

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

N-ASETİLSİSTEİN İLAVESİNİN DİŞETİ RENGİNDEKİ BAZI
KOMPOZİTLERİN ÇEŞİTLİ BİYUYUMLULUK PARAMETRELERİ
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Gülnaz DEMİREL

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ. DR. OSMAN TOLGA HARORLI

2021 -ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

N-ASETİLSİSTEİN İLAVESİNİN DİŞETİ RENGİNDEKİ BAZI
KOMPOZİTLERİN ÇEŞİTLİ BİYUYUMLULUK PARAMETRELERİ
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Gülnaz DEMİREL

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

DOÇ. DR. OSMAN TOLGA HARORLI

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından
TDH-2020-5341 proje numarası ile desteklenmiştir.

2021- ANTALYA

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bana yol gösteren, desteğini, bilgisini esirgemeyen, olumlu tavrıyla beni cesaretlendiren, hekimliğini ve karakterini örnek aldığım değerli danışman hocam Doç.Dr. Osman Tolga HARORLI'ya, hem akademik hem klinik çalışmalarımızda ilerlememiz için bize destek olan, çalışmalarımızda her türlü imkâna ulaşmamız için emek veren değerli hocalarım Prof.Dr. Çağatay BARUTÇUGİL ve Doç.Dr. Ayşe DÜNDAR'a çok teşekkür ederim. Tez çalışmamın laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Dr. Ahmet Öztürk'e teşekkür ederim.

Bu süreçte tanıdığım asistan arkadaşlarım ve klinik çalışanlarımıza teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemi sağlayan, her zaman yanımda olan değerli aileme çok teşekkür ederim.

ÖZET

N-Asetilsistein İlavesinin Dişeti Rengindeki Bazı Kompozitlerin Çeşitli Biyoyumluluk Parametreleri Üzerine Olan Etkilerinin İn vitro Değerlendirilmesi

Amaç: Bu çalışmanın amacı diş eti çekilmelerinin ve servikal diş defektlerinin estetik restoratif tedavisinde kullanılan bazı kompozitlerin sitotoksik ve apoptotik etkilerini hücre kültürü yöntemi ile araştırmak ve bu materyallere ilave edilen N-asetilsisteinin olası biyolojik etkilerini incelemektir.

Yöntem: Çalışmamızda, iki adet gingival kompozit (PermaFlo Pink Ultradent, South Jordan Amerika) (Amaris Gingiva, VOCO, Cuxhaven, Almanya) ve bir adet geleneksel akışkan kompozit (Filtek Ultimate Flowable, 3M ESPE, Seefeld, Almanya) kullanılmıştır. Her bir kompozitten 5 mm çapında 2 mm kalınlığında altışar örnek hazırlanmış ve bir LED ışık cihazı ile standart güç modunda (1000mW/cm^2) üretici firma talimatları doğrultusunda polimerize edilmiştir. N-Asetil-L-sisteinin (NAC) olası etkilerini araştırmak için; ağırlıkça %1 NAC içeren ilave üç kompozit test grubu hazırlanmıştır. Çalışmamızda fare fibroblast hücre hattı (L929) kullanılmıştır. Direkt kontakt testi ile 24 saat sonunda hücre sitotoksiteleri WST-1 testi ile değerlendirilmiş, apoptoz markerları kaspaz 3, kaspaz 8 ve anneksin V seviyeleri ise PCR testi ile RNA izolasyon kiti kullanılarak belirlenmiştir. Tüm analizlerde anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlenmiştir.

Bulgular: WST-1 testi sonucunda hiçbir sitotoksik etki gözlenmemiştir. Filtek Ultimate Flowable, PermaFlo Pink ve PermaFlo Pink+NAC grubunda hücre popülasyonunda artış gözlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %1 NAC ilaveli 3M Filtek Ultimate grubu hariç, tüm gruplarda kaspaz 3 seviyelerinde anlamlı düşüş gözlemlendi ($p<0,05$). Kaspaz 8 seviyeleri incelendiğinde; tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$). Filtek Ultimate Flowable ve VOCO Amaris Gingiva grubunda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek Annexin V aktiviteleri saptanmıştır ($p<0,05$).

Sonuç: Test edilen kompozitlerden hiçbirisi 24 saatlik direkt kontakt testi sonucunda L929 fare fibroblast hücreleri üzerinde doğrudan sitotoksik bir etki oluşturmamıştır. Materyaller apoptotik yolla üzerinde kaspaz 3, kaspaz 8 ve anneksin V seviyeleri üzerinde çeşitli değişimlere yol açarak apoptotik süreci etkilemiştir. Ağırlıkça %1 oranında NAC ilavesinin bu etkileri baskılamada yeterli olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gingival kompozit, sitotoksikite, NAC, kaspaz 3, kaspaz 8, anneksin V

ABSTRACT

In-Vitro Evaluation of the Effects of N-Acetylcystein Addition On Various Biocompatibility Parameters of Some Composites in Gingival Color

Objective: The aim of this study was to investigate the cytotoxic and apoptotic effects of the composites which are used in esthetic restorative therapies of gingival recessions and servical tooth defects by cell culture technique and to analyze the potential biological impacts of N-acetylcysteine that is added to these materials.

Method: In our study, two different gingival composites (PermaFlo Pink Ultradent, South Jordan, USA) (Amaris Gingiva, VOCO, Cuxhaven, Germany) and one traditional flowable composite (Filtek Ultimate Flowable, 3M ESPE, Seefeld, Germany) were used. Six samples of 5 mm diameter and 2 mm thickness were prepared from each composite and polymerized with an LED light device in standard power mode (1000mW/cm²) in accordance with the manufacturer's instructions. To investigate the possible effects of N-Acetyl-L-cysteine (NAC); additional three composites test groups were prepared which include %1 NAC by weight. Our study was conducted with mouse fibroblast cell line (L929). Cellular cytotoxicity was evaluated after 24 hours with WST-1 assay with direct contact test and the levels of apoptotic markers (caspase 3, caspase 8 and annexin 5) were determined by using RNA extraction kit of PCR test. Significance level is determined 0.05 in all analysis.

Results: The results of WST-1 assay has shown that there was not any cytotoxic effects. Increases of cell populations were observed in Filtek Ultimate Flowable, PermaFlo Pink and PermaFlo Pink+NAC groups. Compared to the control group, a significant decrease was observed in Caspase 3 levels in all groups except the 3M Filtek Ultimate group with 1% NAC supplementation ($p < 0.05$). When Caspase 8 levels were analyzed, when compared with the control group a significant statistical depression was detected ($p < 0.05$). Higher annexin V activities were detected in the Filtek Ultimate Flowable and VOCO Amaris Gingiva group compared to the control group ($p < 0.05$).

Conclusions: None of the tested composites produced a direct cytotoxic effect on L929 mouse fibroblast cells as a result of the 24-hours direct contact test. The materials affected the apoptotic process by causing various changes on caspase 3, caspase 8 and annexin V levels on the apoptotic pathway. It was concluded that the addition of 1 % NAC by weight was not sufficient to suppress these effects.

Keywords: Gingival composite, cytotoxicity, NAC, caspase 3, caspase 8, annexin V

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
TABLolar	xi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 KOLE BÖLGESİNDEKİ YUMUŞAK DOKU KAYIPLARI.....	4
2.1.1 Kole bölgesindeki yumuşak doku kayıplarının restoratif tedavisi	5
2.2.ÇÜRÜKSÜZ SERT DOKU KAYIPLARI	7
2.2.1.Abrasyon	9
2.2.2 Atrizyon	10
2.2.3 Erozyon.....	11
2.2.4 Abfraksiyon	12
2.3.DİŞLERİN KOLE BÖLGELERİNDE GÖRÜLEN DİŞ ÇÜRÜĞÜNE BAĞLI DİŞ SERT DOKU KAYIPLARI	13
2.4 KOLE BÖLGESİNDEKİ DİŞ DOKU KAYIPLARININ TEDAVİSİ	16
2.4.1 Önleme.....	16
2.4.2 İzleme	18
2.5 DENTİN HASSASİYETİ TEDAVİSİ.....	18
2.6 RESTORATİF TEDAVİ	19
2.7 RESTORATİF MATERYALLER VE PERİODONSİYUM.....	20
2.7 KOMPOZİTLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ	21
2.7.1 Organik Resin Matris.....	21
2.7.2 Doldurucular	22
2.7.3. Ara Faz	22
2.7.4 Dış eti rengindeki kompozitler.....	23
2.8 BİYUYUMLULUK	24
2.8.1 Sistemik Toksisite	25
2.8.2 Lokal Reaksiyonlar	25
2.8.3 Alerjik Reaksiyonlar.....	26
2.8.4 Diğer Etkiler.....	26
2.8.5 Etkin doz/Konsantrasyon	26
2.9 DENTAL MATERYAL BİYUYUMLULUĞU	27
2.10 BİYUYUMLULUK DEĞERLENDİRİLMESİ.....	29
2.10.5 Sistemik Toksisite	30
2.10.6 Lokal Toksisite ve Doku Uyumluluğu.....	30
2.10.7 Hücre Kültürleri	31
2.10.13 Alerjen Özellikler	31
2.10.14 Mutajenite	31

2.10.15 Klinik Çalışmalar	32
2.10.16 Hastalar Üzerinde Tanı Testleri	32
2.11 APOPTOZİS.....	32
2.11.1 Apoptozun Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri	33
2.11.2 Apoptozun Belirlenmesi	36
2.11.3 Kaspaz Aktivasyonu	36
2.11.4 Apoptozun Belirlenmesi için Morfolojik Yöntemler	37
2.11.5 Apoptoz Tayini için Biyokimyasal ve Moleküler Yöntemler	37
2.12 ANTİOKSİDANLAR	38
2.12.1 Antioksidanların Sınıflandırılması	38
2.12.2 Doğal Antioksidanlar.....	38
2.12.3 Sentetik Antioksidanlar	38
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN MATERYALLER	40
3.2. KOMPOZİT ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI.....	40
3.3. HÜCRE KÜLTÜRÜ	43
3.4. WST-1 HÜCRE VİTALİTE TESTİ.....	43
3.5. GEN EXPRESYON TESTLERİ	45
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	45
4.BULGULAR	46
4.1 WST-1 TESTİ BULGULARI.....	46
4.2 GEN EKSPRESYON TESTİ BULGULARI	47
5- TARTIŞMA.....	50
6.SONUÇ.....	61
KAYNAKÇA	63
ÖZGEÇMİŞ.....	75

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

<u>Simgeler</u>	<u>Acıklama</u>
------------------------	------------------------

%	Yüzde
cm	Santimetre
cm ²	Santimetrekaare
CO ₂	Karbondiyoksit
dk	Dakika
kg	Kilogram
mm	Milimetre
mw	Miliwatt
nm	Nanometre
µm	Mikrometre
°C	Santigrat derece
sn	Saniye
µl	Mikrolitre

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Acıklama</u>
---------------------------	------------------------

NCCL	Çürüksüz sert doku lezyonları
CEJ	Mine-sement sınırı
DEJ	Dentin-sement sınırı
PMMA	Poli metil metakrilat
HAp	Hidroksiapatit kristalleri
GIS	Gastrointestinal sistem

DMSO	Dimetil sülfoksit
DISC	Ölüm reseptör sinyal kompleksi
RIP	Reseptör etkileşim proteini
Fosfatidilserin	PS
Fas-L	Fas-Ligand
Propidyum İyodür	PI
Bis-EMA	Bis Fenol A Etoksi Dimetakrilat
Bis-GMA	Bis Glisidil Metakrilat
DC	Dönüşüm Derecesi
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
RNA	Ribonükleik asit
EDMA	Etilen Glikol Dimetakrilat
NAC	N-asetil sistein
ISO	Uluslararası Standardizasyon Örgütü
KOGEM	Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi
LED	Light Emitting Diode
MMA	Metil Metakrilat
TEGDMA	Trietilen Glikol Dimetakrilat
UDMA	Üretan Dimetakrilat
WST-1	2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil) -2H- tetrazolyum
TNF -α	Tümör nekroz faktörü
TGFB-1	Dönüştürücü büyüme faktörü beta
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER

Şekil 1: Dişeti kompoziti ile restore edilmiş santral diş.....	24
Şekil 2 TEGDMA ve HEMA nın hücreler üzerindeki biyolojik etkileri ⁽⁴⁾ Apoptoz, kaspaz 3 gibi yürütücü kaspazlar üzerinde birleşen iki temel apoptoz sinyal yolağı yoluyla başlatılabilir; bunlar eksternal (ölüm reseptörü aracılı) ve internal (mitokondri) yolları içerir. ^(155, 159)	34
Şekil 3 a) Filtek Ultimate Flowable Kompozit, b) PermaFlo Pink Kompozit, c) Voco Amaris Gingiva kompozit seti d) Çalışmada kullanılan VALO ışık cihazı	41
Şekil 4 : Sigma-Aldrich N-Acetyl-L-cysteine 7250-5G	41
Şekil 5: CO ₂ etüvü ve monokromatik sistemli mikropilaka okuyucu	44
Şekil 6: a) Kompozit örneklerin hücre kültürü plakalarına yerleştirilmesi, b) Hücre kültürü aşaması c) Hücrelerin test için aktarıldığı 96 kuyucuklu plaka.	44
Şekil 7: WST-1 testi sonucundaki hücre sayıları (*kontrol grubuna kıyasla istatistiksel farklılığı (p<0.05) temsil etmektedir).	46
Şekil 8: Test gruplarının kaspaz 3 seviyeleri (*kontrol grubuna kıyasla istatistiksel farklılığı (p<0.05) temsil etmektedir).....	47
Şekil 9: Test gruplarının Kaspaz 8 seviyeleri (*kontrol grubuna kıyasla istatistiksel farklılığı (p<0.05) temsil etmektedir).....	48
Şekil 10: Test gruplarının Anneksin V seviyeleri (*kontrol grubuna kıyasla istatistiksel farklılığı (p<0.05) temsil etmektedir).....	49

TABLÖLAR

Tablo 1: Test edilen kompozit materyaller.....	42
Tablo 2: Test grupları.....	42



1.GİRİŞ

Restoratif diş hekimliğinin temel amacı mevcut diş dokularını korumak ve çeşitli nedenler ile meydana gelmiş dental doku kayıplarını ve düzensizliklerini biyolojik, mekanik ve estetik faktörleri gözeterek tedavi etmektir. Son yıllarda estetik kaygıların artması, amalgam kullanımının sınırlandırılması gibi nedenlerle kompozit restorasyonlar diş hekimleri tarafından daha sık kullanılır hale gelmiştir.

Kompozitler, dişlerin şekil ve renk bozuklarında, ön ve arka dişlerde bulunan çürük veya defektlerde, dişler arasındaki boşlukların kapatılmasında, splint tedavilerinde, çürük olmayan aşınmaların restorasyonunda, ortodontik tedavilerde sıklıkla kullanılmaktadır. ⁽¹⁻³⁾

Dental kompozitler; organik matriks içerisinde inorganik doldurucular ve doldurucuların matrikse tutunmasını sağlayan bağlayıcı kısımdan oluşan restorasyon materyalleridir. Genel olarak kompozit rezinlerin dayanıklılığı, sertliği, aşınma direnci ve termal genleşme katsayısı, inorganik doldurucu ve bağlayıcı tipine, renk stabilitesi, esnekliği ve biyolojik etkileri ise organik matrikse bağlı olan özelliklerdir. ^(1, 2, 4)

Kompozit rezinin organik kısmı, polimerik bir matrikstir. Polimerler, monomer adı verilen küçük birimlerin birbirine bağlanmasıyla oluşan zincirlerdir. Monomerlerin bağlanarak polimer oluşturmaya polimerizasyon denir. ⁽⁵⁾ Diş hekimliğinde kullanılan monomerler genellikle akıcı kıvamındadırlar ve polimerizasyon sonrasında sertleşirler. ⁽⁶⁾ Metakrilat monomerlerinin polimerizasyonları ile oluşan ağ, polimer zincirleri ve bunların birbirleriyle oluşturdukları çapraz bağlardan oluşan üç boyutlu bir yapıdır. Bu polimer yapı içinde monomer dönüşüm dereceleri her bölgede aynı oranda oluşmaz. Reaksiyona girmeden kalan monomer grupları artık monomer olarak adlandırılmaktadır. ⁽⁷⁾ Artık monomerlerin kompozit rezinin biyoyumumluluğu açısından çeşitli riskler oluşturduğu ⁽⁸⁻¹⁰⁾ ve hücre kültürü modelleri üzerinde sitotoksik etkilerinin olduğu gösterilmiştir. ⁽¹¹⁾

Sağlık alanındaki gelişmelerle birlikte insan ömrü ve beraberinde dişlerin ağızda kalma süreleri uzamaktadır. Yaşlanma ile dişlerin kök yüzeylerinin açığa çıkması ve

servikal lezyonların görülme sıklığı da artış göstermektedir.⁽³⁾ Günümüzde gingival dokunun sağlığı ile birlikte gingival dokuya bağlı gülüş estetiği de önem kazanmıştır. Mine ve dentinde sonlanan sınıf V kavitelerin restorasyonlarında materyal seçimi kritik önem taşır. ^(12, 13)

Anterior bölgede diş eti çekilmesi kaynaklı defektlerin tedavisinde, diş etinin yerini almak üzere geliştirilmiş kompozit rezinler kullanılabilir. Bu materyaller, diş eti dokusuna benzerlik sağlaması amacıyla çeşitli pembe renk tonlarında üretilmişlerdir. Bu kompozitlerin yüksek renk stabilitesine sahip ve aşınmaya karşı dirençli oldukları bildirilmiştir.^(12, 14) Dişetinin yerini alan bu kompozitlerin özellikle minimal invaziv yaklaşıma olanak sağlaması ve cerrahi müdahaleye alternatif olarak sunulması uygulama alanını genişletmektedir. Bu kompozitler ağız içinde açığa çıkmış kök yüzeylerinde kama defektlerinde ve kırmızı/ beyaz estetiğin düzenlenmesi gereken bölgelerde sıklıkla uygulanmaktadırlar.

Dental kompozitler yapılarında bulunan monomerlerin tam olarak polimerize edilememesi nedeni ile serbest radikaller oluşturarak, reaktif oksijen türlerinin salınımına, hücre içi redox dengesinin bozulmasına ve apoptozise neden olabilirler.⁽¹⁵⁾ Serbest radikaller, dış orbitalde çiftlenmemiş elektron içeren yüksek enerjili bileşiklerdir. Bu elektronlar serbest radikalleri aktive ederek DNA, protein, lipid ve nükleotid koenzimler gibi biyolojik yapıların zarar görmesine neden olmaktadır.⁽¹⁶⁾ Bu yapıların zarar görmesi ayrıca kardiyovasküler hastalıklar, kanser, immün sistemin zayıflaması, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, nörolojik rahatsızlıklar gibi birçok hastalığa zemin oluşturmaktadır.^(16, 17)

N-Acetyl-L-cysteine (NAC) medikal alanda sıkça kullanılan önemli bir anti oksidandır.⁽¹⁸⁾ Daha çok mukolitik bir ajan olarak reçete edilen NAC ayrıca HIV, kanser, kalp hastalığı, yüksek doz parasetamol tedavisi, sigara kullanımı, gibi oksidatif stres artışına neden olan durumlarda da kullanılır. ^(19, 20)

Diş hekimliğinde NAC'ın dental dokudan elde edilen kök hücrelerde oksidatif stresi azalttığı,⁽²¹⁾ kompozit restorasyon materyalinin pulpa üzerindeki toksik etkilerini hafifleterek hücre canlılığını koruduğu ⁽²²⁾ ayrıca ratlarda pulpa kaplama ajanı olarak

kullanıldığında reperatif dentin oluşumunu indüklediği bildirilmiştir.⁽²⁰⁾ NAC dental monomer; 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) ve triethyleneglycol dimethacrylate'ın (TEGDMA) neden olduğu oksidatif stresi azaltarak hücreleri apoptozisten koruyabilir. ⁽²³⁾ Tüm bu sonuçlar NAC'nin dental monomerlerin biyoyumluluğunu düzenlemek amacı ile kompozitlerin yapısına ilave edilmesi düşünülebilecek, etkili bir kimyasal ajan olduğunu göstermektedir.

Gingival kompozitler dişeti dokusu ile sürekli temas halinde olan restoratif materyallerdir. Bu tez çalışmasının hazırlandığı tarih itibari ile, diş eti çekilmelerinde sıkça kullanılan diş eti rengindeki kompozitlerin biyoyumluluğu konusunda literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızın amacı; diş eti çekilmelerinin ve servikal diş defektlerinin estetik restoratif tedavisinde kullanılan bazı kompozitlerin sitotoksik ve apoptotik etkilerini hücre kültürü yöntemi ile araştırmak ve bu materyallere ilave edilen NAC'ın olası biyolojik etkilerini incelemektir.

2.GENEL BİLGİLER

Gingival dokuların sağlıklı olması periodontal açıdan olduğu kadar estetik açıdan da büyük önem taşır. Özellikle anterior bölgedeki aşırı diş eti kayıpları çok dikkat çekici olabilmektedir. Diş eti çekilmelerinin yanında anterior bölgedeki çürüksüz sert doku kayıpları ve diş çürüğüne bağlı diş sert doku kayıpları da sıklıkla karşılaşılan önemli dental ve estetik problemlerdir.

2.1 Kile bölgesindeki yumuşak doku kayıpları

Dişeti dokuları dişleri çerçeveler ve sağlıklı bir gülüşün genel estetiği için büyük önem taşır. Estetik bir gülüş, pembe ve beyazın (yani pembe diş eti ve beyaz diş yapısının) uyumlu bir kombinasyonunu içerir ve her bir bileşen renk, doku ve şekil açısından birbirini tamamlar.

Ne yazık ki, günümüzde hastaların birçoğu, "pembenin yokluğu" nedeniyle orantısız gülümseme estetiğine neden olabilecek bir tür dişeti çekilmesi veya Sınıf V lezyonlar ile kliniğe başvurmaktadır.⁽²⁴⁾ İnsan gingivası, literatürde geleneksel olarak soluk pembeden koyu mavimsi mora kadar değişen renk bakımından oldukça değişken olarak tanımlanan, pigmentli bir ağız içi yumuşak dokudur.⁽²⁵⁾

Kalıtsal hastalıklar, periodontal hastalıklar, alveolar kemik kaybı, kusurlu restorasyonlar ve erken temas dişleri çevreleyen yumuşak doku kaybına veya dişeti çekilmesine neden olabilir. Sert ve yumuşak doku kayıpları, dişeti büyümesi ve kron uzunluğunun artmasıyla estetik sorunlara neden olabilir. Dişeti çekilmesiyle ilgili klinisyen için bir diğer sorun da aşırı duyarlılıktır. Kök yüzeylerinin duyarlılığı için yüksek prevalans değerleri periodontal hastalık sürecinin bir parçası olarak bildirilmiştir.⁽²⁴⁾

Özellikle hastalar gülümserken yüksek bir dudak çizgisine sahip olduğunda anterior maksillaya yerleştirilen diş implantlarını çevreleyen doğal bir mukogingival yapının korunması veya sağlanması estetik açıdan oldukça zordur. Zorluk, travmatik olarak yaralanmış veya periodontal olarak zarar görmüş dişlerin çekilmesinden sonra kemik

kaybının bir sonucu olarak mukogingival doku kaybı, travmatik cerrahi çekim veya konjenital kusurlardan kaynaklanabilmektedir.

İmplantlar yanlış açı ile uygulandığında veya çevresel doku defektleri sonucunda estetik problemlere oluşabilir.⁽²⁶⁾ İmplant yerleştirilmeden önce sert ve yumuşak doku kusurlarının iyileştirilmesi için cerrahi rekonstrüktif prosedürler kullanılırken, implantların etrafındaki uygun yumuşak doku yapısının korunması da oldukça güçtür. İmplant çevresindeki yumuşak doku kayıplarında restorasyonların servikal kısmına diş eti renginde kompozit veya porselenler uygulanarak periimplant doku kaybı estetik açıdan düzeltilebilir. ⁽²⁷⁻³⁴⁾.

Yumuşak doku kaybını maskeleyiği bildirilen çeşitli protez teknikleri de mevcuttur. Bunlara örnek olarak diş eti renkli akrilik rezin,^(35, 36) esnek silikon bazlı doku renkli materyaller⁽³⁷⁾ veya Andrews Bridge System (Institute of Cosmetic Dentistry) gibi parsiyel protezler gösterilebilir. ^(38, 39)

2.1.1 Kule bölgesindeki yumuşak doku kayıplarının restoratif tedavisi

Anterior bölgede dişeti çekilmesi olan dişler için en doğru estetik ve protetik tedaviyi seçmek zor olabilir. Bu durumlarda dudak çizgisi, dişeti çizgisi ve anatomik kuron uzunluğu estetik sonuçlar için önemli faktörlerdir.⁽⁴⁰⁾ Gülümseme çizgisinin yüksek olması estetik bir sonuca ulaşmak için bir engel olabilir. Bazı yazarlar diş eti renginde seramiklerle sabit bir protez, diş eti renginde kompozit rezinlerle restorasyon veya hareketli diş eti protezi gibi kayıp papillalar için alternatif, konservatif protez tedavileri önermektedir. ^(32, 40-43).

İlk kullanımlarından bu yana, bu protezlerin imalatı için birçok malzeme piyasaya sürülmüştür: bunlar arasında pembe otopolimerizan ve ısıyla sertleşen akrilik, porselen, kompozit rezin ve termoplastik akrilik ile silikon bazlı yumuşak malzemeler bulunmaktadır.⁽⁴⁴⁾ Pembe porselen sabit parsiyel restorasyonlarda ve implant destekli sabit restorasyonlarda uzun yıllar yapay diş eti için tercih edilen materyal olarak kabul edilmektedir. Öncelikle, öngörülebilir estetik sonuçları nedeniyle, ancak aynı zamanda bir metal substrata bağlandığında elde edilen mükemmel fiziksel özellikler nedeniyle kullanılır; bununla birlikte, pembe porselen dişeti yerine kullanıldığında bazı

sınırlamaları vardır. Birincisi, pembe porselenin bir hastanın diş etinin rengini ve dokusunu birebir yansıtmaması zordur. Bunun nedeni pembe porselenin sadece diş laboratuvarlarında üretilebilmesidir. İkincisi, pişirme aşamasında porselenin büzülmesi, hastanın diş eti ile yapay diş etinin doku yüzeyleri arasında bir boşluğa yol açarak implant protezinin son görünümünü potansiyel olarak etkileyebilir.⁽⁴⁵⁾ Üçüncü bir sınırlama, porselen maliyetinin dişeti renkli malzemelere göre yüksek olmasıdır. Son olarak, porselenin kırılabilirliği, ufalanması ve dolayısıyla sık tamir gerektirmesi nedeniyle bir sorun oluşturabilir.

Polimetil Metakrilat (PMMA), yumuşak dokularla renk uyumu, düşük özgül ağırlık, tükürükte çok düşük çözünürlük, düşük maliyet ve protezin basit üretim süreci gibi avantajları nedeniyle hareketli diş protezleri için tercih edilen malzemedir.⁽⁴⁶⁾ Öte yandan, zayıf mekanik özellikler ve artık monomerinin doku duyarlılığına ve tahrişe neden olabilmesi gibi çeşitli dezavantajlara sahiptir.

Bu nedenle, birçok klinisyen bu sınırlamaların üstesinden gelmek için diş eti renginde kompozit rezinler kullanmıştır. Kompozit rezin malzemelerinin başlıca avantajları; porselen ile kullanılırsa, porselenin estetik ve fiziksel özelliklerini korurlar, şekilleri, renk tonları ve dokuları değiştirilebilir, onarım hasta başında yapılabilir; sonuçlar az çok tahmin edilebilir.^(47, 48)

Direkt pembe renkli kompozit rezinler, dişeti çekilmesinin neden olduğu estetik olmayan görünimleri eski haline getirir ve dişte hipersensitiviteyi azaltır.^(32, 40) Bununla birlikte, kompozit rezinler renk değişikliği, marjinal kırık ve aşınmaya karşı hassastır.⁽⁴⁹⁾

Dişeti yapısının yeniden oluşturulması her zaman klinik zorluklar ortaya çıkaracaktır. Cerrahi ve lazer tedavileri estetik anatominin yeniden sağlanmasında başarılı olabilirken, rahatsızlık, iyileşme süresi ve maliyet gibi faktörler bu tür tedavileri bazı hastalar için istenmeyen hale getirebilir. Sınıf V lezyonları tedavi etmek ve dişeti çekilmesi ile ilgili sorunların üstesinden gelmek için gelişmiş özelliklere sahip diş eti rengindeki kompozitler geleneksel kompozitler ile kullanılabilirler. Bu çok yönlü materyaller, klinisyenlerin uygun maliyetli ve minimal invaziv bir şekilde hasta başında fonksiyonel ve estetik dişeti tedavisi seçenekleri sunmasına olanak tanır.

Dişlerin renk, form ve dizilişi ile diş eti ve mukozanın rengi ve özellikleri diş eti problemlerinin estetik rehabilitasyonunda önemli rol oynar. Bu özellikle implantoloji uygulamalarında ve anterior estetikle ilgili zorluklar için geçerlidir.

Yukarıda belirtilenler gibi direkt restoratif materyaller, doğal diş yapısının uygun biçimini, renk ve işlevini tekrar sağlama yeteneğine sahiptir. Bu, diş hekimlerinin dişeti çekilmesi ve / veya lezyonların neden olduğu kök ve açıkta kalan diş yapısının görünümünü daha konservatif bir yöntem kullanarak düzeltmesini sağlar.

2.2.Çürüksüz sert doku kayıpları

Çürüksüz sert doku lezyonları (Noncarious cervical lesions) NCCL, diş çürüğü ile ilgisi olmayan mine-sement birleşim noktasında (Cement Enamel Junction (CEJ) diş yapısının kaybı ile karakterize patolojik bir durum sonucu oluşur.^(50, 51) NCCL'ler günümüzde yaşam tarzı ve diyetteki değişikliklerin neden olduğu yaygın bir patolojidir. NCCL'lerin, etiolojisinde rol oynayan üç faktörün stres, biyo-korozyon ve sürtünme mekanizmasını içeren çok faktörlü bir durum olduğu sonucuna varılmıştır.⁽⁵²⁾ NCCL'lerin klinik görünümü, ilgili etiyolojik faktörlerin türüne ve ciddiyetine bağlı olarak değişebilir. NCCL'lerin çeşitli morfolojileri vardır;

- NCCL'ler yuvarlak, kama şeklinde veya kombine olabilir.
- NCCL'nin derinliği, lezyonun ciddiyetini ve ilerlemesini gösterir.
- NCCL'ler, CEJ'e apikal veya koronal yerleşim gösterebilir.
- NCCL'ler subgingival veya supragingival olarak yerleşim gösterebilir.⁽⁵²⁾

NCCL'lerin yaygınlığının %5 ile % 85 arasında değiştiği bildirilmiştir.^(50, 53) Geniş yaş aralığı, farklı sosyoekonomik düzeyler ve her iki cinsiyetin de dahil edilmesi, yüzdeler arasında geniş skalaya neden olmuştur. Dişlerdeki aşınmalar genel olarak dişlerin labial-bukkal yüzeylerinde görülmektedir. Daha az görüldüğü yüzeyler ise lingual, palatinal ve proksimal yüzeylerdir. Herhangi bir diş (kesici, kanin, küçük azı dişi veya azı dişi) NCCL sergileyebilir.^(53, 54)

En sık etkilenen ve en şiddetli lezyon yüzdesine sahip olan dişler mandibular premolardır.⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾ Lezyonların yüzey özellikleri ile etyolojik faktörler arasında bir bağlantı olduğu düşünülmektedir. NCCL'lerin yüzey dokusu pürüzsüz veya pürüzlü olabilir. Düzgün NCCL'ler biyo-korozyonun sonucudur, pürüzlü yüzeyler ise stresin bir sonucu olarak aşınma ve ilerleme hatlarından kaynaklanır. NCCL'nin morfolojisi tanıya yardımcı olabilir.⁽⁵²⁾

Ağız içinde, çürük dışındaki kronik faktörler de dişleri etkilemektedir. Dişlerdeki bu yıkımlar aşınmalar olarak gözlenmektedir. Diş aşınmaları genel olarak atrizyon, erozyon, abrazyon ve abfraksiyon şeklinde gruplandırılırlar. Her bir aşınma türü farklı nedenlerden kaynaklanır. Dişlerin karşılıklı temasları sonucu atrizyon, dişlerin asidik etkenlerle kimyasal çözünmesi sonucu erozyon meydana gelir. Ağız dışı fiziksel etkenler sonucu meydana gelen sert doku kayıpları abrazyon, aşırı okluzal stres nedeni ile dişlerin servikalinde görülen aşınmalar ise abfraksiyon olarak tanımlanmaktadır.^(50, 51)

Genel olarak, NCCL'lerin prevalansı, şiddeti ve ilerlemesi yaşla birlikte artmaktadır. Görünüm genel olarak, NCCL'ler, sığ oluklar veya belirsiz kenarları olan lezyonlardan keskin açılara sahip büyük kama şeklinde defektlere kadar değişmektedir. Diş eti çekilmesi, açığa çıkan kök yüzeyleri, kemik kaybı, tükürük miktarı ve kalitesinde azalma, dişteki mikro yapısal değişiklikler servikal lezyon riskini artırmaktadır. Bruksizm veya diş sıkma alışkanlıkları olan hastalar ile ortodontik tedavi gören hastalar stres faktörleri nedeniyle NCCL ve dentin hassasiyeti açısından risk grubunda kabul edilir.⁽⁵²⁾

NCCL gelişimi genellikle o vakaya özgü biyo-korozyon (erozyon), sürtünme (atrizyon) ve stres (abfraksiyon) gibi etyolojik mekanizmaların sinerjik etkisinin sonucudur.^(50, 54, 58) NCCL'lerin oluşmasında birkaç risk faktörünün de etkisi olabilir: tükürük, diş formu, mikroyapı, mobilite varlığı, konumsal belirginlik, restorasyon varlığı, büyüklüğü, yönü, sıklığı, yeri ve maruz kalınan kuvvet süresi.^(58, 59)

Mine, dentini ve pulpayı mekanik aşınmaya ve biyolojik korozyona karşı korur. Dişin servikal bölgesinde minenin ince olması nedeniyle bu alan NCCL'lere daha duyarlıdır.

Dişin servikal bölgesini biyo-korozyondan korumak için sağlıklı bir periodonsiyum şarttır. Eksenel olmayan oklüzal yüklemekten kaynaklanan stres, NCCL'lerin gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir etiyolojik stres faktörüdür. Eksentrik oklüzal yüklemenin yönü, gerilim konsantrasyonunu ve gerilim modelini etkileyecektir. Diş yapısının kaybı dişin biyomekanik davranışını değiştirir, bu nedenle NCCL'ler düzensiz morfolojiye sahip olabilir çünkü gerilme gerilimi konsantrasyonu lezyon ilerledikçe değişir. ⁽⁵²⁾

2.2.1.Abrasyon

Sürtünme veya abrazyon, yabancı cisimler içeren mekanik bir işlemten kaynaklanan fiziksel patolojik diş dokusu kaybıdır. ⁽⁶⁰⁾ Abrasyon, dış faktörlerin sebep olduğu, oklüzal kuvvetlerden bağımsız, diş yapısında ve restorasyonlarda meydana gelen aşınma olarak tanımlanabilir. Aşındırıcı diş macunu, yatay bir teknik ve aşırı kuvvet kullanarak yanlış diş fırçalama, fırçalama sıklığı, kılların sertliği ve belirli beslenme alışkanlıkları gibi farklı faktörler söz konusu olabilir. Uygulanan kuvvetlerin büyüklüğü, yönü, sıklığı ve süresi, NCCL'lerin geliştirilmesinde diğer risk faktörleridir. ⁽⁶¹⁾ Ek olarak, dişin ark üzerindeki konumu, diş fırçalamadan kaynaklanan aşırı kuvvetlere yatkın hale getirir. ^(58, 59)

Dental abrazyon, bazı alışkanlık ve mesleki sebepler nedeni ile gelişebilmektedir. ⁽⁶²⁾ Örneğin pipo içme, dişlerle sert cisim kırma, tırnak yeme alışkanlığı olan kişilerin dişlerinde kesici kenarlarında görülebilir. Marangozlar, terziler ve müzisyenlerde dental abrazyona sıkça rastlanılır. ^(51, 63) Dişin servikal bölgesindeki dental abrazyonun sıkça görülmesinin bir nedeni yanlış diş fırçalama alışkanlıklarıdır. ⁽⁶⁴⁻⁶⁷⁾ Sürtünme, NCCL etiyolojisinde minör bir kofaktör olan diş fırçası / diş macunu aşınmasına neden olur. Biyo-korozyon, dişleri aşınmaya daha duyarlı hale getirir. ⁽⁵⁹⁾

Diş fırçalama sırasındaki sürtünme NCCL'lerin ilerleme hızını etkiler. Hatalı diş fırçalama yöntemi abrazyon oluşumunda etkili bir neden olabilir. ⁽⁶⁶⁾ Diş fırçasının yüksek fırçalama kuvvetleri ile kullanılması özellikle dental arkın dışında konumlanmış olan dişler için daha fazla risk oluşturur ^(64, 68, 69) Dişlerin fırçalaması sırasında uygulanan kuvvetler ile dişten uzaklaştırılan bakteri plağı arasında

istatistiksel bir ilişki bulunmamaktadır. Bu nedenle hastalar aşırı kuvvet uygulamaları konusunda bilgilendirilmelidirler. ⁽⁷⁰⁾

Diş fırçalama süresi de aşınmaları hızlandırabilir. Özellikle premolar ve kanin dişlerin diğer dişlere oranla daha uzun süre fırça etkisinde kaldığı belirtilmiştir ⁽⁷¹⁾. Hastalar diş fırçalamaya genellikle premolar bölgelerden başlamaktadırlar. Bu aşındırıcı etki çok sık diş fırçalama alışkanlığı olan kişilerde daha da artar ^(66, 72).

Günümüzde elektrikli veya manuel birçok diş fırçası alternatifi mevcuttur. Diş fırçaları, kıl tipi, sertliği, boyutları ve fırça kıllarının yerleşimlerine bağlı olarak çeşitli farklılıklar gösterirler⁽⁵¹⁾. Sert, kuru bir fırça aşındırıcı partiküller içeren bir macun ile beraber kullanıldığında abraziv etkisi daha fazla olacaktır.⁽⁷³⁾ Diş macunlarının aşındırıcılığı değişiklik gösterir ve daha aşındırıcı diş macunları aşınmanın artmasına neden olur. Beyazlatıcı diş macunlarında normal diş macunlarından daha fazla sayıda aşındırıcı vardır ve aşırı kole hassasiyetine sebep olup aşınmanın artmasına neden olabilirler. ⁽⁵⁹⁾

2.2.2 Atrizyon

Dental atrizyon dişlerin birbiri ile teması sonucu oluşan diş sert doku kaybı olarak tanımlanır. ⁽⁷⁴⁾ Atrizyon iki yüzeyin karşılıklı teması sonucu olduğu düşünülmektedir ancak yüzeyler arasında aşınmış mine partiküllerinin bulunması atrizyona abraziv etkilerin de katkısı olduğunu göstermektedir. ⁽⁶⁰⁾ Besin kaynaklı abraziv aşınmaya “demastikasyon” adı verilmiştir.⁽⁷⁵⁾ Atrizyon, fizyolojik ve patolojik olarak nitelendirilebilir.

Normal çiğneme kuvvetleri ile oluşan ve fizyolojik süreçle ilerleyen dişlerin oklüzal yüzeyindeki aşınmalar, fizyolojik atrizyon olarak adlandırılır.

Genç yaşlarda başlayan oklüzal yüzeylerde fazla miktarda aşınma gözlenen atrizyon tipi ise patolojik atrizyon olarak adlandırılır. Bruksizm gibi alışkanlıklar, oklüzal uyumsuzluklar, prematür kontaklar patolojik atrizyon sebebidir.

Lezyonlar ilk dönemde küçük, parlak, düz yüzeyler şeklindedir ve karşıt dişte de benzer lezyonlar görülmektedir. Atrizyon lezyonları genelde dişlerin fonksiyonel

temas noktaları çevresindeki yüzlerde görülür.^(62, 76) Dişlerin birbirileri ile teması sonucu oluşan atrizyon lezyonları yassı ve parlak lezyonlar olarak görülmektedir. Oklüzal yüzeyde lezyon var ise karşıt dişte de aynı lezyonun bulunması beklenir. Abrazyonda lezyon genişliği derinliğinden fazladır. Oklüzalde veya kole bölgesinde gözlenebilir ^(74, 75, 77).

2.2.3 Erozyon

Erozyon bir maddenin yüzeyinin aşamalı şekilde yıkılmasıdır. Biyo-korozyon, asidin etkisiyle diş sert dokusundaki hidroksiapatitin bozunmadır.⁽⁵²⁾ Dental erozyon bakteri olmaksızın kimyasal kaynaklı diş sert doku kaybıdır. ⁽⁷⁸⁾ Stres ve biyolojik korozyon kombinasyonu, etkenlerin tek başına olan etkisinden daha fazla hasara neden olabilir.⁽⁵⁹⁾ Dış asitler (Dış kaynaklı asit kaynakları arasında meyveler ve meyve suları, diğer asitli yiyecekler, alkolsüz içecekler ve spor / enerji içecekleri, alkol ve havuzlarda nötralize edilmemiş klor gibi mesleki tehlikeler bulunur) ve / veya intrinsik asitler nedeniyle dişlerde biyolojik korozyon meydana gelebilir. Endojen asidin ana kaynağı midedir. Biyo-korozyon, yüksek asidik mide içeriği, reflü veya yetersizlik yoluyla ağız boşluğuna getirildiğinde meydana gelir. Gastroözofageal reflü hastalığı ve bulimia biyokorozyon ile ilişkilidir. NCCL'lerin ilerlemesinden endojen enzimler sorumludur. ⁽⁵⁹⁾

Dişeti sıvısında bulunan proteolitik enzimler ve kusma sırasında salgılanan mideden (pepsin) ve pankreastan (tripsin) gelen proteolitik enzimler ile demineralize edilmiş dentinin organik yapısını bozabilir. Başlıca risk faktörleri, asit alımı, bileşimi ve sıklığı, dişlerin arktaki konumu, şekli dişeti çekilmesinin varlığı ve miktarıdır. Aşırı egzersiz gibi yaşam tarzı seçimleri ve radyoterapiyi içeren tıbbi tedaviler tükürük akışını değiştirebilir ve dolayısıyla biyo-korozyonu etkileyebilir.⁽⁵²⁾

Tükürük asidi nötralize eder ve ağız boşluğunu asidin biyokoroziv etkilerine karşı korur. Tükürükteki olumsuz değişiklikler (pH, viskozite, akış, bileşim, tampon kapasitesi) NCCL'lerin oluşumunda önemli bir risk faktörüdür. Tükürükteki iyonlar, demineralize diş yapısının remineralizasyonunu indükleyebilir ve bu nedenle NCCL'lerin oluşumunu inhibe edebilir. NCCL'ler, dişlerin düz yüzeylerinde lingual yüzeylerden daha yaygındır.

Bir dişin erozyona yatkınlığı üzerinde dişteki remineralizasyon farklılıkları, lingual bölgelerdeki (daha seröz tükürük - daha yüksek tampon kapasitesi) ve vestibul-bukkal bölgelerdeki (muköz tükürük - daha düşük tampon kapasitesi) tükürüğün kimyası ve tamponlama karakterindeki farklılıkları etkilidir.⁽⁷⁹⁾

Terlemeden kaynaklı ksero stomi ve dehidrasyon bozulmuş tükürük akışı oluşturarak ağızda asitlerin tamponlanmasını engeller.

Erozyon toplumda yaygın görülen bir problemdir.^(80, 81) Hayat standartlarının değişmesi, beslenme düzeninin değişmesi ve asitli içecek tüketiminin artışı, erken yaşlar dahil, toplumlarda dental erozyon görülme sıklığı ve şiddetini artırmaktadır.^(82, 83) Dental erozyon yüzeyel tabaka sertliğinin kaybolması ve ardından mine yüzeyinin tamamen çözünüp ortadan kaldırılmasını içeren iki aşamalı bir süreçtir.

Erken mine erozyon lezyonlarında dişlerde renk değişikliği, dentinde yumuşama ya da ağrı görülmez. Lezyonlar ilk etapta ‘portakal kabuğu’ gibi pütürlü bir görünümde dir. Aktif erozyonda mine görünümü mattır. Erozyon yüzeyi aşındığında yüzey parlak bir görünüm kazanır.⁽⁸⁴⁾ Lezyon ilerledikçe dentin tabakasına doğru derinleşir ve koyu renkli dentin açığa çıkar, oluşan kavite disk ya da ‘U’ şeklindedir. Lezyon ilerledikçe aşınma tüm yüzeye yayılır ve derinliği artar. Net olmayan kenarlar ve bitişik pürüzsüz mine kenarları olan disk şeklindeki geniş-sığ lezyonlar, erozyon teşhisi için önemli kriterlerdir ve aynı zamanda erozyonun tanı koydurucu bir işareti olarak kabul edilir. İlerlemiş lezyonlarda sklerotik dentin görülebilir veya pulpa açığa çıkmış olabilir.^(74, 77)

2.2.4 Abfraksiyon

Abfraksiyon teorisi, bir dişin servikal bölgesinin oklüzal fonksiyon, brüksizm ve parafonksiyonel durumlarda dayanak noktası haline gelerek ilgili bölgede gerilimlerin neden olduğu ve NCCL'lerin meydana geldiği biyomekanik bir kavrama dayanmaktadır.

Bu gerilmelerin lokal olarak ince mine ve alttaki dentinin kristal yapısını döngüsel yorgunluk ile bozarak çatlaklara yol açtığı düşünülmektedir. Sonuçta, mine servikal kenarda kopar ve dentin aşamalı olarak ortaya çıkar.^(59, 85)

Abfraksiyon lezyonları adeta bir kama görünümündedir. Genelde mine-sement sınırının apikaline kadar uzanarak apikal sınırı düzensiz koronal sınırı keskin kenarlı, derinliği genişliğinden fazla olan sert doku kaybı lezyonlardır. ^(74, 77)

Grippo ve arkadaşlarına göre abfraksiyon lezyonlarının gelişiminde bazı risk faktörleri rol oynayabilir. ⁽⁷⁵⁾ Birincisi, dişlerde ortaya çıkan gerilmeler, dişlerin ana eksen ve formlarına, bileşimlerine ek olarak kuvvetin büyüklüğüne, yönüne, sıklığına, uygulama yönüne ve süresine bağlıdır.

İkinci olarak, periodontal ligamentin yastıklama etkisi, mobilite ile NCCL'ler arasında negatif bir korelasyon olduğu için başka bir modifiye edici faktördür. Üçüncüsü, oklüzal bir restorasyonun zayıflatıcı etkisi, abfraksiyon lezyonunun gelişmesine katkıda bulunabilir. Periodontal ataçman kaybı mine sement sınırındaki stres konsantrasyonunu azaltabilir, ancak açıkta kalan diş yapısını biyo-korozyona ve diş fırçası / diş macunu aşınmasına karşı daha duyarlı hale getirir. ⁽⁵²⁾

2.3.Dişlerin kole bölgelerinde görülen diş çürüğüne bağlı diş sert doku kayıpları

Ağız boşluğunda, diş yüzeyleri ile tükürük arasında sürekli bir metabolit ve iyon değişimi vardır. Normal koşullarda demineralizasyon ve remineralizasyon süreçleri denge halindedir. Sağlıkta, oral kommensaller nötr bir pH'da yaşamaktadırlar. ⁽⁸⁶⁾ Biyofilmdeki bazı bakteriler, enerji için rafine karbonhidratları metabolize eder ve organik asit yan ürünleri üretirler. Bu organik asitler, biyofilm ekosisteminde uzun süreler boyunca mevcutsa, biyofilmdeki pH'ı kritik bir düzeyin altına düşürebilirler (mine için 5.5, dentin için 6.2). ⁽⁶⁾ Bu düşük pH, hem biyofilm bileşimi hem de diş yüzeyi seviyesinde etkiye sahiptir. ⁽⁸⁷⁾ Uzun süreli düşük pH dönemlerinde, mikrobiyomda asidojenik ve asidofilik bakterilere kayma meydana gelir. ⁽⁶⁾ Bununla birlikte, dental biyofilmin bir parçası olan mikroorganizmaların metabolizmasından elde edilen pH, normalde 5.5 civarında belirlenen belirli bir eşikten düşük olduğunda, mineral kaybı remineralizasyondan daha yüksektir. Bu nokta, diş çürükleri için mikroyapısal yıkımın bir başlangıç noktasıdır. ⁽⁸⁸⁾

Bu değişim de çevrenin daha da asidikleşmesine yol açacaktır. Düşük pH, dengeye ulaşmak için diştten kalsiyum ve fosfatı uzaklaştırır, bu da dişte net bir mineral kaybına veya demineralizasyona neden olur. Biyofilmdeki pH nötre döndüğünde ve

    nebilir kalsiyum ve fosfat konsantrasyonu di tekinde göre aşırı doygun hale geldiğinde, mineraller remineralizasyon süreci ile kısmen demineralize mineye geri alınabilir.⁽⁸⁶⁾ Bu olaylar di in yaşamı boyunca sürekli gerçekleşir. Biyofilmdeki mikrobiyal floranın sayı ve türü, diyet, a ız hijyeni, genetik, di  anatomisi, dentin ve mine bileşimi, florür kullanımı ve diğer kemoterapötik ajanlar, tükürük bileşimi, tükürük azlığı ve tamponlama kapasitesi gibi faktörler nedeniyle bireysel ve di e özel olarak kişiden kişiye, aynı kişide di ten di e ve aynı di  üzerinde bölgeden bölgeye farklılık gösterir. ⁽⁶⁾

Hastalığın ba laması ve ilerlemesi ile ilişkili bulgu ve semptomlar, doğrudan mineral kaybının derinliğine, farklı uyaranlara, duyarlılığı olan dentin gibi bir başka yaşamsal dokunun etkilenmesine de bağlıdır.⁽⁸⁸⁾

Çürük türleri, koronal veya kök çürükleri gibi etkilenen yüzeye veya etkilenen di in kalıcı mı yoksa süt di i mi olduğuna göre de sınıflandırılabilir.⁽⁸⁸⁾

Topografik olarak çürükler interproksimal, oklüzal, insizal, bukkal veya palatinaldedir ve bunların tümü koronal çürük olarak kabul edilir. Ayrıca sınıflandırma hasarlı dokuya, yani mine, dentin veya pulpaya bağlıdır.⁽⁸⁹⁾

Çürük lezyonları, hastalığın ba laması ve ilerlemesinden sorumlu olan biyofilmdeki aktivite seviyesini yansıtır.⁽⁹⁰⁾ Bu nedenle, çürükleri sınıflandırmak için bir başka önemli özellik, aktivitesiyle ilgilidir ve lezyonlar doku, renk ve parlaklıklarına göre aktif veya durmuş lezyon olarak sınıflandırılmıştır.⁽⁹¹⁻⁹³⁾ Di    r   aktivitesi, lokalize demineralizasyon ve di  yapısının kaybı ile karakterizedir.⁽⁶⁾

Her bir habitat benzersiz bir biyofilm topluluğu içeren birçok farklı habitat içerir. Pit ve fissürlerde nispeten basit bir streptokok popülasyonu barındırsa da dişeti olu undaki kök yüzeyi, filamentli ve spiral bakterilerin baskın olduğu karmaşık bir topluluğu barındırabilir. ^(6, 86)

Dentin bileşimi ve histolojisinin bilinmesi, dentin çürük lezyonlarının histopatolojisinin anlaşılmasına yardımcı olur. Dentinde di  çürüklerinin ilerlemesi, dentinin yapısal farklılıkları nedeniyle di  minesindeki ilerlemeden farklıdır. Dentin

çok daha az mineral içerir ve bakteri girişı ve mineral çıkışı için bir yol sağlayan mikroskobik tübüllere sahiptir.

Mine demineralizasyonu mine dentin sınırına (DEJ) ilerlediğinde, bakteriyel kontaminasyon varsa, çürük lezyonunun DEJ boyunca hızlı lateral genişlemesi meydana gelebilir. Bu durumun nedeni hala tam olarak anlaşılamamıştır, ancak bu muhtemelen mine kavitasyonu olduğunda ortaya çıkmaktadır. Uzun yıllar boyunca bu "lateral yayılma", DEJ'in primer dentine kıyasla daha düşük mineral içeriğine bağlanmıştır.⁽⁹⁴⁾ Daha yakın zamanlarda, DEJ'de yüksek bir MMP konsantrasyonunun bulunduğu gösterilmiştir. MMP'ler, dentin çürüğünün ilerlemesinde etkindir, ancak bu bir konakçı savunma mekanizması olabilir ve çürük duyarlılığındaki bir artışla bağlantılı olmayabilir.⁽⁹⁵⁾ Dentine ulaşan lezyonlarda DEJ'de gözlenen demineralizasyona artan duyarlılık dentin lezyonu içindeki bakteriyel metabolik aktivitenin bir sonucudur.^(96, 97)

Mine lezyonunun gövdesinin artan demineralizasyonu, yüzey minesinin zayıflamasına ve sürecin sonunda çökmesine neden olur. Ortaya çıkan kavitasyon, karyojenik biyofilm için daha da koruyucu ve tutucu bir habitat sağlar ve lezyonun ilerlemesini hızlandırır. DEJ, lezyon ilerlemesine mine veya dentinden daha az direnç gösterir.⁽⁶⁾ Bakteriyel metabolitler tarafından dentin kontaminasyonu, DEJ'de lezyonun lateral yayılmasına yol açarak, dentindeki karakteristik sekonder çürük aktivitesini oluşturur.⁽⁹⁷⁾ Bu özelliklerinden dolayı, dentin çürükleri DEJ'de geniş bir tabana sahiptir ve apeks pulpa yönünde enine kesitte V şeklindedir. Çürük lezyonları, dentin içinde mineye göre daha hızlı ilerler çünkü dentin, daha az mineralizedir ve dentin tübüllerinin varlığı ve yönelimi nedeniyle asit demineralizasyonuna çok daha az direnç gösterir.^(6, 86)

Diş çürüğü süreci, ağrı, hassasiyet, demineralizasyon ve remineralizasyon dahil olmak üzere dentin içinde çeşitli yanıtlar üretir. Derin lezyonların haricinde, çürük lezyonları dentinde yayılım gösterse bile belirgin ağrıya sebep olmayabilir.^(6, 98)

Dentin pulpa kompleksi çürükten etkilenmiş dentin tübüllerinin içindeki kalsifikasyonlar ile çürük uyarısına yanıt verir. Dentinin optik kırılma indisi değişir ve normal dentinden daha fazla mineral içerikli intertübüler dentin, sklerotik dentin

olarak adlandırılır. Tübül iç çapındaki azalma nedeniyle sklerotik dentinin geçirgenliği normal dentin ile karşılaştırıldığında büyük ölçüde azalmıştır.⁽⁹⁹⁾ Sklerotik dentin genellikle parlak ve daha koyu renktedir ancak daha zor fark edilir.⁽⁶⁾

Kök yüzeyi mineye göre daha pürüzlüdür ve ağız hijyeni sağlanmadığında karyojenik biyofilm oluşumuna kolaylıkla izin verir. Kök yüzeyini kaplayan sement son derece incedir ve çürük lezyon aktivitesine çok az direnç sağlar. Ek olarak, dentin için kritik pH, mineye göre daha yüksektir, bu nedenle demineralizasyon, muhtemelen pH, mine için kritik seviyeye (pH = 5.5) ulaşmadan önce başlayacaktır.⁽⁹⁸⁾ Kök çürük lezyonları, koronal çürük lezyonlarından daha belirsiz sınırlara sahiptir, enine kesitte U şeklini alma eğilimindedir ve minenin bulunmaması nedeniyle koronal çürük lezyonlarından daha hızlı ilerler.⁽⁹⁸⁾ Son yıllarda, diş kaybının azalması, dişeti çekilmesi yaşayan ve genellikle karyojenik biyofilme maruz kalan kök yüzeyleri bulunan yaşlıların sayısının artması nedeniyle kök çürüklerinin prevalansı önemli ölçüde artmıştır.⁽¹⁰⁰⁾

Kök yüzey çürük lezyonları, kavite bulunabilirliği ve bazen yaşlanmayla ilişkili diğer faktörler nedeniyle daha yaygındır, örneğin birden fazla ilaç nedeniyle tükürük sekresyonunda azalma ve azalmış el becerisi ve azalan motivasyonun bir sonucu olarak kötü ağız hijyeni, kök kaynaklı çürük lezyonları için kolaylaştırıcı faktörlerdir çünkü nispeten hızlı bir ilerlemeye sahiptirler, genellikle asemptomatiklerdir, pulpaya daha yakındırlar, restore edilmeleri daha zordur.^(6, 98)

2.4 Kule bölgesindeki diş doku kayıplarının tedavisi

Kule bölgesindeki diş doku kayıpları için güvenilir, öngörülebilir ve başarılı bir tedavi planı, lezyonun etyolojisine, hastanın şikayetlerine ve lezyonun derinliğine göre değişiklik gösterebilir.^(3, 51) Kule bölgesindeki diş doku kayıplarının tedavisinde lezyonun boyutuna bağlı olarak lezyonu takip etme, dentin hassasiyetini önleme, restoratif tedavi ve restoratif tedavi ile kombine kök cerrahisi prosedürlerine odaklanılmaktadır.

2.4.1 Önleme

Önleyici yönetim stratejileri, parafonksiyonel alışkanlıkları, oklüzal prematür kontakları, periodontal faktörleri, diyet ve diğer oral alışkanlıkları dikkate almalıdır.

Oklüzal terapi ile oklüzal dengesizlik düzelterek ve herhangi bir oklüzal erken temas ortadan kaldırarak köle hassasiyeti ve NCCL'lerin gelişimi hafifletilebilir. ⁽³⁾

Amaç, mevcut lezyonların ilerlemesi ya da yenilerinin oluşmasını önlemek ve restore edilmiş lezyonlarda restorasyonların uzun ömürlü olmasını sağlamaktır. Önleyici müdahaleler, etiyolojiye (aşınma, erozyon ve / veya abfraksiyon) bağlı olarak hastanın davranışında değişiklikler gerektirir. ^(58, 59, 101)

Servikal aşınmaların genelde sık veya kuvvetli fırçalama, hatalı veya kuvvetli teknikler, fırça sertliği veya tasarımı, fırçalama sırasında fazla güç uygulanması veya aşındırıcı diş macunları gibi diş fırçalama faktörlerinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir.^(69, 102) Hastalar bu faktörler hakkında bilgilendirilmeli ve gerektiğinde fırçalama materyallerini veya alışkanlıklarını değiştirmeleri tavsiye edilmelidir. Ek olarak, hastalara aşındırıcı bir tehditten hemen sonra dişlerini fırçalamaktan kaçınmaları söylenmelidir.

Tedavi başarısında, hastanın iş birliği kritik önem taşır. ^(58, 59) Asitli yiyecek ve içecekler dişlerde erozyona neden olduğundan bu besinlerin sınırlandırılması ya da ana öğünlerle birlikte tüketilmesi tavsiye edilebilir⁽⁷⁷⁾. Uyarılmış tükürük özellikle erozyon lezyonlarının önlenmesinde çok etkilidir çünkü uyarılmış tükürüğün tamponlama kapasitesi ve bikarbonat içeriği uyarılmamış tükürüğe göre oldukça yüksektir.⁽⁵¹⁾

Yeme bozukluğu bulunan hastalarda (örneğin; bulumia nervozada) kişinin yediği besinleri kusma ile geri çıkarması dişlerde erozyona neden olmaktadır. Bu hastalıkların tedavisinde kullanılan psikoaktif ilaçlar da tükürük akışında azalmaya bağlı olarak erozyon riskini artırır. Hamilelik tek başına erozyona neden olmaz ancak beslenme değişiklikleri ve kusmanın görülmesi riski artırır. ^(3, 77) Dişlerde erozyona neden olan içsel faktörler arasında en yaygını gastrointestinal reflüdür. Hastada özofagusu kontrol eden kaslardaki yetersizlikten dolayı kusma olmaksızın mide içeriği ağız boşluğuna dolar. Erozyona yeme bozuklukları veya gastroözofageal reflü hastalığı neden olduğunda, tedavi bir doktorun katılımını gerektirebilir. ⁽¹⁰³⁾

Dış etiyolojilere bağlı problemlerdaha kolay tedavi edilebilir. Teşhis aşamasında, hangi harici aşındırıcı faktörlerin mevcut olduğunu görmek için kontrol listesi takip

edilmelidir. Zararlı alışkanlıkları ortadan kaldırmak veya değiştirmek tutarlı sonuçlar sağlar.⁽³⁾

Abfraksiyon tedavisinde oklüzal uyumlama gibi radikal, geri dönüşü olmayan bir tedavi uygulama kararının çok dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerektiğini önerilmektedir.^(54, 58, 104-106) En konservatif tedavi yaklaşımı oklüzal splint olabilir çünkü bu, brüksizm miktarını ve eksenel olmayan diş kuvvetlerini azaltır ^(54, 58) ancak bu durumu destekleyen yeterli bilimsel kanıt yoktur.

2.4.2 İzleme

NCCL'lerin ilerlemesi genellikle yavaştır ancak hastalar arasında bu süre farklılıklar gösterebilir. ^(102, 107, 108) Her bir hasta için mevcut lezyonların ciddiyetini, hastanın yaşını ve mevcut etiyolojik ve risk faktörlerini değerlendiren bireysel bir takip protokolü oluşturulmalıdır. İntrinsik asitlere maruz kalan veya hızlı ilerleme gösteren hastalarda lezyon aktivitesinin 6 aylık süreler ile kontrol edilmesi önerilirken diğer birçok durum için yıllık değerlendirmeler yeterli kabul edilmiştir.⁽³⁾

Lezyon aktivitesini gözlemlemek için standart ağız içi fotoğrafların kullanımı, çalışma modelleri ve zaman içinde lezyon boyutlarının (genişlik / uzunluk) ölçümü, dijital diş hekimliğinin ortaya çıkması ile (CAD / CAM) sistemleri, NCCL'lerin teşhisi ve faaliyetlerinin izlenmesinde faydalı olabilir. Yoğun oklüzal kuvvetlere maruz kalan dişlerde oluşan V şeklindeki lezyonlar U şeklindeki lezyonlardan daha erken bir aşamada restore edilmelidir. Derin (1.5 mm) NCCL'lerin restorasyonu, sık olanlara göre önceliklidir. ⁽³⁾

2.5 Dentin hassasiyeti tedavisi

Dentin hassasiyeti genellikle NCCL'lerin erken evreleri ile ilişkili bir semptomdur. Lezyonlar küçük ve sık ise restoratif tedavi gerektirmez ancak hassasiyet varsa, diş ilk olarak noninvaziv tedavi uygulanmalıdır.⁽³⁾

Piyasada, farklı etki mekanizmaları gösteren, nispeten uygun maliyetli evde desensitizasyon ajanları geniş bir yelpazede diş hekimlerinin kullanımına sunulmuştur. Bunlar sinir desensitizasyonu (örn, Potasyum nitrat), protein çökmesi (örn., Glutaraldehit, gümüş nitrat, çinko klorür, stronsiyum klorür) heksahidrat) veya dentin

tübüllerinin tıkanması (örn. sodyum florür, kalay florür, stronsiyum klorür, potasyum oksalat, kalsiyum fosfat, kalsiyum karbonat, biyoaktif cam) yolu ile dentin hassasiyetini giderirler ⁽¹⁰⁹⁾.

Bu ajanlar arasında diş macunları, ağız gargaraları ve sakızlar da sayılabilir. Evde hassasiyet giderme tedavisinin sonuçları 3 ila 4 hafta sonra gözden geçirilmelidir. Dentin aşırı duyarlılığından değişim yoksa, klinik tedaviye başlanmalıdır ⁽¹⁰⁹⁾.

Rezin bazlı adeziv sistemler de evde uygulanan hassasiyet giderici ajanlarının kullanımına kıyasla daha uzun süreli desensitizasyon etkisi sağlayabilir. ^(54, 58, 109-111) Adeziv rezinler, bir hibrit katman oluşturarak dentin tübüllerini etkili bir şekilde kapatabilir. Çeşitli klinik çalışmalar, dentin aşırı duyarlılığının yönetiminde 6 aya kadar adeziv etkinliğini göstermiştir. ^(110, 111)

2.6 Restoratif tedavi

Kole bölgesindeki diş doku kayıplarının restoratif tedavisi, aşağıdaki durumlardan biri veya daha fazlası mevcut olduğunda düşünülmelidir ^(3, 54, 76) :

- 1) Aktif çürük lezyonu mevcutsa;
- 2) Servikal lezyon marjini veya tüm lezyon marjinleri subgingivalde yer alıp plak kontrolünü engelleyerek, çürük ve periodontal hastalık riskini artırıyorsa;
- 3) Dişin bütünlüğünü tehlikeye atan aşırı diş yapısı kaybı veya defektin pulpaya çok yakın olması veya pulpanın açığa çıkmışsa;
- 4) Noninvaziv tedavi seçeneklerinin başarısız olduğu kalıcı dentin aşırı duyarlılığı durumunda;
- 5) Hareketli protez için dayanak dişse;
- 6) Hastanın estetik kaygısı varsa

Kole bölgesindeki lezyonlar için cam iyonomerler, rezin modifiye cam iyonomerler veya kompozit rezinler tercih edilebilir. ^(58, 112) Mikromekanik tutuculuk, diş yapısının korunması, iyi estetik ve fonksiyonel özellikler, uygun materyali seçerken dikkate

alınması gereken bazı hususlardır. Abfraksiyondan kaynaklı olduğu düşünölen lezyonların mikrofil kompozit veya düşük bir elastikiyet modölüne sahip olan akışkan bir rezin ile restore edilmesi gerekmektedir, çünkü bunlar diş ile esneyecek ve retansiyonu koruyacaktır. Restorasyon mümkün olduğunca minimal invaziv yöntemle restore edilmelidir. Mevcut restoratif materyaller arasında kompozit rezinler, estetik özellikleri ve klinik başarısı nedeniyle en çok tercih edilen sistemlerdir ve uzun vadede yüksek başarı göstermektedirler. Kompozit restoratif materyallerin yüksek elastiklik modölü, oklüzal yükler karşısında dentine benzer özellikler sergiler.

Adeziv sistemin seçimi ve uygulanması restorasyonun başarısını belirleyen önemli bir faktördür.⁽¹¹²⁾ Hekim, klinik prosedürün her bir basamağında teknik hassasiyetlere dikkat etmelidir: izolasyon, dişin hazırlaması, adeziv sistem ve kompozitin uygulanması, bitirme, cilalama ve son olarak restorasyonun bakımı uzun dönem restorasyon başarısında kritik önem taşır.⁽³⁾

2.7 Restoratif Materyaller ve Periodonsiyum

Kole bölgesindeki lezyonların restorasyonunda gingiva, periodontal ligament, kök sementi ve alveol kemiği gibi diş çevreleyen ve destekleyen dokulara zarar verilmemelidir. Hatalı dental restorasyonlar periodontal problemlere neden olabilir.⁽¹¹³⁾ Restorasyonlar; diş formunu, yüzey bütünlüğünü ve periodontal dokuları, etkileyebilir.⁽¹¹⁴⁾ Özellikle restorasyonun marjinal kenarının gingival sulkus içinde konumlanması gingivada iltihabi reaksiyon riskini artırır. Ayrıca restorasyon üzerindeki mikrobiyal dental plak, diş çürükleri, gingivitis ve periodontitis gibi rahatsızlıkların meydana gelmesine sebep olabilir.⁽¹¹⁵⁾

Kole bölgesindeki lezyonlar aynı zamanda dişeti çekilmeleri ile de görülebilir. Kompozit restorasyonlar her zaman estetik beklentiyi karşılamaz. Bu tip lezyonlarda ideal tedavi, kombine bir perio- restoratif yaklaşımdır.

Kombine bir restoratif-cerrahi yaklaşımda, restorasyon, cerrahi prosedürden önce yerleştirilmelidir. Açığa çıkmış kök yüzeyi mümkün olduğunca cerrahi olarak kapatılmalıdır. Bu tip sınıf V restorasyonların tamamlanmasında sadece rutinde

kullanılan kompozitler yetersiz kalabilir ve dişeti rengindeki kompozitler ile daha estetik bir görüntü sağlanabilir. ^(12, 116)

2.7 Kompozitlerin genel özellikleri

Bir kompozit, iki veya daha fazla materyalin karışımından oluşur. Bu materyallerin her biri, kompozitin genel özelliklerine katkıda bulunur ve farklı formlarda bulunabilir. Rezin kompozitler; dolgu materyalleri, yapıştırma ajanları, indirekt restorasyonlar ve metal kaplamalardan endodontik post ve korlara kadar çok çeşitli klinik uygulamalarda kullanıldıkları için muhtemelen diş hekimliğinde mevcut olan en yaygın materyallerdir. ⁽¹¹⁷⁾

Diş hekimliğinde kullanılan rezin bazlı kompozit restoratif materyallerin (kısaca “kompozitler”) üç ana bileşeni vardır:

- organik rezin matrisi
- inorganik doldurucular
- ara faz (silan)

Rezin, ara faz aracılığıyla doldurucu partikülleri birbirine bağlayarak kompozit materyalin matrisini oluşturur. ⁽¹¹⁸⁾

2.7.1 Organik Rezin Matris

Rezin, kompozitin kimyasal olarak aktif bileşenidir. Başlangıçta sıvı bir monomerdir, ancak radikal bir ekleme reaksiyonu ile sert bir polimere dönüştürülür. Bu materyalin dişlerin restorasyonu için kullanılmasına izin veren, plastik bir kütleden sert bir katıya dönüşme yeteneğidir. Hem anterior hem posterior rezinler için en yaygın olarak kullanılan monomer, bisfenol-A ve glisidilmetakrilat reaksiyonundan türetilen Bis-GMA'dır. Bu rezin, mucidinin adıyla, yani Bowen rezini olarak da anılır. Metil metakrilattan (MMA) daha yüksek bir moleküler ağırlığa sahiptir, bu da polimerizasyon büzülmesini azaltmaya yardımcı olur. MMA rezinleri için polimerizasyon büzülme değeri hacimce %22 dir. Bis-GMA rezini için bu değer %7,5 tir. Bis-GMA yerine üretan dimetakrilat rezini (UDMA) kullanan kompozitler de vardır. ^(117, 119)

Bis-GMA ve UDMA monomerleri, yüksek moleküler ağırlıklarından dolayı oldukça viskoz akışkanlardır; az miktarda doldurucu eklenmesi bile çok yoğun bir kıvam oluşumuna neden olur. Bu sorunun üstesinden gelmek için viskozite kontrolü sağlayıcı olarak düşük viskoziteli monomerler, örneğin MMA, etilen glikol dimetakrilat (EDMA) ve trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA) eklenir; bunlardan ikincisi çok yaygın olarak kullanılır.⁽¹¹⁹⁾ Bu monomerlerde uzun bir raf ömrü sağlamak için erken polimerizasyonun önlenmesi esastır. Bu amaçla hidrokinon gibi bir inhibitör, genellikle %0,1 veya daha az miktarlarda dahil edilir. Resin matrisi ayrıca kürlenmeyi sağlamak için aktivatör/başlatıcı sistemleri içerir. Bu bileşenler, kimyasal küreme veya görünür ışıla aktifleştirilmiş küreme yöntemi ile polimerize edilirler.⁽¹¹⁷⁾

2.7.2 Doldurucular

Özellikleri geliştirmek için kompozitlerde çok çeşitli doldurucular kullanılmıştır. Doldurucu maddelerinin dahil edilmesi, potansiyel olarak birçok fayda sağlar. MMA monomerinin polimerizasyonu, toz-sıvı sistemi olarak kullanıldığında bile yüksek polimerizasyon büzülmesi gösterir. Çok miktarda cam doldurucu eklendiğinde, kullanılan resin miktarı azaldığından ve doldurucu madde polimerizasyon işleminde yer almadığından büzülme çok azalır. Bununla birlikte, büzülme tamamen ortadan kaldırılmaz, büzülme kullanılan monomer ve eklenen doldurucu miktarına bağlı olacaktır.^(117, 118)

Metakrilat monomerler yüksek bir termal genleşme katsayısına sahiptir. Bu katsayı, dış dokularına benzer bir genleşme katsayısına sahip olan seramik doldurucu maddelerin eklenmesiyle azaltılır.⁽¹¹⁷⁾ Doldurucular sertlik ve basınç dayanımı gibi mekanik özellikleri iyileştirebilir.⁽¹⁾ Camda bulunan baryum ve stronsiyum gibi ağır metallerin kullanımı radyoopasite sağlar.⁽¹¹⁸⁾ Doldurucular, renk, yarı saydamlık ve floresan gibi çeşitli estetik özellikleri kontrol etmek için ideal materyallerdir. Günümüzde kullanılan yüksek dolduruculu kompozitlerde gelişimin temelinde doldurucu teknolojisindeki gelişmeler yatmaktadır.

2.7.3. Ara Faz

Bir kompozitin kabul edilebilir mekanik özelliklere sahip olması için doldurucu ve resinin birbirine güçlü bir şekilde bağlanması son derece önemlidir.⁽¹¹⁸⁾ Bu amaç için en çok silanlar

kullanılır. İyi bir silanizasyon sağlanamaz ise restorasyonun kırılması ve aşınması kolaylaşır ve çatlak başlangıç bölgeleri oluşur.⁽¹¹⁷⁾ Organik matriksin hidrofobik olması, silika bazlı camların ise hidrofilik yapıda olması bir silan bağlayıcı ajanın kullanılmasını gerektirir. Silan birleştirme ajanı, bir ucu ile cam yüzeyindeki hidroksil gruplarına diğer ucu ile de karbon çift bağı yoluyla rezine bağlanır. ^(1, 117)

2.7.4 Diş eti rengindeki kompozitler

Günümüzde gingival dokunun sağlığına ek olarak görünümü de büyük önem kazanmıştır. Özellikle anterior bölgede oluşmuş defektlerin restorasyonunda , diş etinin yokluğunda simetriyi sağlamak için diş etinin yerini almak üzere geliştirilmiş kompozit rezinler uygulanmaya başlamıştır.⁽¹¹⁶⁾ (Şekil 1 de dişeti kompoziti ile restore edilmiş bir santral diş örneği görülmektedir) Bu kompozit rezinler, diş eti dokusuna benzeyen pembe renk tonlarında üretilmişlerdir. Dişeti kompozitleri yüksek renk stabilitesi ve aşınmaya karşı direnç göstermektedirler.⁽¹⁴⁾ Minimal invaziv yaklaşıma olanak sağlamaları, cerrahi yaklaşıma alternatif olarak uygulama alanını genişletmektedir. Açığa çıkmış servikal bölgelerde, kama defektlerinde, gingival bölgede estetik düzenlemelerde, geçici splintlemede ve kırmızı/ beyaz estetiğin sağlanması gereken bölgelerde uygulanmaktadırlar.^(12, 33, 45)

Hem kökü hem de kronu etkileyen daha uzun ve daha derin lezyonlarda, geleneksel diş rengindeki kompozitler ile diş eti kompozitleri birlikte kullanılarak yumuşak ve sert dokuların doğal ve estetik bir geçişi yeniden oluşturulabilir. Bu yaklaşım, sadece diş renginde kompozitler kullanılarak yapılmış, hastanın gülümsemesi sırasında uzun bir klinik kron görüntüsü oluşturan restorasyonlara göre çok daha estetikdir.^(12, 45)



Şekil 1: Dişeti kompoziti ile restore edilmiş santral diş

2.8 Biyouyumluluk

Dişler gibi çeşitli biyolojik dokuların restore edilmesi için kullanılan materyallerin olası biyolojik etkileri hastalar için her zaman yüksek bir endişe kaynağı olmuştur. Biyouyumluluk, bir materyalin toksik, zararlı, fizyolojik olarak reaktif olmaması veya immünolojik reddi içermesi ile canlı bir doku / sistem ile uyumluluğu olarak tanımlanabilir.^(117, 120) Biyouyumluluk tanımına dayalı olarak, diş hekimliğinde ağız boşluğuna yerleştirilen dental materyaller bu nedenle biyomateryaller grubuna aittir.

Biyouyumlu bir materyal tamamen "inert"(inert / tolere edilebilir biyomateryal) olmayabilir; aslında belirleyici faktör uygulanan canlının tepkisidir. Bu klasik biyouyumluluk kavramının yanı sıra, bir biyomateryalin komşu hücrelerin metabolizması üzerindeki hedeflenen etkisi, giderek daha önemli bir işlev kazanmıştır (biyoaktif materyaller).

Bir materyalin biyouyumluluğu, esas olarak, maddelerin çözünürlük veya korozyon yoluyla salınmasıyla belirlenir. Bu maddeler hücrelere zarar verebilir veya belirli proteinlerin (örn., İnterlökin-1 ve interlökin-6 gibi pro-enflamatuar araçlar) hücresel sentezini uyarak inflamasyona neden olabilir. Benzer şekilde, proteinlerin yüzey emilimi, birikimi veya bir materyalin hücre dışı matris ile etkileşimi, materyalin biyolojik davranışı için önemlidir (örneğin, materyal yüzeylerine hücrelerin / bakterilerin bağlanması).

Bir materyalin toksisitesi, biyolojik bir sisteme kimyasal yollarla zarar verme yeteneğidir. Karmaşık organizmalarda (hayvanlar, insanlar), ‘lokal toksisite’ yani, uygulama alanında ortaya çıkan advers reaksiyonlar- advers reaksiyonun uygulama bölgesinden uzak bir alanda ortaya çıktığı sistemik toksisiteden farklıdır. Diş hekimliğinde lokal reaksiyonlar öncelikle pulpada, periapikal periodonsiyumda ve diş eti / oral mukozada meydana gelir.

Biyomateriyallerin sağlık üzerindeki etkileri aşağıdaki alt bölümlere ayrılabilir:

- 1.Sistemik toksisite
- 2.Lokal tepkiler
- 3.Alerjik reaksiyonlar
- 4.Diğer reaksiyonlar

2.8.1 Sistemik Toksisite

Dental materyallerin çoğu içeriğindeki maddeleri ağız boşluğuna salgılar ve buradan tükürüğün yutulması ve inhalasyon dahil farklı yollardan girerek ardından GİS veya akciğerlerdeki epitel bariyerlerini geçerek veya kan dolaşımı yoluyla farklı organlara taşınabilir. Etkilenen bölgede yeterli konsantrasyon varsa toksisite gözlenir. Zamana göre toksisite akut (24 saate kadar maruziyet), subakut (3 ay) veya kronik(3 aydan fazla) olarak gözlemlenebilir.

2.8.2 Lokal Reaksiyonlar

Dental materyallerden salınan maddeler, oral mukoza / gingiva, pulpa veya alveolar kemik gibi komşu dokularda (lokal toksisite) bir reaksiyon (ör., İltihap veya nekroz) oluşturabilir. Sitotoksiste hücre düzeyinde hasarı ifade eder. Sitotoksiste nedeniyle nekroz veya apoptoz meydana gelebilir. Hücre metabolizmasının etkilenmesiyle ise pro enflamatuarlar salınarak reaksiyon gözlenebilir. Ağız içinde lokal faktör nedeni sadece materyallerin madde salımı olmayabilir. Restorasyon kenarları veya protez kenarlarında bakteri birikimi, fiziksel-mekanik tahriş, protezlerin neden olduğu basınç da lokal reaksiyonlara neden olabilir.

2.8.3 Alerjik Reaksiyonlar

Dört farklı tipte alerjik reaksiyon vardır. Tip I Anaflaktik reaksiyon, Tip II Sitotoksik reaksiyon, Tip III İmmün Kompleks reaksiyonu, Tip IV Gecikmiş Tip reaksiyon olarak adlandırılır. Tip I, II ve III'e antikorlar (IgE, IgG) aracılık eder, oysa tip IV'de hücreler etkindir. Dental materyaller tip I (ani reaksiyon) ve tip IV (gecikmiş reaksiyon) alerjilerine neden olabilir. Alerjik reaksiyona neden olan doz seviyeleri genel olarak toksik dozdan önemli ölçüde daha düşüktür. Alerjik doz miktarı kişiden kişiye değişmektedir. Dental materyal kaynaklı alerji için materyalden salınan madde miktarı genellikle yeterlidir. Hastalarda çapraz kaynaklı alerji riski de bulunmaktadır. Örneğin nikel alerjisi bulunan bir hastada periyodik tabloda nikel ile aynı sütunda yer alan palladyuma karşı da alerji gelişmiştir. Alerjiye neden olan maddelerin bulunduğu sınıflamalar bu yüzden önemlidir. Özellikle Bisfenol A, bazlı metakrilatlar ve glutaraldehit önemli temas alerjenleri sınıfında bulunmaktadır. ⁽¹²¹⁾

2.8.4 Diğer Etkiler

Bu grup mutajenik, kanserojen ve teratojenik etkileri içerir. Materyallerden salınan maddeler, genom DNA'sında değişikliklere (genotoksisite) neden olabilir. Hücreler, genotoksik hasar tamiri için bir dizi mekanizmaya sahiptir. Alternatif olarak, bunların transferi sonraki nesil hücrelerin genetik hasarları, programlanmış hücre ölümü (apoptoz) ile önlenabilir. Yine de bu genetik hasarlar bir sonraki nesle aktarılırsa bu etkiye mutajenite denir. Mutajenite olası kanserojenliğin bir göstergesidir. Dental materyal uygulama sonrası bu hasarlara rastlanmamıştır.

2.8.5 Etkin doz/Konsantrasyon

Dental materyaller için "doz", belirli bir materyalden salınan madde miktarı anlamına gelir. Doz reaksiyon eğrisine göre artan doz-toksisite anlamına gelir. Belli bir dozun altında reaksiyon oluşmaz; bu "eşik doz" dur. ⁽¹²²⁾ Ancak genomdaki değişiklikler istisnadır ve doza bağımlı değildir.

Etkin doz hedef organda mevcuttur ve uygulanan dozdan farklıdır. Örneğin, bir restoratif materyalden (örneğin öjenol) salınan bir maddenin etkili konsantrasyonunun, pulpa kavite tabanına göre önemli ölçüde daha düşük olması gibi. Bu nedenle, çinko oksit ve öjenol simanları, kavite tabanında açıkça bir antimikrobiyal etkiye sahiptir.

Ancak arada dentin varsa pulpa etkilenmeyecektir. Klinisyen için uygulanan ve etkili doz arasında ayırım yapmak çok önemlidir. Örneğin, tükürük metal konsantrasyonlarının miktarı fazla önemli değildir çünkü bu değerler yalnızca uygulanan dozu temsil eder ve bu, etkili dozdan önemli ölçüde farklı olabilir. Eşik doz ilkesi, kronik maruziyet için de geçerlidir. Ayrıca, düşük miktarlarda bir kimyasal maddenin zararlı olmaktan çok faydalı olabileceği de dikkate alınmalıdır. Örneğin, düşük miktarlarda metakrilatlar, belirli bakterilerin çoğalmasını önemli ölçüde etkileyebilir.⁽¹²³⁻¹²⁵⁾

Biyouyumluluğu değerlendirmek ve dental materyallerde varsayılan veya gerçek advers etkiler olduğunu iddia eden hastaları ele almak için farklı tıbbi disiplinlerin yakın iş birliği gereklidir. Şüpheli bir alerji durumu varlığında dermatoloğa, materyal ile ilgili rahatsızlık hisseden hastalarda aile hekimi, dahiliye konsültasyonu gerekebilir. Hastalar kabul etmek istemesede hissedilen bazı ağrıların psikiyatrik bozukluk kaynaklı olduğu bilinmektedir.⁽¹²⁶⁾

2.9 Dental materyal biyouyumluluğu

Bir biyomateryalin yan etkileri, amaçlanan ana fonksiyonun yanı sıra, bu biyomateryal için karakteristik olan ancak istenmeyen etkiler olarak tanımlanır.

Dental materyaller çeşitli yan etkilere neden olabilir. Dental materyallere bağlanan biyolojik ve immünolojik advers reaksiyonlar az görülür ve bildirilen yan etkiler şiddetli değildir. Ancak, bu tamamen kullanılan materyalin türüne ve personel tarafından kullanılan tekniğe bağlıdır. Hastalardaki sıklık çok düşüktür ancak dişhekimliği personelinde önemli ölçüde daha yüksektir.

Örneğin, rezinler veya sentetik ürünler diş hekimliği personelinde el ve parmak ucu reaksiyonları gibi olumsuz reaksiyonlara neden olabilmektedir.^(127, 128) Formaldehit, bazı dental rezinlerden reaksiyona girmemiş monomerlerin yan ürünü olarak oluşabilir ve bu da artmış doku tepkilerine yol açabilir. Genel olarak, dental materyaller defektif diş dokularının yerini almak için kullanılır ve bu nedenle bunlar kimyasal olarak stabil ve ağız boşluğu için inert olmalıdır. Bununla birlikte, tüm materyaller bir dereceye kadar çözünme veya bozulma gösterir. Daha sonra bu çözünmüş bileşenler toksik

olduğunda, lokal veya sistemik reaksiyonlar görülebilir. Bu nedenle, dental materyallerin ağız boşluğunda uzun süreli kullanımı ve dayanıklılığının yanı sıra diş hekimliği personeli ile teması veya maruz kalması nedeniyle, biyouyumluluklarının sağlanması gereklidir.

Dental adeziv sistemlerin uygulanmasında diş dokusundaki inorganik yapının rezinlerle değiştirilmesi ilk amaçtır.⁽¹²⁹⁾ Adezivlerin polimerizasyonu sırasında bazı dental monomer ve/veya komonomerler polimerize olmaz ve rezinlerden ayrılarak, provokatif ajanlar olan serbest radikaller oluştururlar.⁽¹³⁰⁾ Polimer yapının kolay serbest kalması ve ardından artan difüzyon, istenmeyen biyolojik reaksiyonlara neden olabilir.⁽¹³¹⁾ Dental materyallerin hatalı polimerizasyonu ilk 24 saat içinde pulpa dokusu üzerinde sitotoksik etkilere neden olabilir. İmmünsüpresyon, pulpa dokusunun enflamasyonu ve apoptotik hücre ölümü, önceden bildirilen adeziv rezinlerin zararlı etkileridir.⁽¹³²⁾ Örneğin bis-glisidilmetakrilat (Bis-GMA), hidroksietilmetakrilat (HEMA), üretan-dimetakrilat (UDMA) ve trietilenglikoldimetakrilat (TEGDMA), fare fibroblastlarında 24-72 saat sonra mitokondriyal işlev bozukluğu yaparak toksisiteye neden olmuşlardır.⁽¹³³⁾

Yetersiz polimerize olmuş yüzeyler karyojenik mikroorganizmalar için uygun yüzeylerdir. Artık monomerlerin *Streptococcus sobrinus* ve *Lactobacillus acidophilus* gibi karyojenik bakterilerin büyümesini uyardığı belirtilmiştir. Ayrıca TEGDMA'nın *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus salivarius*'un çoğalmasını teşvik ettiği belirtilmiştir. Bu mikroorganizmalar diş çürüklerinde önemli bir role sahiptir ve pulpa hasarlarında ve alerjik reaksiyonlarda rol oynayan hücresel mekanizmaları başlatırlar.
(134-136)

Ayrıca rezinler, enflamatuvar reaksiyonlarda yer alan protein ekspresyonu ile sonuçlanır. Bu, egzama benzeri cilt semptomları gibi alerjik reaksiyonlarla sıkı bir bağlantı içindedir.⁽¹³⁷⁾

Simanların sitotoksisitelerinin zaman içinde önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir. Bu etki, tükürük ve mevcut proteinlerin tamponlama etkisine atfedilir.⁽¹³⁸⁾ Ayrıca, yapay

tükürükte yaşlandırılmış kompozit modellerde de benzer sonuçlar gözlemlenmiştir.⁽¹³⁹⁾

Polimerize olmayan monomerlerin salınmasına ek olarak, dental kompozitlerde katkı maddelerinin ve doldurucu maddelerinin mevcudiyeti bazı endişeler uyandırmıştır. Bisfenol A (BPA), toksisiteye neden olan bu katkı maddelerinden biri olarak kabul edilmektedir.⁽¹⁴⁰⁾ BPA, dental rezinlerde bir katkı maddesi olarak bulunur.⁽¹⁴²⁾

Dental materyallerde sıkça bulunan komonomerler olan TEGDMA ve HEMA, insan monositlerinde ısı şoku protein ekspresyonunu baskılayabilir.⁽¹⁴³⁾ Ayrıca TEGDMA, mitokondriyal yaralanmalara neden olmaktadır.⁽¹⁴⁴⁾ TEGDMA'nın toksisitesiyle ilgili yeni bir mekanizması bildirilmiştir.⁽¹⁴⁵⁾ Bu monomer, AMPK / mTOR yolağının aktivasyonları yoluyla otofajiyi uyarır. İnsan dental mezenkimal hücrelerinde TEGDMA'ya maruz kaldıktan sonra asidik veziküller ve otofajik vakuollerin oluşumu ve LC3-II birikimi dahil olmak üzere otofajinin farklı oluşum özellikleri gösterilmiştir⁽¹⁵⁾.

Özetle; reaktif oksijen türlerinin üretimi ve hücrel glutatyon rezervuarlarının tükenmesi, restoratif materyal bazlı toksisitenin ve hücrel apoptozunun başlıca moleküler mekanizmalarıdır ⁽⁴⁾ Dental rezinlerdeki bazı katkı maddeleri, sekonder çürükler ve restorasyonun başarısızlığına neden olan polimerlerin bozulmasına yol açabilen karyojenik bakteri türleri için potansiyel substratlardır ⁽¹³⁹⁾.

2.10 Biyouyumluluk değerlendirilmesi

Dental materyallerin biyouyumluluğunun değerlendirilmesi karmaşık ve kapsamlı bir alandır çünkü çok çeşitli tiplerde istenmeyen doku reaksiyonları meydana gelebilir. ⁽¹⁴⁶⁾ Yaygın kullanılan başlıca test yöntemleri aşağıdaki gibidir.

İn vitro; Agar yerleşimi, MTT testi, dentin bariyer testi, ames testi, mikronükleus testi, HPRT mutasyon testi, fare lenfoma testi.

Hayvan deneyleri; Pulpa / dentin testi, endodontik test, implantasyon testi, mikronükleus testi, teratojenite.

Özel test yöntemleri genellikle yalnızca belirli bir tür istenmeyen reaksiyonun tek bir yönünü tanımlamak veya belgelemek için yeterlidir. Örneğin, hücre kültürü testleri yalnızca bir materyalin izole edilmiş hücreler üzerindeki etkisini tespit edecektir. Hücre kültürlerinde reaksiyona neden olmayan bir alaşım, hastalarda ciddi sorunlara yol açabilir çünkü plağın altında veya ağız boşluğundaki çatlaklarda (örneğin, teleskop kronları) daha düşük bir pH değeri olabilir. Bu düşük değer hücre kültürüne kıyasla *in vivo* koşullarda daha ciddi aşınmalara yol açabilir.

Materyallerin biyolojik davranışlarını test ederken toksikolojide olduğu gibi çoğunlukla hücre kültürlerine dayanan basit *in vitro* testlerle başlanmaktadır. Umut verici bulgular gözlenirse deney havvanları üzerinde daha kapsamlı çalışmalar yapılmaktadır. Klinik deneyler bu sürecin son adımıdır. Bununla birlikte bazı materyaller (örn, çinko oksit ojenol) hücre kültürlerinde toksik reaksiyona neden olurken klinik uygulamada hastada bir problem ortaya çıkmamışlardır.^(4, 10) Bu nedenle yukarıda bahsedildiği gibi şematik yaklaşım daha az kullanılmaya başlanmıştır.

Bir materyalin biyoyumluluğu direkt veya bir "ekstrakt" kullanılarak belirlenebilir. İlk durumda, doku direkt materyale maruz bırakılırken, ikinci durumda, materyal belirli koşullar altında, belirli bir süre, belirli bir sıcaklıkta, bir sıvı içinde bekletilir. Neredeyse tüm materyaller, ayrıldıklarında veya karıştırıldıktan kısa bir süre sonra salınabilir bileşenlerinin büyük bir kısmını serbest bırakır.

2.10.5 Sistemik Toksisite

Deney hayvanları genellikle sistemik toksisiteyi belirlemek için kullanılır. Test maddeleri çeşitli şekillerde uygulanabilir. Diş hekimliğinde çoğu materyal ağızda kullanılır. Dental materyallerin genel olarak düşük akut sistemik toksisite ile karakterize edildiğini bildirilmektedir.⁽¹¹⁾

2.10.6 Lokal Toksisite ve Doku Uyumluluğu

Lokal toksik özellikler, çok çeşitli farklı testlerle belirlenir. Nispeten basit test yöntemleri (hücre kültürleri, implantasyon testleri), materyalin hastanın ağız boşluğuna uygulanmasından sonra hedef dokuları temsil etmeyecektir; bu nedenle, bu

tür testlerden elde edilen veriler, bir malzemenin spesifik olmayan toksisitesi hakkında bilgi verir.

2.10.7 Hücre Kültürleri

Üreticiler tarafından yapılan ürünlerin biyouyumluluğuyla ilgili birçok iddia, hücre kültürü çalışmalarından elde edilen verilere dayanmaktadır. Hayvan veya insan dokularından elde edilen izole edilmiş hücreler kültür plakalarında büyütülür ve daha sonra bu testler için kullanılır. Dental materyal çalışmalarında genellikle L-929 , Balbc 3T3 fibroblast hücre serisi kullanımı önerilmektedir.⁽¹¹⁴⁾ Sitotoksikite ölçümlerinde gingival fibroblast, periodontal ligament fibroblastları, pulpal fibroblastlar gibi insan hücreleri kullanılmıştır.^(51, 147, 148) Bununla birlikte, dişeti veya pulpa fibroblastları gibi hedef dokuların eksplantlarından (biyopsiler) doğrudan büyütülen diğer hücreler de uygulanır. Bu hücrelere birincil kültür adı verilir ⁽¹⁴⁹⁾. Günümüzde birincil hücreler, orijinal dokunun özelliklerini (gen ekspresyon modeli) korumak, ancak onları kültürde uzun (teorik olarak sınırsız) bir süre tutabilmek için belirli virüs parçacıklarıyla (onkojenler) transfeksiyon yoluyla "ölümsüzleştirildi".^(10, 150)

Hücre kültürleriyle ilişkili en büyük sorun, sonuçların hastalara olası ekstrapolasyonu sorunudur. Bu sorun hücre kültüründe klinik koşulların mümkün olan en iyi simülasyonu ile çözülecektir. Ancak şu anda bu yöntem için yalnızca sınırlı deneyler mevcuttur.

2.10.13 Alerjen Özellikler

Genel olarak, diş materyallerinin alerjenik özellikleri (tip IV reaksiyon) şu anda deney hayvanları üzerinde klinik öncesi olarak test edilmektedir.

OECD Kılavuzuna göre rezin restorasyonlar (örn. akrilatlar), simanlar (örn. öjenol içeren bileşikler) ve metaller (nikel, paladyum) maksimizasyon testinde pozitif reaksiyonlara neden olmuştur. Hastalarda bu materyallere karşı daha yüksek bir alerjik reaksiyon insidansı da belgelenmiştir.⁽¹⁵¹⁻¹⁵³⁾.

2.10.14 Mutajenite

Bir materyalin sertleştirilmeden önce mutajenik olabileceğinden şüphe duyulursa, dişhekimliği personeli tekrar tekrar ciltle temastan kaçınmalıdır. Bazı materyallerin eldivenlere nüfuz edebileceği unutulmamalıdır.

2.10.15 Klinik Çalışmalar

Klinik çalışmaların büyük çoğunluğu; aşınma, marjinal boşlukların oluşması veya uzun ömürlülük gibi yeni materyallerin verimliliğini ele almaktadır. Dental materyallerin biyouyumluluğunun incelenmesi klinik çalışmaların bir parçasıdır ancak ana odak noktaları değildir. Örneğin, restorasyon materyali araştırılırsa, pulpa hassasiyeti, işlem sonrası ağrı ve diğer olası sorunlar da (sıcak-soğuk hassasiyeti vb.) incelenir, ancak histoloji gibi daha detaylı araştırmalar nadiren yapılır.

İlaçlar sıklıkla kör çalışmalarda incelenir; hastalara test edilen ilacı veya daha eski bir ilaç veya plasebo olabilecek bir kontrol maddesini alıp almadıkları bildirilmez.

2.10.16 Hastalar Üzerinde Tanı Testleri

Bir (yeni) materyali karakterize etmek için kullanılan ve şimdiye kadar açıklanan test yöntemlerinin aksine, hastalar üzerinde yapılan tanı testleri, bireysel deneklerde iddia edilen veya gerçek istenmeyen yan etkileri daha derinlemesine analiz etmek için kullanılır (bireysel uyumluluk).

2.11 Apoptozis

Apoptozis veya apoptoz, programlanmış hücre ölümünün en yaygın şeklidir.⁽¹⁵⁴⁻¹⁵⁶⁾ Pek çok fizyolojik fonksiyonda kritik bir rol oynar; doku homeostazı, embriyonik gelişim, organ gelişimi, dokuların yeniden şekillenmesi ve bağışıklık tepkileri sırasında vücuttan istenmeyen hücrelerin uzaklaştırması dahildir.^(155, 157-161) Erken apoptotik hücreler plazma membran geçirgenlik bariyerini kaybetmeden önce fagositoz ile temizlendiği için apoptoz fizyolojik olarak avantajlıdır.⁽¹⁶²⁻¹⁶⁴⁾ Bu şekilde, apoptotik hücreler makrofajlar içinde bozular. Programlanmış hücre ölümünün kontrolünün kaybedilmesi (aşırı apoptozla sonuçlanır) nörodejeneratif hastalıklara, hematolojik hastalıklara ve doku hasarına yol açabilir. Örneğin; HIV'in ilerlemesi düzensiz apoptozla bağlantılıdır. Apoptozun azalması, kanserde ve bazı otoimmün hastalık formlarında altta yatan bir kusurdur.^(158, 160, 165, 166) Aksine, artmış apoptoz,

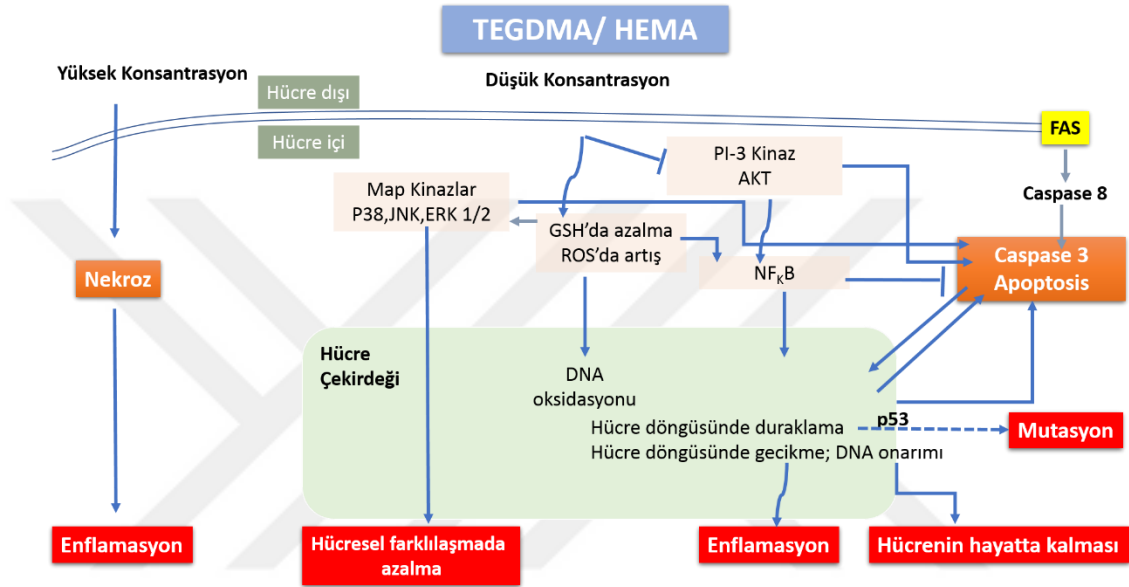
Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve diğer otoimmün hastalık formlarının altında yatan bir kusurdur. ^(154, 158-160, 167-169) Aslında, birçok toksik madde ve kemoterapötik ilaç, etki mekanizmalarını apoptoz sürecinin modülasyonu yoluyla gösterir. ^(165, 168) Bu nedenle, apoptoz sürecine ve yöntemlerine olan ilgi, toksikologlar ve diğer bilim adamları arasında istikrarlı bir şekilde artmıştır.

2.11.1 Apoptozun Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

Apoptoz süreci, karakteristik morfolojik, moleküler ve biyokimyasal aşamaları olan karmaşık süreçtir. ^(155, 159) Apoptozun morfolojik özellikleri sıklıkla kromatik yoğunlaşma ve nükleer membranda marjinyasyon, nükleer yoğunlaşma ve hücre küçülmesini içerir. Bunlar erken olaylar olmakla birlikte, kromatin ve nükleer parçalanma, plazma zarının şişmesi ve apoptotik cisimlerin oluşumu apoptoz sürecindeki geç olaylar olarak sıklıkla gözlenir. Bu morfolojik değişiklikler, apoptotik hücrede meydana gelen karakteristik moleküler ve biyokimyasal olaylardan kaynaklanmaktadır. ^(155, 159, 168, 169) Morfolojik, moleküler ve biyokimyasal olaylardan bazıları duruma bağlıdır ve bazen geçicidir. ⁽¹⁷⁰⁻¹⁷³⁾ Başlatıcıları ve efektörleri içeren kaspaz aktivasyonu, apoptoz sürecindeki evrensel bir olaydır. ^(169, 172) Bu nedenle, Hücre Ölümü Terminoloji Komitesi apoptozu programlanmış hücre ölümünün kaspaz bağımlı varyantı olarak tanımlar. ^(170, 171)

Apoptoz, kaspazların aktivasyonunu, fosfatidilserinin plazma zarının içten dış katmana translokasyonunu, kromatin yoğunlaşmasını ve hücrenin apoptotik cisimler olarak adlandırılan subselüler parçalara parçalanmasını içeren bir dizi ayrı biyokimyasal adım ve morfolojik değişikliklerle karakterize edilir. ⁽¹⁷⁴⁾ Kaspaz aktivasyonuna yol açabilecek iki ana apoptoz yolu vardır: mitokondriye yönelik internal yol ve ölüm reseptörünün aracılık ettiği eksternal yol (Şekil 2). ⁽¹⁷⁵⁻¹⁷⁷⁾ İnternal apoptotik sinyal yolu, DNA hasarı, γ -ışını, hipoksi ve hayatta kalma faktörü yoksunluğu dahil olmak üzere çeşitli stres sinyallerine yanıt olarak tetiklenir. İçsel apoptoz, programlanmış hücre ölümü olaylarını işaret eden mitokondriyal faktörlerin (örneğin sitokrom c) salınmasını içerir. Bunun tersine, eksternal apoptoz sinyal yolu, hücre yüzey membranındaki ölüm reseptörleri aracılığıyla gerçekleşir. TNF reseptörü 1 (TNFR1), Fas, DR4 ve DR5 dahil olmak üzere bu reseptörler, TNF, Fas ligand (FasL) ve TNF ile ilişkili apoptoz indükleyen ligand gibi aynı kökenli ligandları

tarafından seçici olarak aktive edilebilen hücre içi bir ölüm alanı ile karakterize edilir. (TRAIL).^(154, 178-180) Hem internal hem de eksternal apoptoz yolları, spesifik aminoasit sekanslarında hücresel substratların bölünmesini katalize eden kaspazlar olarak bilinen sisteine bağımlı aspartil proteazların bir kaskadının aktivasyonuna yol açar (örneğin, kaspaz 3 için DXDX).⁽¹⁸¹⁾ Apoptozun diğer bir ayırt edici özelliği, fosfatidilserinin iç kısımdan plazma membranının dış katmanına translokasyonudur.⁽¹⁸²⁾



Şekil 2 TEGDMA ve HEMA'nın hücreler üzerindeki biyolojik etkileri ⁽⁴⁾ Apoptoz, kaspaz 3 gibi yürütücü kaspazlar üzerinde birleşen iki temel apoptoz sinyal yolağı yoluyla başlatılabilir; bunlar eksternal (ölüm reseptörü aracılı) ve internal (mitokondri) yolları içerir.^(155, 159)

Eksternal (ölüm reseptörü) apoptoz yolu, ölümle indüklenen sinyal kompleksinin (DISC) oluşumunu, ardından FAS / CD95 ölüm reseptörü gibi reseptörleri devreye aldıktan sonra başlatıcı kaspaz 8'in aktivasyonunu içerir.⁽¹⁷¹⁾ Etkinleştirilen kaspaz 8, daha sonra yürütücü kaspaz olan kaspaz 3'ü etkinleştirir. Bazı hücre tiplerinde, apoptotik sinyalin amplifikasyonu, Bcl-2 ailesi protein Bid'yi bölerek, ölüm reseptör yolunu internal mitokondri yolundan ilerlemek için etkili bir şekilde bağlayarak elde edilir. İnternal mitokondri yolu, çeşitli hücresel stresler (DNA hasarı, oksidatif stres, radyasyon gibi) tarafından başlatılır ve pro-apoptotik ve anti-apoptotik Bcl2 ailesi üyeleri arasındaki dengenin bozulmasına neden olur.^(159, 169, 170, 183) Bu, mitokondri

transmembran potansiyelinin depolarizasyonuna ve sitokrom c'nin ve diğer apoptojenik faktörlerin (AIF, Smac / DIABLO, endoG, CAD ve HtrA2 / Omi serin proteaz gibi) mitokondriden salınmasına yol açar. Sitokrom c, apoptozu oluşturmak için APAF1, dATP ve prokaspaz 9 ile etkileşime girer. Prokaspaz 9, apoptoz içinde kaspaz 9'a aktive edilir ve ardından yürütücü kaspaz 3'ü etkinleştirir. Bu nedenle, hem eksternal reseptör aracılı hem de internal mitokondri aracılı apoptoz yolu, kaspaz 3 gibi yürütücü kaspazların aktivasyonunu içerir.^(159, 184) Çekirdek içi DNA parçalanması, PARP bölünmesi ve nükleer parçalanma gibi geç apoptotik olaylar, kaspaz 3 gibi yürütücü kaspazların aktivasyonundan sonra gerçekleşir. Salınan AIF ve endonükleaz G'nin her ikisi de, DNA parçalanması ve kromatin yoğunlaşmasını indükleyerek kaspaz 3'ten bağımsız apoptozu teşvik edebilir.^(155, 159, 172) Bu özellikler, apoptoz mekanizmalarını belirlemek ve ilgili apoptotik sinyal yolunu tanımlamak için kullanılır.

Apoptoz (tip 1 programlanmış hücre ölümü) genellikle otofaji ve nekroptozu (programlanmış nekroz, tip 3 programlanmış hücre ölümü) içeren diğer programlanmış hücre ölümü türleriyle karıştırılır.⁽¹⁶⁹⁾ Nekroptoz, sitoplazmik granülasyon, organel ve / veya hücrenin şişmesi ve hücre zarının bozulması ile karakterizedir.^(158, 159) Serin / treonin Reseptör Etkileşim Proteini (RIP) ve Karışık Kökenli Kinaz Benzeri (MLKL) kinazların aracılık ettiği kaspaz bağımsız bir hücre ölümüdür.^(170, 171, 185) Otofajik hücre ölümü (tip II programlanmış hücre ölümü), sitosolik protein kümeleşmelerini ve lizozomlardaki hasarlı organelleri çift membranlı otofagozomlar yoluyla değiştiren katabolik bir süreci içerir.^(170, 186, 187) Morfolojik olarak, otofaji, artan otofagozom oluşumunu ve sitoplazmanın yoğun vakuolasyonunu içerir; hiçbir kromatin yoğunlaşması veya apoptozun diğer morfolojik özellikleri dahil değildir.⁽¹⁵⁹⁾ Biyokimyasal olarak, otofaji Beclin-1 ve diğer ATG proteinleri de dahil olmak üzere bir dizi proteine bağlıdır ve kaspazlardan bağımsızdır.^(170, 187-189) Bu nedenle apoptoz, insidansı, morfolojisi ve biyokimyasına bağlı olarak diğer hücre ölümü türlerinden temelde farklıdır.⁽¹⁵⁵⁾ Apoptoz genellikle, zar bütünlüğünü kaybetmeden hücre ölümüne neden olmak için kaspazları ve nükleazları gerektirir.^(170, 187) Bu, istenmeyen hücrelerin organizmalardan ayrılıp elimine edildiği ana mekanizmadır.⁽¹⁸⁶⁾

Apoptoz, otofaji ve nekroptozun farklı yollarla aracılık etmesine rağmen, son kanıtlar, programlanmış üç hücre ölümü modunun hücre ölümü kararları sırasında birbirine bağlı olduğunu göstermiştir. ^(158, 166, 186, 187, 189, 190) Bu, hücre tipine ve stresin doğasına bağlı olarak, programlanmış hücre ölüm modlarının birden çok tipinin bir arada var olmasını ve / veya örtüşmesini mümkün kılar. ^(159, 170) Kaspaz bağımlılığı ve fosfatidilserinin dışarı alınması dahil olmak üzere apoptozun biyokimyasal özelliklerindeki değişkenlikler olabilir ve apoptoz morfolojik özellikleri de içeriğe bağlıdır. ^(170, 173) Bu nedenle, diğer programlanmış hücre ölüm türlerinden apoptozu doğru bir şekilde tanımlamak için sinyal yolları dahil olmak üzere bir dizi ölçülebilir farklı morfolojik, moleküler ve biyokimyasal özelliğin kullanılması önerilmektedir. ^(170, 171, 173, 191)

2.11.2 Apoptozun Belirlenmesi

Apoptoz, hipoksi, açlık, kemoterapi ve hedeflenen sitokinler gibi çeşitli endojen ve eksojen mekanizmalar yoluyla indüklenir ve programlanmış hücre ölümü sırasında meydana gelen birçok biyokimyasal olaydan biri kullanılarak tespit edilebilir. ⁽¹⁹²⁾ Membran simetri ve bütünlüğünün kaybı, hücre zarı üzerindeki eksternal fosfatidilserine bağlanan etiketli Annexin-V ve apoptozun geç aşamalarında dış membran geçirgenliğinin artmasından sonra DNA'yı bağlayan propidium iyodür kullanılarak görselleştirilebilir. ⁽¹⁹²⁾ Mitokondriyal membran geçirgenliği, salınımının tanımlanmasıyla tespit edilebilirken aktive edilmiş kaspazlar, kaspaz etiketleme problemleri ve etiketli kaspaz substratları kullanılarak tespit edilebilir ve ölçülebilir. ⁽¹⁹²⁾

2.11.3 Kaspaz Aktivasyonu

Kaspazlar, apoptozun yürütülmesinde önemli bir rol oynarlar ve bunların aktivasyonu genellikle apoptozun bir belirteci olarak kullanılır. Pro-kaspazlara özgü yüksek kaliteli antikörlerin mevcudiyeti ve bunların bölünmüş aktif formları, hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamlarda apoptozu izlemek için uygun bir araç sunar. ⁽¹⁹²⁾ Kaspaz aktivasyonu immüno blot analizi ile kolayca tespit edilebilmesine rağmen, bu yaklaşımın bazı sınırlamaları vardır. Testin güvenilirliğine, hassasiyetine, tekrarlanabilirliğine ve otomasyonuna yardımcı olma çabalarında, (1) aktif kaspazların etiketlenmesini ve (2)

kaspaz substratlarının bölünmesini tespit edebilen analizlerin geliştirilmesi için güçlü bir itici güç olmuştur.⁽¹⁹²⁾

Kaspaz aktivasyonu, hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak kapsamlı bir şekilde sergilenen iyi bilinen bir apoptotik biyobelirteçtir.⁽¹⁹²⁾ Kaspaz aktivasyonunun tespiti *in vivo* görüntüleme ile tamamlanması, hastalığın başlangıcı için erken ve spesifik tespit yetenekleri ve apoptozun indüksiyonu ile ilgili terapötik etkinlik sağlar. Geleneksel *in vitro* tekniklerde olduğu gibi, kaspaz aktivasyonunun tespiti, aktif kaspazları ligandlarla etiketleyerek veya kaspaz bazlı substratların bölünmesini tespit ederek *in vivo* gerçekleştirilebilir.⁽¹⁹²⁾

2.11.4 Apoptozun Belirlenmesi için Morfolojik Yöntemler

Apoptoz, hücrelerin biyokimyasal ve moleküler özelliklerinin yanı sıra morfolojik özelliklerin bir kombinasyonunu saptayan ve nicelendiren yöntemler kullanılarak test edilir.⁽¹⁷⁰⁻¹⁷³⁾ Bunun nedeni apoptozun özel morfolojik, biyokimyasal ve moleküler özelliklerinin farklı hücresel ortamlarda değişiklik gösterebilmesidir.^(169, 171, 172) İmmünofloresans, immünohistokimya, biyoluminesans, akış sitometrisi, western blot analizine dayalı çeşitli platformlar ve ayrıca dizi tabanlı platformlar kullanılabilir.^(154, 169, 193, 194)

Apoptozun morfolojik özelliklerine dayanan yöntemler, öncelikle nükleer zardaki kromatik yoğunlaşma ve marjinasyonun yanı sıra nükleer yoğunlaşma ve parçalanma derecesini değerlendirmeye çalışır.^(154, 194, 195) Bu özellikleri değerlendirmek için ışık mikroskopları ve elektron mikroskobu kullanılabilirse de, floresan mikroskobunun kullanımı bu belirlemeyi basit ve daha kesin hale getirir.⁽¹⁹⁴⁾

2.11.5 Apoptoz Tayini İçin Biyokimyasal ve Moleküler Yöntemler

Apoptozun kapsamını değerlendirmek için kullanılan en yaygın biyokimyasal ve moleküler değişiklikler, nükleozomlar arasında kromozomal DNA bölünmesi, kaspazların aktivasyonu ve fosfatidilserinin dışarı alınmasını içerir.^(169, 193)

Annexin V-FITC testi, fosfatidilserinin (PS) dışarı alınmasının kapsamını belirler.^(159, 169, 196, 197) Floresan mikroskobu veya flow sitometri kullanılarak canlı hücreler

üzerinde de gerçekleştirilir; deneyi kolaylaştırmak için bir dizi paketlenmiş kit kullanılabilir.

2.12 Antioksidanlar

Antioksidanlar, diğer moleküllerin oksidasyonunun neden olduğu hücresel hasarı önleyen moleküllerdir. Oksidasyon, elektronları bir molekülden oksitleyici bir maddeye aktaran kimyasal bir reaksiyondur. Oksidasyon reaksiyonlarının serbest radikaller ürettiği bilinmektedir. Bu radikaller, dış eşleşmemiş elektron bulunduran reaktif moleküllerdir. Oluştuktan sonra zincirleme reaksiyon başlar. Antioksidan, bu serbest radikallerle reaksiyona girer ve serbest radikal ara maddelerini uzaklaştırarak bu zincir reaksiyonunu sonlandırır ve kendilerini oksitleyerek diğer oksidasyon reaksiyonlarını inhibe eder.

Oksidasyon reaksiyonları yaşam için çok önemli olsa da zararlı da olabilirler. Oksidatif stres, hücresel nekroz, kardiyovasküler hastalık, kanser, nörolojik bozukluk, Parkinson demansı, Alzheimer hastalığı, inflamatuvar hastalık, kas distrofisi, karaciğer bozukluğu ve hatta yaşlanma gibi çeşitli insan hastalıklarına neden olmada anahtar rol oynar⁽¹⁹⁸⁾.

2.12.1 Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, kaynaklarına göre sınıflandırılırlar.

2.12.2 Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar ya insan vücudunda metabolik süreçle sentezlenir ya da diğer doğal kaynaklardan desteklenir ve aktiviteleri büyük ölçüde fiziksel ve kimyasal özelliklerine ve etki mekanizmalarına bağlıdır.

2.12.3 Sentetik Antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar, çeşitli teknikler kullanılarak yapay olarak üretilir veya sentezlenir. Temel olarak polifenolik bileşikler, esas olarak serbest radikalleri yakalayan ve zincirleme reaksiyonları durduran bileşiklerdir.

Bu tez çalışmasının amacı; diş eti çekilmelerinin ve servikal diş defektlerinin estetik restoratif tedavisinde kullanılan bazı kompozitlerin sitotoksik ve apoptotik etkilerini

hücre kültürü yöntemi ile araştırmak ve bu materyallere ilave edilen bir antioksidan olan NAC'ın olası biyolojik etkilerini incelemektir.

Çalışmamızın sıfır hipotezleri şunlardır;

I – NAC ilave edilmiş ve edilmemiş diş eti rengindeki iki kompozitin ve bir geleneksel kompozitin L929 fare fibroblast hücreleri üzerinde toksik etkileri bulunmamaktadır.

II – Test edilen kompozitler apoptosis markerları olan kaspaz 3, kaspaz 8 ve annexin V seviyelerinde bir değişime eden olmamaktadır.



3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Kliniği ve Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarları'nda yürütülmüştür. Çalışmamız Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından TDH-2020-5341 proje numarasıyla desteklenmiştir.

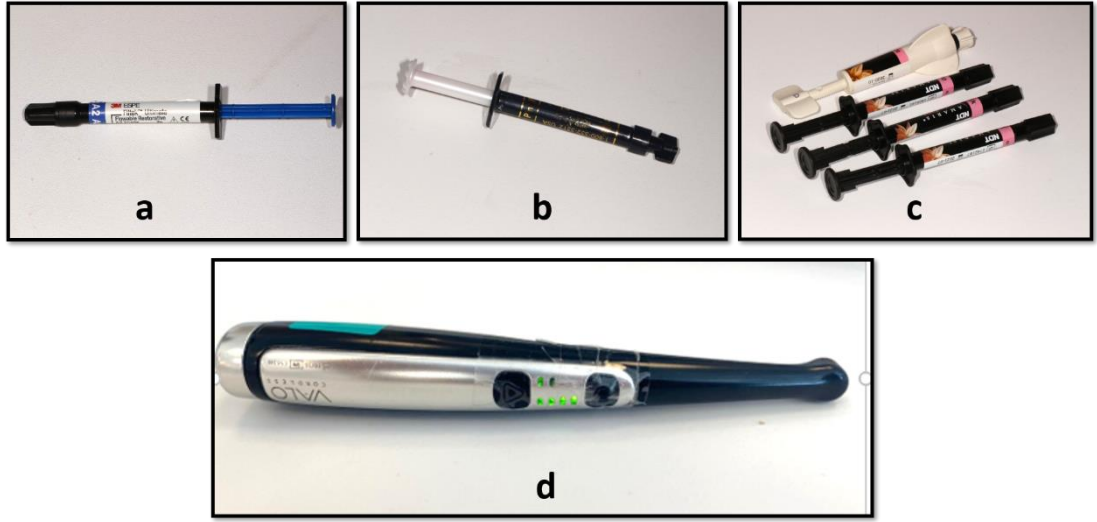
3.1. Çalışmada kullanılan materyaller

Bu projede, iki adet gingival kompozitin (PermaFlo™ Pink, Amaris Gingiva) ve bir adet geleneksel akışkan kompozitin (Filtek Ultimate Flowable), olası sitotoksik etkileri *in vitro* olarak araştırılmış (Şekil 3). Bir antioksidan olan N-Acetyl-L-cysteine ilavesinin (NAC) (Sigma-Aldrich N-Acetyl-L-cysteine 7250-5G Lot: WXBC8841V) (Şekil 4) sitotoksitite ve gen ekspresyonları üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Tablo 1 de çalışmamızda kullanılan materyallerin detayları ve Tablo 2 de ise test grupları sunulmuştur. PermaFlo ışıqla sertleşen, metakrilat bazlı dişeti rengine akışkan bir kompozittir ve florür salımı özelliği vardır.⁽¹⁹⁹⁾ Amaris Gingiva yine metakrilat yapısında olan dişeti rengine bukalemun efekti özellikleri taşıyan bir kompozittir.⁽²⁰⁰⁾ Filtek Ultimate Flowable görünür ışıqla aktive olan, akışkan bir nanokompozittir. Direkt restoratif materyaller öncesi kaide olarak, pit ve fisür örtücü olarak minimal invaziv kavite preparasyonlarının restorasyonlarında (küçük, stres taşımayan oklüzal restorasyonlar dahil), restorasyon defekt tamirlerinde kullanılmaktadır.⁽²⁰¹⁾

3.2. Kompozit örneklerin Hazırlanması

Kompozit örnekler 2 mm kalınlığında 5 mm çapındaki teflon kalıplar kullanılarak hazırlanmıştır. Oksijen inhibisyon tabakası oluşumunu önlemek ve pürüzsüz bir yüzey elde etmek için kalıpların alt ve üst kısmına selüloid bandlar yerleştirilmiştir. NAC ilave edilmiş örnekler hazırlanırken, karanlık ortamda bir hassas terazi yardımı ile kompozit materyallerin yapısına ağırlıkça % 1 oranında NAC tozu ilave edilmiş ve homojen bir yapı oluşturuncaya kadar bir elbonit spatül ile iyice karıştırılmıştır.⁽²⁰²⁾



Şekil 3 a) Filtek Ultimate Flowable Kompozit, b) PermaFlo Pink Kompozit, c) Voco Amaris Gingiva kompozit seti d) Çalışmada kullanılan VALO ışık cihazı



Şekil 4 : Sigma-Aldrich N-Acetyl-L-cysteine 7250-5G

Tablo 1: Test edilen kompozit materyaller

Kompozit Rezin	Monomer İçeriği	Doldurucu Oranı (ağırlıkça)	Lot numarası	Üretici firma
PermafloPink	Trietilen glikol dimetakrilat, BISGMA, Sodium Monofluorophosphate	%68	1-800-552-5512	Ultradent, South Jordan Amerika
Amaris Gingiva	BISGMA, UDMA, TEGDMA,	%80	1821207 1742187 1806161 1745374	VOCO, Cuxhaven, Almanya
Filtek Ultimate Flowable (3M)	BISGMA, TEGDMA, Bisphenol A Polyethylene Glycol Diether Dimethacrylate (BISGMA-6), Diurethane Dimethacrylate (UDMA), Polyethylene Glycol Dimethacrylate (PEGDMA)	%65	NA18270	3m ESPE, Seefeld, Almanya

Tablo 2: Test grupları

Kontrol	
1.Grup	Filtek Ultimate Flowable Kompozit
2.Grup	Filtek Ultimate Flowable Kompozit +NAC
3.Grup	PermaFlo Pink
4.Grup	PermaFlo Pink+NAC
5.Grup	Amaris Gingiva
6.Grup	Amaris Gingiva+NAC

Örnekler bir LED ışık cihazı ile Valo (VALO Ultradent , South Jordan, UT, ABD) (Şekil 3) standart güç modunda (1000 mW/cm²) PermaFlo Pink 20 sn, Filtek Ultimate Flowable 20 sn, Amaris Gingiva 40 sn boyunca olmak üzere polimerize edilmiştir. Bu yöntemle her bir grup için 6 şar örnek hazırlanarak polimerize edilmiş, örnekler kahverengi cam şişelerde saf su içinde 37°C'de bir hafta bekletilmiştir.

3.3. Hücre kültürü

Çalışmamızın hücre kültürü aşamaları Kocaeli Üniversitesi, Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (KÖGEM) gerçekleştirilmiştir. L929 fare fibroblast hücre hattı daha önceki bir tez çalışmasında ⁽²⁰³⁾ Türkiye Şap Enstitüsü'nden temin edilip, bir miktarı KÖGEM 'de dondurulup, stoklanmıştır. Çözünme sonrası, olası bir kontaminasyon riskine karşı hücreler, mavi floresan DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) boyasıyla boyanmış, sonuç negatif bulunmuştur.

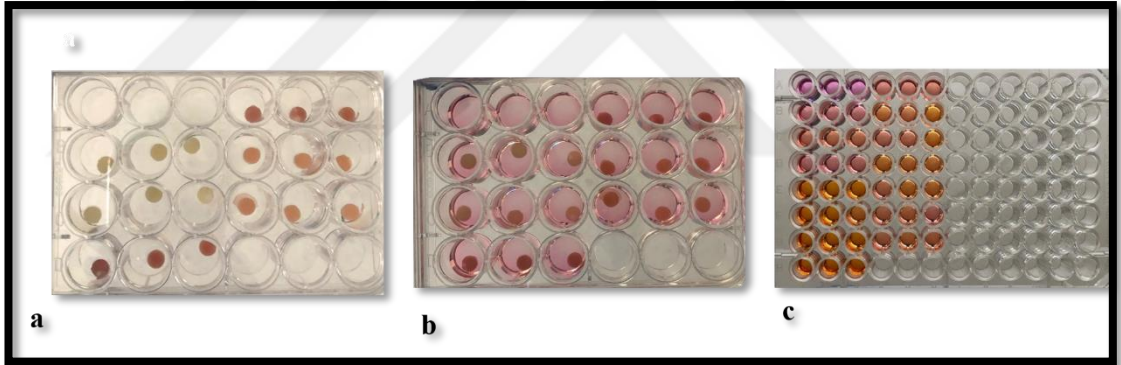
Kompozit örnekler hazırlandıktan sonra 6 ml saf suda bir hafta bekletilmiş ve ardından UV ışık ile (Laminar akışlı steril kabin (Class II, Heraeus, Hanau, Almanya) 20 dk steril edilmişlerdir. Hücreler 24 kuyucuklu kültür kaplarına 1x10⁴ hücre/cm² olacak şekilde ekilmiş ve bir gece yüzeye yapışmaları için 37°C'de ve %5 CO² içeren inkübatörde bekletilmiştir (Şekil 5). Kompozit örnekler hazırlanan hücre kültürü plakalarına yerleştirilmiş ve %10 fetal sıgır serumu (FBS), %1 penisilin/streptomisin içeren düşük glikozlu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) besiyerinde inkübe edilmiştir. Kontrol grubu olarak herhangi bir muamele yapılmayan L929 hücreleri kullanılmıştır (Şekil 6).

3.4. WST-1 hücre vitalite testi

Örnekler 24 saat sonra hücre kültürü kaplarından uzaklaştırılmış ve WST-1 testi ile kolorimetrik olarak hücre canlılığı ve sitotoksiteleri incelenmiştir. Test sırasında; 1:10 (270 µl besiyerine 30 µl WST-1 reagent) oranında WST-1 Cell Proliferation Assay Reagent (Roche) eklenmiş, uygun koşullarda (37°C' de, %5 CO₂ içeren inkübatörde) 2 saatlik inkübasyonun ardından, absorbanslar 450 nm dalga boyunda monokromatik sistemli mikroparka okuyucu (Microplate Reader, VersaMax, Molecular Devices, California ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir.



Şekil 5: CO₂ etüvü ve monokromatik sistemli mikropilaka okuyucu



Şekil 6: a) Kompozit örneklerin hücre kültürü plakalarına yerleştirilmesi, b) Hücre kültürü aşaması c) Hücrelerin test için aktarıldığı 96 kuyucuklu plaka.

3.5. Gen ekspresyon testleri

PCR analizleri test materyalleri ile inkube edilmiş L929 hücreleri üzerinde yapılmıştır. Total RNA, L929 fare fibroblast hücrelerinden bir izolasyon Kiti (Roche, Basel, İsviçre) kullanılarak, üretici firma tavsiyelerine göre izole edilmiştir. RNA konsantrasyonu spektrofotometre ile ölçülmüş ve 1 µg total RNA olacak şekilde cDNA sentez kiti ile komplementer DNA'ya çevrilmiştir. Kaspaz 3, Kaspaz 8 ve Anneksin A5'e uygun şekilde tasarlanan primerlerle PCR reaksiyonu kurulmuştur. PCR master çözeltisi (Roche, Basel, İsviçre) içerisindeki SYBR green ile çoğalan genlerin miktar Real-Time PCR yöntemi ile belirlenmiştir.

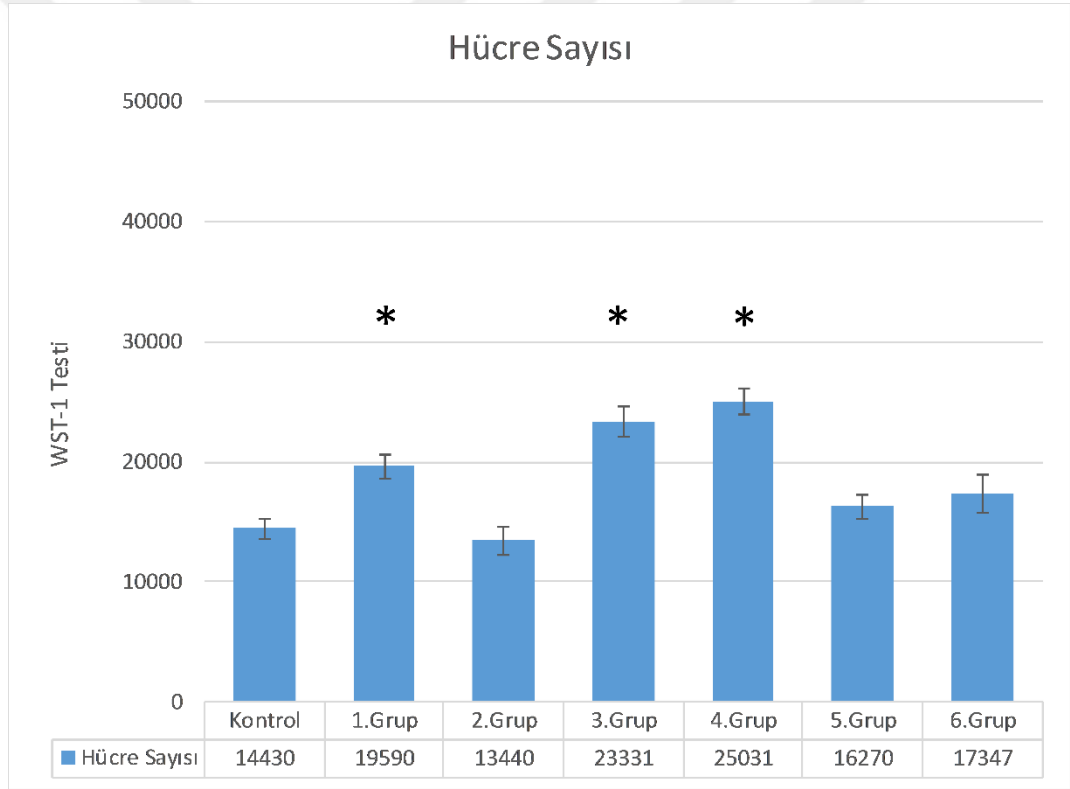
3.6. İstatistiksel analiz

Hücre kültürü işlemleri ve testler birbirinden bağımsız üç tekrar ile yapıldı. Kolmogorov-Smirnov testi WST-1 hücre canlılık testi sonuçlarının ve kaspaz 3, kaspaz 8 ve Anneksin V verilerinin normal dağılım gösterdiğini ortaya koydu. Tüm veriler tek yönlü varyans analizi testi ile incelendi ve kontrol grubu ile test grupları arasındaki farklılıkları belirlemede Tukey testi kullanıldı. Tüm analizlerde SPSS 22 (IBM SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) paket programı kullanıldı ve anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlendi.

4.BULGULAR

4.1 WST-1 testi bulguları

Wst-1 testi ile tüm gruplardaki canlı hücre sayıları kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. 24 saatlik inkubasyon süreci sonucunda hiçbir grupta sitotoksik bir etki gözlemlenmemiştir. Grup 1, 3 ve 4 de hücre popülasyonlarında bir artış olduğu saptanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Ortalama en düşük vitalite değerleri Grup 2 de saptanmıştır.

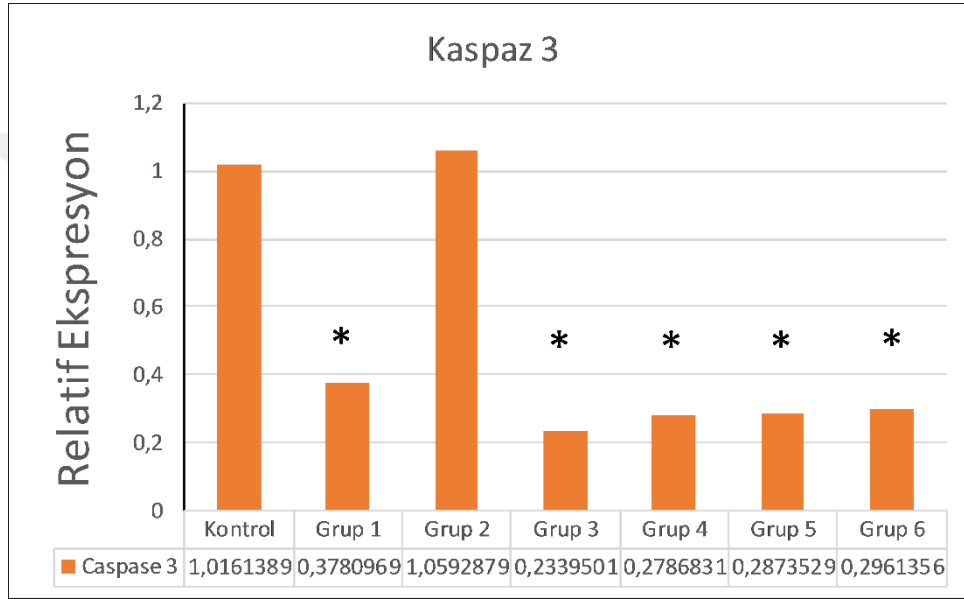


Şekil 7: WST-1 testi sonucundaki hücre sayıları (*kontrol grubuna kıyasla istatistiksel farklılığı (p<0.05) temsil etmektedir).

4.2 Gen Ekspresyon testi bulguları

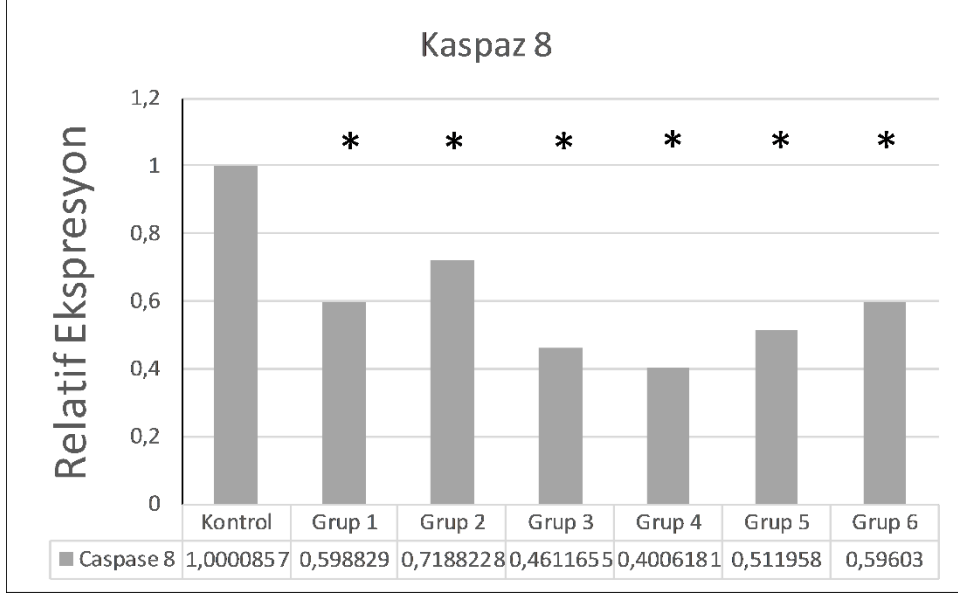
Çalışmamızda direkt kontakt testi sonrasında kaspaz 3, kaspaz 8 ve Anneksin V markerları incelenmiştir.

Kaspaz 3 seviyeleri incelendiğinde; %1 NAC ilave edilmiş 3M Filtek Ultimate grubu hariç tüm gruplarda kontrol grubu ile kıyaslandığında belirgin azalmaların olduğu tespit edilmiştir. Grup 3 en az kaspaz 3 aktivitesinin saptandığı grup olmuştur.



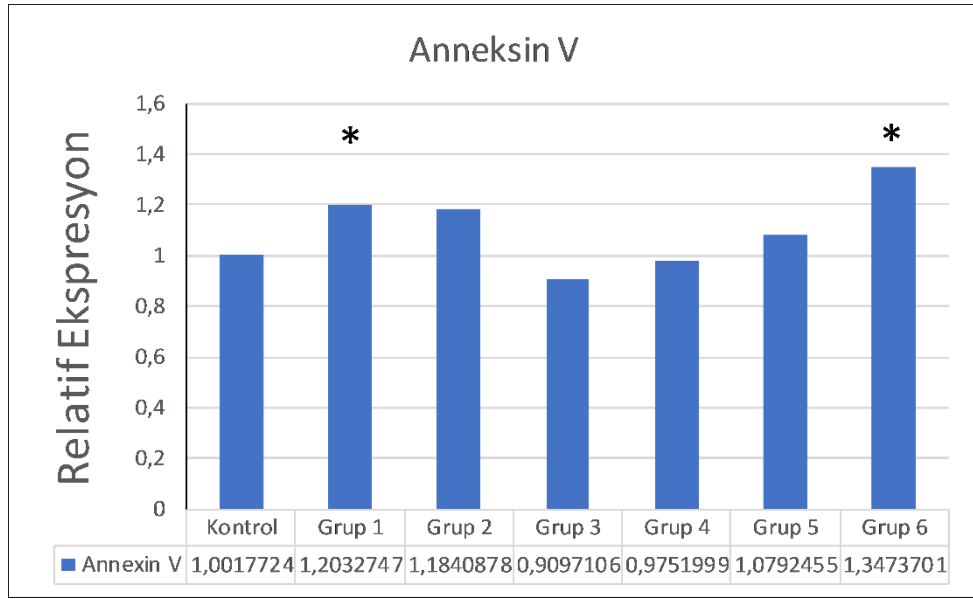
Şekil 8: Test gruplarının kaspaz 3 seviyeleri (*kontrol grubuna kıyasla istatistiksel farklılığı ($p<0.05$) temsil etmektedir).

Kaspaz 8 seviyeleri incelendiğinde; tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bir azalma tespit edilmiştir. Test grupları arasında en düşük değerler Grup 4 de, en yüksek değerler ise Grup 2 de tespit edilmiştir.



Şekil 9: Test gruplarının Kaspaz 8 seviyeleri (*kontrol grubuna kıyasla istatistiksel farklılığı ($p < 0.05$) temsil etmektedir).

Anneksin V seviyeleri incelendiğinde; Grup 1 ve Grup 6'nın kontrol grubuna kıyasla daha yüksek Annexin V aktivitesi gösterdiği saptanmıştır. Bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır. ($P < 0,05$) Grup 3 en düşük Anneksin V seviyelerinin saptandığı grup olmuştur.



Şekil 10: Test gruplarının Anneksin V seviyeleri (*kontrol grubuna kıyasla istatistiksel farklılığı ($p < 0.05$) temsil etmektedir).

5- TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, dişeti rengindeki iki kompozit ve bir geleneksel kompozitin biyoyumluluk parametreleri incelenmiş ve karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızın birinci hipotezi kabul edilmiştir. NAC ilave edilmiş ve edilmemiş dişeti rengindeki iki kompozitin ve bir geleneksel kompozitin L929 fare fibroblast hücreleri üzerinde herhangi bir toksik etkisi saptanmamıştır ($p>0,05$).

İkinci hipotezimiz ise; test edilen kompozitlerin Apoptozis markerları olan Kaspaz 3, Kaspaz 8 ve Anneksin V seviyelerinde değişimlere neden olması ($p<0,05$) nedeni ile reddedilmiştir.

Diğer kimyasallarda olduğu gibi dental materyallerin değerlendirilmesi için ilk adım *in vitro* sitotoksosite testleridir. *In-vitro* testler dental materyallerin olası sitotoksitesini tahmin etmek için kullanılır. Bir sonraki adımda biyolojik analiz, büyük ölçüde hayvan deneylerine bağlıdır. Bir dental materyal uygulanmada kullanılmadan önce, vücuttaki lokal ve sistemik etkisini belirlemek için her zaman çeşitli laboratuvar hayvanlarında kapsamlı bir şekilde değerlendirilmelidir.^(204, 205) Dahası, *in vivo* testler, insanda karşılaşılabilecek potansiyel toksik riskleri tahmin etmeye yardımcı olur. Dental materyal hasta üzerinde denenecek olduğunda, fizyolojik durumda sürekli tükürük oluşumu salınan kompozit bileşenlerin seyrelmesine yol açabileceğinden, bu verilerin kolayca klinik duruma dönüştürülemeyebileceği vurgulanmaktadır.

Hücre kültürü uygulanmasında, canlı dokulardan parçalar alınarak *in vitro* koşullarda yaşama ve çoğalmaları sağlanmaktadır.⁽²⁰⁵⁾ Hücre kültür test yöntemlerinin kolaylıkla tekrarlanabilir olması, hayvan deneylerine göre daha kolay uygulanması, ucuz olması ve daha az deney hayvanının kullanılması başlıca avantajlarıdır.⁽²⁰⁴⁾

Sitotoksosite testlerinin hücre metabolizmasının diğer etkenlerden bağımsız olarak test edilebilmesi, çok sayıdaki örneğin hızlı ve düşük maliyetli olarak incelenebilmesi, sonuçların kantitatif olarak elde edilebilmesi, kullanım testlerine göre daha hassas

sonuçların elde edilmesi, test yöntemlerini standardize edebilme potansiyeline sahip olması gibi avantajları vardır.

Literatürde dental materyallerin hücreler üzerindeki biyolojik etkilerini araştırmak için, deney hedefleri doğrultusunda birçok farklı hücre türü fare fibroblastları (L929, 3T3), insan epitelial hücreleri (HeLa) kullanılmıştır. ⁽²⁰⁶⁾ L929 fibroblast hücreleri, oksidatif stres kaynaklı sitotoksisiteyi araştırmak için sıklıkla kullanılmaktadır. ⁽²⁰⁷⁻²⁰⁹⁾ Toksik maddelerin L929 hücreleri ve insan dişeti fibroblastları üzerinde benzer sonuçlar gösterdiği belirtilmiştir. L929 fibroblast analizlerinin sitotoksitenin *in vitro* değerlendirilmesi için yeterli tarama modelleri olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Çeşitli çalışmalarda^(136, 210) L929 fare fibroblastlarının birincil insan dişeti fibroblastlarıyla karşılaştırılabilir sonuçlar gösterdiği ve bu nedenle *in vitro* dişeti toksisitesi için bir model temsil edebileceği sonucuna ulaşılmıştır. Deneysel tasarımın varyasyonları, sonuçlar üzerinde farklı fibroblast kökenlerinden daha fazla etki gösterir. Bu çalışmada, insan fibroblast hücrelerine benzer özellikler taşımaları, birincil hücrelere kıyasla kullanımdaki avantajları, sonuçların tekrarlanabilirliği ve kullanılabirliği nedeniyle L929 hücre çizgisi seçilmiştir. ^(139, 210)

MTT testi hücre canlılığının araştırılmasında sıkça kullanılan bir testtir. MTT bileşiği sarı renkli, pozitif yüklü bir bileşik olup, hücre membranını kolaylıkla geçerek hücre içinde indirgenebilir ancak sonuçta oluşan mor renkli formazan, suda çözünmeyen bir bileşik oluşturur. Bu bileşiğin absorbansının ölçülebilmesi için uygun bir çözücü gerekmektedir. ⁽²¹¹⁾ MTT testinde çözücü uygulama sırasında formazan kristallerinin zarar görmesi testin güvenilirliğini düşürmektedir. ⁽²¹²⁾ Bu nedenle çalışmamızda nispeten daha az toksik etkiler gösteren ve daha iyi bir çözünürlük özellikleri gösteren ve yüksek tekrarlanabilirliğe sahip olan WST-1 sistemi tercih edilmiştir.

Çalışmamızda direkt kontakt testi sonucunda kontrol grubu ile kıyaslandığında hiçbir grupta sitotoksik bir etki tespit edilmemiştir. Literatürde diş eti rengindeki kompozitlerin sitotoksitesini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda test edilen bir diğer kompozit 3M Filtek Ultimate'dir. Rajic ve arkadaşları⁽²¹³⁾, çalışmamıza benzer şekilde insan lenfosit hücrelerinde 3M Filtek Ultimate'in sitotoksik ve genotoksik bir etki oluşturmadığı sonucuna ulaşmışlardır.

Yazarlar ayrıca polimerize olmamış materyalin sitotoksik ve genotoksik özellikleri olduğunu bildirmişlerdir.

Şişman ve arkadaşları ⁽²¹⁴⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, beş bulk-fill kompozit rezin, Filtek Bulk Fill, Tetric EvoCeram Bulk Fill, Sonic Fill, X-trafil ve SDR'nin sitotoksitesisi insan pulpa kök hücrelerinde test edilmiştir. WST-1 testi sonucunda Filtek Bulk Fill grubunda ilk gün için daha yüksek hücre canlılığı tespit edilmiş ancak hücrelere canlılığının bir hafta inkübasyon süresi boyunca genel olarak düştüğü bildirilmiştir.

Kole bölgesindeki restorasyonların yerleştirilmesi aşamasında gingival dokular çeşitli nedenlerle zarar görebilir. İzolasyonun sağlanması aşamasındaki rubber dam uygulanması (Greenbaum ve Strassler, 1994) veya kord uygulanması, kavite preparasyonu sırasındaki sıcaklık artışı (Cavalcanti ve ark., 2002) veya döner aletlerin mekanik teması gingival hücrelerde lokal bir enflamasyon uyarımını tetikleyebilir. Aynı şekilde materyalin polimerizasyonu için kullanılan ışık cihazının oluşturduğu ışık ve sıcaklık bu bölgedeki hücreler üzerinde çeşitli biyolojik etkiler oluşturabilir (Maucoski ve ark., 2017). Materyal yerleştirildikten hemen sonra tüm bu değişkenleri bir in-vitro çalışmaya birebir yansıtmak imkansızdır. Çalışmamızda örnekler bir hafta saf suda bekletildikten sonra test edilmiştir. Bu sayede klinikteki akut post operatif süreçten ziyade bir hafta sonraki biyolojik etkileşimleri yansıtmak hedeflenmiştir. Bu aynı zamanda çalışmamızın bir sınırlandırmasını oluşturmaktadır çünkü çalışmamızın hedefi dışında olan materyallerin akut etkileri değerlendirilmemiştir. Bu durum çalışmamızda test edilen materyallerin düşük toksik etkiler göstermesinin de bir sebebi olarak değerlendirilebilir.

Poggio ve ark.⁽²¹⁵⁾'nin yaptıkları bir çalışmada geleneksel kompozit ve diş eti kompozitleri ile sınıf V kavitelerin restorasyonları mikrosızıntı açısından karşılaştırılmış ve mikrosızıntılar arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

Literatürde dental kompozitlerin sitotoksik etkilerinin polimerizasyon dereceleri ile yakından ilgili olduğu bildirilmiştir.^(203, 213, 216) Çalışmamızda örneklerimiz klinik

durumu yansıtacak şekilde 2 mm kalınlığında hazırlanmış ve 1000 mW/cm² gücündeki ışık cihazı ile üretici talimatları doğrultusunda polimerize edilmiştir.

Beriat ve ark.⁽²¹⁷⁾ farklı kompozit restoratif materyallerin L929 fare fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini 8, 24, 48 ve 72 saat sonunda incelemişler ve LED ile polimerize edilen kompozitlerin daha az sitotoksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda kompozit rezinlerin polimerizasyonu üreticilerin talimatlarına göre gerçekleştirildi ve test edilen malzemeler için önerilen kürleme, içeriğe bağlı olarak 20-40 sn arasında değişiklik gösterdi. PermaFlo Pink 20 sn, Filtek Ultimate Flowable 20 sn, Amaris Gingiva ise 40 sn boyunca polimerize edilmiştir.

Çalışmamızda kompozit örnekler kahverengi cam şişelerde saf su içinde 37°C'de bir hafta bekletilmiş ve biyolojik etkileri hücre kültürü ortamında 24 saatlik temas sonrasında incelenmiştir.⁽²⁰²⁾

Yapılan çalışmalarda polimerizasyon sonrası artık monomer salımının ilk günlerde yüksek olduğu ve sonrasında salınan maddelerin ihmal edilebilecek düzeyde olduğunu bildirmiştir. Bu bağlamda, kompozit materyallerin dokular üzerindeki sitotoksik etkilerinin ilk 24 saat içinde anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu düşünülmektedir.

(7, 218)

Dental materyallerin toksik etkisi genel olarak polimerize olmamış dental monomerlerden kaynaklanmaktadır. Resin materyallerin yapısında en sık bulunan monomerlerden bazıları HEMA, Bis-GMA, TEGDMA ve UDMA'dır.⁽⁸⁾ Çalışmamızda kullanılan materyallerin tümü Bis-GMA ve TEGDMA monomerlerini içermektedir. Amaris Gingiva ve Filtek Ultimate Flowable içeriğinde ek olarak UDMA bulundurmaktadır. Filtek Ultimate Flowable tüm bu monomerlere ilaveten Bis-EMA-6 ve PEGDMA da içermektedir.

Bis-GMA, HEMA, UDMA ve TEGDMA, 'nın sitotoksikite mekanizmasının mitokondriyal işlev bozukluğu ve inflamatuvar araçların ekspresyonu yoluyla olduğu ve maruziyetten 24-72 saat sonra fare fibroblastlarında toksik etkiler oluşturduğu bildirilmiştir.⁽¹³³⁾ Kobaylar üzerinde yapılan bir in vivo çalışma, HEMA'nın dermatit, tahriş ve aşırı duyarlılığı indüklediğini göstermiştir.⁽²¹⁹⁾

Üç farklı kompozit materyalinin (Herculite XRV, Tetric Ceram ve Filtek Z250) 28 gün içerisinde deiyonize suda monomer salımı çeşitli zaman aralıklarında incelenmiş ve Bis-GMA'nın tüm gruplarda düşük oranda salındığı ve monomerlerin çoğunun maksimum monomer salınımının 7.günde olduğunu saptamışlardır. Filtek Z250 de 21. günde TEGDMA ve BisGMA salınımı gözlenmiş fakat 28. günde herhangi bir salınım gözlenmemiştir.⁽²²⁰⁾ TEGDMA maruziyeti üzerine pulpa hücre ölümünün birincil mekanizmasının apoptoz olduğu belirtilmiştir. Bis-GMA, HEMA ve UDMA ise apoptozdan nekroza konsantrasyona bağlı bir kayma göstermiştir.⁽²²¹⁻²²³⁾

Monomer çeşitliliği ve oranı sitotoksosite üzerinde önemli etkiye sahip olabilir. HEMA ve TEGDMA hidrofilik yapıdayken, Bis-GMA ve UDMA ise hidrofobik yapıdadır.⁽⁴⁾ HEMA ve TEGDMA, BisGMA ve UDMA'ya göre daha düşük sitotoksik etkiler gösterirler ancak viskoziteleri daha düşüktür.^(15, 224, 225) Genellikle polimerik rezin matrisinde bulunan bileşenler arasında Bis-GMA'nın en toksik olduğu, bunu UDMA (üretan dimetakrilat), TEGDMA ve HEMA'nın izlediği bildirilmiştir.⁽¹⁴¹⁾ TEGDMA, kompozitlerin organik rezin matrisini maksimum inorganik partiküllerle zenginleştirmek için kullanılan bir (ko) monomerdur [34].⁽²⁾ Dimetakrilat rezin monomerlerinden çapraz bağlı polimer matrisinin eksik oluşumu, 2-HEMA ve trietilen glikol metakrilat (TEGMA) gibi polimerize olmayan monomerlerin serbest kalmasına yol açar. Bu monomerler dental rezinlerin alerjik etkileriyle ilişkilendirilmiştir. Dermatozun en sık görülen alerjik yanıt olduğu bildirilmiştir.⁽¹³⁹⁾

TEGDMA , insan monositlerinde ısı şok protein ekspresyonunu baskılayabilir.⁽¹⁴³⁾ Ayrıca TEGDMA, mitokondriyal yaralanmalara ve yüksek dozlarda sitotoksositeye neden olur.^(139, 144, 145, 226, 227) Geurtsen ve Leyhausen⁽²²⁸⁾ TEGDMA' nın hidrofilik özelliğe sahip olması nedeniyle ağız boşluğundaki sıvılara geçebileceğini, bu monomerin sadece dentin–pulpa kompleksi için değil aynı zamanda oral ve sistemik dokular için de risk oluşturabileceğini bildirmişlerdir. Hidrofilikliği, yüzey aktif cismi, deterjan benzeri özellikleri ve düşük moleküler ağırlığı, hücre zarından kolayca geçebilmesini sağlar. Modern kompozit formülasyonlardaki nispeten yüksek oranı %20-50, TEGDMA'yı toksisite çalışmaları için incelenmesi gereken bir hedef haline getirmektedir.⁽¹⁴³⁾

Galler ve ark çalışmalarında, 3 mM TEGDMA'nın pulpa hücrelerindeki canlılığı 48 saatte %20'ye düşürdüğünü bulan 0,3 ve 1 mM TEGDMA, çalışmadan 96 saat sonra da canlılığı minimal olarak etkilediğini bulmuşlardır ⁽²²⁹⁾

TEGDMA toksisitesinin mekanizmaları, reaktif oksijen türlerinde (ROS) ve sitokin üretiminde bir artışın yanı sıra oksidatif DNA hasarı, DNA parçalanması ve mikronükleus oluşumunun indüklenmesini içerebilir.^(230, 231) Son çalışmalar, TEGDMA monomerlerinin düşük toksik konsantrasyonlarına maruz kalmanın ardından olası geri kazanım mekanizmalarının haritasını çıkarmaya da odaklandı. Örneğin, TEGDMA'nın anti-inflamatuar molekül TGF β -1'in intrapulpal üretimini ve FGF, PDGF ve VEGF gibi tümü doku tamirinde önemli roller oynayan ve pulpa iyileşmesine katkıda bulunabilen çeşitli diğer büyüme faktörlerini indüklediği gösterilmiştir.⁽²³²⁾ TEGDMA maruziyeti, bölünmüş kaspaz 8'in yanı sıra bölünmüş kaspaz 9 ve kaspaz-3 seviyelerinde önemli bir artışa neden oldu. Çok sayıda çalışma, monomer toksisitesinin ana mekanizmalarından biri olarak ROS üretiminin uyarılmasını doğrulamıştır.^(222, 223, 233) Hem internal hem de eksternal apoptotik yolların monomerler tarafından aktive edildiği bulunmuştur.⁽²³⁴⁾

Lin ve ark.⁽²³⁵⁾ BisGMA, TEGDMA içeren dental rezinlerde konversiyon oranının %50'nin altında kalması durumunda; fare makrofaj hücrelerinde canlı hücre sayısında azalma, apoptotik hücre sayısında artış olduğunu saptamışlar ancak inflamasyon markırları olan TNF- α ve IL-1 β salınımında bir değişikliğe rastlamamışlardır.

TEGDMA, HEMA ve Bis-GMA gibi monomerler, ROS üretimini indüklerler bununla birlikte, tek monomer etkisinin ötesinde, aralarındaki etkileşim de önemlidir. TEGDMA'nın UDMA veya özellikle Bis-GMA ile kombinasyonları test edildiğinde sinerjistik yan etkiler tespit edilmiştir.⁽²²⁴⁾

Polimerize olmayan monomerlerin salınımına ek olarak, dental kompozitlerde katkı ve doldurucu maddelerinin varlığı da bazı endişeler uyandırmıştır. Bisfenol A (BPA), toksisiteye neden olan bu katkı maddelerinden biri olarak kabul edilmektedir.⁽¹⁴⁰⁾

BPA'nın gıda ürünlerinde bulunması nedeniyle, dental kompozit kullanılmadan önce bile tükürükte bulunur.⁽²³⁶⁾ BPA, dental rezinlerde katkı maddesi olarak bulunur ve

kimyasal veya ışığa maruz kaldıktan polimerize olur.⁽¹⁴²⁾ BPA'ya bağlı inflamatuvar etkiler ve toksisiteler, araştırmacıları siloran bazlı kompozitleri geliştirmeye yönlendirdi. Ancak ROS oluşumu ve sitokin salınımı gibi bazı riskler yine de görülebilmektedir. ^(141, 237, 238)

Çalışmamızda Grup 1, 3 ve 4 de kontrol grubu ile kıyaslandığında hücre proliferasyonunda artış olduğu gözlemlenmiştir. 4. Gruba %1 NAC ilave edilmiş olsa da Grup 1 ve Grup 3'ü NAC ilavesiz örnekler oluşturmaktadır. N-asetil sistein, doğal bir aminoasit olan L-sistein'in N-asetillenmiş türevidir, antioksidan özellikler gösteren bir moleküldür.^(20, 239) Hücresel oksidan/antioksidan dengesini sağlayan glutatyonun öncü molekülüdür. Sülfidril grupları, serbest oksijen radikalleri nötralize eder. NAC hücreye girdikten sonra hücre içi redoks dengesini sağlayan glutatyon (GSH) molekülünün öncülü L-sistein'e dönüşür. Bu antioksidan özellik hücreyi oksidatif stresten korur.⁽²⁰⁾ Çalışmamızda ortalama en düşük vitalite değeri Grup 2 de saptanmıştır, ancak kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiki bir fark tespit edilmemiştir.

Apoptoz, hücrenin yoğunlaşması, nükleer parçalanma ve apoptotik cisimlerin oluşumu ile karakterize, enflamasyon olmadan meydana gelen, kontrollü bir hücre ölümü iken, nekroz, hücre membran bütünlüğünün bozulması ve organellerin sızmasına yol açan büyük hücre hasarının bir sonucudur. Bugüne kadar, araştırmalar kaspaz bağımlı ve bağımsız apoptotik yollar olduğunu göstermiştir. İlki, çeşitli proteolitik enzimlerin (kaspazlar) sıralı aktivasyonuna dayanır. İnternal yol, daha sonra sitokrom c salınımı ve prokaspaz 9'un aktivasyonu ile mitokondriyal hasarı içerir. Ekstenal yol, Fas ligandı veya Tümör Nekroz Faktörü-a (TNF-a) gibi ligandlar tarafından aktive edilen bir ölüm reseptöründen kaynaklanan sinyallere dayanır ve prokaspaz-8'in aktivasyonunu ve ardından kaspaz-3 üzerindeki intrinsik yola geçişi içerir.⁽¹⁵⁴⁾

Çalışmalar, NAC'nin, kullanılan çeşitli dental materyaller nedeniyle oluşan reaktif oksijen moleküllerinin yarattığı hücre hasarını engellemede etkili olduğunu göstermiştir.^(20, 240, 241) İnsan dental mezenkimal hücrelerinde TEGDMA'ya maruz kaldıktan sonra asidik veziküller ve otofaji vakuollerinin oluşumu ve LC3-II birikimi

dahil olmak üzere otofajinin farklı oluşum özellikleri gösterilmiştir. N-asetil tedavisi, otofajiyi ve dolayısıyla TEGDMA'nın toksisitesini inhibe edebilir.⁽¹⁴⁵⁾

Kompozitlere düşük miktarda NAC ilave edilmesinin dönüşüm derecesi üzerinde olumsuz etkileri olmadığı gözlenmiştir.⁽²⁴²⁾ NAC, serbest radikalleri doğrudan tiyol yan zinciri yoluyla ve aynı zamanda hücre içi glutatyon (GSH) içeriğinin artmasıyla da temizleyebilir.⁽²³⁷⁾ Ek olarak, kanıtlar, NAC'nın metakrilik gruplar ile reaksiyona girerek serbest dental rezin monomer mevcudiyetini azalttığını göstermektedir.^(9, 18)

Oksijen yaşam için gerekli olmasına rağmen üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda zarar verme potansiyeline sahiptir.⁽²⁴³⁾ Serbest radikallerin oluşturduğu reaktif oksijen molekülleri normal oksijene göre kimyasal olarak daha reaktiftir.⁽²⁴⁴⁾ Serbest radikaller, dış yörüngede çift bağ oluşturmamış bir ya da daha çok elektron içeren yüksek enerjili, bileşiklerdir.⁽²⁴⁵⁾ Bu elektronlar serbest radikal reaktivliğini artırarak DNA, protein, lipit ve nükleotid koenzimler gibi biyolojik yapılara zarar vermektedir. Bu nedenle yaşlanma, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, immün sistemi baskılama, nörolojik rahatsızlıklar gibi hastalıklara neden olmaktadır.^(16, 243)

Hipoksi, açlık, kemoterapi ve çeşitli endojen ve eksojen mekanizmalar yoluyla apoptozis yani programlanmış hücre ölümü mekanizması indüklenir. Apoptozis süreç sırasında meydana gelen birçok biyokimyasal olaydaki markerlar kullanılarak tespit edilebilir.⁽¹⁹²⁾ Kaspazlar apoptozis sürecinde görev alan sistein-proteaz grubu enzimlerdir ve apoptotik yolakta rol oynayan temel mediyatörlerdir.^(169, 172) Hücrelerde eksternal apoptoz yolu, hücre yüzeyindeki ölüm reseptörlerine sinyallerin bağlanması ile buradaki reseptörlerin devreye alınmasını ve başlatıcı kaspaz 8'in aktivasyonunu içerir.⁽¹⁷¹⁾ Etkinleştirilen kaspaz 8, daha sonra yürütücü kaspaz olan kaspaz 3'ü aktive eder. Kaspaz 8 apoptozis sürecinde başlatıcı kaspazlar arasında yer alırken, kaspaz 3 ise efektör kaspaz olarak adlandırılır ve sürecin yürütülmesinde görev alır.

Çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda kaspaz 8 seviyelerinde bir düşüşün olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Lovasz ve arkadaşları⁽²³⁴⁾ TEGDMA'nın pulpa hücrelerinde düşük konsantrasyonlarda (0,1 mM) kaspaz 3 ve kaspaz 8

salınımının değiştirmediğini ancak daha yüksek konsantrasyonlarda bahsedilen bu kaspaz salınımlarını artırdığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda Kaspaz 8 seviyeleri kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak belirgin bir şekilde azalmıştır ($p<0.05$). Başlatıcı kaspaz olan kaspaz 8 seviyesinde görülen bu azalma efektör kaspaz olarak işlev gören kaspaz 3 seviyelerini de etkileyip azaltabilir. Bu sonuçlar çalışmamızın sonuçları ile farklılık göstermektedir. Bu durumun nedeni Lovasz ve arkadaşlarının doğrudan TEGDMA monomerini test etmiş olmaları olabilir. Çalışmamızda test ettiğimiz materyaller TEGDMA dışında da birçok monomer içermektedir.

WST-1 testi sonuçları incelendiğinde Grup 2' nin en düşük hücre proliferasyonu tespit edilen grup olduğu görülmektedir. Kaspaz 8 seviyelerinde de en az azalma grup 2 de tespit edilmiştir. Ancak kaspaz 3 seviyeleri incelendiğinde grup 2'nin kontrol grubu ile kıyaslandığında diğer gruplardan farklı olarak istatistiksel olarak belirgin bir azalma göstermediği görülmektedir.

Anneksin bazı hücresel proteinleri adlandırmada kullanılan genel bir addır. Anneksin V ise apoptozis meydana gelen hücrede plazma dışına geçen fosfatidilserine bağlanabilen bir proteindir. Anneksin V floresan boyama ile apoptotik hücreyi görünür hale getirir.

Çalışmamızda en yüksek Anneksin V seviyesi Grup 1 ve Grup 6 da saptanmıştır ($P<0,05$). Diğer gruplardaki değişimler kontrol grubu ile kıyaslandığında bir farklılık göstermemektedir.

Schmalz ve arkadaşları⁽²⁴⁶⁾ iki farklı kompozit rezinin insan gingivoblast hücreleri ile direkt temas halinde bulunması ile apoptozis markerları olan kaspaz 9 ve Anneksin V'in artış gösterdiğini, kaspaz 3 ve kaspaz 8 seviyelerinde ise belirgin bir değişimin olmadığını bildirmişlerdir. Grup 2 de tespit edilen Anneksin V seviyesi kontrol grubundan daha yüksek olsa da istatistiksel bir farklılık göstermemiştir.

Kompozit rezinlere %1 oranında NAC ilavesi 3M Filtek grubunda hücrelerin proliferasyon oranını azaltmış, kontrol grubu seviyesine indirgemmiştir ($p>0,05$). Kaspaz 3 seviyelerinde ise kontrol grubu ile kıyaslandığında artışa sebep olmuştur.

Anneksin V seviyeleri de benzer şekilde kontrol grubu ile istatistiksel fark göstermeyecek değerlere indirgenmiştir.

Diş eti rengindeki kompozitlerden birisi olan PermaFlo grubunda, NAC ilavesi kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece PermaFlo ile hücre proliferasyonunda tespit edilen belirgin hücre sayısı artışı devam etmiştir. Ayrıca kaspaz 3 ve kaspaz 8 markerlarının seviyelerinde kontrol grubu ile kıyaslandığında tespit edilen belirgin azalmaları da engelleyememiştir. Anneksin V seviyesi ise kontrol grubu ile benzer değerler göstermiştir.

Amaris Gingiva WST-1 testi sonuçlarına göre kontrol grubu ile benzer proliferasyon oranları göstermiştir. NAC ilavesi bu oranları değiştirmemiştir. Kaspaz 3 ve kaspaz 8 seviyeleri NAC ilavesi sonucunda da kontrol grubu seviyelerinden farklılık göstermektedir ($p>0,05$). Anneksin V seviyeleri incelendiğinde ise NAC ilavesinin bir artışa neden olduğu saptanmıştır.

Lottner ve arkadaşlarının çalışmasına göre⁽²⁴⁷⁾ ağırlıkça %1 NAC ilavesi kompozit üzerinde dönüşüm derecesi ve monomer salınımını etkilememektedir.

Dental komonomer kaynaklı DNA-DSB (Çift iplik kırınımı-çekirdek hasarı) ve sitotoksiteyi azaltabilecek yeterli miktarda antioksidan sağlamaktadır. 50uM NAC'den daha yüksek konsantrasyonlar, HGF'lerde kontrole kıyasla dental (ko) monomer ara ürün ve bunların epoksi metabolitleri tarafından indüklenen DNA çift bağlarının kırılmasında önemli bir azalmaya neden olmuştur.

NAC'nin koruyucu etkileri üç yöne atfedilebilir. İlk olarak, aşırı üretilen ROS'u doğrudan temizleyebilir. İkincisi, sistein veren bir bileşik olarak NAC, dental monomer tedavisinden sonra tükenmiş GSH havuzunu yenilemek için GSH'nin hücrel öncüsü olarak görev yapar.⁽²⁴⁸⁾ Üçüncüsü, son yayınlara göre, NAC ayrıca Michael tipi ekleme reaksiyonu yoluyla dental monomerlerin metakrilik grubu ile doğrudan reaksiyona girebilir ve böylece serbest dental monomerlerin mevcudiyetini azaltabilir.⁽²⁴⁹⁻²⁵¹⁾



6.SONUÇ

Bu tez çalışmasında dişlerin kole bölgelerinde, dişetlerine komşu olarak yerleştirilen iki diş eti rengindeki kompozitin ve bir akıcı kompozitin fare fibroblast hücreleri üzerindeki bazı biyolojik etkileri araştırılmıştır. Ayrıca test edilen kompozitlere % 1 oranında N-asetilsistein ilavesinin bu biyolojik parametreleri nasıl etkilediği incelenmiştir. Bu hücre kültürü çalışmasının sınırları çerçevesinde; aşağıdaki sonuçlara varılabilir.

- 1- Test edilen kompozitlerden (Filtek Ultimate, PermaFlo Pink ve Amaris Gingiva) hiçbiri 24 saatlik direkt kontakt testi sonucunda L929 fare fibroblast hücreleri üzerinde doğrudan sitotoksik bir etki oluşturmamıştır ($p>0,05$).
- 2- Filtek Ultimate ve PermaFlo Pink gruplarında 24 saat sonunda hücre proliferasyonunda kontrol grubuna göre belirgin hücre sayısı artışı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Amaris Gingiva grubu kontrol grubuyla benzer hücresel artış göstermiştir ($p>0,05$).
- 3- %1 oranında N-asetilsistein ilavesi Filtek Ultimate grubunda hücre proliferasyonundaki artışı kontrol grubu seviyesine indirmiş ($p>0,05$) ancak PermaFlo Pink grubunda hücre sayısındaki belirgin artış devam etmiştir ($p<0,05$). N-asetilsistein ilave edilen Amaris Gingiva grubu yine kontrol grubuyla benzer hücresel artış göstermiştir ($p>0,05$).
- 4- Bir başlatıcı kaspaz olan kaspaz 8 seviyeleri incelendiğinde tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla bu enzim seviyesinde belirgin düşüşler tespit edilmiştir ($p<0,05$).
- 5- Bir efektör kaspaz olan kaspaz 3 seviyeleri incelendiğinde ise N-asetilsistein ilave edilmiş Filtek Ultimate grubu dışında ($p>0,05$) tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla belirgin düşüşler tespit edilmiştir ($p<0,05$).
- 6- Anneksin V seviyeleri Filtek Ultimate grubunda ve N-asetilsistein ilave edilmiş Amaris Gingiva gruplarında kontrol grubundan yüksek değerlere ulaşmıştır ($p<0,05$).

Çalışmamızın sonuçları test edilen kompozit örneklerinin L929 hücreleri üzerinde doğrudan bir sitotoksik etki oluşturmadığını ancak apoptotik yolak üzerindeki kaspaz 3, kaspaz 8 ve Aneksin V salınımlarını değiştirerek, apoptotik süreci etkilediğini ve %1 oranında N-asetilsistein ilavesinin bu etkileri baskılamada etkili olmadığını göstermektedir. Laboratuvar şartlarında yürütülen bu çalışmanın ağız ortamındaki koşulları tam olarak yansıtamayacağı göz önünde bulundurulmalıdır. Dental materyallerin biyolojik etkilerini net olarak belirleyebilmek için ilave laboratuvar ve klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



KAYNAKÇA

1. Sakaguchi RL, Powers JM. Craig's restorative dental materials-e-book: Elsevier Health Sciences; 2012.
2. Hickel R, Dasch W, Janda R, Tyas M, Anusavice K. New direct restorative materials. International Dental Journal 1998;48(1):3-16.
3. Peumans M, Politano G, Van Meerbeek B. Treatment of noncarious cervical lesions: when, why, and how. Int J Esthet Dent 2020;15(1):16-42.
4. Schmalz G, Arenholt-Bindslev D. Biocompatibility of dental materials: Springer; 2009.
5. Khan AA, Zafar MS, Ali A Ghubayri A, et al. Polymerisation of restorative dental composites: influence on physical, mechanical and chemical properties at various setting depths. Materials Technology 2020;1-7.
6. Ritter AV. Sturdevant's art & science of operative dentistry-e-book: Elsevier Health Sciences; 2019.
7. Ferracane J. Elution of leachable components from composites. Journal of oral rehabilitation 1994;21(4):441-52.
8. Gorgen VA, Guler C. Residual Monomer in Dentistry: A Literature Review [Diş Hekimliğinde Artık Monomerler: Bir Literatür Derlemesi]. Medicine Science 2015;4(1):2024-38.
9. Schweikl H, Schmalz G. Triethylene glycol dimethacrylate induces large deletions in the hprt gene of V79 cells. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 1999;438(1):71-78.
10. Schmalz G, Schuster U, Nuetzel K, Schweikl H. An in vitro pulp chamber with three-dimensional cell cultures. Journal of endodontics 1999;25(1):24-29.
11. Schmalz G. The biocompatibility of non-amalgam dental filling materials. European journal of oral sciences 1998;106(2 Pt 2):696-706.
12. Ergücü Z, Pamir T, Ercan E, Önal B. Diş eti rengindeki kompozit reçinelerinsınıf V kavitelerdeki mikrosızıntısının incelenmesi. Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry 2013;47(2):20-29.
13. Kim J, Cho J, Lee Y, Cho B. The survival of class V composite restorations and analysis of marginal discoloration. Operative Dentistry 2017;42(3):E93-E101.
14. An H-S, Park J-M, Park E-J. Evaluation of shear bond strengths of gingiva-colored composite resin to porcelain, metal and zirconia substrates. The journal of advanced prosthodontics 2011;3(3):166-71.
15. Janke V, Von Neuhoff N, Schlegelberger B, Leyhausen G, Geurtsen W. TEGDMA causes apoptosis in primary human gingival fibroblasts. Journal of dental research 2003;82(10):814-18.
16. Koca N, Karadeniz F. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. Gıda Mühendisliği Dergisi 2003;16:32-37.
17. Saldır Y. Bazı mantarların antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması [Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2015.
18. Pei Y, Liu H, Yang Y, et al. Biological activities and potential oral applications of N-acetylcysteine: progress and prospects. Oxidative medicine and cellular longevity 2018;2018.
19. Mokhtari V, Afsharian P, Shahhoseini M, Kalantar SM, Moini A. A review on various uses of N-acetyl cysteine. Cell Journal (Yakhteh) 2017;19(1):11.
20. Ezgi Aslantaş E. İnflame Hücrelerde Kalsiyum Hidroksit ve N-Asetil Sistein'in Yıkım Enzimleri Üzerine Etkinliğinin Belirlenmesi [Doktora Tezi]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi 2013.
21. Martacic J, Filipovic MK, Borozan S, et al. N-acetyl-L-cysteine protects dental tissue stem cells against oxidative stress in vitro. Clinical oral investigations 2018;22(8):2897-903.
22. Goldberg M, Six N, Decup F, et al. Application of bioactive molecules in pulp-capping situations. Advances in dental research 2001;15(1):91-95.

23. Jiao Y, Ma S, Wang Y, et al. N-Acetyl cysteine depletes reactive oxygen species and prevents dental monomer-induced intrinsic mitochondrial apoptosis in vitro in human dental pulp cells. *PloS one* 2016;11(1):e0147858.
24. Teixeira DNR, Zeola LF, Machado AC, et al. Relationship between noncarious cervical lesions, cervical dentin hypersensitivity, gingival recession, and associated risk factors: A cross-sectional study. *Journal of dentistry* 2018;76:93-97.
25. Nanci A. *Ten Cate's Oral Histology-e-book: development, structure, and function*: Elsevier Health Sciences; 2017.
26. Glauser R, Sailer I, Wohlwend A, et al. Experimental zirconia abutments for implant-supported single-tooth restorations in esthetically demanding regions: 4-year results of a prospective clinical study. *International Journal of Prosthodontics* 2004;17(3).
27. Simon H. Gingival-colored ceramics for enhanced esthetics. *Quintessence Dent Technol* 2002;25:155-57.
28. Priest G, Lindke L. Gingival-colored porcelain for implant-supported prostheses in the aesthetic zone. *Practical periodontics and aesthetic dentistry: PPAD* 1998;10(9):1231-40; quiz 42.
29. Cronin R, Wardle W. Loss of anterior interdental tissue: Periodontal and prosthodontic solutions. *The Journal of prosthetic dentistry* 1983;50(4):505-09.
30. Duncan JD, Swift Jr EJ. Use of Tissue-Tinted Porcelain to Restore Soft-Tissue Defects. *Journal of Prosthodontics* 1994;3(2):59-61.
31. Hannon SM, Colvin CJ, Zurek DJ. Selective use of gingival-toned ceramics. *Quintessence International* 1994;25(4).
32. Zalkind M, Hochman N. Alternative method of conservative esthetic treatment for gingival recession. *Journal of Prosthetic Dentistry* 1997;77(6):561-63.
33. Garcia LT, Verrett RG. Metal-ceramic restorations--custom characterization with pink porcelain. *Compendium of continuing education in dentistry (Jamesburg, NJ: 1995)* 2004;25(4):242, 44, 46 passim-42, 44, 46 passim.
34. Malament KA, Neeser S. Prosthodontic management of ridge deficiencies. *Dental Clinics* 2004;48(3):735-44.
35. Gardner FM, Stankewitz CG. Using removable gingival facades with fixed partial dentures. *The Journal of prosthetic dentistry* 1982;47(3):262-64.
36. Cura C, Saraçoğlu A, Çötert HS. Alternative method for connecting a removable gingival extension and fixed partial denture: a clinical report. *The Journal of prosthetic dentistry* 2002;88(1):1-3.
37. Greene P. The flexible gingival mask: an aesthetic solution in periodontal practice. *British dental journal* 1998;184(11):536-40.
38. Carlson A. Introduction to the Andrews System of restorative dentistry. *Quintessence of dental technology* 1979;3(2):27-34.
39. Everhart RJ, Cavazos Jr E. Evaluation of a fixed removable partial denture: Andrews bridge system. *The Journal of prosthetic dentistry* 1983;50(2):180-84.
40. Yoeli Z, Samet N, Miller V. Conservative approach to posttraumatic treatment of maxillary anterior teeth: A clinical report. *Journal of Prosthetic Dentistry* 1997;78(2):123-26.
41. Carvalho W, Barboza EP, Gouvea CV. The use of porcelain laminate veneers and a removable gingival prosthesis for a periodontally compromised patient: A clinical report. *The Journal of prosthetic dentistry* 2005;93(4):315-17.
42. Morgano SM, Verde MAL, Haddad MJ. A fixed-detachable implant-supported prosthesis retained with precision attachments. *The Journal of prosthetic dentistry* 1993;70(5):438-42.
43. Brygider RM. Precision attachment-retained gingival veneers for fixed implant prostheses. *The Journal of prosthetic dentistry* 1991;65(1):118-22.
44. Salari M, Khiabani MS, Mokarram RR, Ghanbarzadeh B, Kafil HS. Development and evaluation of chitosan based active nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Food Hydrocolloids* 2018;84:414-23.

45. Coachman C, Calamita M. The reconstruction of pink and white esthetics. *Int Dent SA* 2010;12(3):88-93.
46. Saavedra G, Neisser MP, Sinhoreti MAC, Machado C. Evaluation of bond strength of denture teeth bonded to heat polymerized acrylic resin denture bases. *Brazilian Journal of Oral Sciences* 2016;458-64.
47. Salama M, Coachman C, Garber D, et al. Prosthetic gingival reconstruction in the fixed partial restoration. Part 2: diagnosis and treatment planning. *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* 2009;29(6).
48. Salama M, Garber D, Calamita M, Salama H. Prosthetic gingival reconstruction in fixed partial restorations. Part 3: laboratory procedures and maintenance. *Restorative Dent* 2010;30:19-29.
49. Gürel G, Gürel G. The science and art of porcelain laminate veneers: Quintessence Berlin; 2003.
50. Bartlett D, Smith BG. Definition, classification and clinical assessment of attrition, erosion and abrasion of enamel and dentine. *Tooth Wear and Sensitivity*. London, Martin Dunitz 2000:87-92.
51. Çelik Ç, Özgünaltay G, Attar N. Diş aşınmaları. *Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Derg.*(. Clinical Dentistry and Research) 2007;31(2):22-30.
52. Soares PV, Grippo JO. Noncarious cervical lesions and cervical dentin hypersensitivity: etiology, diagnosis, and treatment: Quintessence Publishing; 2017.
53. Levitch L, Bader J, Shugars D, Heymann H. Non-carious cervical lesions. *Journal of Dentistry* 1994;22(4):195-207.
54. Wood I, Jawad Z, Paisley C, Brunton P. Non-carious cervical tooth surface loss: a literature review. *Journal of dentistry* 2008;36(10):759-66.
55. Borcic J, Anic I, Urek M, Ferreri S. The prevalence of non-carious cervical lesions in permanent dentition. *Journal of oral rehabilitation* 2004;31(2):117-23.
56. Bernhardt O, Gesch D, Schwahn C, et al. Epidemiological evaluation of the multifactorial aetiology of abfractions. *Journal of Oral Rehabilitation* 2006;33(1):17-25.
57. Zuza A, Racic M, Ivkovic N, et al. Prevalence of non-carious cervical lesions among the general population of the Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina. *International dental journal* 2019;69(4):281-88.
58. Pecie R, Krejci I, Garcia-Godoy F, Bortolotto T. Noncarious cervical lesions—A clinical concept based on the literature review. Part 1: Prevention. *American Journal of Dentistry* 2011;24(1):49.
59. Grippo JO, Simring M, Coleman TA. Abfraction, abrasion, biocorrosion, and the enigma of noncarious cervical lesions: A 20-year perspective. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 2012;24(1):10-23.
60. Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. *European journal of oral sciences* 1996;104(2):151-55.
61. Watson I, Tulloch E. Clinical assessment of cases of tooth surface loss. *British dental journal* 1985;159(5):144-48.
62. Bishop K, Kelleher M, Briggs P, Joshi R. Wear now? An update on the etiology of tooth wear. *Quintessence International* 1997;28(5).
63. Hattab FN, Yassin OM. Etiology and diagnosis of tooth wear: a literature review and presentation of selected cases. *International Journal of Prosthodontics* 2000;13(2).
64. Litonjua LA, Andreana S, Bush PJ, Cohen RE. Tooth wear: Attrition, erosion, and abrasion. *Quintessence international* 2003;34(6).
65. Akgül HM, Akgül N, Karaoglanoglu S, Özdebak N. A survey of the correspondence between abrasions and tooth brushing habits in Erzurum, Turkey. *International dental journal* 2003;53(6):491-95.
66. Bergström J, Lavstedt S. An epidemiologic approach to toothbrushing and dental abrasion. *Community dentistry and oral epidemiology* 1979;7(1):57-64.

67. Saxton C, Cowell C. Clinical investigation of the effects of dentifrices on dentin wear at the cemento-enamel junction. *The Journal of the American Dental Association* 1981;102(1):38-43.
68. Fraleigh CM, MC Elhaney JH, Heiser RA. Toothbrushing force study. *Journal of dental research* 1967;46(1):209-14.
69. Litonjua LA, Andreana S, Bush PJ, Tobias TS, Cohen RE. Wedged cervical lesions produced by toothbrushing. *American journal of dentistry* 2004;17(4):237-40.
70. Perry DA. Plaque control for the periodontal patient. *Carranza's clinical periodontology* 2006;10:728.
71. MacGregor I, Rugg-Gunn A. A survey of toothbrushing sequence in children and young adults. *Journal of periodontal research* 1979;14(3):225-30.
72. Sangnes G. Traumatization of teeth and gingiva related to habitual tooth cleaning procedures. *Journal of clinical periodontology* 1976;3(2):94-103.
73. Lobene RR. Effect of dentifrices on tooth stains with controlled brushing. *The Journal of the American Dental Association* 1968;77(4):849-55.
74. Bulut AC, Türkoğlu Ö. Diş aşınmalarının etiyojisi, prevalansı ve patogenezi. *Turkish Journal of Clinics and Laboratory*;9(2):137-43.
75. Kopycka-Kedzierawski DT, Meyerowitz C, Litaker MS, et al. Management of Dentin Hypersensitivity by National Dental Practice-Based Research Network practitioners: results from a questionnaire administered prior to initiation of a clinical study on this topic. *BMC oral health* 2017;17(1):41.
76. Terry DA, McGUIRE MK, McLAREN E, Fulton R, SWIFT EJ. Perioesthetic approach to the diagnosis and treatment of carious and noncarious cervical lesions: Part I. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 2003;15(4):217-32.
77. Wang X, Lussi A. Assessment and management of dental erosion. *Dental Clinics* 2010;54(3):565-78.
78. Atila E, Eden E. Dental erozyon: etiyojisi, tanı ve tedavi yaklaşımı. *Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 2011;33(2):56-63.
79. Young W, Khan F. Sites of dental erosion are saliva-dependent. *Journal of oral rehabilitation* 2002;29(1):35-43.
80. Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries research* 2004;38(Suppl. 1):34-44.
81. Kreulen C, Van't Spijker A, Rodriguez J, et al. Systematic review of the prevalence of tooth wear in children and adolescents. *Caries research* 2010;44(2):151-59.
82. Ganss C, Klimek J, Giese K. Dental erosion in children and adolescents—a cross-sectional and longitudinal investigation using study models. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 2001;29(4):264-71.
83. El Aidi H, Bronkhorst EM, Huysmans MCD, Truin G-J. Dynamics of tooth erosion in adolescents: a 3-year longitudinal study. *Journal of Dentistry* 2010;38(2):131-37.
84. Lussi A. Dental erosion: from diagnosis to therapy: Karger Medical and Scientific Publishers; 2006.
85. Rees J, Hammadeh M, Jagger D. Abfraction lesion formation in maxillary incisors, canines and premolars: a finite element study. *European journal of oral sciences* 2003;111(2):149-54.
86. Kidd EA, Fejerskov O. *Essentials of dental caries*: Oxford University Press; 2016.
87. Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *Journal of dental research* 2011;90(3):294-303.
88. Simón Soro Á. Dental caries etiopathogenesis: microbial composition, functional activity and host recognition. 2015.
89. Fisher J, Glick M, Committee FWDFS. A new model for caries classification and management: the FDI World Dental Federation caries matrix: Elsevier; 2012.
90. Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E. *Dental caries: the disease and its clinical management*: John Wiley & Sons; 2015.

91. Nyvad B, Fejerskov O. Assessing the stage of caries lesion activity on the basis of clinical and microbiological examination. *Community dentistry and oral epidemiology* 1997;25(1):69-75.
92. Nyvad B, Machiulskiene V, Baelum V. Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesions. *Caries research* 1999;33(4):252-60.
93. Nyvad B, Machiulskiene V, Baelum V. Construct and predictive validity of clinical caries diagnostic criteria assessing lesion activity. *Journal of dental research* 2003;82(2):117-22.
94. Silverstone L. The structure and ultrastructure of the carious lesion in human dentin. *Gerodontology* 1985;1:185-95.
95. Boushell L, Nagaoka H, Yamauchi M. Increased matrix metalloproteinase-2 and bone sialoprotein response to human coronal caries. *Caries research* 2011;45(5):453-59.
96. Bjorndal L, Kidd EA. The treatment of deep dentine caries lesions. *Dental update* 2005;32(7):402-13.
97. Ekstrand K, Ricketts D, Kidd E. Do occlusal carious lesions spread laterally at the enamel-dentin junction? *Clinical oral investigations* 1998;2(1):15-20.
98. Gill J. Dental caries: the disease and its clinical management. *British Dental Journal* 2016;221(8):443-43.
99. Pashley DH. Clinical correlations of dentin structure and function. *The Journal of prosthetic dentistry* 1991;66(6):777-81.
100. Berry T, Summitt J, Sift Jr E, Committee AoODSP. Root caries. *Operative dentistry* 2004;29(6):601-07.
101. Romeed SA, Malik R, Dunne SM. Stress analysis of occlusal forces in canine teeth and their role in the development of non-carious cervical lesions: abfraction. *International journal of dentistry* 2012;2012.
102. Aw TC, Lepe X, Johnson GH, Mancl L. Characteristics of noncarious cervical lesions: a clinical investigation. *The Journal of the American Dental Association* 2002;133(6):725-33.
103. Dunder A, Sengun A. Dental approach to erosive tooth wear in gastroesophageal reflux disease. *African health sciences* 2014;14(2):481-86.
104. Senna P, Del Bel Cury A, Rösing C. Non-carious cervical lesions and occlusion: a systematic review of clinical studies. *Journal of oral rehabilitation* 2012;39(6):450-62.
105. Silva AG, Martins CC, Zina LG, et al. The association between occlusal factors and noncarious cervical lesions: a systematic review. *Journal of Dentistry* 2013;41(1):9-16.
106. Michael J, Townsend G, Greenwood L, Kaidonis J. Abfraction: separating fact from fiction. *Australian dental journal* 2009;54(1):2-8.
107. Sawlani K, Lawson NC, Burgess JO, et al. Factors influencing the progression of noncarious cervical lesions: a 5-year prospective clinical evaluation. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 2016;115(5):571-77.
108. Sugita I, Nakashima S, Ikeda A, et al. A pilot study to assess the morphology and progression of non-carious cervical lesions. *Journal of dentistry* 2017;57:51-56.
109. Miglani S, Aggarwal V, Ahuja B. Dentin hypersensitivity: Recent trends in management. *Journal of conservative dentistry: JCD* 2010;13(4):218.
110. Veitz-Keenan A, Barna JA, Strober B, et al. Treatments for hypersensitive noncarious cervical lesions: a Practitioners Engaged in Applied Research and Learning (PEARL) Network randomized clinical effectiveness study. *The Journal of the American Dental Association* 2013;144(5):495-506.
111. Prati C, Cervellati F, Sanasi V, Montebugnoli L. Treatment of cervical dentin hypersensitivity with resin adhesives: 4-week evaluation. *American journal of Dentistry* 2001;14(6):378-82.
112. Peumans M, De Munck J, Mine A, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives for the restoration of non-carious cervical lesions. A systematic review. *Dental Materials* 2014;30(10):1089-103.
113. Newcomb GM. The relationship between the location of subgingival crown margins and gingival inflammation. *Journal of periodontology* 1974;45(3):151-54.

114. Çelik N. Sınıf V kavitelere kullanılan restoratif materyallerin sitotoksitesi ve diş eti oluşu sıvısındaki sitokinlere etkisi [2014].
115. Hannig M. Transmission electron microscopic study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials. *European journal of oral sciences* 1997;105(5P1):422-33.
116. Günay H, Geurtsen W, Lührs A-K. Conservative treatment of periodontal recessions with class v-defects using gingiva-shaded composite—a systematic treatment concept. *Dental update* 2011;38(2):124-32.
117. Van Noort R, Barbour M. *Introduction to Dental Materials-E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2014.
118. Dayangaç B. *Kompozit rezin restorasyonlar*: Güneş Kitabevi; 2000.
119. Peutzfeldt A. Resin composites in dentistry: the monomer systems. *European journal of oral sciences* 1997;105(2):97-116.
120. Kirkpatrick C, Bittering F, Wagner M, et al. Current trends in biocompatibility testing. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* 1998;212(2):75-84.
121. Brehler R, Becker D, Merk H. MELISA—In-vitro-Test zum Nachweis einer Kontaktallergie? Eine Stellungnahme der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe. *Der Hautarzt* 1998;49(5):418-19.
122. Marquardt H, Schäfer S. *Lehrbuch der Toxikologie.[Textbook on Toxicology]* Spektrum Akad: Heidelberg; 1997.
123. Hahn C, Bachmann L, Chevreux B. Reconstructing mitochondrial genomes directly from genomic next-generation sequencing reads—a baiting and iterative mapping approach. *Nucleic acids research* 2013;41(13):e129-e29.
124. Bender I, Freedland J. Clinical considerations in the diagnosis and treatment of intra-alveolar root fractures. *Journal of the American Dental Association* (1939) 1983;107(4):595-600.
125. Donath K. The diagnostic value of the new method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissue,(Säge-Schliff,(Sawing and Grinding) Technique). *Pathology-Research and Practice* 1985;179(6):631-33.
126. Gottwald B, Kupfer J, Traenckner I, Ganss C, Gieler U. Psychological, allergic, and toxicological aspects of patients with amalgam-related complaints. *Psychotherapy and psychosomatics* 2002;71(4):223-32.
127. Scott A, Egner W, Gawkrödger D, et al. The national survey of adverse reactions to dental materials in the UK: a preliminary study by the UK Adverse Reactions Reporting Project. *British dental journal* 2004;196(8):471-77.
128. Sadoh D, Sharief M, Howard R. Occupational exposure to methyl methacrylate monomer induces generalised neuropathy in a dental technician. *British dental journal* 1999;186(8):380-81.
129. Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, et al. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. *Dental materials* 2005;21(9):864-81.
130. Tadin A, Gavić L, Galić N. Biocompatibility of dental adhesives. *Adhesives-Applications and Properties*: IntechOpen; 2016. p. 29-57.
131. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials* 2007;28(26):3757-85.
132. Moharamzadeh K, Van Noort R, Brook IM, Scutt AM. Cytotoxicity of resin monomers on human gingival fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *Dental materials* 2007;23(1):40-44.
133. Reichl F-X, Simon S, Esters M, et al. Cytotoxicity of dental composite (co) monomers and the amalgam component Hg 2+ in human gingival fibroblasts. *Archives of toxicology* 2006;80(8):465-72.
134. Kleinsasser NH, Schmid K, Sassen AW, et al. Cytotoxic and genotoxic effects of resin monomers in human salivary gland tissue and lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (Comet) assay. *Biomaterials* 2006;27(9):1762-70.

135. Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *Journal of dental research* 2006;85(10):870-77.
136. Franz A, König F, Lucas T, Watts DC, Schedle A. Cytotoxic effects of dental bonding substances as a function of degree of conversion. *Dental materials* 2009;25(2):232-39.
137. Alanko K, Susitaival P, Jolanki R, Kanerva L. Occupational skin diseases among dental nurses. *Contact dermatitis* 2004;50(2):77-82.
138. Schmid-Schwap M, Franz A, König F, et al. Cytotoxicity of four categories of dental cements. *Int J Prosthodont* 1999;12:140-6.
139. Goldberg M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. *Clinical oral investigations* 2008;12(1):1-8.
140. Fleisch AF, Sheffield PE, Chinn C, Edelstein BL, Landrigan PJ. Bisphenol A and related compounds in dental materials. *Pediatrics* 2010;126(4):760-68.
141. Shahi S, Özcan M, Dizaj SM, et al. A review on potential toxicity of dental material and screening their biocompatibility. *TOXICOLOGY MECHANISMS AND METHODS* 2019;29(5):368-77.
142. SÖDERHOLM K-J, Mariotti A. BIS-GMA-based resins in dentistry: are they safe? *The Journal of the American Dental Association* 1999;130(2):201-09.
143. Noda M, Wataha J, Kaga M, et al. Components of dentinal adhesives modulate heat shock protein 72 expression in heat-stressed THP-1 human monocytes at sublethal concentrations. *Journal of Dental Research* 2002;81(4):265-69.
144. Lefeuvre M, Amjaad W, Goldberg M, Stanislawski L. TEGDMA induces mitochondrial damage and oxidative stress in human gingival fibroblasts. *Biomaterials* 2005;26(25):5130-37.
145. Zhu L, Zhang J, Xiao L, et al. Autophagy in resin monomer-initiated toxicity of dental mesenchymal cells: a novel therapeutic target of N-acetyl cysteine. *Journal of Materials Chemistry B* 2015;3(33):6820-36.
146. Wataha JC. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *The Journal of prosthetic dentistry* 2001;86(2):203-09.
147. Brunot C, Grosgeat B, Picart C, et al. Response of fibroblast activity and polyelectrolyte multilayer films coating titanium. *Dental Materials* 2008;24(8):1025-35.
148. Erdemir EO, Şengün A, Ülker M. Cytotoxicity of mouthrinses on epithelial cells by micronucleus test. *European journal of dentistry* 2007;1(2):80.
149. Arenholt-Bindslev D, Bleeg H. Characterization of two types of human oral fibroblast with a potential application to cellular toxicity studies: tooth pulp fibroblasts and buccal mucosa fibroblasts. *International endodontic journal* 1990;23(2):84-91.
150. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials—advantages and limitations. *Journal of dentistry* 1994;22:S6-S11.
151. Basketter D, Selbie E, Scholes E, et al. Results with OECD recommended positive control sensitizers in the maximization, Buehler and local lymph node assays. *Food and Chemical Toxicology* 1993;31(1):63-67.
152. Frankild S, Vølund A, Wahlberg JE, Andersen KE. Comparison of the sensitivities of the Buehler test and the guinea pig maximization test for predictive testing of contact allergy. *Acta dermato-venereologica* 2000;80(4).
153. Magnusson B. The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximization test. *J. Invest. Dermatol.* 1969;52:268-76.
154. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology* 2007;35(4):495-516.
155. Goldar S, Khaniani MS, Derakhshan SM, Baradaran B. Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment. *Asian Pacific journal of cancer prevention* 2015;16(6):2129-44.
156. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer* 1972;26(4):239-57.

157. Monier B, Suzanne M. The morphogenetic role of apoptosis. *Current topics in developmental biology* 2015;114:335-62.
158. Li K, Wu D, Chen X, et al. Current and emerging biomarkers of cell death in human disease. *BioMed research international* 2014;2014.
159. Tower J. Programmed cell death in aging. *Ageing research reviews* 2015;23:90-100.
160. Sankari SL, Babu NA, Rajesh E, Kasthuri M. Apoptosis in immune-mediated diseases. *Journal of pharmacy & bioallied sciences* 2015;7(Suppl 1):S200.
161. Sarvothaman S, Undi RB, Pasupuleti SR, Gutti U, Gutti RK. Apoptosis: role in myeloid cell development. *Blood research* 2015;50(2):73.
162. Anderson HA, Maylock CA, Williams JA, et al. Serum-derived protein S binds to phosphatidylserine and stimulates the phagocytosis of apoptotic cells. *Nature immunology* 2003;4(1):87-91.
163. Shacter E, Williams JA, Hinson RM, Sentürker S, Lee Y-j. Oxidative stress interferes with cancer chemotherapy: inhibition of lymphoma cell apoptosis and phagocytosis. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 2000;96(1):307-13.
164. Uehara H, Shacter E. Auto-oxidation and oligomerization of protein S on the apoptotic cell surface is required for Mer tyrosine kinase-mediated phagocytosis of apoptotic cells. *The Journal of Immunology* 2008;180(4):2522-30.
165. Lopez J, Tait S. Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within. *British journal of cancer* 2015;112(6):957-62.
166. Radogna F, Dicato M, Diederich M. Cancer-type-specific crosstalk between autophagy, necroptosis and apoptosis as a pharmacological target. *Biochemical pharmacology* 2015;94(1):1-11.
167. Obulesu M, Lakshmi MJ. Apoptosis in Alzheimer's disease: an understanding of the physiology, pathology and therapeutic avenues. *Neurochemical research* 2014;39(12):2301-12.
168. Koff JL, Ramachandiran S, Bernal-Mizrachi L. A time to kill: targeting apoptosis in cancer. *International journal of molecular sciences* 2015;16(2):2942-55.
169. Zeng W, Wang X, Xu P, et al. Molecular imaging of apoptosis: from micro to macro. *Theranostics* 2015;5(6):559.
170. Galluzzi L, Bravo-San Pedro J, Vitale I, et al. Essential versus accessory aspects of cell death: recommendations of the NCCD 2015. *Cell Death & Differentiation* 2015;22(1):58-73.
171. Galluzzi L, Vitale I, Abrams J, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death & Differentiation* 2012;19(1):107-20.
172. Kanemura S, Tsuchiya A, Kanno T, Nakano T, Nishizaki T. Phosphatidylinositol induces caspase-independent apoptosis of malignant pleural mesothelioma cells by accumulating AIF in the nucleus. *Cellular Physiology and Biochemistry* 2015;36(3):1037-48.
173. Rello-Varona S, Herrero-Martín D, López-Aleman R, Muñoz-Pinedo C, Tirado OM. "(Not) all (dead) things share the same breath": identification of cell death mechanisms in anticancer therapy. *Cancer research* 2015;75(6):913-17.
174. Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell death & differentiation* 2009;16(1):3-11.
175. Eum K-H, Lee M. Crosstalk between autophagy and apoptosis in the regulation of paclitaxel-induced cell death in v-Ha-ras-transformed fibroblasts. *Molecular and cellular biochemistry* 2011;348(1):61-68.
176. Ouyang L, Shi Z, Zhao S, et al. Programmed cell death pathways in cancer: a review of apoptosis, autophagy and programmed necrosis. *Cell proliferation* 2012;45(6):487-98.
177. Ward TH, Cummings J, Dean E, et al. Biomarkers of apoptosis. *British journal of cancer* 2008;99(6):841-46.
178. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *science* 1998:1305-08.

179. Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *New England Journal of Medicine* 1996;334(26):1717-25.
180. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 2001;104(4):487-501.
181. Riedl SJ, Shi Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. *Nature reviews Molecular cell biology* 2004;5(11):897-907.
182. Bratton DL, Fadok VA, Richter DA, et al. Appearance of phosphatidylserine on apoptotic cells requires calcium-mediated nonspecific flip-flop and is enhanced by loss of the aminophospholipid translocase. *Journal of Biological Chemistry* 1997;272(42):26159-65.
183. Li MX, Dewson G. Mitochondria and apoptosis: emerging concepts. *F1000prime reports* 2015;7.
184. Shalini S, Dorstyn L, Dawar S, Kumar S. Old, new and emerging functions of caspases. *Cell Death & Differentiation* 2015;22(4):526-39.
185. Degterev A, Zhou W, Maki JL, Yuan J. Assays for necroptosis and activity of RIP kinases. *Methods in enzymology* 2014;545:1-33.
186. Wu H, Che X, Zheng Q, et al. Caspases: a molecular switch node in the crosstalk between autophagy and apoptosis. *International journal of biological sciences* 2014;10(9):1072.
187. Nakahira K, Cloonan SM, Mizumura K, Choi AM, Ryter SW. Autophagy: a crucial moderator of redox balance, inflammation, and apoptosis in lung disease. *Antioxidants & redox signaling* 2014;20(3):474-94.
188. Liu B, Bao J-K, Yang J-M, Cheng Y. Targeting autophagic pathways for cancer drug discovery. *Chinese journal of cancer* 2013;32(3):113.
189. Wu H-J, Pu J-L, Krafft PR, Zhang J-M, Chen S. The molecular mechanisms between autophagy and apoptosis: potential role in central nervous system disorders. *Cellular and molecular neurobiology* 2015;35(1):85-99.
190. Lalaoui N, Lindqvist LM, Sandow JJ, Ekert PG. The molecular relationships between apoptosis, autophagy and necroptosis. Paper presented at: Seminars in cell & developmental biology, 2015.
191. Campisi L, Cummings R, Blander JM. Death-defining immune responses after apoptosis. *American Journal of Transplantation* 2014;14(7):1488-98.
192. Muganda PM. *Apoptosis methods in toxicology*: Springer; 2016.
193. Bucur O, Stancu A, Khosravi-Far R, Almasan A. Analysis of apoptosis methods recently used in Cancer Research and Cell Death & Disease publications. *Cell death & disease* 2012;3(2):e263-e63.
194. Ulukaya E, Acilan C, Ari F, Ikitimur E, Yilmaz Y. A Glance at the methods for detection of apoptosis qualitatively and quantitatively. *Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi* 2011;36(3).
195. Squier MK, Cohen JJ. Standard quantitative assays for apoptosis. *Molecular biotechnology* 2001;19(3):305-12.
196. Leventis PA, Grinstein S. The distribution and function of phosphatidylserine in cellular membranes. *Annual review of biophysics* 2010;39:407-27.
197. Hankins HM, Baldrige RD, Xu P, Graham TR. Role of flippases, scramblases and transfer proteins in phosphatidylserine subcellular distribution. *Traffic* 2015;16(1):35-47.
198. Kunwar A, Priyadarsini K. Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of Medical & Allied Sciences* 2011;1(2):53.
199. Permaflo Pink. "<https://www.ultradent.com/products/categories/composites/flowable-composite/permaflo-pink?sku=963>". Accessed 01/08/2021.
200. Amaris Gingiva. "<https://www.voco.dental/tr/ueruenler/direk-restorasyonlar/kompozitler/amaris-gingiva.aspx>". Accessed 01/08/2021.
201. Filtek Ultimate Flowable "[https://multimedia.3m.com/mws/media/6654570/filtek-ultimate-flowable-restorativetechnical-product-profile-ee.pdf?&fn=Filtek Ultimate Flow TPP EE.pdf](https://multimedia.3m.com/mws/media/6654570/filtek-ultimate-flowable-restorativetechnical-product-profile-ee.pdf?&fn=Filtek%20Ultimate%20Flow%20TPP%20EE.pdf)". Accessed 01/08/2021.

202. Yang Y, Reichl F-X, Ilie N, et al. Antioxidants as a novel dental resin-composite component: Effect on elution and degree of conversion. *Dental Materials* 2019;35(4):650-61.
203. Sevide Gül Batmaz. Bulk fill kompozit rezinlerin farklı tabaka kalınlıklarında ve farklı ışık güçlerinde polimerize edilmesinin kompozitin dönüşüm derecesi, mikro sertliği ve sitotoksitesine etkisi [Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi]. Antalya Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı; 2020.
204. Schuster U, Schmalz G, Thonemann B, Mendel N, Metzl C. Cytotoxicity Testing with Three-Dimensional Cultures of Transfected Pulp-Derived Cells. *Journal of Endodontics* 2001;27(4):259-65.
205. Tuncer S, Demirci M. Dental materyallerde biyouyumluluk değerlendirmeleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2011;2011(2):141-49.
206. Bal BT, Sönmez NA, Bavbek B, Akçaboy C. Farklı kompozit materyallerinin sitotoksitesilerinin iki farklı hücre kültürü test yöntemiyle değerlendirilmesi. *ADO Klinik Bilimler Dergisi* 2008;2(2):98-103.
207. Takeyama N, Miki S, Hirakawa A, Tanaka T. Role of the mitochondrial permeability transition and cytochrome C release in hydrogen peroxide-induced apoptosis. *Experimental cell research* 2002;274(1):16-24.
208. Berendji D, Kolb-Bachofen V, Meyer KL, Kröncke K-D. Influence of nitric oxide on the intracellular reduced glutathione pool: different cellular capacities and strategies to encounter nitric oxide-mediated stress. *Free Radical Biology and Medicine* 1999;27(7-8):773-80.
209. Gardner A, Xu F-H, Fady C, et al. Evidence against the hypothesis that BCL-2 inhibits apoptosis through an anti-oxidant effect. *Cell Death & Differentiation* 1997;4(6):487-96.
210. Schedle A, Samorapoompichit P, Rausch-Fan X, et al. Response of L-929 fibroblasts, human gingival fibroblasts, and human tissue mast cells to various metal cations. *Journal of dental research* 1995;74(8):1513-20.
211. TOKUR O, AKSOY A. In vitro sitotoksitesite testleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2017;6(1):112-18.
212. Martin A, Clynes M. Comparison of 5 microplate colorimetric assays for in vitro cytotoxicity testing and cell proliferation assays. *Cytotechnology* 1993;11(1):49-58.
213. Brzović Rajić V, Želježić D, Malčić Ivanišević A, Verzak Ž. Citotoksični i genotoksični učinak kompozitnih materijala na stanicama ljudskih limfocita in vitro. *Acta clinica Croatica* 2018;57(2):278-84.
214. Şişman R, Aksoy A, Yalçın M, Karaöz E. Cytotoxic effects of bulk fill composite resins on human dental pulp stem cells. *Journal of oral science* 2016;58(3):299-305.
215. Poggio C, Chiesa M, Dagna A, Colombo M, Scribante A. Microleakage in class V gingiva-shaded composite resin restorations. *Annali di stomatologia* 2012;3(1):19.
216. Kahvecioğlu F, Kölüş T, Güngör FS, Ülker HE. Cytotoxicity of two self-adhesive flowable composites on bovine dental pulp-derived cells. *Journal of Health Sciences and Medicine*;4(2):209-12.
217. Beriat NC, Ertan AA, Canay S, Gurpinar A, Onur MA. Effect of different polymerization methods on the cytotoxicity of dental composites. *European journal of dentistry* 2010;4(03):287-92.
218. Issa Y, Watts D, Brunton P, Waters C, Duxbury A. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dental Materials* 2004;20(1):12-20.
219. Katsuno K, Manabe A, Kurihara A, et al. The adverse effect of commercial dentine-bonding systems on the skin of guinea pigs. *Journal of oral rehabilitation* 1998;25(3):180-84.
220. Archegas LRP, Rached RN, Ignacio SA, et al. Identification and quantification of monomers released from dental composites using HPLC. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 2009;52:855-62.
221. Spagnuolo G, Galler K, Schmalz G, et al. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase amplifies TEGDMA-induced apoptosis in primary human pulp cells. *Journal of Dental Research* 2004;83(9):703-07.

222. Krifka S, Petzel C, Bolay C, et al. Activation of stress-regulated transcription factors by triethylene glycol dimethacrylate monomer. *Biomaterials* 2011;32(7):1787-95.
223. Yeh C-C, Chang JZ-C, Yang W-H, et al. NADPH oxidase 4 is involved in the triethylene glycol dimethacrylate-induced reactive oxygen species and apoptosis in human embryonic palatal mesenchymal and dental pulp cells. *Clinical oral investigations* 2015;19(6):1463-71.
224. Ratanasathien S, Wataha J, Hanks C, Dennison J. Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. *Journal of Dental Research* 1995;74(9):1602-06.
225. Krifka S, Spagnuolo G, Schmalz G, Schweikl H. A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers. *Biomaterials* 2013;34(19):4555-63.
226. Harorlı O-T, Bayındır Y-Z, Altunkaynak Z, Tatar A. Cytotoxic effects of TEGDMA on THP-1 cells in vitro. *cal* 2009;14(9):e489-93.
227. Urcan E, Scherthan H, Styllou M, et al. Induction of DNA double-strand breaks in primary gingival fibroblasts by exposure to dental resin composites. *Biomaterials* 2010;31(8).
228. Geurtsen W, Leyhausen G. Chemical-biological interactions of the resin monomer triethyleneglycol-dimethacrylate (TEGDMA). *Journal of Dental Research* 2001;80(12):2046.
229. Galler KM, Schweikl H, Hiller K-A, et al. TEGDMA reduces mineralization in dental pulp cells. *Journal of dental research* 2011;90(2):257-62.
230. Ginzkey C, Zinnitsch S, Steussloff G, et al. Assessment of HEMA and TEGDMA induced DNA damage by multiple genotoxicological endpoints in human lymphocytes. *Dental Materials* 2015;31(8):865-76.
231. Huang FM, Kuan YH, Lee SS, Chang YC. Cytotoxicity and genotoxicity of triethyleneglycol-dimethacrylate in macrophages involved in DNA damage and caspases activation. *Environmental toxicology* 2015;30(5):581-88.
232. Paschalidis T, Bakopoulou A, Papa P, et al. Dental pulp stem cells' secretome enhances pulp repair processes and compensates TEGDMA-induced cytotoxicity. *Dental Materials* 2014;30(12):e405-e18.
233. Eckhardt A, Gerstmayr N, Hiller K-A, et al. TEGDMA-induced oxidative DNA damage and activation of ATM and MAP kinases. *Biomaterials* 2009;30(11):2006-14.
234. Lovász BV, Berta G, Lempel E, et al. TEGDMA (Triethylene Glycol Dimethacrylate) Induces Both Caspase-Dependent and Caspase-Independent Apoptotic Pathways in Pulp Cells. *Polymers* 2021;13(5):699.
235. Lin NJ, Bailey LO, Becker ML, Washburn NR, Henderson LA. Macrophage response to methacrylate conversion using a gradient approach. *Acta Biomaterialia* 2007;3(2):163-73.
236. Downs JMZ, Shuman D, Stull SC, Ratzlaff RE. Bisphenol A blood and saliva levels prior to and after dental sealant placement in adults. *American Dental Hygienists' Association* 2010;84(3):145-50.
237. Krifka S, Seidenader C, Hiller K-A, Schmalz G, Schweikl H. Oxidative stress and cytotoxicity generated by dental composites in human pulp cells. *Clinical oral investigations* 2012;16(1):215-24.
238. Wellner P, Mayer W, Hickel R, Reichl F, Durner J. Cytokine release from human leukocytes exposed to silorane-and methacrylate-based dental materials. *Dental Materials* 2012;28(7):743-48.
239. Sadowska A, Manuel-Y-Keenoy B, De Backer W. Antioxidant and anti-inflammatory efficacy of NAC in the treatment of COPD: discordant in vitro and in vivo dose-effects: a review. *Pulmonary pharmacology & therapeutics* 2007;20(1):9-22.
240. Paranjpe A, Sung E, Cacalano N, Hume W, Jewett A. N-acetyl cysteine protects pulp cells from resin toxins in vivo. *Journal of dental research* 2008;87(6):537-41.
241. Lacerda-Santos R, Nascimento ASBd, Pereira ARB, et al. Citotoxicity of nonlatex elastomeric ligatures of orthodontic use. *Matéria (Rio de Janeiro)* 2015;20:01-07.
242. Foy C, Passmore A, Vahidassr M, Young I, Lawson J. Plasma chain-breaking antioxidants in Alzheimer's disease, vascular dementia and Parkinson's disease. *Qjm* 1999;92(1):39-45.

243. Diplock A. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series 1998;59.
244. Nawar W. Lipids in food chemistry. Food chemistry 1985;3:308-10.
245. Bast A, Haenen GR, Doelman CJ. Oxidants and antioxidants: state of the art. The American journal of medicine 1991;91(3):S2-S13.
246. Fujioka-Kobayashi M, Miron RJ, Lussi A, et al. Effect of the degree of conversion of resin-based composites on cytotoxicity, cell attachment, and gene expression. Dental materials 2019;35(8):1173-93.
247. Lottner S, Shehata M, Hickel R, Reichl F-X, Durner J. Effects of antioxidants on DNA-double strand breaks in human gingival fibroblasts exposed to methacrylate based monomers. Dental Materials 2013;29(9):991-98.
248. Kim NR, Lim BS, Park HC, Son KM, Yang HC. Effects of N-acetylcysteine on TEGDMA-and HEMA-induced suppression of osteogenic differentiation of human osteosarcoma MG63 cells. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials 2011;98(2):300-07.
249. Ma S, Imazato S, Takahashi Y, et al. Mechanism of detoxification of the cationic antibacterial monomer 12-methacryloyloxydodecylpyridiniumbromide (MDPB) by N-acetyl cysteine. Dental Materials 2013;29(12):1219-27.
250. Nocca G, D'Antò V, Desiderio C, et al. N-acetyl cysteine directed detoxification of 2-hydroxyethyl methacrylate by adduct formation. Biomaterials 2010;31(9):2508-16.
251. Jiao Y, Ma S, Li J, et al. N-Acetyl cysteine (NAC)-directed detoxification of methacryloxyethyl cetyl ammonium chloride (DMAE-CB). PloS one 2015;10(8):e0135815.