları, biyolojik faktörleri, hasta risk faktörlerini, klinik deneyimleri ve mühendislik konularını içeren karmaşık bir konudur.

Hücre, doku ve sistem düzeyinde yapılan çalışmalarda en uygun araştırma tipini seçmek, araştırmanın başarıya ulaşmasında en kritik aşamalardan biridir. Biyolojik uyumu değerlendirirken yeni geliştirilmiş materyallerin öncelikli olarak in vitro deneylerle uyumunun değerlendirilmesi gerekmektedir. İn vitro ve in vivo test metodları sürekli geliştirilmektedir. Dental materyallerin biyouyumluluğunu değerlendirirken çok farklı metodlar kullanılabilir. İn vitro testler, materyalin toksik profilini ortaya koymaktadır. İn vitro testler biyouyumluluğu değerlendirirken eksik kalmaktadır ve sonrasında materyallerin uyumunun değerlendirilmesi için hayvan deneyi ve klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. İn vivo çalışmalar ise insan ya da hayvanlar

zerinde, yani organizma faaliyetleri içerisinde materyallerin test edilmesini kapsayan çalışmaları içermektedir. Fakat hayvan deneylerinde etik açıdan izin alınması daha zordur ve bu deneyler in vitro çalışmalardan daha karmaşık, daha maliyetlidir.

Bu çalışmanın amacı; implant üstü restorasyonları yapıştırmak amacıyla kullanılan 7 farklı simanın (MIS Crown Set, Harvard, Oxford CEM, Cem, Premier, Estemp ve Adhesor™ Carbofine inko Polikarboksilat Siman) sitotoksitesinin in vitro ortamda değerlendirilmesi ve hücrelerde meydana gelen morfolojik değişimlerinin SEM ile görüntülenmesidir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dental İmplantların Tarihsel Gelişimi

Dental implantolojinin yeni yükselişine rağmen, bu disiplinin kökenlerinin eski zamanlara dayandığı bilinmektedir. Dental implantların geçmişi, eksik dişlerin yerine konulması için insan çene kemiğine, oyulmuş deniz kabuklarının ve taşların yerleştirildiği eski Mısır'a kadar uzanmaktadır.

1930'larda Honduras'taki arkeolojik kazılarda, yaklaşık olarak M.S. 600'den kalma implantlarla birlikte çene parçası bulunmuştur ve bu kazılardan sonra Maya medeniyetinin bilinen en eski dental implant örneklerine sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Bulunan bu örnekte, diş şekillerinde oyulmuş 3 parça kabuğa sahip implant, eksik 3 alt kesici dişin yuvalarına yerleştirilmiştir ve implantların ikisinin çevresinde kompakt kemik oluşumu gözlemlenmiştir.

Orta çağda, diş implantları, allogreft ve ksenogreftler kullanılarak yapılmıştır. Ancak bu uygulama bulaşıcı hastalıkların ve hatta ölümlerin nedeni olarak belirlendiği için popüler hale gelmemiştir.

Modern dental implant tarihi, 2. Dünya Savaşı sırasında Dr. Norman Goldberg'in ordudaki hizmet yıllarında başlamıştır. Daha sonra Dr. Goldberg, 1948 yılında Dr. Aaron Gershkoff ile birlikte ilk başarılı subperiosteal implantı üretmiştir. Bu başarı dünya çapında, diş hekimliği okullarında ve diş hekimliği topluluklarında öğretim tekniklerine öncülük etmiş ve implant diş hekimliğinin temelini oluşturmuştur [1].

Diş implantolojisindeki en önemli gelişmelerden biri, 1957'de Per-Ingvar Brånemark adındaki İsveçli bir ortopedi cerrahının kemik iyileşmesi ve rejenerasyonu üzerine çalışmaya başlaması ve kemiğin titanyum ile birlikte büyüyebileceğini keşfetmesiyle meydana gelmiştir. Brånemark bu fenomeni "osseointegrasyon" olarak adlandırmıştır ve hem hayvan hem de insan denekleri kullanarak birçok çalışma yapmıştır. Brånemark 1965 yılında ilk titanyum diş implantlarını şiddetli çene deformitesi nedeniyle eksik dişleri olan 34 yaşındaki bir hastaya yerleştirmiştir ve bu implantlar hastanın yaşamının sonuna kadar ağızda kalmıştır [2].

Brånemark'ın tasarladığı iki aşamalı titanyum silindirik implantların kontrollü, prospektif çalışmaları ve başarı oranları 1978'de Toronto Konferansı'nda kendisi tarafından sunulmuştur. Dental implantların kullanımının Kuzey Amerika'da kabul görmesi ile implantoloji biliminde devrim gerçekleşmiştir [3].

2.2. Dental İmplant

Dental implantlar; sabit, bölümlü veya tam protezlere tutuculuk ve destek sağlamak amacıyla, ağız mukozası ve/veya periostun altına, çene kemiklerinin içine ve/veya üzerine yerleştirilen sabit veya hareketli protezlere desteklik sağlayan alloplastik protetik apareylerdir [3, 4].

Diş hekimliğinde son 30 yılın kabul görmüş bilimsel buluşlarından biridir [5]. Günümüz diş hekimliğinde, tam veya kısmi dişsiz hastaların rehabilitasyonlarında birçok klinik durumda altın standart olarak kabul edilmektedirler. Pjetursson ve ark. tarafından 5 yıllık başarı oranları %95,3 olarak rapor edilmiştir [6].

2.2.1. Dental implantların sınıflandırılması

İmplantlar yerleşim bölgesine göre 3 farklı sınıfa ayrılabilir. Bunlar; subperiosteal (periost altı ve kemik üzeri) implantlar, transosteal implantlar (transmandibuler), endosteal (kemik içi) implantlardır. Bu implantlardan günümüzde en yaygın kullanılanı endosteal implantlardır [7].

Endosteal implantlar

Protetik bir altyapı olarak cerrahi yolla rezidüel kemik kretine yerleştirilen alloplastik materyaldir. Kök şeklindeki implantlar; doğal diş köküne benzer şekilde tasarlanmıştır ve kısmi veya tam dişsiz hastalarda en sık tercih edilen tasarımıdır. Kemik içinde kalan implant gövdesine bağlanan, kemik dışındaki parçaya abutment (dayanak) denilmektedir [8].

En yaygın kök formu tasarımı başlangıç kemik iyileşmesi sırasında yumuşak dokunun altına implant yerleşmesine olanak tanıyan implant gövdesi ve abutmentin ayrı olduğu tasarımıdır. İmplantın açılması için ikinci bir cerrahi işlem gereklidir. Tasarım felsefesi klinik olarak rijit bir fiksasyon elde edilmesine dayanmaktadır. Son zamanlarda, tek aşamalı yaklaşıma olanak

tanıyan mukozayı geçerek ağız içine doğru uzanan (permukozal) kısımları olan implant gövdesi tasarımları da geliştirilmiştir. Aynı zamanda, immediyat yükleme teknikleri de yaygın olarak 2 parçalı ve tek parçalı implant tasarımları da bildirilmektedir [9].

2.2.2. İmplant destekli protezlerin sınıflandırılması

Bir implantı fonksiyonel kılan üzerine yapılan protetik restorasyondur. İmplant üstü protezler tam diş eksikliği veya kısmi diş eksikliğini içeren geniş çaplı biyolojik ve teknik problemlerin tedavi edilmesinde kullanılabilirler. Tam diş eksikliği veya kısmi diş eksikliğinde, hareketli protezler veya sabit protezler yapılabilir [10]. İmplant destekli protezler, şu şekilde sınıflandırılabilirler:

- SP-1; yalnızca kron restorasyonu yapılır. Bu restorasyonun uygulanabilmesi için sert ve yumuşak dokuda çok az miktarda kayıp olması gerekir. Rezidüel kemiğin hacim ve şekli, kronun kaybedilen doğal dişle aynı büyüklük ve konturda olmasını sağlamalıdır.
- SP-2; kron ve kök kayıpları giderilir. Kronun oklüzal konturu normaldir ancak gingival konturu arttırılır. Rezidüel kemiğin hacim ve şekli, doğal dişteki kök-kemik pozisyonu ile kıyaslandığında mine-sement birleşiminden 1-2 mm aşağıdadır.
- SP-3; kron, kök ve dişeti kayıpları giderilir. Bu protezleri yaparken genellikle yapay diş ve dişeti kullanılır fakat metal destekli porselen restorasyonlarla da giderilebilir. Kemik ve oklüzal düzlem arasında 15 mm'den daha az mesafe varsa metal destekli porselen bir restorasyon tercih edilir. Ancak mesafe 15 mm'den fazla ise hibrid restorasyonlar tercih edilir.
- SP-4; tamamı implant destekli overdenture protezdır. Mandibulada üst yapıda kullanılacak barlar mental foramenlerin arasına yerleştirilir ve kanatlar aracılığıyla uzatılır. Maxillada ise daha az implant kullanılır ve kanatlar mandibulada uygulanana kıyasla ya çok kısadır ya da yoktur. SP-3 restorasyonlar gibi rijit olduklarından implant pozisyon ve sayısına dikkat edilmelidir.
- SP-5; implant ve yumuşak doku destekli overdenture protezdır. Bu restorasyon ön bölgede implant, arka bölgede yumuşak doku desteği alır. Genelde kullanılan implant sayısı daha azdır. Bu restorasyonlar geleneksel hareketli protezlere benzer ancak maliyetleri daha düşüktür. Ancak tam protezlere kıyasla kemik rezorpsiyonu 2-3 kat daha hızlı olur, bu nedenle proteze birkaç yılda bir besleme yapılması gerekir.

2.2.3. İmplant destekli sabit protezler

İmplant üstü sabit protetik restorasyonlarda üstyapı tasarımları siman tutuculu ve vida tutuculu şeklindedir [10]. Restorasyonda kullanılacak üstyapı tasarımı vakaya göre değişiklik göstermektedir [11].

Vida tutuculu üst yapılar

Vida tutuculu sabit protezler, implantların ilk kullanıma sunuldukları dönemde, özellikle Brånemark protokolü ile tam ark protezler yapıldığı dönemde kullanılmışlardır [10]. Vida tutuculu protezlerde protez, vida aracılığıyla abutmenta vidalanarak sabitlenir.

Vida tutuculu protezler tam ark restorasyonlarda ve immediyat (anında) yükleme durumunda kullanılabilir çünkü vida tutuculu üst yapılarda implanta veya çevre dokulara zarar vermeden çıkarılabilir bir bağlantı mevcuttur. Protez implant arayüzündeki marjinal uyumsuzluk siman tutuculu restorasyonlara göre daha azdır. Bu tip tutuculu restorasyonlarda siman kullanılmadığı için, simana bağlı görülen biyolojik komplikasyonlar görülmez [12, 13]. İnterokluzal mesafe kısıtlılığı olan durumlarda kullanılabilir [14]. Vida tutuculu protezlerin avantajları olduğu gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Vida tutuculu restorasyonlarda, vida gevşemesi, vida kırılması, vida okluzale yakın konumlanmışsa porselen kırılması gibi mekanik komplikasyonlar sıklıkla görülmektedir. Vida delikleri estetik olarak problem olabilir, özellikle anterior bölgede açılı şekilde konumlanmış implantlarda vida tutuculu restorasyon kullanmak estetik problemlere neden olabilir. Vida tutuculu protezlerde okluzal uyumlamayı ayarlamak zordur. Vida tutuculu restorasyonlarda gelen kuvvetler marjinal kemik kaybına sebep olmaktadır. Laboratuvar ve klinik işlemleri daha zahmetlidir. Maliyeti daha yüksektir [10, 15-17].

Siman tutuculu üst yapılar

Siman tutuculu protezlerde, üstyapı implant üzerindeki abutmenta yapıştırıcı siman aracılığıyla sabitlenir. Bu tip protezler diş hekimliğinde en sık kullanılan restorasyonlardır [10, 18].

Siman tutuculu restorasyonlar, diş destekli sabit protezlere benzer yapım işlemleri olduğundan hekimler bu tip protezlere daha aşinalardır. Vida tutuculu restorasyonlarda

görülen mekanik komplikasyonlar siman tutuculu restorasyonlarda daha az görülmektedir. Abutment ve restorasyon arasında ara yüz oluşturduğu için pasif uyumu sağlamak daha kolaydır. Siman gelen kuvvetleri bir miktar absorbe etmektedir. Vida çıkış deliği olmadığından implantların ideal pozisyonunda yerleştirilemediği vakalarda estetik avantajları vardır. Siman tutuculu restorasyonlar, özellikle kısıtlı ağız açıklığı olan hastalarda posterior bölgeye daha kolay erişim imkanı sağlamaktadır. Okluzal uyumlama daha kolay yapılmaktadır. Laboratuvar işlemleri daha kolaydır [10, 16, 17].

Siman tutuculu restorasyonların tüm bu avantajlarına rağmen dezavantajları da bulunmaktadır. Fazla siman dişetine taşar ve özellikle 0.5 mm'den daha derin bölgelerde temizlenmesi oldukça zordur. Taşan simana bağlı periimplant mukozit, periimplantit, daha ilerleyen zamanlarda kemik kaybı ve implant kaybına kadar gidebilecek biyolojik komplikasyonlar görülebilmektedir. Artık simanın temizlenmesi sırasında implant parçalarının çizilmesi ihtimali vardır. Ayrıca kullanılan simanın tipine göre restorasyonu çıkarmak çok zor olabilir veya simanın çözünmesi sonucu retansiyon kaybedilebilir [6, 10, 16].

Yıllarca implant üstü restorasyonlarda vida veya siman tutuculu sistemlerden hangisinin kullanımının daha uygun olacağı araştırılmış ve bir sonuca varılamamıştır. Genellikle hekimler bu kararı klinik tecrübeleri ve kişisel tercihlerine göre verirler [11].

Klinisyenlerin büyük bir kısmı implant destekli protezlerde vida yerine siman tutuculuğunu tercih etmektedirler [19, 20]. Herhangi bir retansiyon yönteminin diğerine üstünlüğü olmamasına rağmen simante restorasyonlar, daha düşük komplikasyon oranı ve üstyapı seramiğinde yüksek kırılma dayanımına sahip olmaları sebebiyle daha çok tercih edilmektedirler [11, 15, 19, 21-23].

Vida ve siman tutuculu restorasyonların klinik sağkalım oranları, biyolojik, teknik ve mekanik komplikasyonları literatürde değerlendirilmiştir.

Lemos ve ark. [15] yayınladığı derlemede marjinal kemik kaybının vida tutuculu restorasyonlarda siman tutuculu restorasyonlardan daha fazla olduğu ve bu kaybın retansiyon sisteminin gelen kuvveti kemiğe iletmesinden kaynaklı olduğu, siman tutuculu restorasyonların, kemiğe daha eşit stres iletmediği sonucuna ulaşmışlardır. Aynı çalışmada

siman tutuculu restorasyonlardaki sağ kalım oranının vida tutuculu restorasyonlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Vida gevşemesinin her iki sistemde de görüldüğü bildirilmiştir.

Wittneben ve ark. [24] vida tutuculu ve siman tutuculu styapıların klinik performanslarını değerlendirdiği derlemelerinde 5 yıllık sağ kalım yüzdesinin siman tutuculu restorasyonlarda %96.03, vida tutuculu restorasyonlarda %95.55 olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmada her iki tasarımıda sağ kalım ve başarısızlık oranında anlamlı farklılık görülmemesine rağmen, vida tutuculu restorasyonlarda teknik komplikasyonların daha fazla olduğu, siman tutuculu restorasyonlarda biyolojik komplikasyonların daha fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Millen ve ark. [25] iki protez tipindeki başarısızlık oranlarını tek kron, köprü protezleri ve tam ark protezler açısından karşılaştırdıkları çalışmalarında iki bağlantı tipi arasında anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Ancak araştırmacılar köprü şeklindeki protezlerde teknik komplikasyonların, vidalı tutuculu restorasyonlarda siman tutuculu restorasyonlara göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Weber ve ark. [26] sistematik derlemelerinde, 72 aylık takip sonrası başarı oranlarının, siman tutuculu restorasyonlarda %93.2 vida tutuculu restorasyonlarda %83.4 olduğunu, vida tutuculu restorasyonlarda daha fazla komplikasyon olduğunu fakat anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir.

Thoma ve ark. [27] siman ve vida tutuculu kronlardaki biyolojik sonuçları karşılaştırdıkları çalışmalarında, siman tutuculu kronların etrafındaki mukozal dokuların daha yüksek oranda inflamatuvar hücre içerdiğini ve periodontal patojenleri barındırma olasılığının daha yüksek olduğu bildirmişlerdir.

2.3. Dental Simanlar

Dental simanlar; genellikle tek başlarına veya diğer materyallerle birlikte restorasyon maddeleri olarak veya sabit protez uygulamalarında yapıştırma maddeleri olarak kullanılırlar. Restorasyon maddeleri olarak simanlar; restorasyon veya ortodontik braketlerin yapıştırılmasında yapıştırma ajanı veya pulpayı koruma amaçlı kaide materyali

olarak kullanılmaktadır [28]. Yapıştırma simanlarının temel görevi, restorasyon ve diş arasındaki boşluğu doldurarak, fonksiyon sırasında restorasyonun yerinden çıkmasını önlemek amacıyla restorasyon ve diş arasında mekanik kilitlenme sağlamaktır [29].

2.3.1. Dental simanların tarihçesi

Dental simanlar klinisyenler tarafından birçok amaç için kullanılmaktadır ve bu simanların bulunması eski yıllara dayanmaktadır.

Çinko fosfat siman, 1878 yılında Peirce tarafından bulunan en eski yapıştırma materyali olarak kabul edilir ve 130 yılı aşkın bir süredir diş hekimliğinde kullanılmaktadır. Çinko fosfat siman yeni geliştirilen yapıştırma simanlarının karşılaştırılabileceği altın standart olarak kabul edilmektedir.

20. yüzyılın başlarında (1903) silikat simanlar geliştirilmiştir, bu simanlar ilk diş rengindeki dolgu malzemeleridir. Silikat simanlar, kompozit rezin ve cam iyonomer simanların öncüleri olarak düşünülebilir.

1968 yılında toz olarak çinko oksit, likit olarak polikarboksilik asit kullanılarak, D.C. Smith tarafından yeni bir siman üretilmiştir ve bu siman poliakrilat siman olarak adlandırılmıştır. Bu siman, dişe yapışma sağlayan ilk simandır.

1969 yılında Wilson ve Kent, cam iyonomer simanları hem silikat simanların hem de polikarboksilat simanların özelliklerinden yararlanılmak için geliştirmişlerdir. Bu nedenle cam iyonomer siman; toz olarak silikat cam, likit olarak poliakrilik asit çözeltisi kullanılan bir grup simanın genel adıdır. Bu siman adını, dişle ve bazı alaşımlarla kimyasal bağlanmada yardımcı olan karboksilik (COOH) grupları içeren cam tozu ve iyonomerik asit formülasyonundan almaktadır. 1986 yılında rezin cam iyonomer simanlar geliştirilmiştir. Günümüzde, rezinlerin mineye bağlanması için asitle pürüzlendirme tekniği ve dentine bağlanma özelliklerinin geliştirilmesiyle çeşitli rezin bazlı simanlar kullanıma sunulmuştur [30, 31].

2.3.2. Dental simanların sınıflandırılması

Simanlar; değişik uygulama yerlerine, mekanik özelliklerine, çalışma ve sertleşme zamanlarına, ağız sıvılarında erimelerine ve bazı temel niteliklerinin değişik olmalarına göre sınıflandırılabilirler.

Craig simanları içeriğine göre [32];

- Çinko fosfat
- Çinko silikofosfat
- Çinko oksit öjenol
- Çinko poliakrilat
- Cam iyonomer
- Rezin simanlar olarak sınıflandırmıştır.

Donovan simanları bilinirlikleri ve kullanımlarına göre [33];

- Geleneksel
- Yeni nesil simanlar olarak sınıflandırmıştır.

Wilson simanları temel sertleşme reaksiyonlarına göre [34];

- Asit baz reaksiyonu ile sertleşen
- Polimerizasyon reaksiyonu ile sertleşen simanlar olarak sınıflandırmıştır.

Günümüzde içeriğine göre dental simanların sınıflandırması [28];

- Fosfat Bazlı Simanlar
- Fenolat Bazlı Simanlar
- Polikarboksilat Simanlar
- Cam İyonomer Simanlar
- Rezin simanlar şeklindedir.

2.3.3. Dental simanların ideal özellikleri

Diş hekimleri, siman seçimi için geniş bir skalaya sahip olsa da, simanlar farklı avantaj ve dezavantajlara sahip olduğundan, tüm amaçlara yönelik ideal bir yapıştırma ajanı bugün için mevcut değildir.

İdeal yapıştırma simanı;

1. Biyouyumlu olmalıdır, toksik olmamalıdır, alerjik potansiyeli düşük olmalıdır,
2. Çürük veya plak oluşumunu inhibe etmelidir,
3. İdeal bir yapıştırma simanı ile yapıştırılan restorasyon, mikrosızıntıya karşı dirençli olmalıdır.
4. İdeal yapıştırma simanı, restorasyonun ömrü boyunca fonksiyonel güçlere direnmek için yeterli mekanik özelliklere sahip olmalıdır,
5. Çiğneme kuvvetlerine karşı yüksek basınç dayanıklılığı olmalıdır,
6. Kırılabilirliği azaltmak için yüksek gerilme direnci olmalıdır,
7. Elastisite modülü dentine yakın olmalıdır,
8. Sertleşme sırasında boyut değişikliği minimal olmalıdır,
9. Oral sıvılarda çözünürlüğü düşük olmalıdır ve su absorpsiyonu düşük olmalıdır,
10. Düşük film kalınlığına sahip olmalıdır,
11. Çalışma zamanı uzun, sertleşme zamanı kısa olmalıdır,
12. Kullanımı ve manüplasyonu kolay olmalıdır [29-31, 35, 36].

2.3.4. Fosfat bazlı simanlar

Çinko fosfat simanlar, bilinen en eski siman olmasına rağmen popülerliğini kaybetmemiştir ve yeni geliştirilen simanların karşılaştırılmasında altın standart olarak hizmet etmektedir. Çinko fosfat siman, metal altyapılı sabit protezlerin, porselen restorasyonların ve ortodontik braketlerin simantasyonunda ve pulpayı mekanik, termal veya elektriksel uyarılardan korumak amaçlı kavite astar materyali olarak kullanılmaktadır [28, 30].

Asit baz reaksiyonu ile sertleşmektedir ve fiziksel özellikleri toz-likit oranı, su içeriği, karıştırma sıcaklığı gibi değişkenlerden etkilenmektedir. Oda sıcaklığındaki çalışma süresi 3-6 dk, ağız sıcaklığında sertleşme süresi ise 5-9 dk. arasındadır [31].

Yüksek basınç ve düşük gerilme dayanımına sahiptir. Diş yapısına kimyasal olarak bağlanmamaktadır. Siman karıştırıldığı anda çok düşük bir pH değerine sahiptir, bu nedenle, dentin tübüllerine nüfus etmesini en aza indirmek için smear tabakası korunmalıdır [29].

2.3.5. Fenolat bazlı simanlar

Çinko oksit öjenol simanlar, kronların ve sabit protezlerin geçici simantasyonunda, geçici restorasyonlarda, derin kavitelere kavite astar materyali olarak kullanılmaktadır [28].

Çinko oksit öjenol siman, kullanımının kolay olması, antibakteriyel etkiye sahip olması, pulpa üzerinde ağrı kesici etkiye sahip olmasından dolayı popülerliğini kaybetmemiştir. Ayrıca çinko oksit öjenol simanların pH'ları nötrdür, çevre dokular ve sıvılar ile etkileşiminin minimal olması nedeniyle daha biyouyumlu kabul edilmektedir [35].

2.3.6. Polikarboksilat simanlar

Polikarboksilat simanlar 1968 yılında Smith tarafından geliştirilmiştir ve diş adezyon sağlayan ilk simandır [35].

Tozu %90 oranında ZnO, %10 oranında MgO içermektedir. Manipülasyon özelliğini arttırmak ve sertleşme süresini modifiye etmek amacıyla %4-5 oranında stannöz florid ilave edilmektedir. Likiti %35-45 poliakrilik asidin sudaki solüsyonundan oluşmaktadır. Mine ve dentinde bulunan kalsiyumla poliakrilik asit reaksiyona girerek, dişin sert dokularıyla kimyasal bağ oluşturur [37].

Polikarboksilat siman, çinko fosfat simandan daha fazla çözünür ve taşkın simanın temizlenmesi daha zordur. Polikarboksilat siman sertleştikten sonra çiğneme kuvvetleri altında önemli plastik deformasyona maruz kalabilir bu yüzden bu simanın kullanımı kısa sabit protezler ile sınırlanmıştır [29, 35, 37, 38].

2.3.7. Cam iyonomer simanlar

Cam iyonomer simanlar 1969 yılında Wilson ve Kent tarafından geliştirilmiştir ve ASPA (Alüminosilikat poliakrilat asit) ismiyle tanıtılmıştır [30].

Cam iyonomer simanlar geliştirilirken, silikat simanların florür salınım özelliği ile polikarboksilat simanların dış dokusuna olan adezyonunun birleştirilmesi amaçlanmıştır [35]. Cam iyonomer simanların tozu alüminasilikat ve büyük miktarda florür içerirken, likiti poliakrilik ve tartarik asit içermektedir. Simanın sertleşmesi asit baz reaksiyonuna dayanmaktadır. Cam iyonomer simanlar karıştırıldığında, poliakrilik asit, partiküllerin dış tabakası ile reaksiyona girerek kalsiyum, alüminyum ve florür iyonlarının salınmasına neden olmaktadır. Yeterli miktarda metal iyonu bulunduğunda jelleşme meydana gelmektedir ve malzemenin sertleşmesi 24 saat devam etmektedir. Cam iyonomer simanın sertleşme reaksiyonu toz likit oranından etkilenmektedir, karıştırırken fazla toz kullanmak viskoziteyi artırırken çalışma süresini kısaltmaktadır az toz kullanmak ise simanın fiziksel özelliklerini önemli ölçüde azaltmaktadır [29, 31, 38].

2.3.8. Rezin simanlar

Rezin simanlar 1980'li yılların ortasında indirekt restorasyonları yapıştırmak amacıyla üretilmiştir. Rezin simanlar Bis-GMA ve kompozit rezinden modifiye edilen diğer metakrilatları içermektedir ve sertleşmeleri polimerizasyon reaksiyonuna dayanmaktadır [30, 35, 37].

Rezin simanlar, kompozit restoratif materyaller ile aynı içeriğe sahiptir fakat daha düşük yoğunlukta doldurucu içermektedir. Ayrıca, içeriğindeki doldurucu ve reaksiyon başlatıcı monomerler daha düşük bir film kalınlığı, uygun çalışma ve sertleşme zamanına izin verecek şekilde düzenlenmiştir. Rezin simanların ana bileşeni, dimetakrilat rezin ve cam dolduruculardır, bu simanlar asitle aşındırılmış bir yüzeye mikromekanik kenetlenerek mineye bağlanmaktadır. Dentine bağlanma da mikromekaniktir fakat daha karmaşıktır ve genellikle smear tabakasının çıkarılmasını ve yüzey demineralizasyonu içeren birden fazla adım gerektirmektedir [35].

Yüksek basma, çekme ve bağlanma dayanımı, düşük çözünürlük özelliği ve estetik olmaları rezin simanların avantajlarıdır. Fakat yüksek film kalınlığına sahip olması, teknik hassasiyet gerektirmesi, siman fazlalığının giderilmesindeki zorluk, sertleşme sürecinde renginin bozulması ve zamanla renginin koyulaşması gibi dezavantajlara sahiptir. Bazı rezin simanlar, iterbiyum triflorür veya baryum alüminyum florosilikat doldurucular içermektedir

ve bu doldurucular sertleştikten sonra florin açığa çıkartarak çürük önleyici etki yapmaktadırlar [37].

Rezin simanlar sertleşme mekanizmalarına göre; ışıkla sertleşen, kimyasal olarak sertleşen ve hem ışıkla hem kimyasal olarak sertleşen rezin simanlar olarak sınıflandırılmaktadır. Kimyasal olarak sertleşen ve hem ışıkla hem kimyasal olarak sertleşen rezin simanlar, tüm simantasyon uygulamalarında kullanılabilirler. Fakat ışıkla sertleşen rezin simanlar polimerizasyonu sağlayan ışığın porselene nüfus etmesine izin veren porselen veneerler ve cam seramik restorasyonlarda kullanılabilirler.

Rezin simanlar bağlanma mekanizmalarına göre total etch (asitlenen ve yıkanan), self etch ve self adeziv rezin simanlar olarak sınıflandırılmaktadır. Asitlenen ve yıkanan sistemde ilk olarak asit uygulanır daha sonra bağlayıcı ajan uygulanır ve son olarak rezin siman uygulanmaktadır. Self etch sistemde asit ve bağlayıcı ajan tek bir şişede birleştirilmiştir daha sonra rezin siman uygulanmaktadır. Kullanım kolaylığını artırmak için self adeziv rezin simanlar geliştirilmiştir ve 2002 yılında piyasaya sürülmüştür. Bu simanlar simantasyon öncesinde diş veya restorasyon yüzeyinde ön hazırlık veya bağlayıcı ajan uygulanmasını gerektirmezler [31, 39].

2.3.9. İmplant simanları

Simanlar içeriklerine, kimyasal bağlanma özellikleri gibi çeşitli sınıflandırma sistemlerine göre sınıflandırılmaktadır. Restoratif ve protetik amaçla kullanılan simanlarla ilgili edinilen bilgiler dişler üzerindeki kullanımın sonucudur. Doğal diş destekli protezler için geçerli olan siman sınıflaması implant destekli protezler için geçerli değildir.

Mansour ve ark. [40] implant üstü protezlerde kullanılan simanların tutuculuk sıralarının doğal dişlerden farklı olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Siman tutuculu implant üstü protezler için yapıştırma simanı kullanımı biraz farklıdır ve protez tipine ve protezden uzun vadede beklenen hedefe bağlıdır. Örneğin; çinko oksit öjenol siman dişlerde kısa süreli simantasyon için kullanılmaktadır, fakat implant üstü restorasyonlarda yeterli retansiyon sağlayabilir. İmplant üstü protezleri yapıştırmak için kullanılan simanın yeterli mekanik destek, biyolojik olarak uygunluk ve yeterli tutuculuk

sağlaması gerekmektedir fakat bu restorasyonlar için simandan florür salınması ve diş bağlanma gibi özellikler beklenmemektedir [38].

İdeal implant yapıştırma ajanı, protez kullanımda iken yeterli tutuculuk sağlamalı fakat protezin çıkartılması gerektiğinde doku yüzeyine, abutmenta ya da restorasyona zarar vermeden kolayca ayrılma sağlamalıdır. İmplant üstü simanlar klinik olarak geçici simanlar, yarı kalıcı simanlar ve kalıcı simanlar olarak sınıflandırılmaktadır [41-43].

Geçici simanlar, ağız içi sıvılarda yüksek çözünürlük ve zayıf gerilme direnci gibi düşük mekanik özellikler göstermektedir [19]. Bu durum implant üstü geçici bir restorasyon yapıştırılırken veya periimplantitis ile ilişkili protezin yenilenmesi sırasında avantajlı olabilmektedir [44].

Geçici simanlar restorasyonun, dokulara abutmenta ve restorasyona zarar gelmeden kolayca çıkarılmasına izin vermektedir. Ayrıca taşan simanın temizlenmesi daha kolaydır. Fakat implant üstü restorasyonlarda geçici siman kullanıldığında tutuculuk kaybı görülmektedir. Çinko oksit öjenol veya öjenolsüz çinko oksit simanlar, geçici siman grubundadır. Çinko oksit öjenol siman kolay manipüle edilmesi, nispeten daha düşük maliyetli olması ve implanta gelecek okluzal stresleri dağıtması nedeniyle popülerlik kazanmış geçici simandır. Doğal dişlerin etrafında implantlardan farklı olarak periodontal lifler bulunmaktadır ve bu lifler gelen kuvvetleri karşılama özelliğine sahiptir. İmplant üstü restorasyonlar için kullanılan simanlar stresi dağıtmak için etkili olabilmektedirler. Bu simanların kullanımında sağlanan kolay çıkarılma avantajlarına zayıf fiziksel özellikler eşlik ettiği için bu durum hasta memnuniyetsizliğine yol açabilmektedir [39].

Ma ve Fenton [14], siman tutuculu restorasyonlarda geçici siman kullanıldığında %17.6 oranında tutuculuk kaybı görüldüğünü bildirmişlerdir.

Yarı kalıcı simanlar, implant üstü protezin fonksiyon sırasında çıkmasını engelleyecek tutuculuk sağlamak, aynı zamanda protezin çıkarılması istendiğinde kolay çıkarılmasına izin vermek amacıyla geliştirilmiştir. Çinko fosfat siman ve cam iyonomer simanlar yarı kalıcı siman grubunda yer almaktadır [19, 45]. Çinko fosfat simanlar abutment üzerindeki düzensizliklere mikromekanik kenetlenerek tutuculuk sağlamaktadır. Yarı kalıcı siman kullanımında, geçici siman kullanımına kıyasla desimantasyon riski azalmıştır. Yarı kalıcı

simanların gerilme direnci geçici simanlardan daha yüksek, kalıcı simanlardan daha azdır. Kalıcı simanlar, örneğin rezin siman petroleum jeli ile karıştırıldığında yarı kalıcı siman elde edilebilmektedir [46]. Titanyum ve zirkonyum abutment kullanıldığında çinko fosfat siman ve cam iyonomer siman kolay çıkarılmaya izin vermektedir [40, 45, 47].

Wittneben ve Brogger's [24], implant üstü restorasyonların çinko fosfat siman ile yapıştırıldığında desimantasyon oranının %0 olduğunu bildirmişlerdir.

Periimplant dokunun sağlığı dikkatli bir şekilde değerlendirilmesinden sonra, klinisyenler protezi kalıcı olarak yapıştırmak isteyebilirler. Kalıcı simanlar, çiğneme kuvvetleri altında uzun süreli tutuculuk sağlayabilmeli, periimplant sağlığın bozulmasına izin vermemeli, estetik beklentileri karşılayabilmelidir. Resin modifiye cam iyonomer siman, polikarboksilat siman, rezin siman kalıcı siman grubundadır.

Chaar ve ark. [48] kalıcı simanlarla yapıştırılan restorasyonların desimantasyon oranının %4 olduğunu bildirmişlerdir.

Schwartz ve ark. [49] çalışmalarında yarı kalıcı simanların kırılma insidansı ve tutuculuk kaybının kalıcı simanlara göre daha fazla olduğunu göstermişlerdir fakat araştırmacılar yarı kalıcı ve kalıcı siman kullanılan sabit bölümlü protezlerin veya abutmentlerin kırılma direncinde hiçbir fark bulunmadığını belirtmişlerdir.

Genel olarak, farklı kalıcı ve geçici simanların gerilme direncini karşılaştıran çalışmaların çoğuna göre, siman tutuculuğunun en azdan en fazlaya doğru sırası; çinko oksit (öjenollü veya öjenolsüz) polikarboksilat, cam iyonomer, rezin modifiye cam iyonomer, çinko fosfat ve adeziv rezin simanlardır [40, 45, 48, 50-52].

Kalıcı simanlar arasında seçim yaparken, fazla simanın uzaklaştırılmasındaki zorluk ve titanyum abutmentlere verilebilecek hasar da göz önünde tutulmalıdır. Agar ve ark. [51] simanları temizlenmesi en zor olandan en kolay olana doğru; çinko fosfat siman, cam iyonomer siman ve rezin siman şeklinde sıralamışlardır.

Wadhwani ve ark. [53] çalışmalarında implant üstü restorasyonları yapıştırmak amacıyla sıklıkla rezin modifiye cam iyonomer siman kullanıldığını, bunu takip eden yüzdelerde kompozit rezin, cam iyonomer ve çinko fosfat siman kullanıldığını bildirmişlerdir.

2.3.10. Artık simanın periodontal dokulara etkisi

Siman tutuculu restorasyonların temel dezavantajı, dişeti bölgesine taşan artık simandır. Artık siman periimplant hastalıklarının %80'den fazlasından sorumludur. Artık simana periimplant dokunun yanıtının şiddeti, kanama, şişme ve eksudasyondan, ataçman kaybına ve nihayetinde implantın kaybına kadar değişmektedir [41, 43].

Wilson ve ark. [54] sulküler kanama ve süpürasyon görülen implantların yaklaşık %81 'inde periimplant dokuda artık siman ile karşılaşmıştır. Artık simanı periimplant bölgeden temizledikten 4 hafta sonra, iltihap belirtilerinin ortadan kalktığını gözlemişlerdir.

Artık siman, bakteriyel kolonizasyona bağlı olarak periimplant dokuların iltihaplanmasına (periimplantitise) neden olabilmektedir. Simanların pürüzlü yüzeyleri mikroorganizmalar için retantif alan oluşturup mikroorganizmaların uzaklaştırılmasını zorlaştırdığından, periimplant bölgede artık siman kalması enfeksiyon açısından yüksek risk taşımaktadır [55]. Metakrilat içeren simanlar kullanıldığında daha çok bakteriyel kolonizasyona neden olduğu görülmüştür [56].

Simanlar kimyasal içerikleri ve polimerizasyon reaksiyonları nedeniyle dokularda toksik etkiye neden olabilmektedirler. Restorasyonları implant abutmentlarına yapıştırmak için özel olarak formüle edilen yeni rezin simanların kalıcı davranışı ile ilgili olarak literatürde çok fazla veri yoktur. Bu siman bileşimlerinin bazıları, hücre canlılığına, çoğalmasına ve farklılaşmasına zarar verebilecek fosforik asit, öjenol ve akrilikler gibi güçlü reaktifler içermektedirler [57, 58].

Rezin simanlar monomerler içermektedir ve polimerizasyon reaksiyonundan sonra monomer salınımı yapabilmektedirler. Rezin simanların bağlanma özellikleri gelişmiştir bu sebeple dişeti dokusuna taşan simanın temizlenmesi zordur bu durumda dişeti bölgesindeki rezinin bozulmasına ve monomer salınmasına neden olmaktadır. Rezin simanlardan monomerlerin salınması, implantı çevreleyen dokularda geçici olarak periimplantitise ve kemik yıkımına neden olmaktadır [57]. Ayrıca hava ile inhibe edilmemiş polimerize olmayan yüzeysel katmanları, hücre için toksik bir ajan olan formaldehit içermektedir [58]. Diğer yandan, çinko oksit öjenol veya öjenol içermeyen çinko oksit gibi içeriğinde çinko bulunduran simanlardan salınan çinko iyonları antibakteriyel etki göstermektedir [59, 60].

Rezin modifiye cam iyonomer simanların polimerizasyonunda salınan 2- hidroksi etil metakrilat hakkında da bazı endişeler bulunmaktadır. Bu materyalin apoptoz, inflamasyon, alerji ve kontak dermatit gibi çeşitli toksik aktivitelere sebep olduğu bilinmektedir [61].

2.4. Biyouyumluluk

Biyouyumluluk, bir malzemenin amaçlandığı şekilde kullanıldığında, uygun bir biyolojik cevap oluşturması olarak tanımlanır. Biyouyumluluğun daha genel tanımı ise, bir materyalin konakçı tarafından istenmeyen lokal veya sistemik etki ortaya çıkarmadan, istenilen görevini yerine getirmesidir [62].

Biyouyumlu bir materyal tamamen “inert” olmayabilir; aslında, konakçı yanıtının uygunluğu belirleyicidir [63].

Biyouyumluluk sadece materyale bağlı değildir, materyal ve çevre arasındaki etkileşime bağlıdır. Bir malzeme canlı dokuya yerleştirildiğinde karmaşık biyolojik sistem tarafından bir tepki açığa çıkar. Biyolojik sistemin verdiği tepki malzemeye, konağa ve malzemeye yerleştirilen kuvvetlere ve malzemenin işlevine bağlıdır. Bir materyalin konumu ve işlevini tanımlamadan biyouyumluluğu belirlenemez. Bir malzemenin inert olması bu tür etkileşimlerin olmadığı anlamına gelir fakat, günümüzde vücutta hiçbir malzemenin gerçekten inert olmadığı bilinmektedir [64]. Bu nedenle bir malzeme tam anlamıyla biyouyumlu olamaz, ancak belirli koşullar altında belirli doku veya doku kategorisinde test edildiğinde veya kullanıldığında kabul edilebilir bir doku yanıtı ortaya çıkarması gerekir. Bugün kullanımda olan birçok dental materyal belirli oranlarda doku cevabı oluşturmaktadır [65].

Biyouyumluluk statik olmayan dinamik bir süreçtir. Vücudun bir materyale tepkisi dinamiktir, çünkü vücut hastalık veya yaşlanma yoluyla değişirken, materyal korozyon veya yorgunluk ile değişebilir, okluzyon veya diyetteki değişikliklere bağlı olarak materyal üzerine gelen kuvvetler de değişiklik gösterebilmektedir. Bu değişikliklerden herhangi biri başlangıçta uygun olan ve istenilen biyolojik yanıtı değiştirebilir. Materyal ve konakçı arasındaki etkileşimler devam eder bu nedenle, materyale karşı olan biyolojik cevap devam eden bir süreçtir [64].

2.4.1. Biyouyumluluğun bileşenleri

Bir biyomateryalin istenilmeyen doku reaksiyonuna neden olmaması ve ondan istenilen görevi yerine getirmesine ek olarak, biyomateryalin sitotoksitesi, genotoksitesi, mutajenitesi, karsinojenitesi ve immünojenitesi materyalin biyouyumluluğunu oluşturan bileşenler olarak kabul edilmektedir.

Toksisite, bir malzemenin biyolojik bir sisteme kimyasal yollarla zarar verme yeteneğini ifade etmektedir.

İmmünojenite, bir malzemenin bağışıklık hücrelerinin reaksiyonunu tetikleme kabiliyeti ve derecesi olarak tanımlanabilmektedir. Önceden hassaslaşmış bir kişide reaksiyon ortaya çıkaran konsantrasyonlar denekler arasında değişebilmektedir. Alerjik reaksiyonlara neden olan doz seviyeleri genellikle toksik reaksiyonlara neden olan seviyelerden çok daha azdır.

Genotoksisite, genom DNA'sının baz çifti dizisindeki bir değişikliği tanımlamaktadır. Hücreler, genotoksik hasarları onarmak için çok sayıda mekanizmaya sahiptir. Alternatif olarak, bu genetik hasarların sonraki nesil hücreye aktarılması programlanmış hücre ölümü (apoptoz) ile önlenabilir.

Genetik hasarlar sonraki nesle aktarılırsa, bu etkiye mutajenite denmektedir. Mutajenite ve karsinojenite aynı şey değildir.

Karsinojenite, DNA'daki değişikliklerin bir hücrenin uygunsuz şekilde büyümesine ve bölünmesine neden olduğu anlamına gelmektedir. Karsinojenite çeşitli mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Mutajenik olayların hepsi karsinogeneze neden olmamaktadır [66].

2.4.2. Dental materyallerin biyouyumlulukları

Biyouyumluluk dental restoratif malzemelerin temel gereksinimlerinden birisidir.

Ağızda ve maksillofasiyal bölgede kullanılan dental materyallerin kullanım amaçlarına göre biyouyumlulukları farklı şekilde olabilir. Tamamen implante edilmiş materyaller dışında kullanılan diğer materyaller ağız içinde tükürük, gıda maddeleri, bakteriler ve çevre bileşenleri ile etkileşimdedir.

Vücuttaki biyomedikal malzemelerin yerleştirilebileceği çoğu bölge sabit bir sıcaklığa ve kimyasal bileşime sahip olsa da oral bölge aşırı sıcaklık, pH değişimi ve gıdaların kimyasal bileşimini içermektedir. Ağız içinde dondurmada (0°) sıcak kahveye (90°) aşırı sıcaklık değişimi termal genleşme, mekanik özelliklerde değişiklikler veya bağlanmada başarısızlık gibi uyumluluk sorunlarına yol açabilmektedir. Diş çürüğüne neden olan bakterilerin çevresindeki mikro ortamdaki pH değeri 2.2 ye kadar düşmüş olabilir. Gastrik sekresyonların pH'ı 1.0 ila 3.5'tir ve midede üretilen asidin pH'ı 0.8'dir. Ağız içinde kullanılacak malzemelerin tıbbi şartlar, bulimia veya reflü nedeniyle mide içeriğine maruz kalması bu malzemelerin biyouyumluluğunu değiştirebilmektedir.

Çürük bir diş temizlendiğinde temizlenen bölgedeki dentin kanalları açığa çıkar ve kullanılan malzemenin kimyasal bileşenleri dişin pulpa odasına dentin kanalları yoluyla taşınabilir. Malzemenin olası toksik etkisi kılcal damarlar ve nöronlar yoluyla sistemik dolaşıma ve ağızdaki diğer dokulara zarar verebilir. Eğer belli materyallerin pulpa odası ile temas etmesinin dezavantajı varsa, materyal uygulanmadan önce mutlaka izolasyon sağlayıcı liner kullanımı gibi önlemler alınmalıdır. Birçok restoratif materyal yerleştirme sırasında hazırlanan diş boşluğunda polimerize edilen veya başka şekilde reaksiyona giren bileşiklerdir. Bu malzemeler bir tür sertleştirme reaksiyonu yoluyla birleştirilen monomerler, doldurucular, başlatıcılar, hızlandırıcılar ve katkı malzemelerinden oluşurlar. Bileşenlerin oranları doğru değilse veya sertleştirme reaksiyonu tam gerçekleştirilememişse, bileşenlerin bir kısmı veya tamamı tükürük içinde çözünebilir ve tübüllerden pulpa odasına geçebilir veya başka bir şekilde salınabilir. Bazı monomerler sertleşme meydana gelmeden önce veya sertleşme reaksiyonu sırasında salınabilir. Sertleştirici reaksiyonun tipine bağlı olarak başlatıcılar ve hızlandırıcılar, polimer zincirinin bir parçası haline gelmeden polimerizasyonun meydana gelmesine veya hızlanmasına neden olabilir, bu da malzemenin monomer salınmasına ve salınan monomerlerin dokularla temasına yol açabilir [65].

2.4.3. Biyolojik uyum testleri için standartlar

Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO), dünya çapında ulusal standart organlarının federasyonudur.

Biyouyumluluk test yöntemleri için ulusal standartlar mevcuttur. Uluslararası standartlar diş hekimliği malzemeleri (ISO 7405) ve tıbbi cihazları (ISO 10993) kapsamaktadır [67].

Diş hekimliği materyalleri, diş hekimliği uygulamasında ve ilgili prosedürlerde, yetkili kişiler tarafından kullanılmak üzere özel olarak hazırlanan çeşitli malzemelerin kombinasyonundan oluşmaktadır.

ISO 7405 Standardı: Uluslararası ISO 7405 standardı, Diş hekimliğinde kullanılan tıbbi cihazların biyouyumluluğunun klinik öncesi değerlendirilmesine izin vermektedir. Bu ISO belgesi Dünya Diş hekimliği Federasyonu ile birlikte hazırlanmıştır. Diş hekimliğinde kullanılan malzemelerin klinik öncesi testleri ile ilgilidir ve ISO 10993'ü tamamlamaktadır.

ISO 10993 Standardı: Tıbbi cihazların biyolojik olarak değerlendirilmesi başlıklı 10993 standart ulusal ve uluslararası ilkelerin bir araya getirilmesiyle oluşmuştur. Bu standardın birincil amacı insanların korunmasıdır. Bu belge sürekli olarak güncellenmiştir ve cihaz güvenliği ile ilgili biyolojik tepkilerin değerlendirilmesinde kullanılacak testlerin seçimi için genel rehberdir.

ISO 7405 ve ISO 10993 diş hekimliğinde kullanılan malzemelerin biyolojik olarak değerlendirilmesinde standart uygulamaları tavsiye etmektedir. Bu uygulamalar;

1. Diş hekimliğinde kullanılacak malzemenin üreticisi, malzemenin kullanım amacına ve malzemenin kendisinin veya bileşenlerinin bilinen ve varsayılan toksisite profiline uygun testlerin seçilmesinde görevlidir.
2. Malzeme üreticisi, maliyet, deneyim veya diğer nedenlerden ötürü 3 sitotoksisite testinden herhangi birisini seçebilir.
3. Sitotoksisite testleri 4 aşamadan oluşur. Yeni materyallerin sitotoksisitesi, kapsamlı hayvan deneyleri ve klinik çalışmalara tabi tutulmadan önce başlangıç sitotoksisite testleri ve ikincil doku tarama testlerine tabi tutularak belirlenmelidir.
4. Test sonucu üreticinin malzemenin belirtilen şekilde kullanımına göre değerlendirilmeli ve yorumlanmalıdır [67, 68].

2.4.4. Dental materyaller için biyolojik uyum testler

İnsanlarda kullanılması amaçlanan herhangi bir malzeme veya cihazın seçimi ve değerlendirilmesi yapısal bir değerlendirme gerektirir. Diş hekimliğinde kullanılan özellikle

restoratif materyaller olmak üzere birçok materyal, dentin, pulpa, diş eti gibi birçok doku ile etkileşimindedir ve bu materyallerin biyouyumluluğunun değerlendirilmesi önemlidir.

Yeni bir materyalin biyolojik olarak uygunluğunu saptamak için çeşitli testler yapılmaktadır. İlk aşama basit, kısa süren ve daha ucuz olan başlangıç testlerinin uygulanmasıdır. Fakat başlangıç testlerinde malzemenin kullanım koşulları tam olarak yansıtılamadığı için çok doğru sonuç vermemektedir [64].

Başlangıç testleri tamamlandıktan sonra klinik öncesi genellikle memeli hayvanların kullanıldığı hayvan testleri aşamasında test materyalleri hayvanlara implante edilir. Hayvan deneylerinde değişkenleri kontrol etmek zordur ve etik açıdan tartışmalı olan bu testler uzun sürer ve pahalıdır [64].

Son aşama kullanımda olan malzemenin klinik performansını değerlendirmektir[69].

Bir materyalin biyouyumluluğunun değerlendirilmesi 3 aşamadan oluşmaktadır;

1. Birincil testler (başlangıç testleri) (in vitro)
2. İkincil testler (in vivo hayvan deneyleri)
3. Kullanım testleri (klinik deneyler) [70]

Biyolojik testlerin sınıflandırması için FDI (Dünya Dişhekimleri Birliği) sınıflaması ise Çizelge 2.1'deki gibidir.

Çizelge 2.1. Biyolojik testler için FDI sınıflaması

Birincil testler	İkincil testler	Kullanım testleri
• LD50 ağız içi test • LD50 karın içi test • Soluma testi • Hemolizis testi • Ames testi • Styles testi • Dominant letal test • Sitotoksite testi	• Kemik implantasyon testi • Oral müköz membran iritasyon testi • Sensitizasyon testi • Subkutanöz implantasyon testi	• Restoratif materyaller için pulpa ve dentin testi • Kuafaj ve pulpatomi materyalleri testi • Endodontik materyal testi • Kemik içi implant materyali testi

Uygulanan bu test yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları Çizelge 2.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Biyouyumluluk test yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları

Test	Avantaj	Dezavantaj
Birincil testler (İn vitro deneyler)	-Hızlı uygulama -Ucuz olması -Standardize edilebilirlik -Geniş bir skalada değerlendirme -Deneysel kontrol kolaylığı -Etkileşim mekanizmalarının mükemmelliği	İn vivo ortamla tartışmalı ilişkisi
İkincil testler (İn vivo deneyler)	-Karmaşık sistemik etkileşimlerin belirlenebilmesi -İn vitro testlere göre daha geniş kapsamlı ve daha gerçekçi olması	-Pahalı olması -Zaman alıcı olması -Sonuçları değerlendirme zorluğu
Kullanım testleri (Klinik çalışmalar)	Kullanılan materyalin dokularla ilişkisinin belirlenebilmesi	-Çok pahalı olması -Fazla zaman alıcı olması -Etik açıdan daha tartışmalı olması -Kontrolünün zorluğu -Sonuçları değerlendirme zorluğu

İn vitro testler

İn vitro biyouyumluluk testleri, bir test tüpünde, hücre kültürü kabında veya başka bir şekilde yaşayan bir organizmanın dışında gerçekleştirilmektedir. Bu testler oldukça çeşitlidir, ancak genellikle hücreler doğrudan materyal ile temas ettirilir. Materyale verilen tepki genellikle materyale maruz kalan hücrelerin sayısı, büyüme hızı, metabolik fonksiyonu veya diğer hücresel fonksiyonu ölçülerek belirlenmektedir. İn vitro testlerin avantajı deneysel olarak kontrol edilebilir, tekrarlanabilir, hızlı, nispeten ucuz ve basit olmasıdır. Ek olarak, bu testler genellikle hayvanların ve insanların test için kullanımını kısıtlayan etik ve yasal konulardan kaçınmaktadır. İn vitro testlerin temel dezavantajı, organizmanın dışında gerçekleştirildiğinden verilen tepki yanıltıcı olabilmektedir [64].

İn vitro testler:

1. a. Direkt hücre kültürü
 - i. Direkt temas testi
 - ii. Ekstrakt testi
- b. Bariyer test metodu
2. Agar difüzyon testi

3. Filtre difüzyon testi
4. Dentin bariyer testi

Hücre kültürü metodu

Yeni bir materyalin değerlendirilmesinde ortak bir ilk adım, materyalin veya materyalin ekstraktının uygun bir hücre kültürüne yerleştirilmesi ve hücrelerdeki değişikliğin saatler ile birkaç gün arasında gözlenmesidir. Bu testler normalde oral ortamdan alınan hücrelerin kültürleri üzerinde gerçekleştirilmez, ancak daha yaygın olarak ticari olarak temin edilebilen yerleşik hücre hatları kullanılarak gerçekleştirilir, bu da neredeyse aynı klonlanmış hücreler kullanılarak farklı malzemeler için gerçekleştirilen testlerin karşılaştırılmasına izin vermektedir. Bu hücreler fibroblastlar, makrofajlar veya diğer hücre türleri olabilir [65].

Hayvan veya insan dokuları, hücre kültüründe uygun koşullar altında büyütüldükten sonra bu testler için kullanılır. Rutin olarak kullanılan hücre hatları, fare fibroblastları (L929, 3T3) veya insan epitel hücreleridir. Bu hücre hatları, iyi anlaşılmış ve tutarlı, öngörülebilir davranışlara sahiptir. Hücreler kültür kaplarında tutulur ve tek bir hücre tabakası oluşana kadar üreme için uygun koşullar altında kültür kaplarına yerleştirilir. Daha sonra test edilen malzeme kültüre eklenir. Mikroskop altında kapsamlı bir incelemeden sonra hücre hatlarındaki değişiklikler kaydedilir [70].

Ağız ortamında dentin, kaviteye uygulanan materyal ile pulpa arasında bariyer görevini üstlendiği için direkt materyal-hücre teması testleri klinik durumu taklit etmemektedirler. Bu nedenle bariyer test metodunda dentini taklit eden ve dentin gibi test materyali bileşenlerinin difüzyonuna izin veren çeşitli maddeler bariyer olarak kullanılmaktadır [68].

Agar difüzyon testi

Agar difüzyon testi, toksisite deneylerinde en uzun süredir kullanılan bariyer test yöntemidir. Bu test yönteminde monokültür hücre tabakası üzerine yerleştirilmiş agar tabakası kullanılmaktadır, test edilecek malzeme agar tabakasının üzerine yerleştirilmektedir. Bu yöntem ile fare fibroblast (L929) hücrelerinin üzerini örten %1,5' luk agar besiyerinden difüze olan test materyalleri bileşenlerinin toksisitesi incelenmektedir [68, 70].

Filtre difüzyon testi

Bu yöntem, agar difüzyon testlerine benzerlik göstermektedir. Bir milipor (selüloz asetat) filtre, hücre hattı ile test edilen malzeme arasına serpiştirilmektedir. Gözenek büyüklüğü 0.45 pm olan filtreden diffüze olan test materyalli bileşenin toksisitesi incelenmektedir [70].

Dentin bariyer testi

Bu yöntem bir in vitro test yöntemi olmasına rağmen ağız ortamını taklit etmektedir. Bu yöntemde, materyal ve hücre kültürü arasına dentin diskleri yerleştirilerek materyalin bileşenlerinin toksisitesi incelenmektedir.

Sitotoksosite değerlendirme yöntemleri

Uygulanan materyalin hücrenin yaşamına olan etkisi biyoyumluluğu belirleyici etkindir. Sitotoksosite moleküler olaylar sonucu çeşitli makromolekülerin sentezlenmesinin engellenmesi ve buna bağlı olarak hücrenin fonksiyonlarında ve yapısında belirgin hasarlar meydana gelmesi olarak tanımlanmaktadır. Sitotoksitenin değerlendirilmesi için standartlara göre hücre ölümü, metabolik bozulma, membran bütünlüğünün bozulması, hücre morfolojisinin değişmesi, hücre adezyonunun azalması gibi belirteçler kullanılabilir. Bu belirteçlerin içinde en az güvenilir olanı doğrudan hücre ve koloni sayısının belirlenmesidir. Sitotoksosite değerlendirme yöntemleri dört başlık altında incelenebilir.

Bunlar:

1. Canlılık değerlendiren testler: kısa dönemde oluşan toksik reaksiyonların etkileri incelenir.
2. Yaşam değerlendiren testler: uzun dönemde oluşan toksik reaksiyonların etkileri incelenir.
3. Hücre proliferasyonunu değerlendiren testler:
4. Metabolik sitotoksosite değerlendirme testleri:

Canlılık değerdendiren testler

Canlılık testleri toksik etkiler sonucunda kültürde kalan canlı hücre oranının saptanması amacıyla kullanılır. Canlılık testleri membran bütünlüğünün bozulduğu hücrelerin içerisine alınan tripan mavisi, eritrosin ya da naftalin siyahı gibi boyalar yardımıyla veya membran bütünlüğü bozulmamış canlı sağlam hücrelerin içerisine alınan nötral kırmızı ya da diasetil floresan gibi boyaların kullanılması ile yapılır [71].

Yaşam değerdendiren testler

Kısa dönem testleri hızlı ve kolay uygulanabilir olmasına karşın değerdendirme sırasındaki ölü hücreleri göstermektedir. Toksik uyarılara maruz kalan hücrelerdeki etkiler birkaç saat, gün veya daha geç dönemlerde de gözlemlenmektedir. Bu nedenle canlılık oranının belirlenmesinde, kısa dönemde gerçekleşen toksisite reaksiyonlarında geri dönüşüm olabildiğinden uzun dönem testleri kullanılmaktadır [71].

Hücre proliferasyonunu değerdendiren testler

Kültür içerisinde yer alan hücrelerin birkaç gün sonraki sayılmasıyla materyal bileşenlerinin hücre proliferasyonuna olan etkisi saptanmaktadır. Ancak test süresi içerisinde belli bir anda gerçekleştirilen hücre sayımı belirgin bir sonuç vermediğinden dolayı en azından testin erken aşamalarında bir büyüme eğrisinin oluşturulması gerekmektedir. Hücre sayımında büyüme eğrisi analizleri örnek sayısının az olduğu durumlarda kullanılabilir ancak sayı artarsa bu analizler kullanışlı olmayacaktır. Bu yöntemde en çok kullanılan testler; 3H-timidin ve Bromodeoksiuridin immunohistokimyasal tekniktir [71].

Metabolik sitotoksisite değerdendirme testleri

Örneklem sayısının fazla olduğu deneylerde yaşam belirleme testlerinin hazırlık aşamaları ve test sonuçlarının analizleri zaman alıcı ve zahmetli olabilmektedir. Ayrıca bazı düşük yoğunluktaki hücre hatlarının özellikle de izolasyonu yeni yapılmış hücrelerin koloni oluşturabilme kabiliyetleri zayıftır. Bu nedenlerle bazı alternatif test metotları geliştirilmiştir. Bu testler ile direkt olarak hücre yaşam değerdendirilmesi yapılamaz ancak yapılan bu testlerde hücre sayısındaki net artış miktarı, total protein miktarı ve DNA artışı belirlenebilmektedir. Aynı zamanda bu test ile tetrazolyum tuzunun formazan kristaline

indirgenmesi ya da DNA veya protein sentezi belirlenerek devam eden metabolik aktivite saptanabilir. Metabolizma testlerinde hücrelerin canlılıkları mikropilaya okuyuculu spektrofotometre cihazları ile gerçekleştirilmektedir. Hızlı ve ucuz bir yöntemdir ve Tetrazolyum tuzları ile yapılan testler, alamar mavisi testi, LDH testi bu gruba giren testlerdir [71].

Tetrazolyum tuzları ile yapılan testler

Tetrazolyum tuzları heterosiklik organik yapıda bileşiklerdir. Tetrazolyum tuzlarının elektron alarak indirgenmeleri, formazan denilen yapıya dönüşmelerini sağlayarak, renk değişikliğini beraberinde getirmektedir. Tetrazolyum halkası ancak aktif mitokondri tarafından kırılabilir ve böylece renk reaksiyonunu yalnızca canlı hücreler meydana getirebilmektedirler [72].

Ölü hücreler tetrazolyum bileşiklerini indirgeme yetilerini kaybederler ve herhangi bir renk değişimine neden olmazlar. Bu değişimin, in vitro ortamda yalnızca canlı hücreler tarafından yapılabilmesi, tetrazolyum bileşiklerini biyolojik anlamda önemli kılmıştır [73].

Mossman tarafından geliştirilen MTT (2-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-3,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) testinden sonra, XTT(2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid), MTS (5-[3-(carboxymethoxy)phenyl]-3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium inner salt), WST-1 (sodium 5-(2,4-disulfophenyl)-2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-2H-tetrazolium inner salt) gibi farklı özelliklere sahip tetrazolyum bileşikleri geliştirilmiştir [73].

Araştırmalarda kullanılan formazan tetrazolyum maddesi hücre içine girebilme ve vasatta çözünme özelliklerine göre 2'ye ayrılmaktadır. İlk grupta bulunan MTT, pozitif yüklü bir bileşiktir ve ökaryot hücrelerin membranını kolaylıkla geçerek hücre içinde indirgenebilir, ancak indirgenme sonucu oluşan formazan, suda çözünmez niteliktedir ve dolayısıyla vasatta kristal şeklinde çökmektedir. İkinci grupta bulunan MTS, XTT ve WST bileşikler ise negatif yüklüdürler ve hücre membranını geçemezler. Bu yüzden ilgili bileşiklerle birlikte ara elektron alıcı moleküllerin kullanılması zorunluluğu doğmaktadır. Elektron alıcı molekül, hücre içerisine girerek sitoplazmadan veya plazma membranından

elektron alır ve vasata geri dönerek tetrazolyum bileşiğini indirger bu bileşikten oluşan formazan suda ve dolayısıyla vasatta çözünmektedir [74, 75].

Tetrazolyum bileşikleri ile yapılan canlılık testleri, üç aşamada gerçekleştirilmektedir, ilk aşamada hücreler belirli bir süre toksik maddeye maruz bırakılırlar. İkinci aşamada toksik madde uzaklaştırılıp tetrazolyum bileşiği vasata eklenir ve ortalama 1-4 saat boyunca inkübe edilir, bu esnada canlı hücreler ilgili bileşikleri indirgeyip formazana dönüştürerek renk değişimini gerçekleştirir. Son aşamada ise renk değişimi spektrofotometrik yöntemle ölçülerek canlı/ölü hücre sayısı belirlenmektedir [72].

MTT bileşiği sarı renklidir, oluşan formazan ise mor renkli olup suda çözünmez niteliktedir ve absorbansın ölçülebilmesi için uygun bir çözücüde çözdürülmelidir. XTT, MTS ve WST testlerinde, ek bir çözdürme işlemine gerek duyulmamasının yanında, deney süresince çeşitli zamanlarda absorbansın kaydedilmesi mümkün olmaktadır, bu sayede canlılığın değerlendirilmesi hakkında daha detaylı ve hücre sayısı hakkında MTT testine nazaran daha hassas bilgi sunmaktadırlar [75, 76].

XTT (2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid) testi

Yaptığımız çalışmada kullanılan sitotoksikite test yöntemidir. XTT, Paull ve arkadaşları tarafından 1988 yılında sentezlenen bir tetrazolyum tuzudur [77]. XTT renksiz ya da hafif sarı renkli bir bileşik olup indirgendiğinde parlak portakal rengine dönüşmektedir.

Aktif olarak proliferen olan hücrelerde XTT dönüşümündeki artış spektrofotometrik olarak değerlendirilmektedir. Bu değerin herhangi bir işleme tabi tutulmamış kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucunda hücresel proliferatif aktivitenin göreceli artışı belirlenir [75].

Hayvan testleri

Biyouyumluluk için yapılan hayvan testleri in vitro testlerden farklıdır, çünkü materyal genellikle memeli olan bir hayvana yerleştirilir. Örneğin, malzeme bir fareye implante edilebilir veya sıçan, kedi, köpek, koyun, keçi veya maymun dişine yerleştirilebilir. Bu testte bir memeli kullanıldığı için verilen tepki karmaşık biyolojik sistem tarafından verilir dolayısıyla in vitro testlerde elde edilenden daha kapsamlı ve daha önemli sonuçlar elde edilir. Fakat hayvan testlerinde değişkenleri kontrol etmek genellikle zordur. Ayrıca

biyolojik yanıtı niceliksel olarak değerlendirmek zordur çünkü çok karmaşıktır. Hayvan testlerinde etik konuları ve hayvan refahı giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Bu testler zaman alıcı ve pahalıdır. Ayrıca bir hayvan türünün verdiği biyolojik tepkinin, insan tepkisini temsil edecek şekilde uygunluğu hakkında sorular vardır [64].

Biyouyumluluğu değerlendirmek için çeşitli hayvan deneyleri kullanılabilir.

Mükoz membran iritasyon testi, test edilen malzemenin mukoza zarında veya aşınmış ciltte iltihaplanmaya neden olup olmadığını belirlemektedir.

Deri sensitizasyon testi, ciltteki aşırı duyarlılık reaksiyonlarını test etmek için, test edilecek malzeme intradermal olarak deriye enjekte edilmesidir, ardından test maddesini içeren yapışkan bantlar ile ikincil işlem yapılmaktadır.

İmplantasyon testleri, deri altı doku veya kemiğe temas edecek malzemeleri değerlendirmek için kullanılmaktadır. İmplantasyon yapılacak yer, materyalin kullanım amacına göre belirlenmektedir. Bağ dokusu, kemik veya kas dokusu bu amaç için kullanılabilir [78].

Kullanım testleri

Klinik testler, biyolojik yanıt dahil olmak üzere, dental materyalin performansının, dokular üzerindeki etkisinin herhangi bir boyutunu değerlendirmek için “altın standart” olarak kabul edilmektedir. Klinik testler, deneysel materyallerin teste katılmak isteyen gönüllü insanlara uygulanmasıyla karakterize edilmektedir. Klinik testler birkaç tasarımda olabilmektedir. Her tasarımın gerçekleştirme zorluğu, maliyeti ve ürettiği bilginin faydası açısından güçlü ve zayıf yönleri bulunmaktadır.

En basit ve en az masraflı klinik test, materyal performansını değerlendirmek için hasta kayıtlarının daha sonra incelendiği, retrospektif (geriye dönük) testtir. Geriye dönük testler doğrudan hasta muayenesi gerektirmedikleri için verimli ve daha ucuz olsalar da, toplanılan bilgi kalitesi diğer testlere göre daha azdır. Geriye dönük testler, pek çok açıdan kontrolsüzdür ancak, materyalin biyouyumluluğunu klinik olarak değerlendirmek için nispeten verimli ve düşük maliyetli bir yol sağlamaktadır.

Cross-sectional (kesitsel) test yöntemi tek seferde hastanın verilerini incelemektedir. Kesitsel testler başarısızlık oranını tahmin eder fakat başarısızlığın nedenini açıklayamamaktadır.

Prospektif veya boyutsal (longitudinal) test yöntemi, bir materyalin klinik biyolojik performansını belirlemek için en güçlü yoldur. Kontrollü klinik çalışmalar ve randomize kontrollü çalışmalar olarak da adlandırılan bu tür testler, insan çalışmalarındaki sonuçların yorumlanmasında sıklıkla çelişen değişkenleri hesaba katmaya çalışırken körleme, randomizasyon ve bir plasebo grubu sağlamak için karmaşık prosedürler kullanmaktadır. Bu test yöntemi pahalı ve zaman alıcıdır[79].

Genel olarak, klinik çalışmalar daha pahalıdır, daha uzun sürer, özellikle hayvanlarda ve in vitro testlerde geliştirilen araştırmalarla karşılaştırıldığında, sonuçları kontrol etmek ve yorumlamak daha zordur. İnsanlar üzerinde yapılan klinik denemeler resmî kurumların onayını ve hastanın aydınlatılmış onamını gerektirmektedir. Bu denemelerin yapılması, in vitro ve hayvan deneylerinde gerekli olmayan birçok yasal sorumluluğu gerekli kılmaktadır[80].

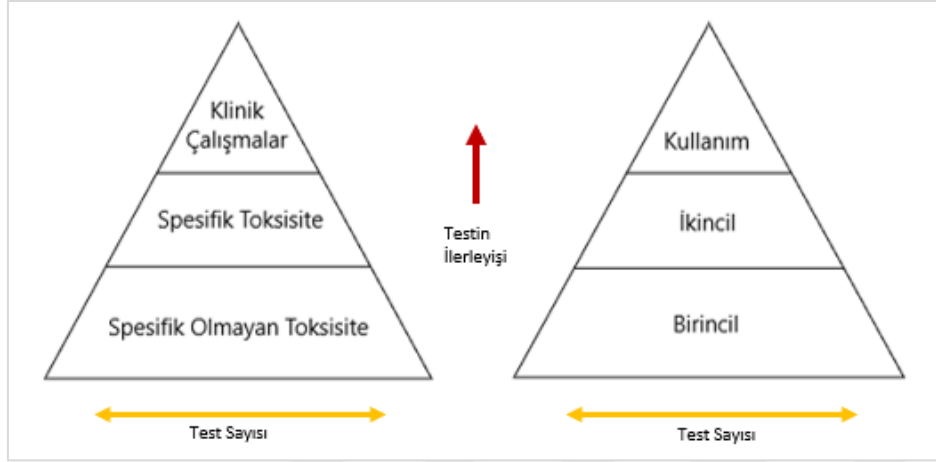
Farklı biyoyumluluk testlerinin birlikte kullanılması

Materyallerin biyoyumluluğunu değerlendirmenin en verimli, uygun maliyetli ve en uygun yolunun in vitro, hayvan ve kullanım testlerinin kombinasyonunu kullanmaktır. Bir malzemenin biyoyumluluğunu belirlemek için tek bir testin yeterli olmamaktadır.

Bununla birlikte, bu testlerin birlikte kullanılma yolları tartışmalıdır ve her test türünün rolleri hakkındaki felsefeler yıllar içinde değişiklik göstermiştir. Malzemelerin daha uzun süre, daha karmaşık işlevleri yerine getirmesi istendiğinden bu değişikliğin devam etmesi beklenebilir.

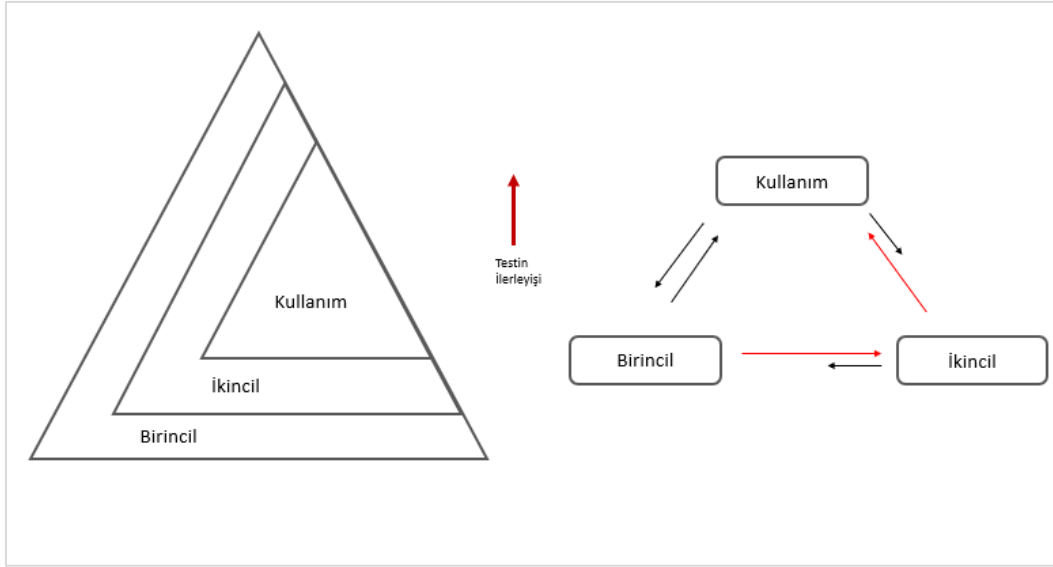
İlk araştırmacılar, spesifik olmayan toksisite, spesifik toksisite ve klinik çalışmalardan oluşan bir piramit şeması önermişlerdir. Bu şema, piramidin altında tüm materyallerin test edildiği ve testler piramidin tepesine doğru devam ettikçe materyallerin “ayıklandığı” bir test protokolüdür [78].

Araştırmacılar daha sonraki yıllarda birincil, ikincil ve kullanım testlerinden oluşan piramit şeması önermişlerdir. Piramitlerin en alt basamağındaki test yönteminden başlanarak, bu test yöntemini geçen materyalin bir sonraki aşamaya geçmesi gerektiğini söylemişlerdir. Bu şema ilk şemaya benzemektedir, fakat bu piramitteki testler daha gelişmiş olan immunojenite ve mutajenite gibi testleri kapsamaktadır [78].



Şekil 2.1. Biyouyumluluk çalışmalarında önerilen ilk piramit şeması

Daha önceki yıllarda kullanılan bu şema daha güvenli malzemeleri klinik çalışma alanına yönlendirmiştir ve güvenli olmayan malzemeleri ortadan kaldırmıştır. Klinik araştırmalar pahalı ve zaman alıcı olduğundan, bu strateji memnuniyetle karşılanmıştır. Günümüzde hala prensip olarak bu şemalar kullanılmasına rağmen in vitro testler ve hayvan testleri, materyalleri tam olarak değerlendiremediğinden yeni şemaların geliştirilmesi ihtiyacı duyulmuştur. Son yıllarda, malzemelerin biyouyumluluğunu değerlendirmek için iki yeni test şeması geliştirilmiştir. Bu şemaların her ikisi de birkaç önemli fikri barındırmaktadır. İlk olarak, tüm testler bir materyalin biyouyumluluğunun belirlenmesinde değerli olmaya devam etmektedir. Yeni geliştirilen şemalar bir malzemenin biyouyumluluğu değerlendirmenin devam eden bir süreç olduğu felsefesini kabul etmektedir [78].



Şekil 2.2. Biyouyumluluk çalışmalarında önerilen yeni piramit şeması

Birçok materyal özellikle de restoratif materyaller dentin, pulpa, periodontal ve periapikal dokular ve oral mukoza gibi canlı dokularla uzun süre temasta kalmaktadır. Bu nedenle yaygın klinik kullanıma geçilmeden önce bu materyallerin ağız dokuları üzerindeki zararlı etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. İnsan vücudunda kullanılacak tüm restoratif materyallerin fiziksel ve mekanik özellikleri yanında biyouyumluluk yönünden de değerlendirilmesi ve güvenilir materyallerin seçimine dikkat edilmesi yapılan dental tedavilerin uzun dönem başarısını artırmaktadır[64, 69, 81].

Bu çalışmanın amacı, implant üstü restorasyonları yapıştırmak amacıyla kullanılan 7 farklı siman materyalinin HGF ve MC3T3-E1 Subclone 4 preosteoblast hücrelerinin canlılıkları üzerine etkilerini XTT yöntemiyle ve hücre morfolojilerinde meydana gelen değişimleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile değerlendirmektir.

Bu tez çalışmasındaki sıfır hipotez şudur: implant üstü restorasyonları yapıştırmak için kullanılan simanların HGF ve MC3T3-E1 Subclone 4 preosteoblast hücrelerinin canlılıkları üzerine etkileri yoktur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın Tasarımı

Çalışmamız in vitro şartlarda yapılmış deneysel bir çalışmadır. Bu çalışmada implant üst yapılarını yapıştırmak için kullanılan 7 farklı siman materyalinin insan gingival fibroblast (HGF, PCS-201-018; ATCC) hücre hattı ve fare preosteoblast (MC3T3-E1 Subclone 4 preosteoblast, CRL 2593; ATCC) hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi, ekstrakt testi metodu ve direkt temas test metodu kullanılarak incelenmiştir. Değerlendirmelerde hücre canlılık oranı XTT (Biological Industries, Israel) testiyle belirlenmiştir. Hücre morfolojilerinde meydana gelen değişiklikler de SEM analizi kullanılarak incelenmiştir.

Deneyler Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Araştırma Merkezi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Deney Örneklerinin Hazırlanması

Araştırmamızda, sitotoksitesi hücre kültüründe değerlendirilmek üzere MIS Crown Set İmplant Simanı (MIS İmplant), Harvard İmplant Simanı (Harvard), Oxford CEM İmplant Simanı (Oxford CEM Scientific), Cem İmplant Simanı (BJM LAB), Premier İmplant Simanı (Premier), Estemp (SPIDENT) ve Adhesor™ Carbofine Çinko Polikarboksilat Siman (PENTRON) kullanılmıştır. Bu 7 farklı deney grubuna ek olarak, kauçuk (lateks) içeren pozitif kontrol grubu ve gruplar ile aynı hücre kültür ortamında bulundurululan herhangi bir materyal içermeyen sadece hücre hattı içeren negatif kontrol grubu eklenmiştir. Kullanılan simanlar ve kontrol grubu Resim 3.1-8’de, siman tipi ve üretici firmaları ise Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.



Resim 3.1. MIS Crown SET implant simanı



Resim 3.2. Harvard implant simanı



Resim 3.3. Oxford CEM implant simanı



Resim 3.4. Cem implant simanı



Resim 3.5. Premier implant simanı



Resim 3.6. Estemp implant simanı



Resim 3.7. Adhesor carbofine çinko polikarboksilat siman



Resim 3.8. Pozitif kontrol grubu lateks

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan simanların özellikleri

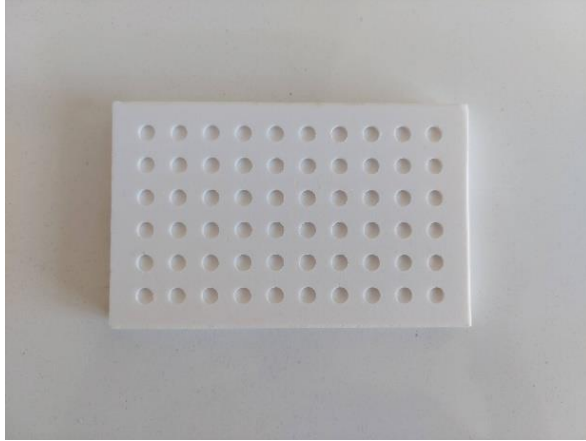
Siman Adı	Siman içeriği	Siman Tipi	Üretici Firma
MIS Crown Set İmplant Simanı (MCS)	Üretan diakrilat resilien oligomer	Kalıcı Siman (Kimyasal polimerize)	MIS Implant Technologies Ltd., Shlomi, Israel Lot no. 4317CI
Harvard İmplant Simanı (HC)	Metakrilat, Çinko oksit	Yarı kalıcı rezin siman (Dual cure polimerize)	Harvard Dental International GmbH Margaretenstr. Hoppegarten, Germany Lot no. 91909494
Oxford CEM İmplant Simanı	Metakrilat esterleri, Çinko oksit	Yarı kalıcı rezin siman (Dual cure polimerize)	Oxford CEM Scientific, Elmshorn, Germany Lot no. 71910124
Cem İmplant Simanı(CI)	Base ve Katalizör: Üretan Dimetakrilat, Trietilenglikoldimetakrilat, Polimerizasyon aktivatörü, Fumed Silika	Öjenolsüz Akrilik Üretan Polimer Bazlı Geçici Siman (Kimyasal polimerize)	BJM Laboratories Silmet Ltd, Or-Yehuda, Israel Lot no. 4320CIHRXGTR
Premier İmplant Simanı (PIC)	Base: Metakrilat monomeri, 2- hidroksimetilmetakrilat, Trietilenglikoldimetakrilat, Alifatik üretan diakrilat resilien oligomer, Pigment, Stabilizör Katalizör: Metakrilat monomeri, Benzoil peroksit, Trietilenglikoldimetakrilat, Alifatik üretan diakrilat resilien oligomer, Pigment, Stabilizör	Öjenolsüz Üretan Dimetakrilat Bazlı Geçici Siman (Kimyasal polimerize)	Premier Dental Products, Plymouth Meeting, ABD Lot no. 4309CI
Estemp İmplant Simanı (ET)	Çinko oksit, Beyaz mineral yağı, Petrolatum	Öjenolsüz Rezin Bazlı Geçici Siman (Dual cure polimerize)	Spident Co. Ltd., Incheon, South Korea Lot no. EI20004
Adhesor Carbofine Çinko Polikarboksilat Siman	Toz: %60-95 çinko oksit, Magnezyum oksit, doldurucular Likit: %30-50 poliakrilik asit	Polikarboksilat Siman (Kimyasal polimerize)	Spofa Dental, Jicin, Czech Republic Lot no. 7012157

Uygulanacak testlerde standardizasyonun sağlanması amacıyla, tüm örnekler ISO 10993-5 protokolüne uygun olarak, üretici firmaların önerileri doğrultusunda 5 mm çapında ve 2 mm kalınlıkta olacak şekilde, aseptik koşullarda, laminer hava akımlı hücre kültürü kabini içerisinde, teflon kalıp kullanılarak disk şeklinde hazırlandı. Otomatik karıştırıcı uç vasıtasıyla karıştırılan materyallerden bir miktar boşa akıtıldı daha sonra teflon kalıba dolduruldu (Resim 3.9). Dual cure olan Oxford CEM, Harvard ve Estemp rezin simanların polimerizasyonu için LED ışık cihazı (BA Optima 10 Bases 20, BA International, Northampton, İngiltere) kullanıldı (Resim 3.10).

Örneklerin üst yüzeylerinin düzgün ve pürüzsüz olması için, kalıbın üst yüzeyi cam ile kapatılarak ışık ile polimerizasyonun gerçekleşmesi sağlandı. Polimerizasyon süresi olarak, her materyale kendi üretici firmasının önerdiği süre uygulandı. Örnekler polimerizasyonların tamamlanabilmesi için, üretici firma önerileri doğrultusunda karanlık ortamda bekletildi.

Kimyasal olarak sertleşen MIS Crown SET, Premier, Cem ve Adhesor Carbofine Polikarboksilat siman teflon kalıplara konulduktan sonra üretici firmaların önerileri doğrultusunda 24 saat karanlık ortamda bekletilmiştir.

Sterilizasyon işlemi, örneklerin her iki yüzün 15'er dakika UV ışık altında tutulmasıyla gerçekleştirildi.



Resim 3.9. Siman örneklerini hazırlamak için kullanılan teflon kalıp



Resim 3.10. Örnekleri sertleştirmek için kullanılan ışık cihazı

3.3. Hücre Kültürü Teknikleri

Çalışmamızda kullanılan insan gingival fibroblast hücreleri ve MC3T3- E1 Subclone 4 preosteoblast hücreleri Amerika Kültür Bankası'ndan (ATCC; American Type Culture Collection) alındı. Hücrelerin; saklanması, üretimi ve idamesi Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Hücre Kültürü Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Hücre hatları laboratuvarında hücre kültürü modülünde 25 cm² ve 75 cm²'lik flasklarda, %5 CO₂, %95 nem içeren karbondioksitli inkübatör (Resim 3-11a) ortamında tutularak çoğaltıldı. “Dulbecco'nun Modifiye Eagle Medyumu” (DMEM), %10 oranında fetal sıgır serumu (FBS) ve %1 oranında PSG (100 IU/ mL penisilin-streptomisin-gentamisin) hücreler için besiyeri amacıyla kullanıldı. Hücrelerin maksimum yoğunluklarına ulaşp flask yüzeyini tamamıyla kaplamasıyla beraber, hücreler haftada en az iki kere pasajlanarak üretildi. Deney protokolüne uygun olacak şekilde %100 canlı tek hücre süspansiyonundan alınan hücreler kullanıldı. Bütün bu prosedürler UV ışıkla sterilizasyonu sağlanan laminar akımlı kabin (Resim 3-11b) içerisinde gerçekleştirildi.



Resim 3.11. İnkübatör ve laminar akım hücre kültürü kabini

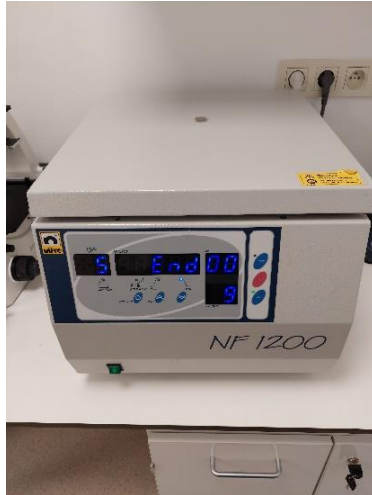
3.3.1. Hücre hattının açılması

Azot tankından alınan kriyotüp (Resim 3-12), sıcaklık ayarlı su banyosunda (Resim 3-13a), hızla 37°C'ye getirildi ve içinde 9 ml hücre kültür ortamı bulunan santrifüj tüpüne aktarıldı.

Santrifüj cihazında (Resim 3-13b), 150 rpm’de 5 dakika santrifüj edildikten sonra hücre peleti 5 ml %10’luk FBS içeren kültür ortamı ile süspanse edildi. Ardından 5 ml hücre kültür ortamı konulan flasklara aktarıldı. Daha sonra hücreler, 75 cm²’lik flasklarda 37°C’de %5 CO₂, %95 nem içeren inkübatör ortamına konuldu. Dondurmak için kullanılan katkı maddesinden tamamen kurtulmak amacıyla kültür ortamı 24 saat sonra değiştirildi. Daha sonra kültür ortamı 48 saatte bir değiştirildi.



Resim 3.12. Azot tankı



Resim 3.13. Sıcaklık ayarlı su banyosu ve santrifüj cihazı

3.3.2. Hücrelerin çoğaltılması

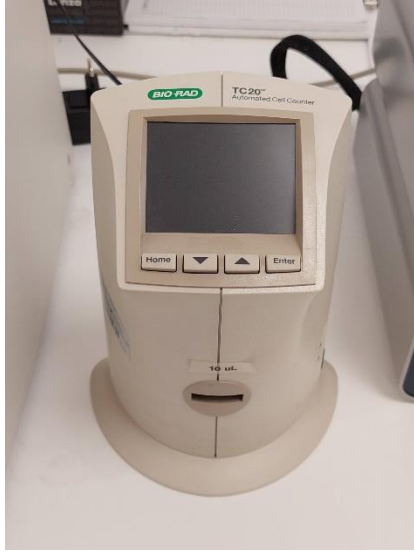
MC3T3- E1 Subclone 4 preosteoblast hücreleri ve insan gingival fibroblast hücreleri %10 FBS ve % 1 antibiyotik (100 IU/ mL penisilin-streptomisin-gentamisin) içeren DMEM medyumunda % 80 yoğunluğa gelinceye kadar pasajlanmak suretiyle çoğaltıldı.

3.3.3. Hücrelerin pasajlanması

Hücelere invert (ters) mikroskop (Resim 3-14) altında bakıldı ve yoğunluk tespiti yapıldı. Flasklar içerisinde yeterli yoğunluğa gelen hücrelerden medyum uzaklaştırıldı. %0,25'lik Tripsin/EDTA solüsyonundan 3'er ml flasklara eklendi ve flasklar inkübatöre kaldırılıp 5 dakika bekletilerek hücrelerin yapışık oldukları flask zemininden ayrılmaları sağlandı. Tripsin/EDTA'nın hücreye zarar verici etkisini inhibe etmek için ise bir miktar, FBS içeren kültür ortamı santrifüj tüpüne eklendi. Hücre ve kültür ortamı içeren solüsyon 150 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant (üst faz) kısım uzaklaştırıldı. Daha sonra pipetaj yapılarak hücre süspansiyonu homojen hale getirildi. Homojen hücre süspansiyonu içerisinden bir miktar steril pipet ile alınıp hücre sayım cihazında (Resim 3-15) hücre sayısı tespit edildi. 10 ml kültür ortamı konulan flasklara hesaplanan miktarda hücre ekildi ve flasklar 37°C'de, %5 CO₂ içeren etüvde inkübe edildi. Pasajlama işlemi, %80 hücre yoğunluğu ve kültür ortamı miktarına göre ayarlanarak 2-3 gün aralıklarla tekrarlandı.



Resim 3.14. İnvirt mikroskop



Resim 3.15. Hücre sayım cihazı

3.3.4. Hücrelerin dondurulması ve saklanması

Hücreler uzun süre depo edilmesi amacı ile donduruldu. Bu işlem için flask yüzeyini %90 kaplayarak çoğalan hücreler %0,25'lik tripsin/EDTA solüsyonu ile kaldırıldı. Ve 150 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Pelet %10 DMSO (Dimetil sülfoksit) içeren dondurma solüsyonuna aktarıldı. Kriyotüpe aktarılan bu karışım bir gece -20°C 'de bekletildikten sonra ertesi gün uzun süreli saklama amacı ile -196°C 'lik sıvı azot tankına kaldırıldı.

3.4. Ekstrakt Testi Metodu

3.4.1. Ekstraksiyon sıvısının hazırlanması

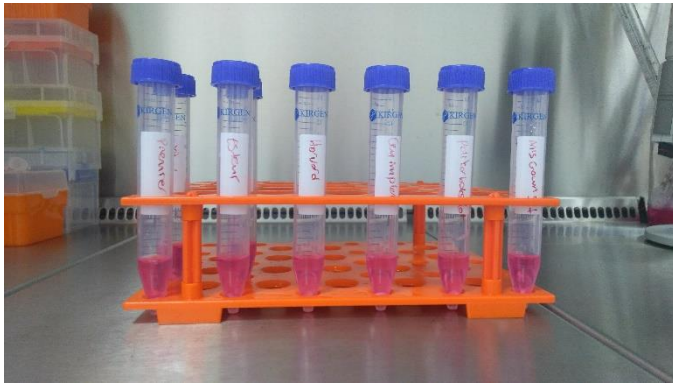
Ekstraksiyon sıvısı olarak DMEM kullanıldı. DMEM üzerine %10 FBS ve %1 PSG eklendi. UV ışık altında her iki yüzü steril edilmiş örnekler (Resim 3-16), hazırlanan solüsyonlara konuldu.

ISO 10993-5'de materyal yüzey alanının, kültür hacmine oranı $0,5-6 \text{ cm}^2/\text{ml}$ olarak belirtilmiştir. Bu orana uygun olabilmesi için disk şeklinde hazırlanan örneklerden belirlenen miktarda örnek, 3 ml hücre kültür ortamı bulunan 15 ml'lik konik santrifüj tüplere aktarıldı (Resim 3-17). Materyal konulmuş hücre kültürü besiyeri ekstrakt eldesi için 24 saat boyunca 37°C , %5 CO_2 içeren inkübatörde bekletildi. Ekstraktlar kullanım zamanına kadar $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

96 kuyucuklu plaka üzerine hücre, materyal adları ve dilüsyonları yazıldı. Daha sonra hazırlanan ekstrakt solüsyonlarından plakalara 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 konsantrasyonunda ekstraktlar konuldu. Negatif kontrol grubu olarak hücrelere yalnızca kültür ortamı uygulandı. Pozitif kontrol olarak sitotoksik olduğu bilinen kauçuk ekstraktı kullanıldı. Her dilüsyon için 3 kuyu kullanıldı. İnsan gingival fibroblast ve MC3TC-E1 subclone 4 preosteoblast hücreleri otomatik hücre sayım cihazında sayılarak, her kuyucukta 1×10^5 hücre/ml içeren hücre süspansiyonu hazırlanarak, 96 kuyucuklu hücre kültürü kabına aktarıldı. Hücre eklenmiş örnekler 24 saat boyunca 37°C , %5 CO_2 'li ortamda inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda sitotoksik etkilerin değerlendirilmesi yapıldı.



Resim 3.16. Her iki yüzü UV ile steril edilmiş örnekler

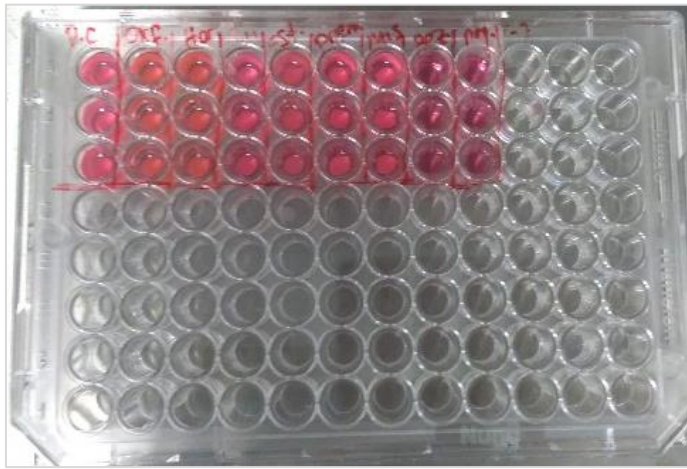


Resim 3.17. Hücre kültürü ekstrakt testi metodu için falkon tüplerde ekstraktların hazırlanması

3.5. Direkt Temas Testi

İstatistiksel değerlendirme yapılabilmesi için her bir hücre için materyal disklerinden 3'er tane seçildi. Örneklerin her iki yüzü 15 dk UV ışık altında steril edildi. Örneklere ek olarak

aynı kültür ortamında sadece hücre içeren bir grup ve hücre içermeyen, yalnızca kültür ortamı içeren (blank) bir grup dahil edildi. Daha sonra 96 kuyucuklu plakaya örneklerin isimleri işaretlendi ve örnekler plakaya yerleştirildi (Resim 3-18). ISO standartlarına uygun olarak örnek yüzey alanının (cm^2) kültür ortamının hacmine (ml) oranı $0,5 - 6,0 \text{ cm}^2/\text{ml}$ aralığında bir değer olan $0,7 \text{ cm}^2/\text{ml}$ olacak şekilde hücre kültür besiyeri eklendi. 1×10^5 hücre/ml içeren hücre süspansiyonu hazırlanarak 96 kuyucuklu hücre kültür kabına aktarıldı. Hücre eklenmiş örnekler 24 saat boyunca 37°C , %5 CO_2 'li ortamda inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda sitotoksik etkilerin değerlendirilmesi yapıldı.



Resim 3.18. 96 kuyucuklu hücre kültürü kabına yerleştirilmiş örnekler

3.5. XTT Testinin Uygulanması

Örneklerin sitotoksik etkisi XTT yöntemi kullanılarak değerlendirildi. XTT suda çözünen bir tetrazolium tuzu olmakla beraber canlı hücrede mitokondrilerindeki dehidrogenaz enzimi ile parçalandığında çözülebilir formazana dönüşmektedir. Formazandan kaynaklanan turuncu rengin yoğunluğu metabolik olarak aktif hücrelerin sayısı ile orantılıdır.

Öncelikle XTT testine ait olan aktivasyon solüsyonu ve reagent 37°C 'de çözüldü. 10 ml Reagent'a 200 μl aktivasyon solüsyonunda eklendi (Resim 3-19). Besiyeri ortamı bulunan plate boşaltıldı. Kuyucuklara 100 μl besiyeri, 100 μl XTT solüsyonu uygulanarak 4 saat 37°C 'de inkübasyonda bırakıldı. Daha sonra reaksiyon çok kuyucuklu plaka okuyucu cihazında okunup kantite edildi (Resim 3-20). Çok kuyucuklu plaka okuyucu cihazında 490 nm dalga boyunda ve 630 nm referans aralığında her bir kuyucuğun absorbans değeri (OD) okundu. Kit üreticinin talimatları doğrultusunda 630 nm'de ölçülen değerler 430 nm'de

ölçülen değerlerden çıkarıldı. Hücre canlılığı yüzdesi, her bir kuyucukta ölçülen optik dansite değerinin kontrol grubundan elde edilen optik dansite değerine bölünmesi ve yüz ile çarpılması ile hesaplandı.



Resim 3.19. Sitotoksosite testi için hazırlanan XTT solüsyonu görseli



Resim 3.20. XTT testinde kullanılan çok kuyucuklu plaka okuyucu cihazı

3.6. Hücre Morfolojilerinin Değerlendirilmesi

HGF hücreleri ve MCT3T-E1 Subclone 4 preosteoblast hücreleri inkübe edildi. Hücreler %80 yoğunluğa ulaştıktan sonra santrifüj edildi. Teflon kalıpta hazırlanan diskler steril edilerek 48 kuyucuklu plakaya yerleştirildi ve üzerine hücre kültür besiyeri ortamı konuldu. Ardından santrifüj edilen hücreler hücre sayım cihazında sayılarak, belirlenen miktarda örneklerin üzerine konuldu. Hücre eklenmiş örnekler 24 saat boyunca 37°C, %5 CO₂'li ortamda inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonra hücrelerden kültür ortamı uzaklaştırıldı, hücreler %4 formaldehit ile 10 dakika fikse edildi ve artan alkol serileri ile (%30, %60, %90, %100) kurutuldu. Simanların yüzeyi SEM incelemesinden önce altın ile kaplandı. Daha sonra 5 kV hızlandırma voltajı kullanılarak SEM (Resim 3-21) altında incelendi.



Resim 3.21. Mikroskopik inceleme için kullanılan taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve ışık kamerasının görüntüsü

3.7. İstatistiksel Yöntem

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS 25 (IBM SPSS, Chicago, IL) programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistiklerden ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler kullanıldı.

Varyansların homojenliği Shapiro-Wilk Homojenite testi (Shapiro-Wilk's test of homogeneity) ile yapıldı. Hücre canlılık analizi (XTT) sonuçları, tek yönlü varyans analizi

(One-way ANOVA) ile karşılaştırıldı. Post hoc testi olarak homojen varyans gözlenen verilerde Tukey, gözlemlenmeyen verilerde Dunette's testi kullanıldı. Tüm istatistiksel testlerde $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edildi.



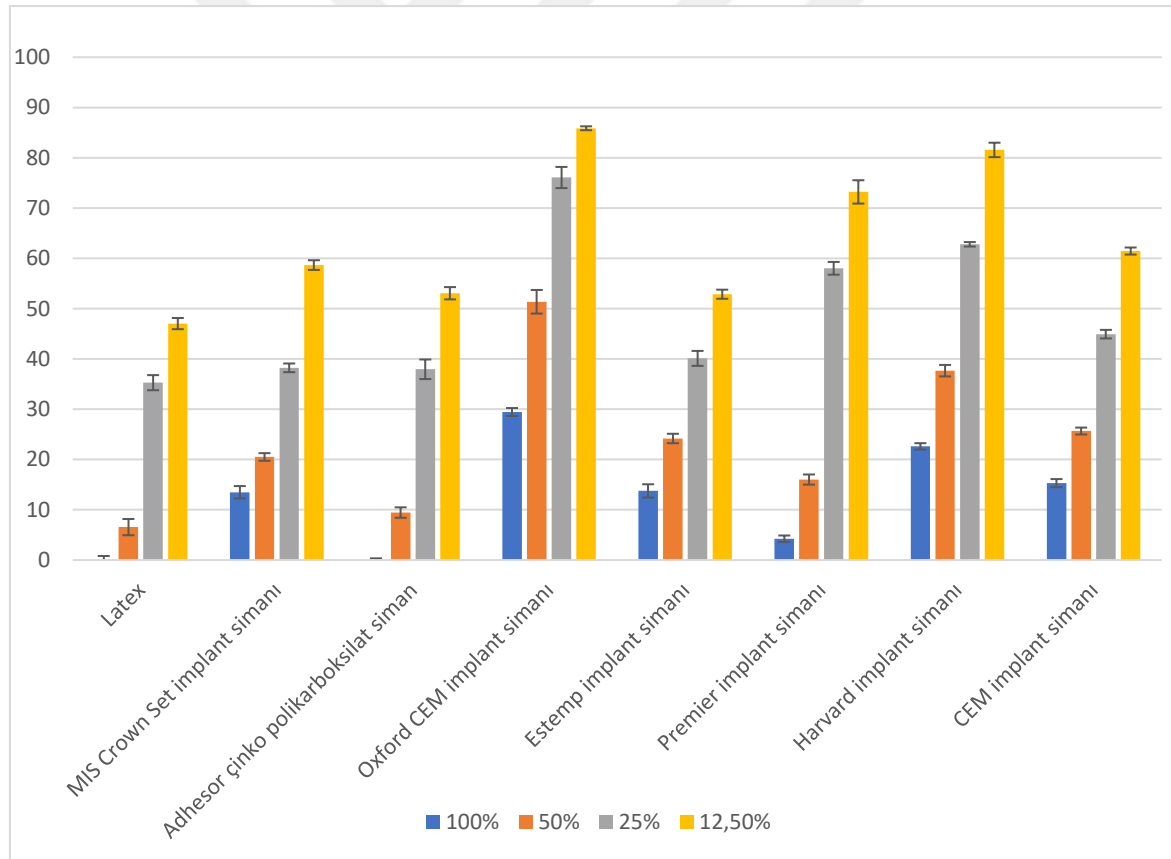
4. BULGULAR

4.1. XTT Testi ile Elde Edilen Canlılık Oranı (%) Bulguları

4.1.1. Ekstrakt testi metodu bulguları

HGF hücrelerinin 24 saat sonunda ekstrakt testi metodunda canlılık oranı bulguları

XTT deneyi sonuçlarına göre materyal ekstraktlarının, konsantrasyonlarına göre değişmekle birlikte HGF hücrelerinin canlılığını etkilediği gözlemlendi. Deney grupları ve kontrol grubuna ait XTT yöntemi ile elde edilen hücrelere ait canlılık oranı bulguları Şekil 4.1’de ve canlılık yüzdeleri çizelge 4.1’de ve bu verilerin değerleri çizelge 4.2-5’de verilmiştir.



Şekil 4.1. HGF hücrelerinin ekstrakt testi metodunda canlılık oranı bulguları

Çizelge 4.1. Siman ekstraktlarının HGF hücre kültürüne eklendikten 24 saat sonra kültürdeki hücre canlılıkları

Siman adı	Ekstrakt oranı			
	%100	%50	%25	%12,5
Pozitif kontrol (Latex)	%0	%6,55	%35,27	%47,02
MIS Crown Set implant simanı	%13,48	%20,50	%38,22	%58,66
Adhesor çinko polikarboksilat siman	%0	%9,44	%37,94	%53,06
Oxford CEM implant simanı	%29,44	%51,36	%76,07	%85,87
Estemp implant simanı	%13,74	%24,17	%40,10	%52,86
Premier implant simanı	%4,22	%16,00	%58,02	%73,21
Harvard implant simanı	%22,60	%37,66	%62,79	%81,56
CEM implant simanı	%15,30	%25,65	%44,92	%61,45

Çizelge 4.2. HGF hücrelerinin %100 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları

Malzeme	N	Ort.	Ort. Standart Hatası	SS	En Düşük Değer	En Yüksek Değer
Pozitif kontrol (Lateks) ^a	9	5,25	0,42	0,73	4,58	6,03
MIS Crown Set implant simanı ^b	9	19,38	0,64	1,10	18,19	20,37
Adhesor çinko polikarboksilat siman ^a	9	5,74	0,18	0,31	5,40	6,00
Oxford CEM implant simanı	9	34,25	0,41	0,71	33,59	35,00
Estemp implant simanı ^b	9	19,62	0,69	1,19	18,34	20,69
Premier implant simanı	9	10,75	0,34	0,59	10,07	11,15
Harvard implant simanı	9	27,88	0,33	0,57	27,27	28,41
CEM implant simanı ^b	9	21,07	0,42	0,72	20,26	21,66

*Aynı küçük harfle yazılmış simanlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Kontrol grubu ve polikarboksilat siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ve hücre canlılığını en çok azaltan bu iki gruptur. Pozitif kontrol grubu ve diğer simanlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Estemp, MIS Crown Set ve CEM implant simanı arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Oxford CEM implant simanı %100 konsantrasyonda hücre canlılığını en az azaltan simandır. Hücre canlılığı oranı %70'in altında kaldığında örnekler sitotoksik olarak kabul edilmektedir. %100 konsantrasyonda bütün siman örnekleri sitotoksik özellik göstermiştir.

Çizelge 4.3. HGF hücrelerinin %50 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları

Malzeme	N	Ort.	Ort. Standart Hatası	SS	En Düşük Değer	En Yüksek Değer
Pozitif kontrol (Lateks) ^a	9	12,91	0,84	1,45	11,43	14,33
MIS Crown Set implant simanı	9	25,92	0,39	0,68	25,44	26,70
Adhesor çinko polikarboksilat siman ^a	9	15,61	0,54	0,94	15,06	16,69
Oxford CEM implant simanı	9	54,68	1,22	2,11	53,40	57,12
Estemp implant simanı ^b	9	29,34	0,49	0,84	28,72	30,30
Premier implant simanı	9	21,73	0,52	0,91	20,79	22,59
Harvard implant simanı	9	41,91	0,59	1,03	40,74	42,63
CEM implant simanı ^b	9	30,72	0,36	0,62	30,14	31,38

*Aynı küçük harfle yazılmış simanlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Kontrol grubu ve polikarboksilat siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ve hücre canlılığını en çok azaltan bu iki gruptur. Kontrol grubu ve diğer simanlar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir. Estemp ve CEM siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. %50 konsantrasyonda hücre canlılığını en az azaltan grubun Oxford CEM siman olduğu gözlemlenmiştir. %50 konsantrasyonda bütün siman örnekleri sitotoksik özellik göstermiştir.

Çizelge 4.4. HGF hücrelerinin %25 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları

Malzeme	N	Ort.	Ort. Standart Hatası	SS	En Düşük Değer	En Yüksek Değer
Pozitif kontrol (Lateks) ^a	9	39,68	0,78	1,35	38,13	40,61
MIS Crown Set implant simanı ^{a, b}	9	42,43	0,45	0,78	41,82	43,31
Adhesor çinko polikarboksilat siman ^{a, b}	9	42,17	1,01	1,75	40,68	44,10
Oxford CEM implant simanı	9	77,71	1,09	1,89	75,72	79,49
Estemp implant simanı ^b	9	44,18	0,77	1,34	42,65	45,12
Premier implant simanı	9	60,88	0,66	1,14	59,68	61,94
Harvard implant simanı	9	65,33	0,23	0,40	64,98	65,76
CEM implant simanı	9	48,68	0,44	0,76	47,80	49,21

*Aynı küçük harfle yazılmış simanlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Kontrol grubu, Polikarboksilat ve MIS Crown Set arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. %25 konsantrasyonda hücre canlılığını en çok azaltan siman bu üç gruptur. Kontrol grubu ve diğer simanlar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir. MIS

Crown SET, Polikarboksilat ve Estemp arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. %25 konsantrasyonda hücre canlılığını en az azaltan siman Oxford simandır. %25 konsantrasyonda Oxford siman sitotoksik özellik göstermemiştir..

Çizelge 4.5. HGF hücrelerinin %12,5 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları

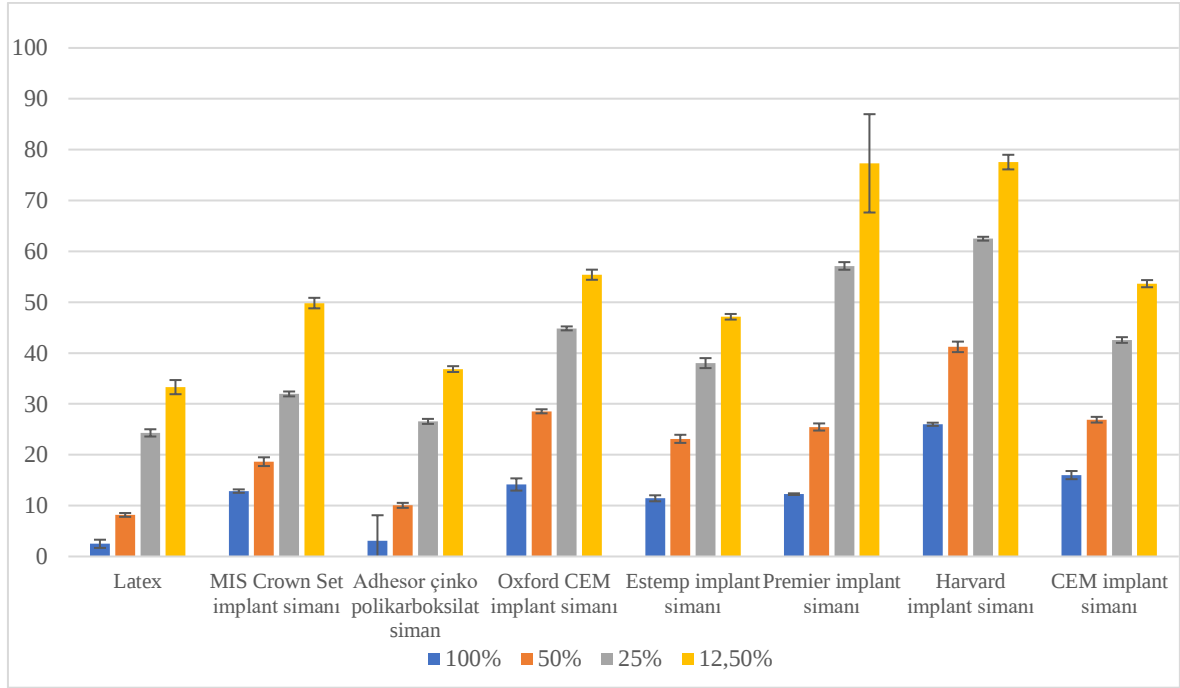
Malzeme	N	Ort.	Ort. Standart Hatası	SS	En Düşük Değer	En Yüksek Değer
Pozitif kontrol (Lateks)	9	50,63	0,58	1,00	49,87	51,77
MIS Crown Set implant simanı ^b	9	61,48	0,50	0,87	60,74	62,43
Adhesor çinko polikarboksilat siman ^a	9	56,26	0,63	1,10	55,02	57,11
Oxford CEM implant simanı	9	86,84	0,20	0,35	86,50	87,19
Estemp implant simanı ^a	9	56,08	0,47	0,82	55,13	56,58
Premier implant simanı	9	75,04	1,20	2,09	72,81	76,94
Harvard implant simanı	9	82,82	0,75	1,29	81,32	83,58
CEM implant simanı ^b	9	64,08	0,36	0,63	63,50	64,75

*Aynı küçük harfle yazılmış simanlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Kontrol grubu ile diğer simanlar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir. Polikarboksilat ve Estemp siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. MIS Crown Set ve CEM siman arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. %12,5 konsantrasyonda hücre canlılığını en az azaltan siman Oxford CEM simandır. %12,5 konsantrasyonda Premier, Harvard ve Oxford CEM siman sitotoksik özellik göstermemiştir.

MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin 24 saat sonunda ekstrakt testi metodunda canlılık oranı bulguları

XTT deneyi sonuçlarına göre materyal ekstraktlarının, konsantrasyonlarına göre değişmekle birlikte MC3T3-E1 Subclone 4 hücrelerinin canlılığını etkilediği gözlemlendi. Deney grupları ve kontrol grubuna ait XTT yöntemi ile elde edilen hücrelere ait canlılık oranı bulguları Şekil 4.2’de ve canlılık yüzdeleri çizelge 4.6’da ve bu verilerin değerleri çizelge 4.7-10’da verilmiştir.



Şekil 4.2. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin ekstrakt testi metodunda canlılık oranı bulguları

Çizelge 4.6. Siman ekstraktlarının MC3T3-E1 subclone 4 hücre kültürüne eklendikten 24 saat sonra kültürdeki hücre canlılıkları

Siman adı	Ekstrakt oranı			
	%100	%50	%25	%12,5
Pozitif kontrol (Latex)	%2,49	%8,16	%24,30	%33,30
MIS Crown Set implant simanı	%12,85	%18,64	%31,96	%49,82
Adhesor çinko polikarboksilat simanı	%3,06	%10,05	%26,56	%36,84
Oxford CEM implant simanı	%14,15	%28,54	%44,84	%55,40
Estemp implant simanı	%11,44	%23,13	%38,02	%47,13
Premier implant simanı	%12,25	%25,46	%57,12	%77,30
Harvard implant simanı	%25,99	%41,21	%62,48	%77,55
CEM implant simanı	%16,00	%26,89	%42,56	%53,64

Çizelge 4.7. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin %100 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları

Malzeme	N	Ort.	Ort. Standart Hatası	SS	En Düşük Değer	En Yüksek Değer
Pozitif kontrol (Lateks) ^a	9	9,54	0,44	0,76	8,66	10,00
MIS Crown Set implant simanı ^{b, c}	9	19,62	0,18	0,31	19,32	19,94
Adhesor çinko polikarboksilat siman ^a	9	10,10	0,45	0,78	9,55	10,99
Oxford CEM implant simanı ^c	9	20,89	0,65	1,13	20,19	22,19
Estemp implant simanı ^b	9	18,25	0,32	0,55	17,72	18,82
Premier implant simanı ^b	9	19,04	0,09	0,16	18,93	19,22
Harvard implant simanı	9	32,41	0,17	0,29	32,11	32,68
CEM implant simanı	9	22,68	0,29	0,51	22,10	23,01

*Aynı küçük harfle yazılmış simanlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Kontrol grubu ve polikarboksilat siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ve hücre canlılığı oranını en çok azaltan bu iki gruptur. Kontrol grubu ve diğer simanlar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir. MIS Crown Set, Estemp ve Premier siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. MIS Crown Set, Oxford CEM siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Hücre canlılığı oranını en az azaltan siman Harvard simanıdır. %100 konsantrasyonda bütün siman örnekleri sitotoksik özellik göstermiştir.

Çizelge 4.8. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin %50 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları

Malzeme	N	Ort.	Ort. Standart Hatası	SS	En Düşük Değer	En Yüksek Değer
Pozitif kontrol (Lateks)	9	15,06	0,20	0,35	14,68	15,37
MIS Crown Set implant simanı	9	25,25	0,47	0,81	24,69	26,18
Adhesor çinko polikarboksilat siman	9	16,90	0,26	0,46	16,56	17,42
Oxford CEM implant simanı ^b	9	34,89	0,22	0,38	34,49	35,24
Estemp implant simanı	9	29,62	0,43	0,75	29,01	30,46
Premier implant simanı ^a	9	31,89	0,39	0,66	31,17	32,45
Harvard implant simanı	9	47,23	0,56	0,97	46,33	48,26
CEM implant simanı ^{a, b}	9	33,28	0,30	0,53	32,81	33,85

*Aynı küçük harfle yazılmış simanlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Kontrol grubu ve diğer bütün simanlar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir. Hücre canlılığını en çok azaltan grup kontrol grubudur ardından polikarboksilat siman gelmektedir.

Oxford CEM ve CEM siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Premier ve CEM siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. %50 konsantrasyonda hücre canlılığını en az azaltan siman Harvard simandır. Bu konsantrasyonda bütün simanlar sitotoksik özellik göstermiştir.

Çizelge 4.9. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin %25 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları

Malzeme	N	Ort.	Ort. Standart Hatası	SS	En Düşük Değer	En Yüksek Değer
Pozitif kontrol (Lateks)	9	30,76	0,39	0,67	30,02	31,32
MIS Crown Set implant simanı	9	38,22	0,26	0,45	37,71	38,58
Adhesor Çinko Polikarboksilat siman	9	32,96	0,27	0,46	32,44	33,31
Oxford CEM implant simanı	9	50,76	0,21	0,36	50,43	51,15
Estemp implant simanı	9	44,83	0,53	0,92	43,31	45,12
Premier implant simanı	9	62,71	0,41	0,71	62,12	63,49
Harvard implant simanı	9	67,92	0,21	0,36	67,59	68,30
CEM implant simanı	9	48,54	0,30	0,52	48,20	49,14

*Aynı küçük harfle yazılmış simanlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Kontrol grubu ve diğer bütün simanlar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir. Hücre canlılığını en çok azaltan grup polikarboksilat simandır, en az azaltan Harvard simandır. %25 konsantrasyonda bütün simanlar sitotoksik özellik göstermiştir.

Çizelge 4.10. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin %12,5 siman ekstraktına maruz kalması sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları

Malzeme	N	Ort.	Ort. Standart Hatası	SS	En Düşük Değer	En Yüksek Değer
Pozitif kontrol (Lateks) ^a	9	39,52	0,76	1,31	38,40	40,96
MIS Crown Set implant simanı ^c	9	55,60	0,56	0,97	54,53	56,42
Adhesor Çinko Polikarboksilat siman ^{a, b}	9	42,97	0,31	0,54	42,44	43,52
Oxford CEM implant simanı ^c	9	61,03	0,54	0,94	60,00	61,82
Estemp implant simanı ^{b, c}	9	52,99	0,30	0,52	52,39	53,34
Premier implant simanı ^d	9	82,35	5,24	9,08	76,70	92,82
Harvard implant simanı ^d	9	82,59	3,83	6,64	75,82	89,09
CEM implant simanı ^c	9	59,32	0,30	0,52	58,90	59,90

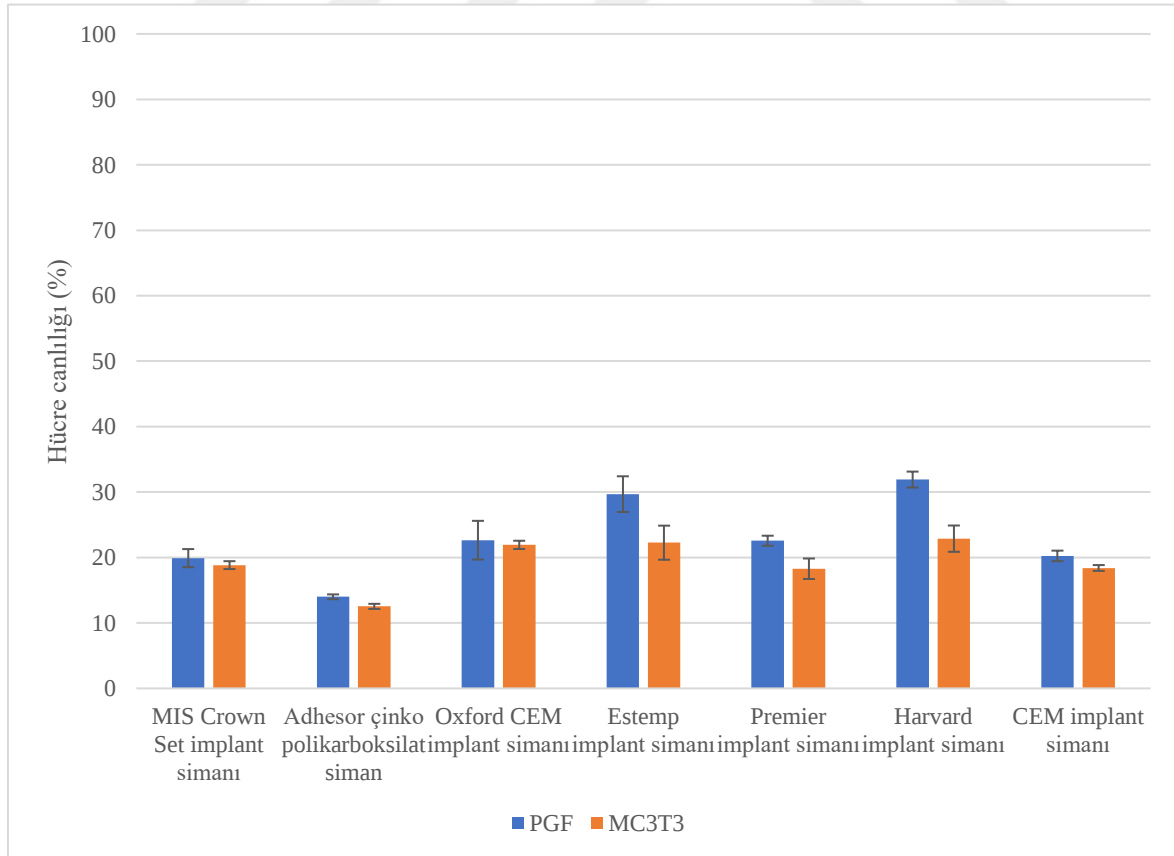
*Aynı küçük harfle yazılmış simanlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Kontrol grubu ve polikarboksilat siman arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ve hücre canlılığı oranını en çok azaltan bu iki gruptur. Polikarboksilat ve Estemp arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Estemp, MIS Crown Set, Cem ve Oxford CEM arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Premier ve Harvard arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ve hücre canlılığını en az azaltan bu iki gruptur. %12,5 konsantrasyonda Premier ve Harvard siman sitotoksik özellik göstermemiştir.

4.1.2. Hücre Kültürü Direkt Temas Testi Metodu Bulguları

HGF hücrelerinin 24 saat sonunda hücre kültürü direkt temas testi metodunda canlılık oranı bulguları

XTT deneyi sonuçlarına göre materyallerin direkt temas metodunda HGF ve MC3T3-E1 Subclone 4 hücrelerinin canlılığını etkilediği gözlemlendi. Deney grupları ve kontrol grubuna ait XTT yöntemi ile elde edilen hücrelere ait canlılık oranı bulguları Şekil 4.3’de ve canlılık yüzdeleri çizelge 4.11’de ve bu verilerin değerleri çizelge 4.12-13’de verilmiştir.



Şekil 4.3. HGF ve MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin direkt temas testi metodunda canlılık oranı bulguları

Çizelge 4.11. Hücrelere materyaller eklendikten sonra hücre canlılıkları

Siman adı	Hücre adı	
	HGF	MC3T3-E1 Subclone 4
MIS Crown Set implant simanı	%19,90	%18,83
Adhesor çinko polikarboksilat siman	%14,00	%12,53
Oxford CEM implant simanı	%22,64	%21,93
Estemp implant simanı	%29,68	%22,26
Premier implant simanı	%22,56	%18,28
Harvard implant simanı	%31,90	%22,87
CEM implant simanı	%20,24	%18,40

HGF hücrelerinin 24 saat sonunda hücre kültürü direktt temas testi metodunda canlılık oranı bulguları

Deney grupları ve kontrol grubuna ait XTT yöntemi ile elde edilen verilerin değerleri çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. HGF hücrelerinin direktt temas testi sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları

Malzeme	N	Ort.	Ort. Standart Hatası	SS	En Düşük Değer	En Yüksek Değer
MIS Crown Set implant simanı ^a	9	19,90	1,60	0,92	18,55	21,67
Adhesor çinko polikarboksilat siman	9	14,00	0,42	0,24	13,69	14,48
Oxford CEM implant simanı ^a	9	22,65	3,42	1,97	19,99	26,51
Estemp implant simanı ^b	9	29,68	3,16	1,82	26,94	33,13
Premier implant simanı ^a	9	22,57	0,88	0,51	21,77	23,51
Harvard implant simanı ^b	9	31,91	1,41	0,81	30,74	33,47
CEM implant simanı ^a	9	20,25	0,93	0,54	19,57	21,31

*Aynı küçük harfle yazılmış simanlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

MIS Crown Set, Oxford CEM, Premier ve CEM siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Estemp ve Harvard siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Hücre canlılığını en çok azaltan grup polikarboksilat simandır. Hücre canlılığını en az azaltan iki grup Harvard ve Estemp simandır. Bütün simanlarda direktt temas metodunda, HGF hücresi için sitotoksik etki gözlemlenmiştir.

MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin 24 saat sonunda hücre kültürü direkt temas testi metodunda hücrelerin canlılık oranı bulguları

Deney grupları ve kontrol grubuna ait XTT yöntemi ile elde edilen verilerin değerleri çizelge 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.13. MC3T3-E1 Subclone 4 hücrelerinin direkt temas testi sonucunda elde edilen verilerin istatistik sonuçları

Malzeme	N	Ort.	Ort. Standart Hatası	SS	En Düşük Değer	En Yüksek Değer
MIS Crown Set implant simanı ^a	9	18,84	0,60	0,35	18,30	19,49
Adhesor çinko polikarboksilat siman	9	12,53	0,39	0,22	12,16	12,94
Oxford CEM implant simanı ^{a, b}	9	21,93	0,63	0,36	21,21	22,35
Estemp implant simanı ^{a, b}	9	22,26	2,60	1,50	20,49	25,25
Premier implant simanı ^a	9	18,29	1,56	0,90	16,49	19,36
Harvard implant simanı ^b	9	22,88	2,01	1,16	21,49	25,18
CEM implant simanı ^a	9	18,40	0,45	0,26	17,96	18,85

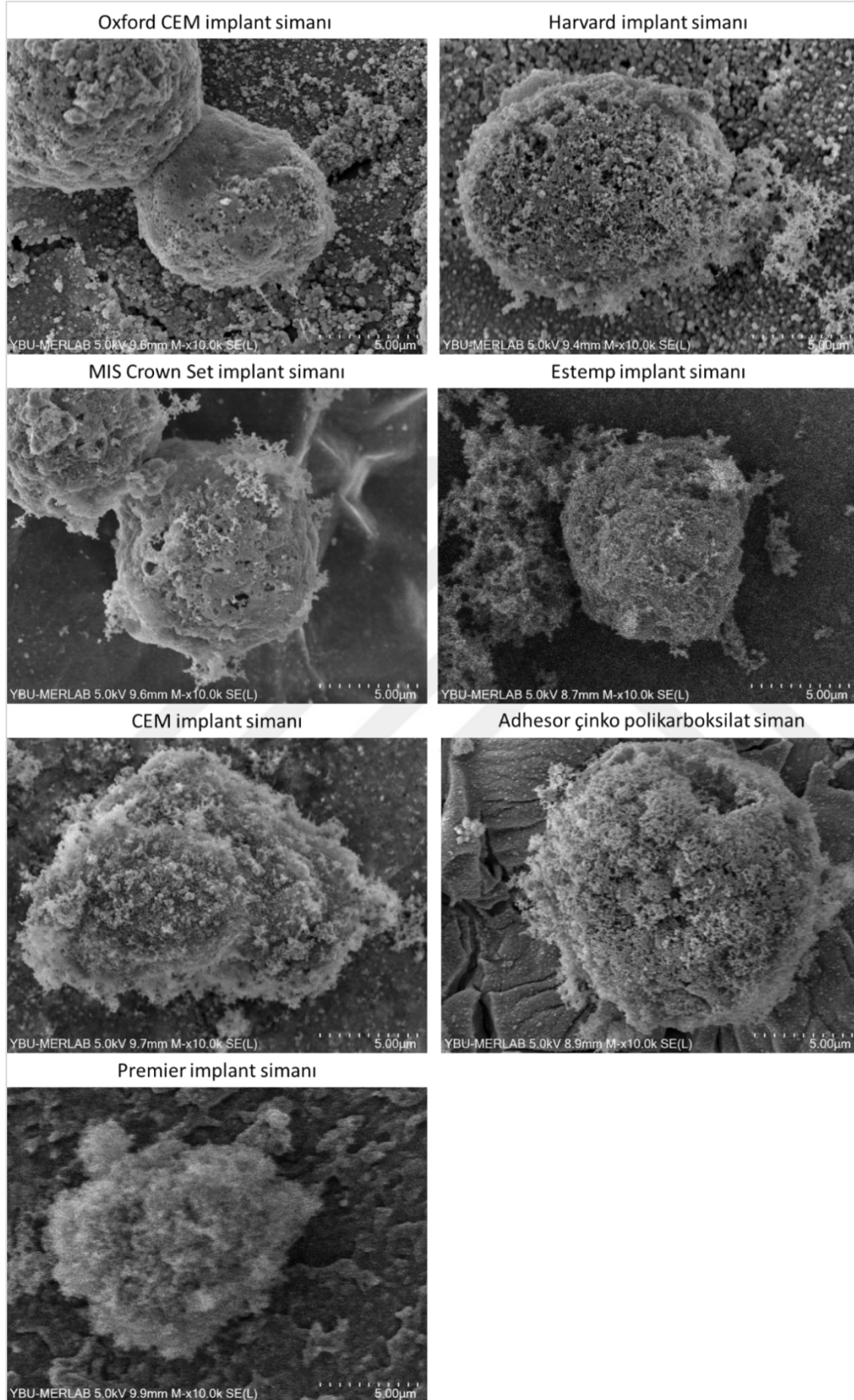
*Aynı küçük harfle yazılmış simanlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

MIS Crown SET, Oxford CEM, Estemp, Premier ve CEM siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Oxford CEM, Estemp ve Harvard siman arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ve hücre canlılığını en az azaltan bu üç gruptur. Hücre canlılığını en çok azaltan grup polikarboksilat simandır. Bütün simanlarda direkt temas metodunda, MC3T3-E1 Subclone 4 hücresi için sitotoksik etki gözlemlenmiştir.

4.2. Mikroskopik Bulgular

4.2.1. HGF hücrelerinin simanlarla 24 saat inkübasyonundan sonra hücrelerin SEM görüntüleri

Tüm siman gruplarının 24 saat hücrelerle inkübasyonundan sonra SEM sonuçları değerlendirildi. Hücrelerin yapılarında meydana gelen morfolojik değişimler resim 4.1’de verilmiştir.

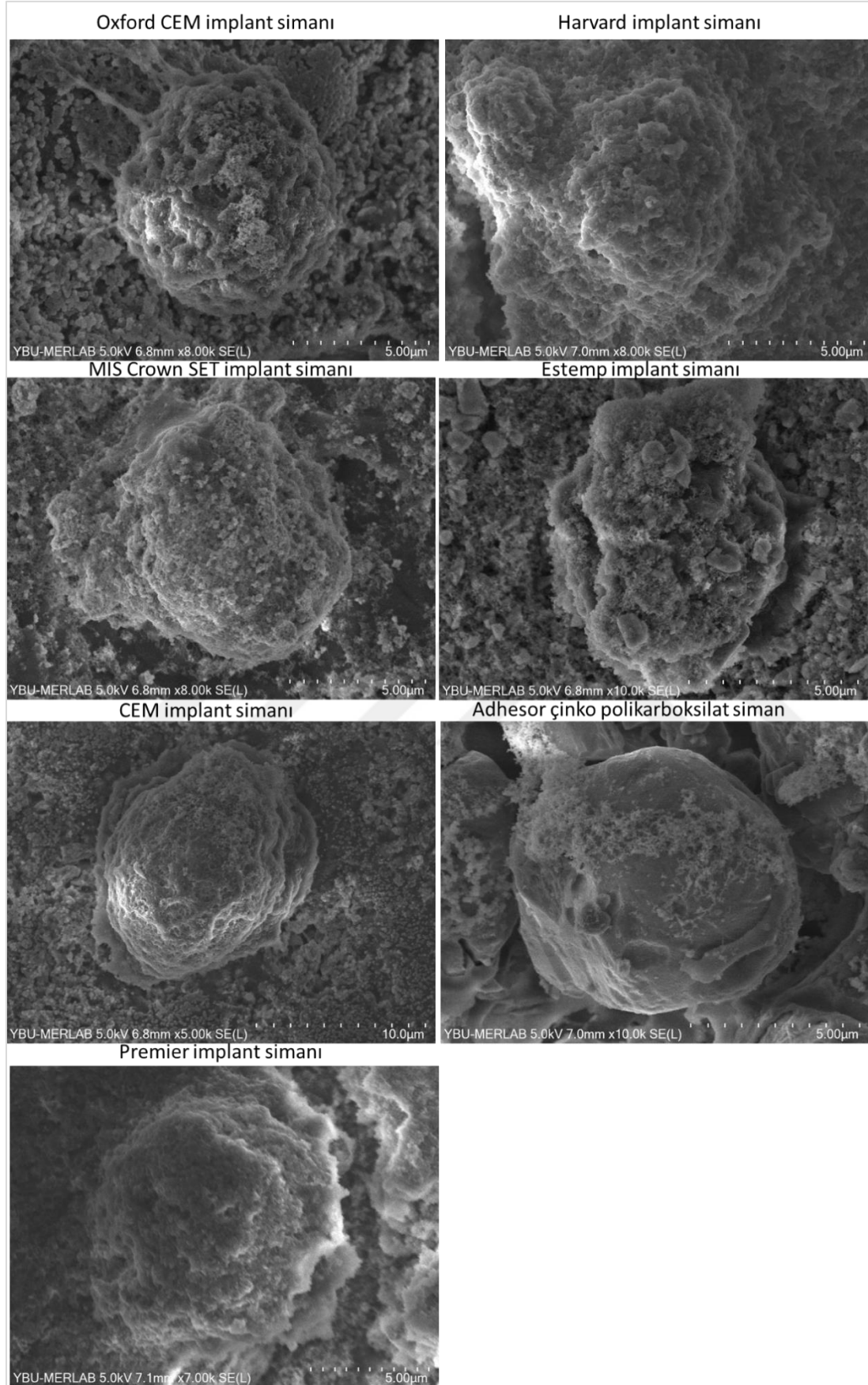


Resim 4.1. HGF hücrelerinin simanlarla 24 saat inkübasyonundan sonra hücrelerin SEM görüntüleri

SEM görüntülerine göre HGF hücrelerinin sayısının MC3T3-E1 Subclone 4 hücrelerine göre daha fazla olduğu görülmüştür. HGF hücrelerinin simanların yüzeyinde yayılım göstermedikleri, hücrelerin küresel yapılarını korudukları görülmüştür. Biyouyumlu olan materyallerde hücreler materyal üzerinde ayak benzeri yapılarla yayılım gösterirler ve yüzeyde büyümek isterler. Simanlar sito-uyumlu olmadıklarından dolayı hücreler yayılım göstermemiş, hücrelerle bağlantı sağlayan ayak benzeri yapılarıyla bağlantı kurmamışlardır. SEM görüntülerine göre Oxford CEM simanında daha fazla hücre olduğu görülmektedir. Hücre canlılık testi sonuçlarına göre ekstrakt testi metodunda Oxford CEM simanın hücre canlılığını en az azaltan siman olduğu bulunmuştur. SEM sonuçlarının hücre canlılık testi sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür.

4.2.2. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin simanlarla 24 saat inkübasyonundan sonra hücrelerin SEM görüntüleri

Tüm siman gruplarının 24 saat hücrelerle inkübasyonundan sonra SEM sonuçları değerlendirildi. Hücrelerin yapılarında meydana gelen morfolojik değişimler resim 4.2 'de verilmiştir.



Resim 4.2. MC3T3-E1 subclone 4 hücrelerinin simanlarla 24 saat inkübasyonundan sonra hücrelerin SEM görüntüleri

SEM görüntülerine göre MC3T3-E1 Subclone 4 hücrelerinde HGF hücresine göre daha az hücre bulunmaktadır. MC3T3-E1 Subclone 4 hücrelerin simanların yüzeyinde yayılım göstermedikleri, küresel yapılarını korudukları görülmüştür. Sito-uyumlu olan materyallerde hücreler materyal üzerinde ayak benzeri yapılarla yayılım gösterirler ve yüzeyde büyümek isterler. Oxford CEM simanına ait SEM görüntüsünde hücrenin ayak benzeri yapısının olduğu görülmüştür. Diğer simanlara ait SEM görüntüsünde bu yapı gözlemlenmemiştir. Oxford CEM siman, ekstrakt testi sonuçlarına göre hücre canlılığı en fazla olan simandır. SEM sonuçlarının hücre canlılık testi sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür.



5. TARTIŞMA

Dental materyallerin biyoyumluluğunun değerlendirilmesi, materyalin klinik kullanımının uygunluğu için gereklidir. Günümüze kadar, biyomateryallerin sitotoksik özelliklerinin incelenmesi için çeşitli sayıda test metodu geliştirilmiştir. Hücre, doku ve sistem düzeyinde yapılan çalışmalarda en uygun araştırma tipini seçmek, araştırmanın başarıya ulaşmasında en kritik aşamalardan biridir. Biyoyumluluk test yöntemlerinde birincil testler olarak in vitro test yöntemi kullanılmaktadır. Hayvan deneyleri ve kullanım testleri, birincil test yönteminden sonra uygulanmaktadır. Biyoyumluluk çalışmalarında in vitro deneyler, materyalin hücre üzerinde cevabın değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır ve materyalin biyoyumluluğu hakkında bilgi vermektedir [69].

Dental materyallerin sitotoksitesini değerlendirmek için yapılan hayvan deneyleri pahalı olup uzun zaman almakta ve kamuoyunda oldukça tartışma yaratmaktadır. Hayvan deneyleri ile karşılaştırıldığında hücre kültür metotları önemli teknik avantajlara sahiptir [82]. Bu nedenle, bu çalışmada 7 farklı simanın biyoyumluluğunun değerlendirilmesi için in vitro test yöntemi tercih edilmiştir. İn vitro test yöntemi simanların sitotoksitesinin değerlendirilmesinde temel test yöntemidir [83-88].

Bu çalışmada 7 farklı simanın in vitro ortamda sitotoksitesinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada kullanılan simanlar günümüzde implant üstü restorasyonları yapıştırmak için geliştirilmiş simanlardır. Bu simanların birçoğu rezin bazlı simanlardır. Resin bazlı materyaller, organik polimerize matriks, doldurucular ve polimerizasyon reaksiyonunu başlatan moleküllerden oluşmaktadır. Resin bazlı materyallerin sertleşmesi, inert dolgu partiküllerini çevreleyen rijid ve büyük ölçüde çapraz bağlı bir polimer ağının oluşumuna yol açan metakrilat resin monomerleri arasındaki kimyasal reaksiyonun bir sonucudur [57].

Yapıştırma esnasında kullanılan siman çevre dokulara taşmaktadır. İmplant çevresinde dişeti ve kemik dokusu bulunmaktadır. Bu nedenle, çalışmamızda yumuşak dokuyu taklit eden gingival fibroblast hücreleri ve kemik dokusunu taklit eden preosteoblast hücreleri kullanılmıştır. Artık simanın temizlenmesi zor ve zaman alıcıdır. Artık siman iyi temizlenmediği durumlarda implant çevresindeki dokularda enfeksiyon oluşabilmekte ve bu durum implant kaybına kadar gidebilmektedir [16, 54, 89, 90].

İmplant yerleştirildikten sonra kemiği bakterilere karşı korumak için implant ve kemik arasında bariyer olarak yumuşak doku tabakası bulunmaktadır [91]. Bununla birlikte, araştırmacılar başarısız implantların çevresindeki iltihaplı bölgeden alınan yumuşak dokuyu değerlendirdiklerinde, akut ve kronik iltihaplı hücreler, çok çekirdekli yabancı cisim tipi dev hücreler ve kalıntı nekrotik kemiğin eşlik ettiği siman materyali bulmuşlardır [92, 93]. Sadece siman kalıntılarının değil aynı zamanda yapıştırma simanlarının materyal içeriklerinin de periimplant dokuda iltihaplanmaya neden olabileceği bildirilmiştir [94]. Rezin içerikli simanların, polimerizasyonundan sonra salınan monomerler sitotoksik etkilerden sorumludur. Tamamlanmamış polimerizasyon ve rezin bozunması nedeniyle, monomerler rezin matriksten salınabilmekte ve çevredeki dokularla etkileşime girebilmektedir. Metakrilat gruplarının yaklaşık %15-50'si reaksiyona girmeden kalmaktadır. Bunun sonucunda lokal ve sistemik toksisite, pulpa reaksiyonları, alerjik ve östrojenik etkilerde dahil olmak üzere olumsuz biyolojik etkilere neden olabilmektedir [57]. Polimerize olmamış monomerlerin salınımı, hatalı fotopolimerizasyon veya termal, mekanik ve kimyasal faktörlerden kaynaklanabilmektedir [58]. Eğer siman hücreler için sitotoksik ise periimplant dokuda hücre canlılığının azalacağı ve bu bölgenin bakteri kolonizasyonu için uygun hale geleceği bildirilmiştir [86]. Rezin monomerlerinin fibroblastların hücresel fonksiyonlarını olumsuz etkilediği bilinmektedir [95]. Rezin simanların içeriğinde bulunan Bis GMA, HEMA, UDMA ve TEDGMA'nın fare fibroblastları ile temastan 24-72 saat sonra fibroblastlarda sitotoksositeye neden olduğu bildirilmiştir [96]. Ayrıca, polimerizasyon sırasında oksijene maruz kalan kompozit rezinlerin yüzeyi, polimerize olmayan, hücre için toksik olan formaldehit içeren bir yüzey tabakası oluşturmaktadır [97]. İmplant üstü restorasyonları yapıştırmak amacıyla kullanılan simanların kolay temizlenebilir olması, biyoyumlu olması siman ile ilişkili periimplantitis riskini en aza indirmektedir.

Pan ve Lin. [98], implant destekli sabit protezlerin fonksiyon esnasında kolayca çıkarılabilmesi için geçici olarak öjenol bazlı ve rezin bazlı geçici simanlar ile simante edilmesini önermişlerdir. Rezin bazlı geçici siman ile simantasyondan sonra protezin kenarlarını temizlemenin klinik olarak öjenol bazlı simanlara göre çok daha kolay olduğunu bildirmişlerdir.

Agar ve diğerleri [51] restorasyonun kron marjininin implant çevresi dokudan 1,5-3 mm daha derine yerleştirildiğinde siman artıklarının bu bölgeden uzaklaştırılmasının mümkün olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca cam iyonomer, çinko fosfat ve rezin simanların implant

yüzeyinden temizlenmesine ilişkin yaptıkları çalışmada, implant yüzeyinden en zor rezin simanların temizlendiğini ve rezin siman artıklarının implant çevresi dokuda kaldığı belirlenmiştir.

ISO-10993 in vitro hücre kültür testlerinde klinik kullanım için geliştirilen ve pazarlanan materyalleri ya da bu materyallerden özgün sıvılar içerisinde elde edilen ekstraktların kullanılmasını önermektedir [67].

Bu çalışmada materyallerin ekstratlarının hazırlanmasında, Krifka ve ark.'nın kullandığı metot esas alınmıştır [99]. Bu amaçla, materyaller standart teflon kalıplarda hazırlanmış ve materyallerin polimerizasyonları tamamlandıktan sonra 24 saat hücre kültür ortamı içerisinde bekletilmiştir. Dilüsyonları hazırlamak amacıyla, materyal ekstraktı içeren kültür ortamları 1:1, 1:2, 1:4 ve 1:8 oranlarında ekstrakt içermeyen kültür ortamı ile seyreltilmiştir [67].

Dental materyallerin sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde, çok farklı yöntemler kullanılmıştır. Dental materyallerin hücre kültürü üzerinde oluşturduğu toksik etkinin saptanmasında; Laktat dehidrogenaz (LDH) [100], kristal viyole [101], nötral kırmızı testi (NRU) [102], (4-[3-(4-iyodofenil)-2-(4-nitrofenil)-2H-5-tetrazolyo]-1,3-benzol-disülfonat) WST-1 [103], floresan mikroskopi [96] ve (3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-difeniltetrazolyum bromid; tiyazolil mavisi) MTT [104, 105] test yöntemi kullanılmaktadır. Daha sonradan geliştirilen farklı bir tetrazolyum indirgenme testi olan XTT (2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid) testinde işlem basamakları azaltılmıştır. Böylelikle daha hızlı ve daha kolay sitotoksikite testleri yapabilmeye olanak sağlanmıştır [106, 107]. XTT testi hızlı, duyarlı, kullanımı kolay bir yöntemdir. Yüksek hassasiyet ve doğruluğa sahiptir. Hücre aktivitesi ile absorbanans arasında doğrusal bir ilişki olduğundan, hücrelerin büyüme ve ölüm oranları ölçülebilmektedir [76]. Bu nedenle çalışmamızda da hücre canlılığının tespitinde XTT yöntemi kullanılmıştır ve materyallerin sitotoksikite testleri arasındaki farklar belirgin bir biçimde saptanabilmektedir.

Çalışmamızda pozitif kontrol materyali olarak standartlar esas alınarak lateks kullanılmıştır [67]. Her iki hücre içinde en fazla sitotoksik etkiyi bu materyal göstermiştir.

Sonuçlarımıza göre, implant üstü restorasyonları yapıştırmak için kullanılan simanların HGF hücresi ve MC3T3-E1 Subclone 4 hücresi üzerinde sitotoksik etkisi yoktur şeklindeki hipotezimiz reddedilmiştir. Direkt temas metodunda her iki hücre için bütün simanların sitotoksik olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Ekstrakt metodunda %100 konsantrasyonda her iki hücre için bütün simanlar sitotoksik etki göstermiştir. 7 farklı simandan hem ekstrakt metodunda hem de direkt temas metodunda 2 hücre hattı için de kontrol grubuna göre hücre canlılığını en çok azaltan siman, polikarboksilat siman olarak bulunmuştur. Diğer çalışmalarındaki sonuçlar bizim çalışmamızı destekler niteliktedir [85, 108, 109]. Öztürk ve ark. [110] farklı simanların genotoksitesini karşılaştırdıkları çalışmalarında polikarboksilat simanın insan ağız bukkal epitel hücresi için en sitotoksik siman olduğunu bildirmişlerdir. Polikarboksilat simanın, diğer simanlara göre daha sitotoksik olmasının nedeninin, içeriğindeki çinko, florür ve likitindeki poliakrilik asitten kaynaklandığı bilinmektedir [111, 112].

Winkler ve ark. [113], implant üstü restorasyonları yapıştırmak için kullanılan simanların sitotoksitesini değerlendirmişlerdir. Çalışmada çinko oksit içerikli siman, cam iyonmer siman, çinko oksit öjenol siman, öjenolsüz çinko oksit siman, karboksilat siman, kompozit rezin siman, self adeziv rezin siman ve rezin bazlı geçici implant simanlarının dental folikül hücresi üzerindeki sitotoksik etkisi WST-1 metodu kullanılarak değerlendirilmiştir. WST-1 metodu, XTT metoduna benzer şekilde mitokondrinin metabolik aktivitesini değerlendirmektedir. Araştırmacıların yaptığı çalışmada kullanılan hücrenin ve değerlendirilen metodun bizim çalışmamıza benzer olduğu görülmüştür. Araştırmacılar çalışmalarında çinko fosfat, çinko oksit öjenol, öjenolsüz çinko oksit ve karboksilat simanların kontrol grubuna göre daha sitotoksik olduğunu ve bunun sebebinin siman içeriğindeki çinko kaynaklı olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da karboksilat simanların sitotoksik olduğu bulunmuştur. Ayrıca çalışmada öjenol içerikli simanda sitotoksikite sebebinin ek olarak öjenol kaynaklı olabileceği açıklanmıştır. Araştırmacılar genel olarak açığa çıkan metal iyonlarının yanı sıra simanların içeriğinde bulunan yüksek asit bileşenlerinin sitotoksik etkiye sahip olabildiğini belirtmişlerdir. Çinko fosfat siman fosfor asidi, karboksilat siman ise poliakrilik asit içermektedir. Çalışmada rezin içerikli simanların sitotoksitesinden, polimerizasyondan sonra salınan monomerlerin sorumlu olabileceği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda rezin içerikli implant simanlarının direkt temas metodunda ve ekstrakt metodunda sitotoksik olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Alkurt ve ark. [85] insan gingival fibroblast hücreleri ve pulpal fibroblast hücrelerinin 5 farklı simana verdiği yanıtı MTT test yöntemiyle değerlendirmişlerdir. Bu simanlar implant üstü restorasyonları yapıştırmak için kullanılmaktadır. MTT test yöntemi, çalışmamızda kullandığımız XTT test yöntemi gibi mitokondrinin metabolik aktivitesini değerlendirmektedir. XTT yöntemi canlılığın değerlendirilmesi hakkında daha detaylı ve hücre sayısı hakkında MTT testine nazaran daha hassas bilgi sunmaktadır [76]. Araştırmacılar her iki hücre için %100 konsantrasyonda cam iyonmer simanın, polikarboksilat simanın, çinko oksit öjenol içerikli simanın ve self adeziv rezin simanın sitotoksik olduğunu, öjenolsüz çinko oksit simanın en az sitotoksositeye sahip olduğunu bildirmişlerdir. %50 konsantrasyonda hücre canlılığını en çok azaltan simanın polikarboksilat siman olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda hücre canlılığını değerlendirmek için XTT yöntemi kullanılmıştır ve bu çalışmada kullanılan fibroblast hücreleri ve ek olarak preosteoblast hücrelerinin canlılığı değerlendirilmiştir. Çalışmamızda, bu çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde polikarboksilat siman her iki hücre için hücre canlılığını en çok azaltan siman olarak bulunmuştur. Çalışmada self adeziv rezin simanın %100 ve %50 konsantrasyonda sitotoksik olduğu bulunmuştur ve bu simanlar rezin monomerleri içermektedir. Bizim çalışmamızda kullanılan rezin içerikli simanların direkt temas metodu ve ekstrakt metodunda sitotoksik olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Rezin esaslı materyaller özelliklerine göre farklı konsantrasyonlarda çeşitli monomerler içermektedir. Bu ürünler genellikle 2,2-bis [4-(2-hidroksi-3-metakriloksi-propoksi) fenil] propan (Bis-GMA) ve ürethan dimetakrilat (UDMA) gibi visköz ve/veya 2-hidroksietilmetakrilat (HEMA) ve trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA) gibi visköz olmayan monomerler içermektedir. Monomerlerin yapısı ve özellikleri, sitotoksik etkileri üzerinde etkilidir. Örneğin iki metakrilat grubu içeren bifonksiyonel monomerlerin monofonksiyonel monomere oranla daha fazla sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir. Yapısal olarak HEMA ve TEGDMA hidrofilik, Bis-GMA ve UDMA ise hidrofobik monomerler olarak tanımlanmaktadır. HEMA ve TEGDMA'nın Bis-GMA ve UDMA gibi daha hidrofobik monomere kıyasla daha düşük sitotoksosite potansiyeli taşıdığı bildirilmiştir. Rezin monomerlerde genel olarak sitotoksosite sıralaması Bis-GMA>UDMA>TEGDMA>HEMA şeklindedir [114, 115]. Çalışmalarda rezin komponentlerin dişler ve materyaller arasında iyon salınımı ve inflamatuvar reaksiyon ve doku hasarında yer alan proteinlerin aktive edilmesiyle ilişkilendirildiği bildirilmiştir [116, 117]. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, rezin bazlı materyaller ağza yerleştirildikten sonra

hücre ölümlerinin yanı sıra hücrelerde inflamasyon ve apoptoz görülmesinin beklendiğini bildirmiştir [118]. Kraus ve ark. [57] rezin monomerlerinin osteoblast benzeri hücreler üzerindeki sitotoksitesini 3 farklı test metoduyla değerlendirmişlerdir. Sitotoksiteyi değerlendirmek için kullandıkları metodlardan biri bizim de kullandığımız metod olan XTT metodudur. Araştırmacılar sonuçlara göre monomerlerin hücreler için sitotoksik olduğunu gözlemlemişlerdir. Bizim çalışmamızda kullanılan simanlar rezin içerikli simanlardır ve rezin monomerler içermektedirler. Bu monomerlerin osteoblast benzeri dokuda sitotoksik olması, klinik duruma aktarıldığında, periimplant bölgede bulunan kemik dokusu ile etkileşime girip kemik dokusunda yıkım meydana getirebileceğini düşündürmektedir.

Sonuçlarımıza göre geçici ve kalıcı rezin içerikli simanlar birbirine yakın sitotoksite göstermiştir, bunun nedeni bu simanların benzer içeriklere sahip olmasından kaynaklanabilir. Yarı kalıcı rezin simanlar her iki hücre için en az sitotoksite gösteren simanlardır. Winkler ve ark. [113]'nın çalışmalarında, sitotoksitesi değerlendirilen rezin bazlı geçici implant simanı sitotoksik etkisi en düşük siman olarak bulunmuştur. Çalışmada bu simanın sitotoksik olduğu bilinen metakrilat oligomerleri ve triklosan içermesine rağmen, çok az sitotoksik etkiye sahip olmasının nedeninin metal iyonları içermemesi ve daha düşük artık monomer bulundurması olabileceği bildirilmiştir. Geçici rezin simanlar yarı kalıcı simanlarla benzer içeriğe sahiptir fakat çalışmamızda geçici rezin simanların yarı kalıcı rezin simanlardan daha sitotoksik olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Yarı kalıcı simanlar ve Estemp geçici rezin siman dual cure olarak sertleşmektedirler. Sonuçlara göre ekstrakt metodunda en az sitotoksik etkiyi gösteren simanın her iki yarı kalıcı siman olduğu, direkt temas metoduna göre her iki hücre için en az sitotoksik etkiyi gösteren simanın yarı kalıcı siman olan Harvard siman olduğu ve bu simana en yakın sitotoksite değerinin dual cure sertleşen geçici rezin simana ait olduğu sonucuna ulaşılmıştır. İçeriklerinin benzer olmasına rağmen simanların sitotoksite değerleri arasındaki farklılığın sertleştirme protokolünden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Alpino ve ark. [119] farklı sertleştirme protokolüne göre sertleştirilen self adeziv rezin simanların sitotoksitesini fare odontoblastları üzerinde anneksin V yöntemiyle değerlendirmiştir. Genel olarak bütün test örnekleri hücre canlılığı üzerinde önemli bir azalmaya sebep olmuştur. Fakat, kimyasal olarak sertleşen simanların sitotoksitesi, ışıkla sertleşen veya dual cure sertleşen simanlara göre daha yüksek çıkmıştır. Kimyasal olarak sertleşen simanlarda artık monomer kalma ihtimalinin daha fazla olduğu bu artık

monomerlerin hücre üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Schmid- Schwap ve ark. [120] L929 fare fibroblast hücreleri kullanarak yaptıkları çalışmalarında aynı şekilde kimyasal olarak sertleşen simanların dual cure sertleşen simanlara göre daha sitotoksik olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Bu çalışmalarda kullanılan simanlar rezin içerikli simanlardır, rezin monomerleri içermektedir ve bizim çalışmamızda kullandığımız simanlarla benzer içeriğe sahiptirler. Ancak bu çalışmalarda hücre canlılığını belirlemek için kullanılan metodlar bizim metodumuzdan farklıdır. Bu farklılıklara rağmen sonuçlar bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Sonuçlarımıza göre kimyasal olarak sertleşen simanların hücreler üzerinde daha sitotoksik olduğu bulunmuştur.

Marvin ve ark. [87] gingival fibroblast ve preosteoblast hücre hattı kullanarak bioseam, rezin, rezin modifiye cam iyonomer, çinko oksit öjenol ve çinko fosfat simanların sitotoksitesini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, sitotoksiteyi değerlendirmek için MTT test yöntemi kullanmışlardır. Resin, resin modifiye cam iyonomer ve çinko oksit öjenol simanların her iki hücre için sitotoksik olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan resin siman self adeziv resin simandır. Bizim çalışmamızda resin içerikli geçici simanların sitotoksitesi direkt temas metodu ve ekstrakt metoduna göre değerlendirilmiş ve bu simanların sitotoksik olduğu bulunmuştur. Resin monomerlerin sitotoksiteden sorumlu olduğu bilinmektedir ve çalışmamızda kullanılan resin içerikli geçici simanlar resin monomerleri içermektedir.

Rodriguez ve ark. [88] gingival fibroblast ve preosteoblast hücre hattı kullanarak 4 farklı simanın sitotoksitesini direkt temas metodu kullanarak değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar akrilik resin siman olarak bizim çalışmamızda kullanılan Premier simanı kullanmışlardır. Ayrıca öjenollü çinko oksit, çinko fosfat ve öjenolsüz çinko oksit siman kullanmışlardır. Araştırmacılar akrilik resin simanın fibroblast hücrelerinde hücre canlılığını en fazla düşüren siman olduğunu, fakat preosteoblast hücrelerinin canlılığını en az düşüren siman olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda resin içerikli geçici siman olan Premier simanın HGF ve MC3T3-E1 Subclone 4 hücresi için, direkt temas metodunda ve ekstrakt metodunda %100, %50 ve %25 ekstraktta sitotoksik olduğu bulunmuştur.

Şişmanoğlu ve ark. [105] 4 farklı self adeziv resin siman ve resin modifiye cam iyonomer simanın fare fibroblastları üzerine etkisini ekstrakt metodu kullanarak, MTT testiyle değerlendirmişlerdir. Ekstrakt metodunda ekstrakt yüzdesi azaldıkça sitotoksik etkinin

azaldığını, hücre canlılığının arttığını bildirmişlerdir. Alkurt ve ark. [85] insan gingival fibroblast hücreleri ve pulpal fibroblast hücrelerinin 5 farklı simana verdiği yanıtı MTT test yöntemiyle değerlendirdikleri çalışmalarında ekstrakt yüzdesinin azaldıkça siman sitotoksitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da, ekstrakt metodunda ekstrakt yüzdesi azaldıkça siman sitotoksitesinin azaldığı sonucuna ulaşılmıştır. Oxford CEM simanın %25 ve %12,5 konsantrasyonda HGF hücresi üzerine sitotoksik etki göstermediği, Harvard ve Premier simanın %12,5 konsantrasyonda sitotoksik etki göstermediği bulunmuştur. Harvard ve Premier simanın %12,5 konsantrasyonda MC3T3-E1 Subclone 4 hücresi üzerine sitotoksik etki göstermediği sonucuna ulaşılmıştır. Ekstrakt yüzdesi azaldıkça simanların sitotoksitesilerinin azalmasının nedeninin, yüzde azaldıkça simanların içeriğindeki hücreye etki eden maddelerin konsantrasyonunun azalması olduğu düşünülmektedir.

SEM sonuçlarımıza göre, simanların hücre morfolojilerini ve canlı hücre sayısını etkilediği görülmüştür. Simanlara maruz kalan HGF hücrelerinin sayısının, MC3T3-E1 Subclone 4 preosteoblast hücrelerinin sayısına göre daha fazla olduğu görülmüştür ve bu sonuç direkt temas testi sonuçları ile uyumludur. SEM görüntülerine göre hücrelerin küresel yapılarını korudukları, ayak benzeri yapılarla bağlantı kurmadıkları görülmüştür. Sitouyumlu materyallerde hücreler ayak benzeri yapılarla bağlantı kurarlar simanlar sitouyumlu olmadıkları için hücrelerin küresel yapılarını korudukları düşünülmektedir. Dual cure sertleşen simanlarda hücre canlılığının daha fazla olduğu bulunmuştu, SEM sonuçlarına göre dual cure sertleşen Oxford simanına ait görüntüde hücre sayısının fazla olduğu ve hücrelerin ayak benzeri yapılarla bağlantı kurduğu görülmüştür. De Souza Costa ve ark. [121] rezin içerikli cam iyonomer simanların dental papilla hücresi üzerindeki morfolojik etkilerini SEM ile inceledikleri çalışmalarında, rezin içerikli simanların kontrol grubuna göre hücre metabolizmasını önemli ölçüde azalttığını ve sitopatik etkiye yol açarak hücre canlılığını azalttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar SEM görüntülerinde hücrelerin sitotoksik olmayan materyallerde bağlantı kurduğunu, rezin içerikli simanlarda hücrelerin küresel formlarını koruduklarını ve bağlantı kuran hücrelerin sayısının azaldığını belirtmişlerdir. Resin içerikli simanlarda polimerizasyondan sonra reaksiyona girmemiş artık monomerlerin ve cam iyonomer simanların içeriğinde bulunan demir, alimünyum, stronsiyum ve çinkonun hücre ölümüne neden olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda kullandığımız simanlar rezin içeriklidir ve polikarboksilat siman çinko içermektedir. Çalışmamızdaki SEM görüntülerinin araştırmacıların bildirdiği sonuçlara benzer olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda implant çevresindeki yumuşak dokuyu temsilen gingival fibroblast hücreleri, sert dokuyu temsilen preosteoblast hücreleri kullanılmıştır. Ve direkt temas metodunda preosteoblast hücrelerinin gingival fibroblast hücrelerinden daha hassas olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Fibroblast hücrelerinde simanlara maruz kaldıktan sonra preosteoblast hücrelerine oranla daha fazla hücrede canlılık görülmüştür. Rodriguez ve ark. [88] direkt temas metodunda bizim çalışmamızın aksine gingival fibroblast hücrelerinin preosteoblast hücrelerinden daha hassas olduğu sonucuna ulaşmıştır. Fakat diğer çalışmalar bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Çalışmalarda preosteoblast hücrelerinin, gingival fibroblast hücrelerinden daha hassas olduğu, sitotoksikite çalışmalarında preosteoblast hücrelerde hücre canlılığının daha az olduğu sonucuna ulaşılmıştır [86, 87, 121]. Araştırmacılar fibroblastlardaki hassasiyetin az olmasının nedeninin, muhtemelen oral ortamda meydana gelen sürekli fizyolojik ve kimyasal değişikliklere dayanma kabiliyetinin bir sonucu olduğunu belirtmişlerdir ve rezin simanlardan salınan maddelerin kemik yapımı ve yıkımındaki dengeyi bozabileceğini, bunun sonucunda periimplant kemikte kayıplara yol açabileceğini bildirmişlerdir [121].

Bu çalışmada veriler in vitro test yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Simanların sitotoksik değerlendirmesinin tam anlamıyla yapılabilmesi için bu çalışmanın hayvan deneyi ve klinik çalışmalarla da desteklenmesi gerekir.



6. SONUÇLAR

İmplant üstü restorasyonları yapıştırmak amacıyla kullanılan 7 farklı simanın sitotoksik etkilerinin 2 farklı hücrede, XTT yöntemiyle değerlendirildiği bu in vitro araştırmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Tüm materyallerin seyreltilmemiş konsantrasyonlarının HGF ve MC3T3-E1 Subclone 4 hücreleri üzerine sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir.
- Direkt temas metodunda tüm materyallerin HGF ve MC3T3-E1 Subclone 4 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi olduğu görüldü.
- Direkt temas metodu ve ekstrakt metodunda, HGF hücresi ve MC3T3-E1 Subclone 4 hücresi üzerinde canlılığı en çok azaltan simanın Polikarboksilat siman olduğu bulundu.
- Ekstrakt metodunda tüm konsantrasyonlarda HGF hücrelerinin canlılığını en az azaltan simanın Oxford CEM siman olduğu tespit edildi.
- Oxford CEM simanın ekstrakt metodunda %25 ve %12,5 konsantrasyonda HGF hücreleri üzerine sitotoksik etki göstermediği tespit edildi.
- Ekstrakt metodunda tüm konsantrasyonlarda MC3T3-E1 Subclone 4 hücrelerinin canlılığını en az azaltan simanın Harvard siman olduğu bulundu.
- Harvard simanın ekstrakt metodunda %12,5 konsantrasyonda MC3T3-E1 Subclone 4 hücreleri üzerine sitotoksik etki göstermediği tespit edildi.
- Direkt temas metodunda her iki hücre için canlılığı en az azaltan simanın Harvard siman olduğu bulundu.
- SEM görüntülerine göre dual cure sertleşen Oxford simanda HGF hücrelerinin sayısının diğer siman örneklerine göre daha fazla olduğu ve Oxford simanının yüzeyine MC3T3-E1 Subclone 4 preosteoblast hücrelerinin bağlandığı tespit edildi.



KAYNAKLAR

1. Sullivan, R. M. (2001). Implant dentistry and the concept of osseointegration: A historical perspective. *Journal of the California Dental Association*, 29(11), 737-745.
2. Gaviria, L., Salcido, J. P., Guda, T., and Ong, J. L. (2014). Current trends in dental implants. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 40(2), 50-60.
3. Moilanen, P., Hjerppe, J., Lassila, L. V., and Närhi, T. O. (2018). Fracture strength and precision of fit of implant-retained monolithic zirconia crowns. *Journal of Oral Implantology*, 44(5), 330-334.
4. Hickey, J. C. (1968). Glossary of prosthodontic terms. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 20(5), 443-480.
5. Esposito, M., Grusovin, M. G., Chew, Y. S., Coulthard, P., and Worthington, H. V. (2009). Interventions for replacing missing teeth: 1-versus 2-stage implant placement. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (3).
6. Pjetursson, B. E., Thoma, D., Jung, R., Zwahlen, M., and Zembic, A. (2012). A systematic review of the survival and complication rates of implant-supported fixed dental prostheses (FDP s) after a mean observation period of at least 5 years. *Clinical Oral Implants Research*, 23(6), 22-38.
7. Yeshwante, B., Patil, S., Baig, N., Gaikwad, S., Swami, A., and Doiphode, M. (2015). Dental implants-classification, success and failure—an overview. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences Ver. II*, 14(5), 2279-2861.
8. Sakaguchi R, P.J. (2012). *Dental and orofacial implants*. 13th ed. Philadelphia Elsevier (Craig's restorative Dental Materials), 355-67.
9. Misch, C. E., and Kutay, Ö. (2009). *Dental implant protezler*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 32-42.
10. Wittneben, J. G., Joda, T., Weber, H. P., and Brägger, U. (2017). Screw retained vs. cement retained implant-supported fixed dental prosthesis. *Periodontology 2000*, 73(1), 141-151.
11. Vigolo, P., Givani, A., Majzoub, Z., and Cordioli, G. (2004). Cemented versus screw-retained implant-supported single-tooth crowns: a 4-year prospective clinical study. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 19(2), 260-265.
12. Sambrook, R. J., Judge, R. B., and Abuzaar, M. A. (2012). Strategies for restoration of single implants and use of cross-pin retained restorations by Australian prosthodontists. *Australian Dental Journal*, 57(4), 409-414.
13. Sarfaraz, H., Hassan, A., Shenoy, K. K., and Shetty, M. (2019). An in vitro study to compare the influence of newer luting cements on retention of cement-retained implant-supported prosthesis. *The Journal of the Indian Prosthodontic Society*, 19(2), 166-172.

14. Ma, S., and Fenton, A. (2015). Screw-versus cement-retained implant prostheses: a systematic review of prosthodontic maintenance and complications. *International Journal of Prosthodontics*, 28(2), 127-145.
15. Lemos, C. A. A., de Souza Batista, V. E., de Faria Almeida, D. A., Júnior, J. F. S., Verri, F. R., and Pellizzer, E. P. (2016). Evaluation of cement-retained versus screw-retained implant-supported restorations for marginal bone loss: A systematic review and meta-analysis. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 115(4), 419-427.
16. Hamed, M. T., Mously, H. A., Alamoudi, S. K., Hashem, A. B. H., and Naguib, G. H. (2020). A systematic review of screw versus cement-retained fixed implant supported reconstructions. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*, 12, 9-16.
17. Shadid, R., and Sadaqa, N. (2012). A comparison between screw-and cement-retained implant prostheses. A literature review. *Journal of Oral Implantology*, 38(3), 298-307.
18. Vindasiute, E., Puisys, A., Maslova, N., Linkeviciene, L., Peculiene, V., and Linkevicius, T. (2015). Clinical factors influencing removal of the cement excess in implant-supported restorations. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 17(4), 771-778.
19. Mehl, C., Harder, S., Wolfart, M., Kern, M., and Wolfart, S. (2008). Retrievability of implant-retained crowns following cementation. *Clinical Oral Implants Research*, 19(12), 1304-1311.
20. Michalakakis, K. X., Hirayama, H., and Garefis, P. D. (2003). Cement-retained versus screw-retained implant restorations: a critical review. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 18(5).
21. Santosa, R. E., Martin, W., and Morton, D. (2010). Effects of a cementing technique in addition to luting agent on the uniaxial retention force of a single-tooth implant-supported restoration: an in vitro study. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 25(6), 1145-1152.
22. Assenza, B., Scarano, A., Leghissa, G., Carusi, G., Thams, U., Roman, F. S., and Piattelli, A. (2005). Screw- vs cement-implant-retained restorations: An experimental study in the Beagle. Part 1. Screw and abutment loosening. *Journal of oral Implantology*, 31(5), 242-246.
23. Torrado, E., Ercoli, C., Al Mardini, M., Graser, G. N., Tallents, R. H., and Cordaro, L. (2004). A comparison of the porcelain fracture resistance of screw-retained and cement-retained implant-supported metal-ceramic crowns. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 91(6), 532-537.
24. Wittneben, J. G., Millen, C., and Brägger, U. (2014). Clinical performance of screw-versus cement-retained fixed implant-supported reconstructions--a systematic review. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 29, 84-98.
25. Millen, C., Brägger, U., and Wittneben, J. G. (2015). Influence of prosthesis type and retention mechanism on complications with fixed implant-supported prostheses: A systematic review applying multivariate analyses. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 30(1), 110-124.

26. Weber, H. P., and Sukotjo, C. (2007). Does the type of implant prosthesis affect outcomes in the partially edentulous patient?. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 22(7), 140-172
27. Thoma, D. S., Wolleb, K., Bienz, S. P., Wiedemeier, D., Hämmerle, C. H., and Sailer, I. (2018). Early histological, microbiological, radiological, and clinical response to cemented and screw-retained all-ceramic single crowns. *Clinical oral Implants Research*, 29(10), 996-1006.
28. O'Brien, W. J. (2002). *Dental materials and their selection*. Chicago: Quintessence, 133-155.
29. Lad, P. P., Kamath, M., Tarale, K., and Kusugal, P. B. (2014). Practical clinical considerations of luting cements: A review. *Journal of International Oral Health*, 6(1), 116-120.
30. Sita Ramaraju, D. V., Alla, R. K., Alluri, V. R., and Raju, M. A. K. V. (2014). A review of conventional and contemporary luting agents used in dentistry. *American Journal of Materials Science and Engineering*, 2(3), 28-35.
31. Yu, H., Zheng, M., Chen, R., and Cheng, H. (2014). Proper selection of contemporary dental cements. *Oral Health Dent Manag*, 13(1), 54-59.
32. Craig R.G, (2002). *Restorative Dental Materials*. 11.th. St. Louis: Mosby, 594-634.
33. Donovan, T. E., and Cho, G. C. (1999). Contemporary evaluation of dental cements. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 20(3), 197-199.
34. Wilson, A. D., and Nicholson, J. W. (2005). *Acid-base cements: their biomedical and industrial applications*. NewYork: Cambridge University Press, 1-383.
35. Wingo, K. (2018). A review of dental cements. *Journal of Veterinary Dentistry*, 35(1), 18-27.
36. Rosenstiel, S. F., Land, M. F., and Crispin, B. J. (1998). Dental luting agents: A review of the current literature. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 80(3), 280-301.
37. Heboyan, A. G., Vardanyan, A. R., and Avetisyan, A. A. (2019). Cement selection in dental practice. *World Science*, 2(43), 4-9.
38. Hill, E. E. (2007). Dental cements for definitive luting: a review and practical clinical considerations. *Dental Clinics of North America*, 51(3), 643-658.
39. Talukder, D., Gandhi, S., and Datta, P. (2019). *Critical Evaluation of Resin Cements as a Luting Agent*. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. cilt sayfa
40. Mansour, A., Ercoli, C., Graser, G., Tallents, R., and Moss, M. (2002). Comparative evaluation of casting retention using the ITI solid abutment with six cements. *Clinical Oral Implants Research*, 13(4), 343-348.

41. Gultekin, P., Gultekin, B. A., Aydin, M., and Yalcin, S. (2013). Cement selection for implant-supported crowns fabricated with different luting space settings. *Journal of Prosthodontics*, 22(2), 112-119.
42. Almeahmadi, N., Kutkut, A., and Al-Sabbagh, M. (2019). What is the Best Available Luting Agent for Implant Prosthesis?. *Dental Clinics*, 63(3), 531-545.
43. Bhoyar, A., Jain, A., Parlani, S., and Pandey, H. (2016). Selection of luting agent in implant retained prosthesis. A review. *International Journal of Oral Health Dentistry*, 2(1), 19-25.
44. Korsch, M., Marten, S. M., Walther, W., Vital, M., Pieper, D. H., and Dötsch, A. (2018). Impact of dental cement on the peri-implant biofilm-microbial comparison of two different cements in an in vivo observational study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 20(5), 806-813.
45. Akca, K., İplikçioğlu, H., and Çehreli, M. C. (2002). Comparison of uniaxial resistance forces of cements used with implant-supported crowns. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 17(4), 536-542.
46. Bresciano, M., Schierano, G., Manzella, C., Screti, A., Bignardi, C., and Preti, G. (2005). Retention of luting agents on implant abutments of different height and taper. *Clinical Oral Implants Research*, 16(5), 594-598.
47. Sellers, K., Powers, J. M., and Kiat-Amnuay, S. (2017). Retentive strength of implant-supported CAD-CAM lithium disilicate crowns on zirconia custom abutments using 6 different cements. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 117(2), 247-252.
48. Chaar, M. S., Att, W., and Strub, J. R. (2011). Prosthetic outcome of cement-retained implant-supported fixed dental restorations: A systematic review. *Journal of Oral Rehabilitation*, 38(9), 697-711.
49. Schwarz, S., Schröder, C., Corcodel, N., Hassel, A. J., and Rammelsberg, P. (2012). Retrospective comparison of semipermanent and permanent cementation of implant-supported single crowns and FDPs with regard to the incidence of survival and complications. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 14(1), e151-e158.
50. Sheets, J. L., Wilcox, C., and Wilwerding, T. (2008). Cement selection for cement-retained crown technique with dental implants. *Journal of Prosthodontics*, 17(2), 92-96.
51. Agar, J. R., Cameron, S. M., Hughbanks, J. C., and Parker, M. H. (1997). Cement removal from restorations luted to titanium abutments with simulated subgingival margins. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 78(1), 43-47.
52. Squier, R. S., Agar, J.R., Duncan, J.P., and Taylor, T.D. (2002). Retentiveness of dental cements used with metallic implant components. *International Journal Oral Maxillofac Implants*, 16(6), 793-798.
53. Wadhwani, C. P., Schwedhelm, E. R., Tarica, D. Y., and Chung, K. H. A. (2015). Implant luting cements. In *Cementation in dental implantology*. Berlin, Heidelberg: Springer, 47-82.

54. Wilson Jr, T. G. (2009). The positive relationship between excess cement and peri-implant disease: a prospective clinical endoscopic study. *Journal of Periodontology*, 80(9), 1388-1392.
55. Pauletto, N., Lahiffe, B. J., and Walton, J. N. (1999). Complications associated with excess cement around crowns on osseointegrated implants: a clinical report. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 14(6), 865-868.
56. Korsch, M., Robra, B. P., and Walther, W. (2015). Predictors of excess cement and tissue response to fixed implant-supported dentures after cementation. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 17(1), e45-e53.
57. Kraus, D., Wolfgarten, M., Enkling, N., Helfgen, E. H., Frentzen, M., Probstmeier, R., and Stark, H. (2017). In-vitro cytocompatibility of dental resin monomers on osteoblast-like cells. *Journal of Dentistry*, 65, 76-82.
58. Goldberg, M. (2008). In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. *Clinical Oral Investigations*, 12(1), 1-8.
59. Phan, T. N., Buckner, T., Sheng, J., Baldeck, J. D., and Marquis, R. E. (2004). Physiologic actions of zinc related to inhibition of acid and alkali production by oral streptococci in suspensions and biofilms. *Oral Microbiology and Immunology*, 19(1), 31-38.
60. Imazato, S., Torii, Y., Takatsuka, T., Inoue, K., Ebi, N., and Ebisu, S. (2001). Bactericidal effect of dentin primer containing antibacterial monomer methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) against bacteria in human carious dentin. *Journal of Oral Rehabilitation*, 28(4), 314-319.
61. Nicholson, J. W., and Czarnecka, B. (2008). The biocompatibility of resin-modified glass-ionomer cements for dentistry. *Dental Materials*, 24(12), 1702-1708.
62. Williams, D. F. (2008). On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 29(20), 2941-2953.
63. Schmalz, G., and Arenholt-Bindslev, D. (2009). *Biocompatibility of dental materials*. Berlin: Springer, 1-379.
64. Wataha, J. C. (2001). Principles of biocompatibility for dental practitioners. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 86(2), 203-209.
65. St John, K.R. (2007). Biocompatibility of dental materials. *Dental Clinics of North America*, 51(3), 747-760.
66. Elshahawy, W. (2011). Biocompatibility. In *Advances in Ceramics-Electric and Magnetic Ceramics, Bioceramics, Ceramics and Environment*. IntechOpen, 359-374.
67. Standardization, I.O.F. (1997). Dentistry-Preclinical Evaluations of Biocompatibility of Medical Devices Used in Dentistry: Test Methods for Dental Materials. *International Organization for Standardization*.

68. Murray, P. E., García Godoy, C., and García Godoy, F. (2007). How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated?. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 12(3), 258-266.
69. Hanks, C. T., Wataha, J. C., and Sun, Z. (1996). In vitro models of biocompatibility: A review. *Dental Materials*, 12(3), 186-193.
70. Swetha, B., Mathew, S., Murthy, B. S., Shruthi, N., and Bhandi, S. H. (2015). Determination of biocompatibility: A review. *International Dental & Medical Journal of Advanced Research*, 1(1), 1-6.
71. Wang, F. (2006). Culture of animal cells: a manual of basic technique. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 42(5), 169-169.
72. Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63.
73. Altman, F. P. (1976). Tetrazolium salts and formazans. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*, 9(3), 1-56.
74. Stockert, J. C., Horobin, R. W., Colombo, L. L., and Blázquez-Castro, A. (2018). Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. *Acta Histochemica*, 120(3), 159-167.
75. Berridge, M. V., Herst, P. M., and Tan, A. S. (2005). Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. *Biotechnology Annual Review*, 11, 127-152.
76. Tokur, O., ve Aksoy, A. (2017). In vitro sitotoksosite testleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(1), 112-118.
77. Sakaguchi, R. L., and Powers, J. M. (2012). *Craig's restorative dental materials-e-book*. Elsevier Health Sciences, 199-238.
78. Wataha, J. C. (2012). Predicting clinical biological responses to dental materials. *Dental Materials*, 28(1), 23-40.
79. de Souza Costa, C. A., Hebling, J., Scheffel, D. L., Soares, D. G., Basso, F. G., and Ribeiro, A. P. D. (2014). Methods to evaluate and strategies to improve the biocompatibility of dental materials and operative techniques. *Dental Materials*, 30(7), 769-784.
80. Schmalz, G. (1998). Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clinical Oral Investigations*, 1(4), 154-162.
81. Kapoor, R., Singh, K., Kaur, S., and Arora, A. (2016). Retention of implant supported metal crowns cemented with different luting agents: a comparative invitro study. *Journal of clinical and diagnostic research: Journal of Clinical Diagnostic Research*, 10(4), 61-64.

82. Schmalz, G., Schuster, U., Thonemann, B., Barth, M., and Esterbauer, S. (2001). Dentin barrier test with transfected bovine pulp-derived cells. *Journal of Endodontics*, 27(2), 96-102.
83. Malkoc, M. A., Demir, N., Şengün, A., Bozkurt, Ş. B., and Hakki, S. S. (2015). Cytotoxicity evaluation of luting resin cements on bovine dental pulp-derived cells (bDPCs) by real-time cell analysis. *Dental Materials Journal*, 34(2), 154-160.
84. Nakagawa, K., Saita, M., Ikeda, T., Hirota, M., Park, W., Lee, M. C. I., and Ogawa, T. (2015). Biocompatibility of 4-META/MMA-TBB resin used as a dental luting agent. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 114(1), 114-121.
85. Alkurt, M., Duymus, Z. Y., and Sisci, T. (2019). Comparison of the effects of cytotoxicity and antimicrobial activities of self-adhesive, eugenol and noneugenol temporary and traditional cements on gingiva and pulp living cells. *Journal of Advanced Oral Research*, 10(1), 40-48.
86. Gallegos, S. I., Parsaei, S., Siddiqui, D. A., Biguetti, C. C., Palmer, K. L., and Rodrigues, D. C. (2019). Can Dental Cement Composition Affect Dental Implant Success?. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 5(10), 5116-5127.
87. Marvin, J. C., Gallegos, S. I., Parsaei, S., and Rodrigues, D. C. (2019). In vitro evaluation of cell compatibility of dental cements used with titanium implant components. *Journal of Prosthodontics*, 28(2), e705-e712.
88. Rodriguez, L. C., Saba, J. N., Chung, K. H., Wadhwani, C., and Rodrigues, D. C. (2017). In vitro effects of dental cements on hard and soft tissues associated with dental implants. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 118(1), 31-35.
89. Linkevicius, T., Puisys, A., Vindasiute, E., Linkeviciene, L., and Apse, P. (2013). Does residual cement around implant-supported restorations cause peri-implant disease? A retrospective case analysis. *Clinical Oral Implants Research*, 24(11), 1179-1184.
90. Linkevicius, T., Vindasiute, E., Puisys, A., and Peciuliene, V. (2011). The influence of margin location on the amount of undetected cement excess after delivery of cement-retained implant restorations. *Clinical Oral Implants Research*, 22(12), 1379-1384.
91. Rompen, E., Domken, O., Degidi, M., Farias Pontes, A. E., and Piattelli, A. (2006). The effect of material characteristics, of surface topography and of implant components and connections on soft tissue integration: a literature review. *Clinical Oral Implants Research*, 17(2), 55-67.
92. Ramer, N., Chandur Wadhwani BDS, M. S. D., Kim, A., and Hershman, D. (2014). Histologic findings within peri-implant soft tissue in failed implants secondary to excess cement: report of two cases and review of literature. *New York State Dental Journal*, 80(2), 43-46.
93. Wadhwani, C.P. (2013). *Peri-implant disease and cemented implant restorations: a multifactorial etiology. Cementation in Dental Implantology*, 34(7), 32-37.

94. Korsch, M., and Walther, W. (2015). Peri-implantitis associated with type of cement: a retrospective analysis of different types of cement and their clinical correlation to the peri-implant tissue. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 17(2), e434-e443.
95. Hanks, C. T., Strawn, S. E., Watahai, J. C., and Craig, R. G. (1991). Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *Journal of Dental Research*, 70(11), 1450-1455.
96. Reichl, F. X., Esters, M., Simon, S., Seiss, M., Kehe, K., Kleinsasser, N., and Hickel, R. (2006). Cell death effects of resin-based dental material compounds and mercurials in human gingival fibroblasts. *Archives of Toxicology*, 80(6), 370-377.
97. Schmalz, G. (1998). The biocompatibility of non-amalgam dental filling materials. *European Journal of Oral Sciences*, 106(2 Pt 2), 696-706.
98. Pan, Y., and Lin, C. (2005). The effect of luting agents on the retention of dental implant-supported crowns. *Chang Gung Medical Journal*, 28(6), 403-410.
99. Krifka, S., Seidenader, C., Hiller, K. A., Schmalz, G., and Schweikl, H. (2012). Oxidative stress and cytotoxicity generated by dental composites in human pulp cells. *Clinical Oral Investigations*, 16(1), 215-224.
100. Reichl, F. X., Simon, S., Esters, M., Seiss, M., Kehe, K., Kleinsasser, N., and Hickel, R. (2006). Cytotoxicity of dental composite (co) monomers and the amalgam component Hg 2+ in human gingival fibroblasts. *Archives of Toxicology*, 80(8), 465-472..
101. Ülker, H. E., Hiller, K. A., Schweikl, H., Seidenader, C., Sengun, A., and Schmalz, G. (2012). Human and bovine pulp-derived cell reactions to dental resin cements. *Clinical Oral Investigations*, 16(6), 1571-1578.
102. Sigusch, B. W., Pflaum, T., Völpel, A., Schinkel, M., and Jandt, K. D. (2009). The influence of various light curing units on the cytotoxicity of dental adhesives. *Dental Materials*, 25(11), 1446-1452.
103. Boland, E. J., MacDougall, M., Carnes, D. L., and Dickens, S. H. (2006). In vitro cytotoxicity of a remineralizing resin-based calcium phosphate cement. *Dental Materials*, 22(4), 338-345.
104. Pupo, Y. M., Bernardo, C. F. D. F., de Souza, F. F. D. F. A., Michél, M. D., Ribeiro, C. N. D. M., Germano, S., and Maluf, D. F. (2017). Cytotoxicity of etch-and-rinse, self-etch, and universal dental adhesive systems in fibroblast cell line 3T3. *Scanning*, 9650420.
105. Şişmanoğlu, S., Demirci, M., Schweikl, H., Ozen-Eroglu, G., Cetin-Aktas, E., Kuruca, S., and Tekce, N. (2020). Cytotoxic effects of different self-adhesive resin cements: Cell viability and induction of apoptosis. *The Journal of Advanced Prosthodontics*, 12(2), 89-99.

106. Stevens, M. G., and Olsen, S. C. (1993). Comparative analysis of using MTT and XTT in colorimetric assays for quantitating bovine neutrophil bactericidal activity. *Journal of Immunological Methods*, 157(1-2), 225-231.
107. Parboosing, R., Mzobe, G., Chonco, L., and Moodley, I. (2017). Cell-based assays for assessing toxicity: A basic guide. *Medicinal Chemistry*, 13(1), 13-21.
108. Yokoyama, K., and Imai, K. (1990). Effect of dental luting cements from the viewpoint of cell recovery (in vitro). *Shika zairyo, kikai= Journal of the Japanese Society for Dental Materials and Devices*, 9(5), 703-719.
109. Leirskar, J., and Helgeland, K. (1977). Toxicity of some dental cements in a cell culture system. *European Journal of Oral Sciences*, 85(6), 471-479.
110. Öztürk, F., Yüksel, Ş., Toy, E., Kurtoğlu, E. L., and Küçük, E. B. (2012). Genotoxic effects of banding procedure with different orthodontic cements on human oral mucosa cells. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 42(1), 1157-1165.
111. Leirskar, J. (1974). On the mechanism of cytotoxicity of silver and copper amalgams in a cell culture system. *European Journal of Oral Sciences*, 82(1), 74-81.
112. Helgeland, K., and Leirskar, J. (1976). pH and the cytotoxicity of fluoride in an animal cell culture system. *European Journal of Oral Sciences*, 84(1), 37-45.
113. Winkler, C., Schäfer, L., Felthaus, O., Allerdings, J., Hahnel, S., Behr, M., and Bürgers, R. (2014). The bacterial adhesion on and the cytotoxicity of various dental cements used for implant-supported fixed restorations. *Acta Odontologica Scandinavica*, 72(4), 241-250.
114. Atalayın, Ç., Tezel, H., and Ergücü, Z. (2016). An overview to the cytotoxicity of resin based dental materials. *Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 37(2), 47-53.
115. Ratanasathien, S., Wataha, J. C., Hanks, C. T., and Dennison, J. B. (1995). Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. *Journal of Dental Research*, 74(9), 1602-1606.
116. Alanko, K., Susitaival, P., Jolanki, R., and Kanerva, L. (2004). Occupational skin diseases among dental nurses. *Contact Dermatitis*, 50(2), 77-82.
117. Demirci, M., Hiller, K. A., Bosl, C., Galler, K., Schmalz, G., and Schweikl, H. (2008). The induction of oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity by dental adhesives. *Dental Materials*, 24(3), 362-371.
118. Fujioka-Kobayashi, M., Miron, R. J., Lussi, A., Gruber, R., Ilie, N., Price, R. B., and Schmalz, G. (2019). Effect of the degree of conversion of resin-based composites on cytotoxicity, cell attachment, and gene expression. *Dental Materials*, 35(8), 1173-1193.
119. D'Alpino, P. H. P., de Dantas Moura, G. E. D., de Arruda Barbosa, S. C., de Azevedo Marques, L., Eberlin, M. N., Nascimento, F. D., and dos Santos Tersariol, I. L. (2017). Differential cytotoxic effects on odontoblastic cells induced by self-adhesive resin cements as a function of the activation protocol. *Dental Materials*, 33(12), 1402-1415.

120. Schmid-Schwap, M., Franz, A., König, F., Bristela, M., Lucas, T., Piehslinger, E., and Schedle, A. (2009). Cytotoxicity of four categories of dental cements. *Dental Materials*, 25(3), 360-368.
121. de Souza Costa, C. A., Hebling, J., Garcia-Godoy, F., and Hanks, C. T. (2003). In vitro cytotoxicity of five glass-ionomer cements. *Biomaterials*, 24(21), 3853-3858.
122. Diemer, F., Stark, H., Helfgen, E. H., Enkling, N., Probstmeier, R., Winter, J., and Kraus, D. (2021). In vitro cytotoxicity of different dental resin-cements on human cell lines. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 32(1), 1-11.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AMAÇ, Kübra
Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Uzmanlık	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi A.B.D.	Devam Ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2017
Lise	Hazım Kulak Anadolu Lisesi	2012

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2018-devam ediyor	Gazi Üniversitesi / Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi A.B.D.	Araştırma Gör.

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

-



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..