



T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI
ORTODONTİ DOKTORA PROGRAMI

**ORTODONTİDE PEKİŞTİRME TEDAVİSİNDE KULLANILAN
RETAINER TELLERİNİN SİTOTOKSİSİTESİNİN İN VİTRO
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

ZÜBEYDE BÖLÜKBAŞI EROL

DANIŞMAN
Prof. Dr. Muzaffer Gülyurt

İSTANBUL 2022



T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI
ORTODONTİ DOKTORA PROGRAMI

ORTODONTİDE PEKİŞTİRME TEDAVİSİNDE KULLANILAN
RETAINER TELLERİNİN SİTOTOKSİSİTESİNİN İN VİTRO
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

ZÜBEYDE BÖLÜKBAŞI EROL

DANIŞMAN
Prof. Dr. Muzaffer Gülyurt

İSTANBUL 2022

T.C
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZ ONAY SAYFASI

Anabilim Dalı : Ortodonti Ana Bilim Dalı

Program Adı : Doktora

Öğrencinin Adı Soyadı : Zübeyde Bölükbaşı Erol

Öğrenci No :

Danışman :

Biruni Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Ortodonti Anabilim Dalında ZÜBEYDE BÖLÜKBAŞI EROL tarafından hazırlanan “Ortodontide Pekiştirme Tedavisinde Kullanılan Retainer Tellerinin Sitotoksitesinin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması, jüri tarafından DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi :

Jüri Üyesinin Unvanı, Adı, Soyadı
Kurum

Çalıştığı

İmza

Biruni Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddelerine göre Enstitü tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr.

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

Beyan

Bu tezin bana ait olduğunu, tüm aşamalarında etik dışı davranışımın olmadığını, içinde yer alan bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, kullanmış olduğum bütün bilgilere kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin yürütülmesi ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Zübeyde BÖLÜKBAŞI EROL



TEŞEKKÜR

Bilimsel ve manevi desteğini öğrenim hayatım boyunca benden esirgemeyen, bilgisi ve ilgisiyle bana her zaman destek olan değerli danışman hocam, Prof. Dr. Muzaffer GÜLYURT 'a,

Laboratuvar çalışmalarında bilgi paylaşımları ve desteklerinden dolayı Doç. Dr. Nazlı Ece ORDUERİ, Dr. Öğr. Üyesi. Sibel DEMİRCİ DELİPINAR ve Tuğba ELGÜN'e,

Her anlamda verdiği destekler için ve birlikte geçirdiğimiz asistanlık hayatında bana kattığı herşey için Dr. Öğr. Üyesi Esra ÇİFÇİ ÖZKAN'a ve beraber çalıştığımız Ortodonti Anabilim Dalı asistanı arkadaşlarıma,

Emek ve özverileriyle bugünlere gelmemi sağlayan babam Ümit BÖLÜKBAŞI, annem Nadire BÖLÜKBAŞI ve kardeşlerim İsmet BÖLÜKBAŞI ve Alp Kaan BÖLÜKBAŞI'na

Her zaman gösterdiği sabır ve destekleği için sevgili eşim Onur Alp EROL'A en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Zübeyde BÖLÜKBAŞI EROL

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İç Kapak	-
Onay sayfası.....	-
Beyan	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGE/SEMBOL VE KISALTMALAR LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xiii
TÜRKÇE ÖZET VE ANAHTAR KELİMELEER	xiv
İNGİLİZCE ÖZET VE ANAHTAR KELİMELEER	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Ortodontide Nüks/ Relaps	4
2.1.1. Relapsın Meydana Gelmesinde Etkili Faktörler	4
2.1.1.1. Kroniafasial Büyüme	5
2.1.1.2. Periodontal ve Gingival Faktörler	5
2.1.1.3. Yumuşak Dokular ve Kötü Alışkanlıklar	6
2.1.1.4. Tedavi Sonrası Okluzyon	6
2.1.1.5. Ark Formu Değişikliği	6
2.1.1.6. Üçüncü Molar Varlığı	7
2.2. Pekiştirme Tedavisi	8
2.2.1. Pekiştirme Tedavisinin Tanımı	8
2.2.2. Pekiştirme Tedavisinin Tarihçesi.....	8
2.2.3. Pekiştirme Tedavisinin Gerekliliği ve Süresi	9
2.2.3.1. Sınırlı Süre Retansiyon Gerektiren Durumlar	11

2.2.3.2. Orta Süreli Retansiyon Gerektiren Durumlar	11
2.2.3.3. Sürekli Retansiyon Gerektiren Durumlar	12
2.3. Pekiştirme Apareyleri	13
2.3.1. Hareketli Pekiştirme Apareyleri	13
2.3.1.1. Hawley Apareyi	13
2.3.1.2. Wraparound Apareyi	15
2.3.1.3. Vakum ile Şekillendirilen Termoplastik Plaklar	16
2.3.1.4. Positioner	18
2.3.1.5. Spring Retainer	18
2.3.1.6. Hareketli Retansiyon Apareylerinin Kullanım Süresi	19
2.3.2. Sabit Pekiştirme Apareyleri	19
2.3.2.1. Sabit Lingual Retainer Yapımında Kullanılan Materyaller	22
2.3.2.2. Sabit Lingual Retainer Tipleri	23
2.3.2.2.A. Sadece kanin dişlere uygulanan sabit retainerlar.....	23
2.3.2.2.B. Kanin kanin arası tüm dişlere uygulanan sabit	
retainerlar.....	24
2.3.2.3. Sabit Lingual Retainer Tellerini Uygulama Yöntemi	25
2.3.2.4. Sabit Lingual Retainer Tellerinin Ağız Hijyeni ve Periodontal	
Sağlığa Etkisi	26
2.3.2.5. Sabit Lingual Retainer Tellerinin Avantaj ve Dezavantajları	28
2.3.2.6. Sabit Lingual Retainer Tellerinin Stabilité Üzerine Etkileri	29
2.3.2.7. Sabit Lingual Retainer Telleri Ne Zaman Çıkarılmalıdır	30
2.3.3. Yardımcı Retansiyon Yöntemleri	30
2.3.3.1. Aşırı Düzeltme/Overcorrection	30
2.3.3.2. İnterproksimal Aşındırma/Stripping	31
2.3.3.3. Fiberotomi	31
2.3.3.4. Frenektomi	32

2.4. Ortodontide Kooperasyon	33
2.5. Dental Materyallerin Biyouyumluluk Değerlendirmesi	34
2.5.1. Biyouyumluluk	34
2.5.2. Biyouyumluluk Değerlendirme Yöntemleri	37
2.5.2.1. <i>İn Vitro Testler</i>	37
2.5.2.2. <i>İn Vivo Testler</i>	38
2.5.2.3. <i>Klinik Kullanım Testleri</i>	39
2.5.3. İn Vitro Sitotoksisite Testleri	39
2.5.3.1. <i>Hücre Kültürü Methodu</i>	40
2.5.3.2. <i>Agar Difüzyon Test Yöntemi</i>	41
2.5.3.3. <i>Filtre Difüzyon Test Yöntemi</i>	42
2.5.3.4. <i>Dentin Bariyer Test Yöntemi</i>	42
2.5.4. Sitotoksisite Değerlendirmesinde Belirleyici Faktörler	42
2.5.4.1. <i>Canlılık Değerlendirme Yöntemleri</i>	42
2.5.4.2. <i>Yaşam Değerlendirme Yöntemleri</i>	43
2.5.4.3. <i>Poliğerasyon Değerlendirme Yöntemleri</i>	43
2.5.4.4. <i>Metabolizma Değerlendirme Yöntemleri</i>	44
2.5.5. Çalışmada Yer Alan Sitotoksisite Değerlendirme Yöntemleri	
2.5.5.1. <i>MTT Testi</i>	44
2.5.5.2. <i>XCELLingence Testi</i>	45
3. GEREÇ ve YÖNTEM	48
3.1. Gereç	48
3.1.1. <i>Deneyisel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar</i>	50
3.1.2. <i>Deneyisel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Malzemeler</i>	50
3.1.3. <i>Deneyisel Çalışmalarda Kullanılan Sarf Malzemeler</i>	51
3.2. Yöntem	51

3.2.1. Eluvatların Hazırlanması	51
3.2.2. Hücre Kültürü	52
3.2.2.1. Hücre Kültürünün Hazırlanması	52
3.2.2.1. Hücrelerin Çözülmesi	52
3.2.2.3. Hücrelerin Pasajlaması	53
3.2.3. Hücre Kültürü Deneyinin Uygulanması.....	53
3.2.3.1. MTT Testinin Uygulanması.....	54
3.2.3.2. XCELLingence Testinin Uygulanması.....	54
3.2.4. İstatiksel Analiz.....	55
4. BULGULAR	56
5. TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER	61
5.1. Tartışma	61
5.2. Sonuç	72
5.3. Öneriler.....	73
6. KAYNAKLAR	74
7. ÖZGEÇMİŞ	95
8. İNTİHAL RAPORU	96

SİMGE/ SEMBOL ve KISALTMALAR LİSTESİ

ADA	American Dental Association
AISI	American Iron and Steel Institute
ANSI	American National Standards Intitute
ASTM	American Society for Testing and Meterials
atm	Atmosfer
BAP	Bilimsel Araştırma Projesi
BSI	The British Standarts Institute
C ⁰	Centigrade
CoCrNi	Carbon-Crome-Nikel/ Mavi elgiloy
CE	Collision Energy
CEN	European Committee for Standardization
CI	Cell Index (Hücre İndeksi)
CO ₂	Carbon di Oksit
DMEM	Dulbecco's Minimal Essential Medium
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FDA	Floresan Di Asetat
FDI	Federation Dentaire Internationale
FBS	Fetal Bone Serum
g/ml	Gram/ Mililitre
HGnF	Human Gingival Fibroblast

LDH	Laktat dehidrojenaz
LD50	Latent Dose
Mg	Miligram
mg/L	Miligram/Litre
ml	Mili Litre
mm	Mili Metre
MTT	3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyl tetrazolium bromide
mV	Milivolt
Ng	Nanogram
Nm	Nanometre
NiTi	Nikel- Titanyum
ISO	International Organization for Standardization
PBS	Phosphate Buffer Saline
pH	Power of Hydrogen
ppb	Part Per Billion
rpm	Revolutions Per Minute
RTCA	Real Time Cell Analysis System
$\mu\text{g}/\text{L}$	Mikrogram/ Litre
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
SD	Standart Sapma
SS	Stainless Steel
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
TC50	Toxic Concentration
U/mL	Ünite/ mililitre
UV	Ultraviyole

V	Volt
Z	Empedans Değeri



TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Tablo Adı</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1	Tıbbi materyallerin biyouyumluluk değerlendirme parametreleri	36
Tablo 3.1	Çalışmada kullanılan retainer telleri ve içerikleri	48
Tablo 3.2	Çalışmada kullanılan retainer tellerinin içerik elementlerinin yüzdeleri	49
Tablo 4.1	Sharipo WİLK normallik testi sonuçları.....	56
Tablo 4.2	Levene testi ile değerlendirilen varyans homojenliği sonuçları....	57
Tablo 4.3	MTT deneyi sonuçlarının Kruskal Wallis test ve özet istatistiksel verileri	58
Tablo 4.4	Xcell deneyi sonuçlarının Kruskal Wallis test ve özet istatistiksel verileri	59

ŞEKİL VE RESİMLER LİSTESİ

<u>Şekil/Resim No</u>	<u>Şekil/Resim İsmi</u>	<u>Sayfa No</u>
Resim 2.1	Maksiller ve mandibular Hawley apareyi	15
Resim 2.2	Wraparound Apareyi.....	16
Resim 2.3	Vakum ile şekillendiren termoplastik plak.....	17
Resim 2.4	Positioner.....	18
Resim 2.5	Spring Retainer	18
Resim 2.6	Empedans ölçüm değerlendirmesi	46
Şekil 2.1	Biyoyumluluk ile ilgili faktörler.....	35
Şekil 2.2	Materyallerin biyoyumluluk değerlendirme prosedürü	37
Şekil 4.1	MTT değerlerine ait değerlerin grafiksel gösterimi.....	60
Şekil 4.2	XCELL değerlerine ait değerlerin grafiksel gösterimi	60

TÜRKÇE ÖZET ve ANAHTAR KELİMELELER

Bölükbaşı Erol, Z. (2022). Ortodontide Pekiştirme Tedavisinde Kullanılan Retainer Tellerinin Sitotoksitesinin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Biruni Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul.

Pekiştirme tedavisinde kullanılan sabit lingual retainer telleri, genel olarak paslanmaz çelik yapısında olup altın, titanyum, fiber veya alüminyum silika yapısında da bulunabilmektedir. Paslanmaz çelik yapısında olan retainer telleri farklı metalürjik özelliklere sahip metal alaşımlardan oluşmakta, içeriğinde ise magnezyum, krom, nikel gibi elementler bulunmaktadır. Tedaviden sonra ömür boyu retansiyon gerekliliği birçok çalışmada gösterilmiş olduğu için retainer telleri ağız içerisinde uzun süre kullanılmaktadır. Retainer tellerinin hasta ağızda uzun süre kalması ve diş, dişeti ve intraoral sıvılarla uzun süre etkileşim halinde olacağını göstermekte ve sitotoksik etkilerinin değerlendirmesini önemli kılmaktadır. Çalışmamızda yedi farklı sabit lingual retainer telinin [(Stainless Steel 6-Strand, G&H Orthodontics, Franklin/ USA), (Strand Flat Lingual Wire, RMO, Denver/ CO), (Retainium, Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA), (Bond A Braid, Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA), (Stranded Retention Wire, Orthoclassic OC, Tokyo/JAPAN), (Flat Lingual Retainer Wire, Orthoessentials, Connecticut/USA), (Dead Soft Retention Wire, Orthoclassic OC, Reading/USA)] sitotoksitesi, 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il) -2,5-difenil tetrazolium bromür (MTT) yöntemi ve X Celligence gerçek zamanlı hücre analiz sistemi ile ,insan gingival fibroblast hücre hattı kullanılarak belirlenmiştir. MTT ve X-Celligence yöntemi ile elde edilen hücre proliferasyon değerleri incelendiğinde, Stranded Retention Wire (Orthoclassic OC, Tokyo/JAPAN) grubunun hücre proliferasyon yüzdeleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Retainer, Retansiyon, Sitotoksiste

İNGİLİZCE ÖZET ve ANAHTAR KELİMELELER

Bolukbasi Erol, Z. (2022). In Vitro Evaluation of Cytotoxicity of Retainer Wires Used in Retaining Treatment in Orthodontics. Doctoral Thesis, Biruni University Graduate Education Institute, İstanbul.

Fixed lingual retainer wires used in reinforcing treatment are generally of stainless steel structure and can also be found in gold, titanium, fiber or aluminum silica structure. Stainless steel retainer wires are made of metal alloys with different metallurgical properties and contain elements such as magnesium, chromium and nickel. Retainer wires, which have been shown in many studies to require lifelong retention after treatment, are used in the mouth for a long time. It shows that the retainer wires will stay in the patient's mouth for a long time and that they will interact with teeth, gingival and intraoral fluids for a long time, making the evaluation of their cytotoxic effects important. In our study, seven different fixed lingual retainer wires [(Stainless Steel 6-Strand, G&H Orthodontics, Franklin/ USA), (Strand Flat Lingual Wire, RMO, Denver/ CO), (Retainium, Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA), (Bond) A Braid, Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA), (Stranded Retention Wire, Orthoclassic OC, Tokyo/JAPAN), (Flat Lingual Retainer Wire, Orthoessentials, Connecticut/USA), (Dead Soft Retention Wire, Orthoclassic OC, Reading/USA)]] cytotoxicity was determined using the human gingival fibroblast cell line using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) method and the X Celligence real-time cell analysis system. When the cell proliferation values obtained by MTT and X-Celligence methods were examined, the proliferation percentages of the Stranded Retention Wire (Orthoclassic OC, Tokyo/JAPAN) group were found to be significantly lower than the other groups.

Keywords: Cytotoxicity, Retainer, Retention

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Günümüz diş hekimliğinde ortodontik tedavilerin genel amacı; hastalarda ki mevcut anamoliyi tedavi ederek ve ideal okluzyonu sağlayarak, sağlıklı çiğneme konuşma ve solunum gibi fonksiyonları elde etmek, iyi bir estetik sağlayarak hasta psikolojisini en iyi seviyeye getirmek ve tedavi sonucu elde edilen durumu idame ettirmektir (Angle 1907; Ülgen 2005).

Malokluzyonların tedavisi ortodontik aygıtlar veya çeşitli mekanikler kullanarak yapılmaktadır. Tedavi sonunda ideal okluzyonun elde edilmesi, tedavinin stabilitesinin sağlanması açısından oldukça önemlidir. Bununla birlikte, ideal okluzyon sağlanmış olsa dahi aktif tedavi sonunda eğer retansiyon tedavisi uygulanmaz veya retansiyon tedavisinde başarılı olunmaz ise, malokluzyonların tekrar etmesi söz konusu olabilmektedir. Dolayısıyla retansiyon yani pekiştirme tedavisi, ortodontik tedavinin önemli bir parçasını oluşturmaktadır (Thilander 2000; Proffit, Fields, Sarver 2013).

Ortodontik nüks (ortodontik relaps), ortodontik kuvvetler ve çeşitli mekanikler ile hareket ettirilen dişlerin veya iskeletsel yapıların tedavi tamamlandıktan sonra mevcut durumunu koruyamayarak orijinale ya da daha farklı bir konuma dönme eğilimi olarak tanımlanmaktadır. Aktif tedavide hedeflenen estetik ve fonksiyonel amaçlara ulaştıktan sonra mevcut durumun tedaviden önceki haline dönmemesi için dişlerin ve çevre dokuların stabilize edildiği pasif bir tedavi aşamasına geçilmektedir. Bu tedavi aşaması ortodontide ‘pekiştirme tedavisi’ olarak adlandırılır (Proffit et al., 2013).

Ortodontik tedavinin başarısında doğru tedavi yöntemi kadar doğru retansiyon uygulaması da büyük önem arz etmektedir. Tedavi sonunda elde edilen durumun relapsa karşı korunabilmesi için, teşhis ve tedavi planlaması yapılırken retansiyon tedavisinin de planlanması yapılmalı, hangi retansiyon apareyinin ne zaman ve ne kadar süre kullanılacağıının belirlenmesi gerekmektedir (Bishara, Treadler, Damon, Olsen 1996; Proffit et al., 2013). Dişler, devam eden dentofasiyal büyüme boyunca periodontal ve oklüzal kuvvetlerin etkisi altında, tedavi öncesi pozisyonlarına dönme eğilimi göstermektedir. Retansiyon apareyleri, dişlerin bu eğilimine direnç göstererek, aktif ortodontik tedavi sonunda elde edilen son durumu koruyan, pasif apareylerdir. Bu apareyler, hareketli apareyler olarak hazırlanabileceği gibi, farklı içerik ve

özelliklere sahip paslanmaz çelik tellerin, dişlerin lingual yüzeylerine yapıştırılması suretiyle sabit olarakta hazırlanabilmektedir. Sabit retansiyon apareyleri, hasta kooperasyonundan bağımsız, üretimi kolay, neredeyse görünmez ve estetik olmaları nedeniyle sıkça tercih edilmektedirler (Schütz-Fransson, Lindsten, Bjerklin, Bondemark 2017).

Araştırmacılar hangi retansiyon apareyi tipinin kullanılacağı konusunda fikir birliğinde bulunmadıkları gibi retansiyon süresi konusunda da ortak bir fikir bildirmemişlerdir. Ortodontik nüksün tedavi bitiminden en az 5 yıla kadar gerçekleşebileceği, nüksün olup/olmayacağının öngörülemez olduğunu ve ortodonti tedavisi gören vakaların %70 inde nüksün gerçekleştiğini ortaya koyan birçok çalışma mevcuttur (Litte, Riedel, Artun 1988; Sadowsky, Schneider, Begole, Tahir 1994). Bu oranın göz ardı edilemeyecek kadar yüksek olması nedeniyle kullanılacak retansiyon apareyinin tipi ve kullanım süresini belirlenirken birçok faktörün göz önünde bulundurulmasını gerektirmektedir. Hastanın tedavi öncesi ve sonrası oklüzyonu, yaşı, maloklüzyonun nedeni, tedavi protokolü, çevre dokuların sağlığı, arkların boyutu ve uyumu, kasların basıncı, proksimal kontaklar, hasta kooperasyonu, estetik beklenti ve apareyin biyouyumluluğu göz önünde bulundurulması gereken faktörler arasında yer almaktadır (Angle 1907; Dewey 1909; Dewey 1920; Strang 1946). Retansiyon tedavisi sonrasında, üst çenede daha az miktarda olsa da özellikle alt dental arkta kesiciler bölgesinde %70- %90 oranlarında değişen ve oldukça anlamlı seviyelerde relaps görüldüğü bildirilmiştir (Horowitz and Hixon 1969; Kaan and Mandlen 2011; Graber, Lee, Vararsdall, Vig 2012). Bu nedenle, uzun dönem ve hatta hayat boyu retansiyon bazı araştırmacılar tarafından şiddetle savunmaktadırlar (Litte et al., 1988).

Sabit retainerların kullanımı durumunda, uzun dönem veya ömür boyu retansiyon sağlayacak olan bu retainer telleri, ağız içindeki pH değişimi, sıcaklık, süre, tükürük koşulları ve mekanik yük faktörlerinden etkilenmekte ve uzun süre temasta olduğu diş ve bunu çevreleyen diş eti, yanak, dil ve dudak gibi dokulara çeşitli iyonlar salılabilmektedirler. Bu salınan iyonlar ise dokular üzerinde sitotoksik etki oluşturabilmektedir (Fors and Persson 2006; Noble, Ahing, Karaiskos, Wiltshire 2008; Lu, Chen, Ke, Wu 2009).

Günümüzde bir materyalin klinik başarısı değerlendirilirken sadece mekanik ve estetik olarak değerlendirme yapılmamalı aynı zamanda biyolojik açıdan

güvenirliliği ve çevre dokulara uyumluluğu da oldukça önem taşımaktadır. Yani klinikte kullanılacak dental materyallerin seçiminde etkili olan estetik ve mekanik özelliklerin yanısıra önemli etkenlerden bir tanesi de biyolojik uyumluluktur (biyouyumluluk) (Hanks, Wataha, Sun 1996). Biyouyumluluğu bulunmayan dental materyallerin doku ile temasından sonra çevre dokuların metabolizması etkilenmekte ve hücre ölümlerine sebep olabilmektedir (Edgerton and Levine 1993). Amerikan Diş Hekimliği Birliği (ADA), Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu (ISO) ve Uluslararası Diş Hekimliği Birliği (FDI) gibi resmi kuruluşlar tarafından biyouyumluluk testleri 3 farklı yöntem olarak sınıflandırılmaktadır. Bunlar; hücre kültürü, hayvan deneyleri ve klinik çalışmalar olup bu testler sonucunda materyalin biyouyumlu kabul edilebilmesi için çevresindeki yumuşak dokuya zarar vermemesi, sistemik toksisite oluşturmaması, allerjen olamaması ve karsinojenik/mutojenik etki göstermemesi gibi kriterlere sahip olması gerektiği bildirilmiştir (Sakaguchi 2006; Anusavice, Shen, Rawls 2012).

Literatürde çeşitli dental materyallerin sitotoksitesi veya biyouyumluluğu ile ilgili yapılmış birçok çalışma mevcuttur ancak ortodontide retansiyon tedavisinde sıklıkla kullanılmakta olan retainer tellerinin sitotoksitesini araştıran herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızın amacı, uzun süreler boyunca kullanımları sözkonusu olan, sabit retairlarda kullanılan farklı özellik ve içeriğe sahip tellerin ((Stainless Steel 6-Strand, G&H Orthodontics, Franklin/ USA), (Strand Flat Lingual Wire, RMO, Denver/ CO), (Ratanium, Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA), (Bond A Braid, Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA), (Stranded Retention Wire, Orthoclassic OC, Tokyo/JAPAN), (Flat Lingual Retainer Wire, Orthoessentials, Connecticut/USA), (Dead Soft Retention Wire, Orthoclassic OC, Reading/USA)) insan diyeti gingival fibroblastı hücre hattı üzerinde meydana getirdiği sitotoksik etkileri belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ortodontide Nüks/Relaps

Kuvvet uygulanarak tedavi edilen diş ve iskeletsel yapılar tedavi tamamlandıktan sonra estetik ve fonksiyonel olarak istenilen pozisyonda olsa dahi mekanik açıdan yetersiz stabiliteye sahip olduklarından, tedavi sonunda elde edilen durumu koruyamayarak bir miktar veya tamamen eski pozisyonuna dönme eğilimindedir. Bu durum ‘ortodontik nüks’ olarak adlandırılmaktadır (Vaden, Harris, Gardner 1997; Melrose and Millett 1998).

Ortodontik relaps 2 şekilde gözlemlenir: İlk gözlemlenen relaps tipi hızlı relaps olup ortodontik apareylerin desimantasyonundan birkaç saat veya birkaç gün içerisinde meydana gelen ve çevre dokuların yapılanma aşamasında gerçekleşmekte olan relapstır. Yavaş veya geç relaps ise daha uzun vadede gerçekleşen ve birçok faktörün neden olabileceği relaps tipidir (Thilander 2000).

Tedavi sonrasında yani geç dönemde meydana gelen değişiklikler genellikle devam eden büyüme gelişim sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Büyüme yeni doğandan yetişkinliğe azalan veya artan bir şekilde ancak sürekli olarak devam ettiği için oluşan geç dönem değişikliklerinin ortodontik nüksten mi kaynaklı yoksa büyüme olayından mı kaynaklı olduğunu ayırt etmenin kesin bir yolu yoktur (Vaden et al., 1997). Ayrıca istenmeyen geç dönem değişiklikler büyüme ve gelişim sonucu olabildiği gibi dejeneratif periodontal hastalık, obezite ve ağız solunumu ve sonradan kazanılan kötü alışkanlıklardan kaynaklı olabilmektedir (John, Bennett, Richard, McLaughlin 2014).

2.1.1. Relapsın Meydana Gelmesinde Etkili Faktörler

Ortodontik tedaviler sonrası meydana gelen değişikliklere birçok etkenin sebep olduğu düşünülmektedir. Ancak kesin olarak sebep olan etkenlerin hangisi veya hangileri olduğu hala tam olarak bilinmemektedir (Proffit et al., 2013).

2.1.1.1. Kroniafasial Büyüme

Büyüme ve gelişim, tedavi öncesi ve/veya tedavi sırasında ortodontistlerin bazı iskeletsel problemleri çözümlemesinde yardımcı olacağı gibi tedavi sonrası nüksü etkileyen potansiyel etkenlerin başında gelmektedir (Riedel 1960).

Araştırmacılar, kroniafasial değişimin iskeletsel büyüme bittiğinde durmadığını ve büyümenin hayat boyu devam ettiğini göstermektedir. Bu nedenle tedavi sonrası oluşan relapsın kişiden kişiye değiştiği ve bunu belirleyen etkenin genellikle kişinin büyüme paterni (lateral, sagittal, vertikal) olduğu bildirilmektedir (Behrents, Harris, Vaden, Williams, Kemp 1989).

2.1.1.2. Periodontal ve Gingival Faktörler

Ortodontik kuvvetler elimine edildikten sonra alveolar kret içerisinde hareket ettirilen dişleri çevreleyen periodonsiyum yapıları (periodontal ligamentler, gingival kollajen ağları ve suprakrestal fibriller) oldukça gergin ve dağınık olup yeni morfolojik yapıya adapte değildir. Bu çevre dokuların adaptasyon süresi farklılık göstermekle birlikte periodontal ligament reorganizasyonu 3-4 ay, gingival kollajen ağı 4-6 ay, suprakrestal fibriller 7-8 aydan daha fazla sürmektedir. Eğer bu periodonsiyum dokusunun adaptasyon süreci göz ardı edilirse ve retansiyon tedavisi uygulanmazsa ortodontik relaps kaçınılmaz olmaktadır (Reitan 1960; Ülgen 1999).

Boşluk kapatma ve rotasyon düzeltimi sonrasında relaps oranı diğer hareketlere göre daha fazla olmakla beraber en çok relaps görülen dişler ise alt keserler, kaninler ve ikinci premolarlardır. Buna sebep olarak, en çok bu tip hareketlerde ve bu dişlerde liflerin gerginliğinin fazla olması, dolayısıyla adaptasyon sürecinin uzun olması gösterilmektedir (Edward 1968; Southard, Southard and Tolley 1992).

Doku kayıplarında yani alveolar kret kaybı ve kök rezorbsiyonlarında da periodontal doku desteği azaldığı için relaps eğilimi arttığı bildirilmektedir (Sharpe, Reed, Subtely, Polson 1987).

2.1.1.3. Yumuşak Dokular ve Kötü Alışkanlıklar

Tedavi sonrası meydana gelen relapslarda yumuşak dokunun rolü tartışmalıdır. Eğer tedavi yumuşak dokunun belirlediği sınırlar içerisinde yapılmış ise tedavi ile birlikte değişen kas aktivitesi stabiliteyi arttırarak olumlu katkıda bulunur ancak yumuşak dokunun belirlediği sınırların aşıldığı durumlarda değişen kas aktivitesi stabiliteye olumsuz olarak etki etmektedir (Moss 1980; Fränkel 1989).

Fonksiyonel hareketlerin (çiğneme, yutkunma, konuşma) oluşturduğu dil-dudak-yanak basınçları bir denge içerisinde olup istenmeyen diş hareketlerine sebep olmamaktadır. Çünkü bu hareketlerin oluşturduğu kuvvetlerin süresi diş hareketi için yeterli olmamaktadır. Ancak sonradan kazanılan dil itimi, dudak emme, ağız solunumu gibi kötü alışkanlıklar istenmeyen basınçlar oluşturmakta diş ve çevre yapılarda relapsa sebep olabilmektedir (Proffit 1972; Thüer and Ingervall 1986).

2.1.1.4. Tedavi Sonrası Okluzyon

Tedavi sonrasında ideal okluzyon istenmeyen diş hareketlerinin oluşmasını önleyerek stabiliteye katkı sağlamaktadır. Angle yaptığı çalışmada tedavi sonrası okluzyon iyi sağlandığı takdirde relapsı önlemek için herhangi bir retansiyon aygıtı kullanımına gerek kalmadığını savunmaktadır (Angle 1907).

2.1.1.5. Ark Formu Değişikliği

Ark genişliği (inter kanin ve inter molar genişlik) ve ark uzunluğunun stabilite üzerinde etkilerinin incelediği çalışmalarda, ark genişliğinin ve ark uzunluklarının tedavi sırasında korunması gerektiğini, değişiklik yapılması gereken durumlarda ise yumuşak doku sınırları içerisinde olması gerektiğini savunmaktadırlar (McCauley 1944; Riedel 1960; Burke, Silveira, Goldsmith, Yancey, Stewart et al., 1998). Yapılan çalışmalarda, büyümenin sona ermesi ve yaşlanma ile beraber ark uzunluğu/ genişliği ve interkanin mesafenin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu azalma oral fonksiyonların oluşturduğu kuvvetin anterior komponentinden kaynaklı dişlerin mezial migrasyonuna

sebeup olarak, anterior segmentte meydana gelen relapsın veya çapraşıklığın sebebi olarak düşünülmektedir (Steadmen 1961; Southard, Southard and Weeda 1991; Proffit et al., 2013).

2.1.1.6. Üçüncü Molar Varlığı

Üçüncü molarların, stabilite üzerindeki etkisi yıllardır süre gelen bir tartışma konusu olup, bu konu hakkında çeşitli çalışmalarda birbirinden farklı fikirler savunulmaktadır. Bergstrom ve Jensen, Lindqvist ve Thilander, Sakuda ve arkadaşları ve Shenaman gibi araştırmacılar üçüncü molarlar erüpsiyon sırasında ve sonrasında özellikle alt anterior segmentte dişlerin hizalanmasını bozduğunu savunurken, Björk ve Skieller ise üçüncü moların stabiliteye herhangi bir katkısının olmadığını söylemektedir (Bergstrom and Jensen 1961; Shenaman 1968; Björk and Skieller 1972; Sakuda, Kuroda, Wada, Matsumoto 1976; Lindqvist and Thilander 1982). Southard üçüncü molarların mezialindeki dokulara uyguladığı kuvveti incelediği çalışma sonucunda kuvvetin ölçülemeyecek kadar az olduğunu belirtmektedir (Southard et al., 1991). Kahl Nieke ve arkadaşları ise üçüncü molarların retansiyon sonrası çapraşıklığa olan etkisi istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen klinik olarak anlamsız olduğunu savunmaktadır (Kahl-Nieke, Fischbach, Schwarze 1995). Bu farklı düşüncelerin nedeni olarak stabilite üzerine üçüncü molarların etkisi incelenirken diğer etkenlerin elimine edilememesi olduğu düşünülmektedir.

Neden sonuç ilişkisini kurmanın neredeyse imkânsız olduğu tedavi sonucu ve relaps arasındaki ilişkiyi, tedavi öncesi malokluzyonun tipi ve şiddeti, uygun olmayan tedavi yöntemi, hasta kooperasyonu ve mandibular kesici dişlerin boyutu gibi birçok başka faktör de etkilemektedir (Heiser, Niederwanger, Baner, Bitterman, Neunteufel et al., 2004).

2.2. Pekiştirme Tedavisi

2.2.1. Pekiştirme Tedavisinin Tanımı

Aktif ortodontik tedavi sonrasında elde edilen ideal estetik ve fonksiyonel diş ve çevre doku konumlarının sürekliliğini sağlamak, relapsı önlemek için yapılan bir tedavi fazıdır (Strang 1949; Moyers 1973). Bu fazı çoğu ortodontist ‘ikincil ortodontik tedavi’ olarak isimlendirmekte ve aktif tedavinin devamı olarak nitelendirmektedir (Reitan 1969).

Retansiyon tedavisi aktif ve pasif olmak üzere iki çeşittir: Aktif retantif fazda relapsı önlemek için çeşitli apareyler kullanılmakla beraber pasif retantif fazda ise herhangi retansiyon aygıtı kullanılmamakta, retansiyon yalnızca mevcut okluzal ilişki ile sağlanmaktadır (Perk n 1973).

2.2.2. Pekiştirme Tedavisinin Tarihçesi

Ortodonti tarihi boyunca araştırılan ancak üzerinde hala fikir birliğine varılamayan retansiyon tedavisinin süresi ve tipine hekimler genellikle klinik deneyimlerine göre karar vermektedir (Proffit et al.,2013). Aktif ortodontik tedaviyi takiben kalıcı sonuçlar elde etmek için farklı görüşler ortaya atılmıştır:

- Okluzyon: Kingsley yaptığı çalışmada stabilitenin devamlılığı için en etkili faktörün okluzyon olduğunu savunmuş ve bu fikir Guilford, Talbot ve Eugene (1903), Angle (1907), Dewey (1909), Hawley (1919), Hellman (1944) gibi ortodontistler tarafından da kabul görmüştür (Angle 1907; Hawley 1919; Hellman 1944; Riedel 1960; Kingsley 1980).

- Kas dengesi: Paul Rogers çalışmasında stabilitenin devamlılığı için düzgün fonksiyon gören kas aktivitesi ve kas dengesi olması gerektiğini savunmuştur (Rogers 1922).

- Apikal Kaide: Axel Lundström (1925)- Nance (1947); Dişlerin bazal kaide içerisinde doğru konumlandırılmasının ve limitli genişletmenin stabilitenin devamlılığını sağladığını savunmuşlardır (Lundström 1925; Nance 1947).

- İnterkanin ve İntermolar mesafe: Ark genişlinin korunmasının stabilitenin devamlılığı için etkili bir faktör olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (McCauley 1944).

-Alt keser konumu: Alt keserlerin bazal kaide içinde dik konumda bulunmalarının stabilite sağlanmasında önemli bir etken olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Grieve 1944; Tweed 1944; Tweed 1952).

2.2.3. Pekiştirme Tedavisinin Gerekliliği ve Süresi

Pekiştirme tedavisinin gerekliiği ve süresi belirlenirken ortodontide en büyük sorunlardan birinin relaps olduğunu unutmamak gerekir. Ortodontinin önemli isimlerinden biri olan Hawley ‘hastalarımın tedavisi bittikten sonra onların retansiyon tedavisini yaparak ve sonuçlardan sorumlu olacak biri varsa tedavi ücretinin yarısını ona vermeye hazırım’ demiş ve pekiştirme tedavisinin önemini vurgulamıştır (Hawley 1919).

Retansiyon tedavisinin ana hedefleri; periodontal ve gingival dokuların reorganizasyonuna ve nöromüsküler uyuma izin vermek, büyümeyle oluşacak olan değişimleri en aza indirmek, tedavi sonucu stabil olmayan diş konumları korumak olarak bildirilmektedir (Proffit et al., 2013).

Ortodontik diş hareketleri sırasında periodontal ligamentin genişlemesi, kollajen fibril ağlarının dağılması ve periodontal ligamentte meydana gelen bozulmalar stabiliteye olumsuz etki ederek, çevre dokulardan gelen basınç ve kuvvetler sonucunda nüks meydana getirebilmektedir. Bu nedenle pekiştirme tedavisine ihtiyaç duyulmaktadır (Proffit et al., 2013).

Melrose, retansiyon tedavisini aktif tedaviden ayırmamakta ve tedavi protokolunu belirlerken göz önünde bulundurulması gereken durumları;

- Tedavi öncesi maloklüzyon ve hastanın büyüme paterni
- Uygulanan tedavi tekniğinin çeşiti
- Stabilitenin arttırılması için ek prosedürlere ihtiyaç olup/olmadığı
- Retansiyon apareyinin tipi

- Retansiyon tedavisinin süresi gibi maddeler halinde özetleyerek, retansiyon tedavisinin tedavi başında planlanması gerektiğini savunmaktadır (Melrose et al., 1966).

Yapılan araştırmalar sonucunda retansiyon apareylerinin tipleri ve kullanım sürelerini belirlerken göz önünde bulundurulması gereken faktörler;

- Hareket ettirilen diş sayısı
- Dişlerin hareket ettirildiği mesafe miktarı
- Oklüzyon
- Hastanın yaşı
- Maloklüzyonun etyolojisi
- Tedavi hızı
- Tüberkül yapısı
- İlgili dokuların sağlık durumu
- Arkların genişliğine ya da arkların birbiriyle uyumu
- Kas basıncı
- Aproksimal kontaklar
- Hücre metabolizması gibi faktörler olarak bildirilmektedir (Joondeph 1966).

Günümüzde uygulanan ortodontik tedavilerden sonra uygulanan retansiyon protokollerinde genel kural fibrillerin yeni konumlarına adapte olana kadar dişlerin düzeltilmiş pozisyonda tutulması ve büyüme tamamlanana kadar pekiştirme tedavisine devam edilmesidir (Reitan 1967; Ülgen 2005).

Profitt ve arkadaşları, hareketli pekiştirme apareylerinin aktif tedavi bitiminden sonra ilk 3-4 ay tam zamanlı, sonrasında ise en az 12 ay olacak şekilde yarı zamanlı kullanılmasını tavsiye etmektedir (Proffit et al., 2013). Rossouw ve Malik ise hareketli pekiştirme apareylerinin aktif tedavi bitiminden sonra ilk bir ayı tam zamanlı, sonrasında ise evde kalınan süre veya uyku süresi boyunca takılmasını önerirken McNally ve arkadaşları ise hareketli pekiştirme apareyinin aktif tedavi bitiminden sonra ilk 3-6 ay tam zamanlı, sonrasında 12-18 ay sadece geceleri takılmasını önermekte ve kademeli olarak azaltarak haftada iki olacak şekilde kullanmaya devam edilmesi gerektiğini söylemektedirler (McNally, Mullin, Dhopatkar, Rock 2003; Rossouw and Malik 2017).

Retansiyon tedavisi planlaması, tedavi metoduna göre 3 ayrı grupta toplanmaktadır (Graber et al., 2017):

2.2.3.1. Sınırlı Süre Retansiyon Gerektiren Durumlar

- a. Çapraz kapanış tedavisi uygulanan vakalarda
 - Ön çapraz kapanış tedavisi
 - Yan çapraz kapanış tedavisi
- b. Seri çekim veya tek diş çekimi gerektiren vakalarda
- c. İskeletsel ya da dental üst çene gelişiminin sınırlandırıldığı vakalarda
- d. Gömülü diş sürdürülen vakalarda
- e. Kaninlerin infra pozisyonda olduğu vakalarda sınırlı süre retansiyon uygulaması yapılmalıdır.

2.2.3.2. Orta Süreli Retansiyon Gerektiren Durumlar

a. Anterior protrüzyonun var olduğu sınıf I çekimsiz vakalarda yumuşak doku adaptasyonu oluşana kadar retansiyona devam edilmelidir.

b. Sınıf I ve sınıf II çekimli vakalarda yumuşak doku adaptasyonu oluşana kadar retansiyona devam edilmelidir. Fonksiyonel adaptasyon oluşuncaya kadar üst çenede tam zamanlı Hawley tipi bir retansiyon apareyi kullanılmalı sonrasında yalnızca gece daha sonra ise haftada bir veya iki kez kullanıma geçilmeli ve aparey kullanımı zamanla azaltılarak bırakılmalıdır.

c. Sınıf I veya sınıf II örtülü kapanış vakalarında;

- Derin kapanış düzeltimi için anteriorda intrüzyon gerçekleştirildiyse üst retansiyon apareyinde bir ısırma düzlemi bulunması gerekmektedir. Bu apareyin etkili olabilmesi için ilk 4-6 ay boyunca tam zamanlı kullanım gerekmektedir.

- Derin kapanış düzeltimi için molar ekstrüzyonu gerçekleştirildiyse ramus adaptasyonu gerçekleşene kadar dikey düzlemde retansiyona devam edilmelidir.

d. Ektopik dişlerin ya da süpernumere dişlerin bulunduğu vakalarda orta süreli retansiyon uygulaması yapılmalıdır.

2.2.3.3. Sürekli Retansiyon Gerektiren Durumlar

- a. Çene genişletmesi tedavisi yapılan vakalarda
- b. Dudak damak yarıklı vakalarda
- c. Şiddetli rotasyonlar içeren vakalarda retansiyon için sabit lingual retainerlar kullanılmalıdır.
- d. Median diastemaların bulunduğu vakalarda retansiyon için sabit lingual retainerlar kullanılmalıdır.
- e. Polidiastema vakalarında retansiyon için sabit lingual retainer kullanılmalıdır.
- f. Mandibular kesicilerin 2 mm'den fazla procline edilen vakalarda retansiyon için sabit lingual retainer teli kullanılmalıdır.

Relaps görülme olasılığı alt anterior bölgede diğer bölgelere oranla daha fazla olup bunun sebebi, genellikle devam eden iskeletsel mandibular büyüme ve bu büyümenin yalnızca okluzyonu değil aynı zamanda mevcut diş pozisyonlarında olumsuz etkilemesidir. Ayrıca interkanin mesafenin tedavi öncesi duruma dönmesi ve yumuşak dokunun tedavi sonundaki duruma adapte olamaması da alt anterior bölgede relaps riskini arttırmaktadır (Steadmen 1961; Southard et al., 1991; Proffit et al., 2013). Uzun dönem çalışmalar sonucunda 20 yıllık retansiyon tedavisi sonrasında dahi alt anterior bölgede yalnızca %10 luk kısımda kabul edilir seviyelemenin mevcut olduğu görülmüştür (Reitan 1967).

Sürekli retansiyon gerektiren hastalar için kullanılan sabit lingual retainer telleri relapsı önlemede oldukça başarılı olarak kabul edilmektedir. Çeşitli retansiyon apareyleri olmasına rağmen sabit lingual retainer tellerinin hasta kooperasyonundan bağımsız olması, ortodontistler tarafından alt anterior bölgenin uzun dönem retansiyonu için tercih sebebi olmaktadır (Atack, Harradine, Sandy, Ireland 2007; O'Rourke, Albeedh, Sharma, Johan 2016).

2.3. Pekiştirme Apareyleri

Retansiyon apareyleri sabit ve hareketli olarak ikiye ayrılmaktadır: Hareketli apareyler olarak Hawley, Wraparound, Elastik Wraparound, Van der Linden retainer, Sarhan all retainer, Spring aligner, Coregg apareyi, Osamu retainer, vakumlu şeffaf plaklar olan essix'ler kullanılmakta olup bazen de büyüme modifikasyonun relapsını önlemek amacıyla ise fonksiyonel apareyler olan monoblok/twin blok apareylerinin veya headgearın yarı zamanlı kullanımında önerilmektedir. Sabit retansiyon apareyi olarak sabit lingual retainer telleri tercih edilmekte olup genellikle daimi retansiyon gereken durumlarda kullanılmaktadır (Rodrigues, Casasa, Rocha, Del Pozo, Natera et al., 2007; Proffit et al., 2013). Günümüzde ortodontislerin sıklıkla kullanmakta olduğu retainer tipleri; Hawley apareyi, vakumla şekillendirilen şeffaf plaklar olan essixler ve sabit lingual retainer telleridir (Wong and Freer 2004; Keim, Gottlieb, Nelson, Vogels 2008; Singh, Grammati, Kirschen 2009; Renkema, Sips, Bronkhorst, Kuijpers-Jagtman 2019).

Hangi vakada hangi pekiştirme tedavisinin kullanılacağını belirten herhangi bir kılavuz bulunmamakla beraber, kullanılacak apareyin tipi ve kullanım süresini belirlerken göz önünde bulundurulması gereken faktörlerin en önemlileri; hastanın başlangıç malokluzyonu, hastanın yaşı, büyüme pateni, tedavi sonu okluzyon ve hasta kooperasyonudur (Joondeph 1966).

İyi bir retansiyon apareyinde aranan özellikler; relapsı önlemesi, fizyolojik dış hareketlerine izin vermesi, fonksiyonel okluzyona izin vermesi, biyolojik olarak dokulara uyumlu olması, üretimi ve tamiri kolay olması, konforlu olması, uzun süre kullanılabilir olması, estetik olması, maliyeti düşük olması olarak sıralanmaktadır (Collet 1998).

2.3.2. Hareketli Pekiştirme Apareyleri

2.3.2.1. Hawley Apareyi

Charles Hawley tarafından 1900'lu yıllarda tasarlanan ve 1919 yılında tanıtılan Hawley apareyi hareketli pekiştirme aparey çeşitlerinden biri olup üzerinde çeşitli

modifikasyonlar yapılarak günümüze aktarılmıştır. Hem maksiller ark hem de mandibular arkta kullanılabilir olmasına rağmen genellikle maksiller arkta kullanımı tercih edilmektedir (Hawley 1919).

Hawley apareyi 2 bölümden oluşmaktadır;

1- Akrilik kısım; Dişlerin lingualine temas eden ve yumuşak dokuyu kaplayan bölümdür. Metil metakrilat yapısında olup üst çenede 1.5-2 mm, alt çenede ise 2-2.5 mm kalınlığında olmalıdır. Laboratuvar aşamasında bu kısım iyice cilalanmalı, dili veya çevre yumuşak dokuları tahriş etmemelidir.

2- Tutucu elaman; Tutucu elamanlar genellikle 0.020-0.036 inç'lik yuvarlak paslanmaz çelik telden hazırlanmakta olup ikiye ayrılmaktadır.

a) Vestibuler ark; Anterior dişlerin bukkal yüzeylerinden geçen, pasif teldir.

b) Kroşeler; Genellikle iki premolar arasında bulunan topuz/damla kroşe ve birinci molarları kavrayan adams kroşelerden oluşmaktadır. Kroşeler çekim boşluğundan geçmemesine özen gösterilmelidir çünkü gelen okluzal veya travmatik kuvvetler çekim boşluğunun açılmasına sebep olabilir.

Hawley apareyinin avantajları; dişlerin oklüzal yüzeylerini kaplamaması sebebiyle maksiller ve mandibular posterior dişlerin fizyolojik diş hareketlerini engellememesi ve fonksiyonel okluzyona katkı sağlamasıdır. Örtülü kapanış vakalarında üst çene plağına ön ısırma düzlemi eklenmekte ve açık kapanış hastalarında da posterior bite blok eklenerek uzun dönem pekiştirme sağlanabilmektedir. Ayrıca diş eksikliği bulunan vakalarda plastik dişler ile boşluğu doldurarak estetik ihtiyaçları karşılayabilmektedir. Dezavantajları ise hasta uyumuna bağlı olması, estetik olmaması, laboratuvar işlemi gerektirmesi, konuşmayı zorlaştırması, okluzal yüzeylerden geçen tellerin okluzyonu engellemesi, ağız kokusu yapabilmesi ve apareyin hasta tarafından kaybedilebilir olması olarak belirtilmektedir (Joondeph 1966; Rodriguez et al., 2007; Luther and Nelson-Moon 2013).



Resim 2.1 Maksiller ve mandibular Hawley apareyi

2.3.2.2. *Wraparound Apareyi*

Hawley apareyinde kanin ve lateral dişlerin arasından geçirilen vestibuler ark wraparound apareyinde birinci molar dişlerin hatta bazen de ikinci molar dişlerin distalinden posterior bölgesine kadar uzatılmakta ayrıca Hawley apareyinde bulunan tutuculuk sağlayan damla veya topuz kroşeler bulunmamakta buda çekimli vakalarda çekim boşluğunun açılması gibi relaps olasılığını elimine etmektedir. Wraparound apareyi genellikle posterior dişlerdeki bantlar söküldükten sonra kalan minimal boşlukların kapatılmasını için kullanılmakta olup bite kontrolünde Hawley apareyi kadar başarılı değildir. Ayrıca Hawley apareyine göre daha az estetik ve daha az konforludur (Joondeph 1966; Proffit et al., 2013).

Wraparound apareyi dişleri sıkı bir şekilde çevrelediği için dişlerin fizyolojik hareketlerine ve periodontal dokuların reorganizasyonuna izin vermez. Günümüzde çok fazla kullanılmayan bu apareyler daha çok periodontal yıkıma uğramış dişlerde splint amaçlı tercih edilmektedir (Proffit et al., 2013).



Resim 2.2 Wraparound Apareyi

2.3.2.3. Vakum ile Şekillendirilen Termoplastik Plaklar

Essix retainerlar vakumla şekillendirilen şeffaf termoplastik apareyler olup 1971 yılında Pointz tarafından tanıtılmış, 1993 yılında ise Raintree Essix şirketi tarafından piyasaya sürülmüştür. Dr. Jack Sheriadan ve arkadaşlarının öncülüğünde kliniklerde essix plaklarının kullanımı yaygınlaşmıştır. Tip A ve Tip C+ olmak üzere 2 çeşidi mevcuttur. Tip A, ışığı çok iyi yansıttığı için estetikdir ve retansiyon amacıyla kullanılmaktadır. Tip C+, ışığı iyi yansıtamaz dolayısıyla estetik değildir ancak daha sağlam yapıdadır. Retansiyon apareyinden ziyade diş kayıplarında yer tutucu olarak, palatal ekspansiyon ihtiyacı olan hastalarda, bruksizm hastalarında ve boşluk kapanmasını gerektiren hastalarda kullanılmaktadır (La Boda, Sheridan, Weiburg 1995; Lindauer and Shoff 1998).

Şeffaf plaklar, transparan ve ince olması nedeniyle hastalar tarafından daha çok tercih edilmekle birlikte diğer hareketli pekiştirme apareylerine göre daha konforludur. Ayrıca temizliği kolay, gerektiğinde protez diş eklenmesi gibi modifikasyonlara açık, aynı gün içerisinde üretilebilir ve ucuz olmasından dolayı da hekimler tarafından sıklıkla tercih edilmektedir (Sheridan, McMinn, LeDoux 1995; Jäderberg, Feldmann, Engström 2012; Johnston and Littlewood 2015).

Şeffaf plakların dezavantajları;

- Hasta uyumu gerektirmesi,

- Plaklar, dişlerin okluzal yüzeyini kaplaması nedeniyle interdişitasyona izin vermemesi,
- Overbite kontrolünde başarılı olmaması,
- Zamanla kırılma ve renkleşmeler görülmesi ve dolayısıyla yılda bir kez yenilenmesinin önerilmesi,
- Genellikle hastalar tarafından kaybedilmesidir (Proffit et al., 2013).



Resim 2.3 Vakum ile şekillendiren termoplastik plak

2.3.2.4. Positioner

Kesling tarafından 1945 yılında tanıtılmış olan positionerlar, yalnızca retansiyon tedavisinde değil aynı zamanda aktif tedavinin bitim aşamasında da kullanılmaktadır (Kesling 1945).

Positioner apareyleri, okluzal kuvvetler sonucunda posterior intruzyonu ve anterior ekstruzyonu sağladığı için çoğunlukla openbite hastalarında tercih edilmektedir. Büyüme paternine bağlı Sınıf II malokluzyona sahip hastalarda relapsı önlemek için kullanılsa da fonksiyonel aparey veya headgear apareyinin yarı zamanlı retantif kullanımına göre etkinliği daha azdır. Fonksiyonel apareylerden sonra sabit ortodontik tedaviye kadar mandibulanın pozisyonunu korumak amacıyla da kullanılabilir. Sınıf III tedavisi sonucunda relapsa meyilli hastalarda mandibulayı posteriora rotasyona yönlendirdiği için de tercih edilmektedir. Ayrıca diş eti hiperplazisi görülen hastalarda dokuyu sürekli stimule ederek sertliğinin ve renginin geri kazanılmasına katkı sağladığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Bennett 2006; Değirmenci ve Özsoy 2009; Proffit et al., 2013).

Positioner apareyinin avantajları; temizliğinin kolay olması, dayanıklı olması, ark iÇi diş pozisyonlarını korumada başarılı olması ve doku tonusunu stimule etmesidir. Dezavantajları ise hacimli olması dolayısıyla sürekli kullanım ve nazal hava yolu tıkanıklığında kullanım zorluğu yaratması, esnek yapısından dolayı rotasyona uğramış dişlerin düzeltilmiş pozisyonunun korumasında ve keser çapraşıklığını engellemede etkili olmayışı olarak sayılabilir (Kesling 1945; Değirmenci et al., 2009; Proffit et al., 2013).



Resim 2.4 Positioner

2.3.2.5. *Spring Retainer*

Spring retainer apareyi genellikle mandibulada anterior bölgede kullanılmakta olup, uzun klinik kron boyuna sahip hastalarda veya kron torku sonucunda oluşan undercutlı alana apareyi yerleştirme zorluğu yaşayan hastalarda kullanımı tercih edilmektedir (Joondeph 1966).



Resim 2.5 Spring Retainer

2.3.2.6. Hareketli Retansiyon Apareylerinin Kullanım Süresi

Günümüz ortodontik tedavilerinden sonra çeşitli retansiyon protokolleri uygulanabilmektedir. Yapılan araştırmalarda; pekiştirme tedavisi sürelerini Proffit ve arkadaşları 3-4 ay tam zamanlı olarak sonrasında ise en az 12 ay yarı zamanlı kullanımı önerirken Rassouw ve arkadaşları ise ilk bir ay tam zamanlı sonrasında yarı zamanlı kullanımın yeterli olacağını savunmaktadır (Proffit et al., 2013; Rossouw et al., 2017).

Ortodonti pratiğinde hekimler, hareketli retansiyon apareylerinin tedavi süresinin yarısı kadar süre boyunca tam zamanlı, daha sonra yarı zamanlı kullanımı olan yalnızca geceleri kullanım protokolunu uygulamaktadır. Aparey terk edileceği zaman ise gün aşırı, haftada bir ya da on beş günde bir kullanarak kademeli olarak terk etmelidir. Hareketli retansiyon apareyinin kullanım süresi hekim ve hasta kaynaklı olarak değişmekte olup tam zamanlı kullanımın da yarı zamanlı kullanımın da çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Tam zamanlı kullanımda dişler uzun süre retansiyonda olduğu için relaps olasılığı azalırken, apareyler interdijitasyonun yani okluzyonun oturmasını engellemekte ve uzun süreli hasta kooperasyonu gerektirmektedir. Yalnızca yarı zamanlı kullanım, hastalar tarafından daha kolay tolere edilmekte olup apareyin kullanılmadığı zamanlarda okluzal ilişkinin oturmasına izin vermekle beraber dişler uzun süreli retansiyonda olmadığı için relaps olasılığı artmaktadır (John et al., 2014).

2.3.2. Sabit Pekiştirme Apareyleri

Sabit pekiştirme apareyi olan retainerlar tel formunda olup anterior dişlerin palatinal ve lingual yüzeylerine yapıştırılmaktadır. Bu nedenle lingual retainerlar olarak da adlandırılmaktadırlar (Proffit et al., 2013).

Sabit lingual retainer tellerinde hasta kooperasyonuna ihtiyacın minimum olması ve bu tellerin hasta tarafından kolay kabul edilebilir olması nedeniyle, relaps olasılığının fazla olduğu, uzun süre pekiştirme yapılması gereken vakalarda bu teller sıklıkla tercih edilmektedir. Proffit ve arkadaşları tarafından sabit pekiştirme

apareylerinin uygulanması gereken durumlar dört ana madde olarak belirlenmiştir (Proffit et al., 2013);

- Ortodontik tedavi sonucunda kapatılan boşlukların korunması, elde edilen interproksimal kontakların devamlılığının sağlanması ve düzeltilen rotasyonun relapsını önlemek için daimi retansiyon gerekmektedir. Boşluk kapatıldıktan sonra her ne kadar yardımcı retansiyon yöntemi olan frenektomi uygulansa bile relaps gözlemlenmektedir. Dolayısıyla sabit lingual retainer telleri kullanılmalıdır.

- Ortodontik tedaviler sonucunda devam eden geç mandibular büyüme nedeniyle alt keser dişlerin tedavi öncesi duruma dönme eğilimleri bulunmaktadır, oluşacak alt keser relapsını engellemek için sabit lingual retainerlar kullanılmalıdır.

- Protez tedavisi amacıyla hazırlanmış boşlukların korunmasında, implant veya protezler yapılana kadar sabit pekiştirme apareyi geçici yer tutucu olarak kullanılabilecek en iyi retansiyon apareyidir.

- Ortodontik tedavi ile kapatılmış çekim boşluklarının korunması sabit lingual retainerların endikasyonları arasındadır.

Birinci premolar çekimi uygulanmış vakalarda sabit lingual retainerlar ikinci premolara kadar uzatılmakta böylece boşluk oluşması engellenmektedir. Ancak Zachrisson ve arkadaşları ikinci premolarların lingualine retainer telleri uzatıldığında okluzal kuvvetlerden kaynaklı erken kopmalar yaşandığını söylemekte bu durum hastalar tarafından fark edilmez ve önemsenmez ise diğer dişleri de relaps tehlikesi altında soktuğunu savunmaktadır (Zachrisson 2015). Sınıf III maloklüzyona sahip dil itimi hastalarında da mandibular anterior boşlukların tekrar açılmasının önüne geçmek ve derin kapanış düzeltiminden sonra keser ve kaninlerin erüpsiyonuna engel olmak amacıyla ve sabit lingual retainer telleri endike olup birinci premolara kadar uzatılabilmektedir (John et al., 2014).

Yapılan araştırmalar ve klinik çalışmalar ortodontik tedaviler, anterior dişlerin relapsını önlemek ve daimî stabilizasyon gerektiğini göstermektedir. Sabit lingual retainer telleri bu durumlarda oldukça başarılı kabul edildiğinden ortodontisler tarafından sıklıkla tercih edilmektedir (Zachrisson 1983).

Molarların bantlı olduğu lingual arklar 1900 yılların başlarında kullanılmaya başlanmış ve pekiştirme amacıyla kullanılan ilk apareyler olmuşlardır. Daha sonra relapsın daha çok anterior bölgelerde meydana geldiğinin gözlemlenmesiyle, bantlar

kanin dişlere yerleştirilmiş ve lingualden kalın bir paslanmaz çelik tel geçirerek bantlara lehimlenmesiyle bu arklar modifiye edilmiştir (Angle 1907; Rinhesse, Miles, Sheridan 2007).

Asit etche tekniğinin bulunması, diş hekimliğinde yeni bir çığır açmasına rağmen gelişmesi ve ortodontide uygulanabilir olması uzun zaman almıştır. Newman, 1965 yılında asit etch tekniği ile ilk kez ortodontik ataşmanların simantasyonunu yapmış, Kneirim ise 1973 yılında asit etch tekniği kullanarak sadece kanin dişlerin lingual yüzeylerine yapıştırılan ortodontik retainerların simantasyonunun yapılabileceğini bildirmiştir (Newman 1965; Kneirim 1973). Kneirim, bu uygulamasında 0.028 inç yuvarlak paslanmaz çelik tel kullanarak kaninlere gelen kısımda tele 90 derecelik açı vererek büküm yapmış ve bunun retansiyonu arttırdığını savunmuştur (Kneirim 1973). Zamanla 0,032, 0,036 inçlik paslanmaz çelik veya 0.030 inçlik altın kaplı teller kullanılmaya başlanmış ve bu tellerin tutuculuğunu arttırmak için kanin dişlerine yapıştırılacak olan kısım kumlanmış (Zachrisson 1977).

Adhesive materyallerin ortodontide kullanıma başlanmasıyla değişik fikirler ortaya atılmış, 1970'li yılların ortalarında paslanmaz çelik tel veya başka içerikte herhangi bir tel kullanmadan yalnızca adhesivler kullanarak dişlerin kontak noktalarından splintlenmesi fikri ortaya konmuştur (Zachrisson 1974). Ancak kullanılan kompozit splintler okluzal kuvvetlere karşı direnç gösteremediği ve dişlerin fizyolojik hareketine izin vermeyip dişleri çok rijit hale getirdiği için kısa süre içerisinde dişlerden ayrılmış ve bu uygulamalar başarısız olarak kabul edilmiştir. Zachrisson ve arkadaşları, interdental kontak alanlarını adhesive materyalleri ile kapatmak yerine dişleri birbirine bağlayan 0.015-0.0195 inçlik 3 sarmallı tel kullanmışlar, bu uygulamanın adhesive materyallerine tutucu alan yaratmasını ve retainer telin okluzal kontaklara göre uyumlandırılabilmesini avantaj olarak savunmuşlardır (Zachrisson 1977; Zachrisson 1978; Zachrisson 1983).

Değişik çaplarda, farklı esneklik katsayılarında ve farklı kesitlerdeki retainer tellerinin kopma ve dişten ayrılmasının değerlendirildiği çalışmalar sonucunda optimal telin 0.0215 inch beş sarmallı tel olduğunu belirtmiştir. Bu telin diğer retainer tellerine kıyasla dişlerin fizyolojik hareketine izin verecek seviyede elastik olması, daha az kırılma ve ayrılmalar gözlemlenmesinin nedeni olarak gösterilmiştir (Dahl and Zachrisson 1991; Zachrisson 2007).

2.3.2.1. Sabit Lingual Retainer Yapımında Kullanılan Materyaller

Retainer telinin seçiminde dikkat edilmesi gereken faktörler, telin mekanik özelliklerini belirleyen materyali, kalınlığı, kesiti gibi unsurları içerir. Sabit lingual retainer telleri materyalleri ve kesitlerine göre jenerasyonlara ayrılmaktadır (Değirmenci et al., 2009);

1.jenerasyon; Mavi elgiloy (CoCrNi) veya paslanmaz çelik yapısında olan, 0,025-0,036 inç kalınlığında yuvarlak tellerdir. Yalnızca kanin dişlere yapıştırılmaktadır ve uçlarına, retansiyonu arttırmak için looplar eklenmiştir.

2.jenerasyon; Mavi elgiloy (CoCrNi) yerine paslanmaz çelik yapısında olan 0,032 inç kalınlığında üç sarmallı teller kullanılmaktadır. Çok sarmallı olması telin mekanik tutuculuğunu arttırmaktadır. Elastikiyetlerinin fazla olması dişin fizyolojik hareketlerine izin vermekte ancak bazı hastalarda bu elastikiyet yeterli rijidite sağlayamadığından dolayı retainer tellerinde distorsiyonlar görülmüştür.

3.jenerasyon; 0,032 inç paslanmaz çelik veya 0,030 inç altın yapısında olan tellerdir. Yalnızca kanin dişlere yapıştırılmaktadır ve uçları, retansiyonu arttırmak için alüminyum oksit ile kumlanmıştır.

4.jenerasyon; 0,0215 inç beş sarmallı koaksiyal tellerdir ve kanin-kanin arası tüm dişlere yapıştırılır.

5. jenerasyon; Mavi elgiloy (CoCrNi) yapısında olan 0,032 inç kalınlığındaki tellerdir. Yalnızca kanin dişlere yapıştırılmaktadır ve uçları, retansiyonu arttırmak için kumlanmaktadır.

Paslanmaz çelik retainer telleri, farklı çap ve kesitlerde ve farklı oranlarda metal elementler kullanılarak üretilmiştir. Ortodonti pratiğinde çoğunlukla kullandığımız, firmalardan temin edilen tellerin içeriğinde; nikel, krom, magnezyum, kobalt, demir ve karbon gibi elementlerin çoğunlukta kullanıldığı görülmektedir. Ortodonti pratiğinde altın standart olarak belirlenen bu paslanmaz çelik retainer tellerinin metal ve nikel allerjisi olan hastalarda kullanılamaması dezavantajları arasındadır (Proffit et al., 2013).

Günümüzde, paslanmaz çelik retainerlara alternatif olarak polietilen fiber veya cam fiberle güçlendirilmiş kompozit yapısında retainerlar da bulunmaktadır. Bunlar yüksek biyouyumluluğa sahip olup, transparan yapılarından dolayı son derece

estetiktirler ve hasta ağızında uyumlandırılması oldukça basittir (Karaman, Kir, Belli 2002; Rose, Frucht, Jonas 2002). Ancak paslanmaz çelik retainerlara göre başarısızlık oranlarının fazla, maliyetlerinin yüksek olması ve daha hassas teknik gerektirmeleri yaygın olarak kullanılmalarını engellemektedir (Artun 1984; Tacken, Casyn, De Wilde, Aerts, Govaerts at al., 2010; Sobouti, Rakhshan, Saravi, Zamanian, Shariati 2016).

2.3.2.2. Sabit Lingual Retainer Tipleri

Sabit lingual retainer teller, yalnızca kanin dişlere yapıştırılan kalın ve rijit yapıda olduğu gibi kanin-kanin arası tüm anterior dişlere yapıştırılan ince ve esnek yapıda da olabilir ve her iki tipte de uygulanmaktadır (Bearn 1995; Hegde, Vinay, Handa 2011; Pazera, Fudalej, Katsaros 2012). Uygulama yöntemleri ise genellikle klinikte direk olabildiği gibi laboratuvar işlemi gerektiren indirek uygulama şeklinde de olabilmektedir (Bearn 1995).

2.3.2.2.A. Sadece kanin dişlere uygulanan sabit retainerlar

Sadece kanin dişlerinden destek alarak retansiyonu sağlayan bu kalın ve rijit retainer tellerinin anterior dişlerle herhangi bir bağlantısı bulunmadığı gibi herhangi bir retantif desteği de bulunmamaktadır (Booth, Edelman, Proffit 2008). Bu tip retainer seçiminde genellikle paslanmaz çelik tel yapısında olanlar tercih edilse de Mavi Elgiloy (CoCrNi) ve Nikel-Titanyum (NiTi) yapıda olanlarda bulunmaktadır (Liou, Chen, Huang 2001).

Bu retainerların endikasyonları; alt kesici dişlerin protruze edildiği, interkanin mesafesinin arttırıldığı, çekimsiz tedavi edilen hafif çapraşıklık vakaları, şiddetli alt keser çapraşıklığı ve rotasyon vakaları ve derin kapanışın tedavi edildiği vakalar şeklinde belirtilmektedir (Lee 1981). Ancak Bearn bu tip retainerın alt anterior segmentin antero-posterior ve lateral yönde hareket ettirildiği vakalarda kullanılması gerektiğini belirtmiş, eğer anterior bölgede ki keser dişlerinde relaps riski var ise bu tip retainerın endike olmadığını söylemiştir (Bearn 1995).

Bu tip retainerlar desimante olduğunda hasta tarafından hemen fark edilmekte ve hasta ortodonti uzmanına hemen başvurmaktadır. Bu durum relaps riskini azaltmaktadır (Zachrisson 1995; Graber et al., 2012). Ayrıca hijyenik ve fırçalaması kolay olduğundan dolayı periodontal problem ve çürük oluşturma riskini azaltmaktadır (Zachrisson 1995). Sadece kanin dişlerine uygulanan retainer tellerinin kanin-kanin arası tüm dişlere uygulanan retainerlara göre daha güvenli olduğu söylenmekle beraber anterior dişlere bağlı olmadığından dolayı kesici relapsını önlemede yeterince başarılı olmaması göz ardı edilemeyecek dezavantajları arasında bulunmaktadır (Zachrisson 1995, Störmann and Ehmer 2002; Renkema, Al-Assad, Bronkhorst, Weindell 2008).

2.3.2.2.B. Kanin kanin arası tüm dişlere uygulanan sabit retainerlar

Ortodontide adhesive sistemlerin gelişmesiyle birlikte ortodontik retainer tellerinin, kanin kanin arası tüm anterior dişlere yapıştırılma fikri ortaya atılmış ve alt keser çapraşıklığını yalnızca kaninlere yapıştırılan retainerlara göre daha iyi koruyacağı fikri öne sürülmüştür. Uzun dönem yapılan gözlemler sonucunda keser çapraşıklığını önlemede oldukça etkili olduğu görülmüş ve altın standart olarak kabul edilmişlerdir (Watted, Wieber, Teuscher, Schmitz 2001).

Retainer telleri yuvarlak ve köşeli kesitli olarak kullanılmaya başlanmış daha sonra Zachrisson ve arkadaşları 0.015-0.0195 inç kalınlığında üç sarmallı retainer tellerini tanıtmışlardır. Ancak bu tip üç sarmallı retainer tellerinin kullanımında, telin kırılması ve telin dişin lingual yüzeyinden ayrılması gibi komplikasyonlar ile karşılaşmıştır. Bunun sonucunda araştırmacı değişik boyut, sarmal yapı ve esneklik katsayısında teller denemeye ve karşılaştırmaya başlamış ve sonunda optimal telin 0.0215 inç kalınlığında beş sarmallı tel olduğu belirtmiştir. Bu tel, dişlerin fizyolojik hareketine izin verecek kadar esneklik katsayısına sahip olduğu için diğer tellere oranla daha az kırılma ve dişten ayrılma gözlemlenmiştir. Ayrıca bu retainer tellerinin düzensiz yüzey özellikleri adhesive materyallerine tutucu alan sağlamaktadır (Dahl et al., 1991; Zachrisson 2007). Kolay uyumlandırılabilir olması, okluzal temaslara göre ayarlanabilir olması da diğer avantajları arasındadır (Parshan and Jain 2014).

Ortodonti pratiğinde sıklıkla kullanılmakta olan bir diğer tip retainer telleri olan ‘dead-soft’ teller, geri yaylanma özelliklerinden dolayı istenmeyen kuvvetler karşısında istenmeyen diş hareketi oluşturmamakta ve esnek yapılarından dolayı kolay uyumlandırılabilir (Baysal, Uysal, Gul, Alan, Ramoglu 2012; Günay 2017).

Kanin- kanin arası tüm anterior dişlere uygulanan retainerların endikasyonları;

- Polidiastema ve median diastema tedavisi sonrası,
- Mandibular keser çekimi yapılan vakalar,
- Şiddetli rotasyon düzeltimi yapılan vakalar,
- Periodontal problemi olan hastalar,
- Boşluk korunmasında geçici yer tutucu olarak,
- Gömülü kanin sürdürülen vakalar olarak bildirilmiştir (Zachrisson 1983).

2.3.2.3. Sabit Lingual Retainer Telleri Uygulama Yöntemi

Sabit lingual retainer telleri 2 farklı teknik ile ağız içine uygulanabilmektedir: Direk uygulama yönteminde ister ağızda ister modelde uyumlandırma yapılabilir. Ağızda yapılan uyumlandırmada seçilen retainer teli; tel ligatür, diş ipi kullanarak veya el ile manuel olarak dişlerin lingual yüzeylerine pasif olarak uyumlandırılır. Daha sonra adhesive maddeler ile simante edilir (Zachrisson 1977). Model üzerinde yapılan uyumlandırmada ise söküm öncesi alınan ölçülerden dental modeller hazırlanır. Daha sonra bu modeller üzerine retainer telleri pasif olarak uyumlandırılır. Telin okluzal temasta olmamasına dikkat edilmelidir. Ön hazırlık işlemi dental modeller üzerinde yapılan retainerlar, aynı gün ağız içerisinde simante edilmelidir (Karaman, Polat, Büyükyılmaz 2003; Lee, Ihm, Ahn 2004).

İndirek yöntem Ferguson tarafından 1988 yılında tanıtılmıştır (Ferguson 1988). Bu yöntemde retainer teli, debond öncesi elde edilen dental model üzerine lingualden pasif geçecek şekilde uyumlandırılır ve eritilmiş mumlar ile sabitlenir. Daha sonra modelden ağıza aktarılmasını sağlayan silikon anahtarlar yapılır. Silikon anahtar hazır olunca sıcak su ile telin sabitlenmesi amacıyla yerleştirilmiş olan mumlar uzaklaştırılır. Bu uzaklaştırılan mum boşluklarına kompozitler yerleştirilerek simantasyon aşaması gerçekleştirilir (Rossouw and Joseph 1992; Karaman et al.,

2003). İndirek teknik, retainer telin dental modeller üzerine kompozit ile sabitlenip, ardından taşıyıcı olarak vakumla şekillendirilen şeffaf plaklar kullanılması şeklinde de uygulanabilir. Her iki şekilde de polimerizasyon gerçekleşene kadar silikon anahtarı veya plağı sabit tutmak çok önemlidir (Corti 1991).

İndirek uygulamanın direk uygulamaya göre avantajları bulunmakla birlikte dezavantajları da bulunmaktadır. Hasta başında geçirilen zamanın direk uygulamaya göre kısa olması, kontaminasyon eliminasyonunun daha kolay olması indirek uygulamanın avantajları arasında iken laboratuvar da ön hazırlık gerektirmesi ve artan kompozit artıklarının periodontal sağlığı tehdit etmesi de dezavantajları arasındadır (Bantleon and Droschl 1988; Corti 1991; Karaman et al., 2003).

Araştırmacılar, direk ve indirek yapıştırma tekniklerinde başarısızlık oranlarını ve hasta başında geçirilen zamanı karşılaştırmışlar ve indirek bonding tekniğinin, direk bonding tekniğine göre anlamlı derecede hasta başı zamanı kısaltmakta olduğunu bulmuşlardır. Başarısızlık oranları karşılaştırıldığında ise iki teknik arasında anlamlı farklılıklar bulunmamıştır (Bovali, Kiliaridis, Cornelis 2014).

Yapılan bir başka çalışmada direk ve indirek yapıştırma tekniklerinde başarı oranları ve tedavi sonrası stabilite karşılaştırılmış ve indirek bonding tekniği ile direk bonding tekniği arasında başarı oranlarında anlamlı farklılıklar bulunmamakla birlikte direk teknik ile yapıştırılan grupta indirek teknik ile yapıştıran gruba göre daha fazla istenmeyen hareket gözlemlenmiştir. Bu istenmeyen diş hareketlerinin sebebini klinikte teli uyumlandırma sırasında meydana gelen plastik deformasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir (Egli, Bovali, Kiliaridis, Cornelis 2017).

2.3.2.4. Sabit Lingual Retainer Tellerinin Ağız Hijyeni ve Periodontal Sağlığa Etkisi

Günümüzde, aktif ortodontik tedavilerden sonra çoğunlukla mandibula da olmak üzere retansiyon amacı ile sabit lingual retainer telleri tercih edilmektedir. Neredeyse tedavi sonrası her hastada kullanılan bu retainer tellerinin diş eti ve çevre dokular üzerinde uzun vadede olumsuz etkileri hakkında yeterli araştırma bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalarda genellikle retainer telleri ile diş taşı oluşumu, diş eti çekilmesi, ağız hijyeni, diş eti enfeksiyonu arasındaki ilişkiler incelenmiştir.

Ancak uzun dönemde periodontal sağlığa ne derece nasıl etki edeceği incelenmemiştir ve dolayısıyla uzun yıllar boyunca kullanılan retainer tellerinin çevre doku hücreleri üzerindeki etkileri tam olarak bilinmemektedir (Bearn 1995; Pandis, Vlahopoulos, Madianos, Eliades 2007; Al-Moghrabi, Johal, O'Rourke, Donos Pandis et al., 2018).

Retainer tellerinin periodontal sağlık üzerindeki olumsuz etkisinin temel sebebi ağız hijyenini zorlaştırması, dolayısı ile plak ve diş taşı oluşumu için tutucu alan oluşturmasıdır. Ortodontik tedavilerin amaçları arasında olan sürüdürülebilir ağız hijyeni, seviyeleme sonucu kolaylaşmaktadır ancak tedavi sonucunda dişlerin lingual yüzeylerine simante edilen bu retainer telleri ağız hijyenini zorlaştırmaktadır (Sheridan, Gaylord, Hamula, Hickham Kokich et al., 1992).

Retainer telleri anterior dişlerin lingual yüzeylerine yapıştırıldıkları için, lingual yüzeyde etkin fırçalama yapılamamakta ve diş ipi, ara yüz fırçası kullanımı zorlaşmaktadır. Bazı araştırmacılar diş taşı oluşumuna eğilimi olan hastalarda sabit retainerların kullanılmaması gerektiğini savunurken, sadece diş taşı ve plak oluşumu eğilimi olmayan, periodontal problemi olmayan kişilerde uygulanması gerektiğini savunmaktadırlar (Sheridan et al., 1992). Ancak bazı araştırmacılar ise ileri seviyede periodontal problemi olan hastalarda mevcut mobilitenin ortadan kaldırılması, istenmeyen diş hareketlerini engellenmesi ve periodontal splint görevinden dolayı retainer tellerinin kullanımını avantaj olarak bildirmişlerdir (Dahl et al., 1991). Maksilla ve mandibula kendi arasında karşılaştırıldığında ise mandibulada maksillaya oranla çok daha fazla diş taşı birikiminin olduğu bildirilmiş, maksilla da periodontal sağlık üzerinde herhangi bir negatif etkisinin olmadığı söylenmiştir (Dietrich, Patcas, Pandis, Eliades 2014).

Kanin kanin arası tüm anterior dişlere yapıştırılan çok sarımlı retainer telleri ile yalnızca kanin dişlere yapıştırılan retainer tellerinin plak ve diş taşı oluşumu arasındaki fark birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Yapılan çalışmaların sonuçlarında, kanin kanin arası tüm dişlere yapıştırılan retainer tellerinde çok daha fazla plak ve diş taşı birikimi gözlemlemekle birlikte çok daha efektif retansiyon sağladıkları bildirilmiştir. Kanin kanin arası tüm dişlere yapıştırılan retainer telleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise bazı araştırmacılar çok sarımlı ve yuvarlak retainer telleri arasında bir fark bulunamaz iken bazı araştırmacılar ise çok sarımlı tellerin çok daha fazla plak biriktirme eğilimi olduğunu tespit etmişlerdir (Artun 1984; Artun and Urbye 1988; Sheridan et al., 1992).

Sabit retainerların dört aylık takibi sonucunda; dişeti çekilmesi, plak birikimi, cep oluşumu ve sondlamada kanamayı artırdığı bulunmuş, ortodontik tedaviden sonra sabit retainer uygulanan ve uygulanmayan hastalar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı, ancak klinik olarak anlamlılık düzeyinin düşük olduğu bildirilmiştir (Levin, Samorodnitzky-Naveh, Machtei 2008).

Retainer tellerinin simantasyon aşamasında taşkın kompozit uygulamasından kaçınılmalı, simantasyon sonrasında tellerin sağlıklı şekilde muhafaza edilmesi için ayrıntılı hijyen talimatları verilmeli, hijyen uygulamalarında yardımcı elemanlar olan arayüz fırçası ve diş ipi kullanımı da uygulamalı şekilde gösterilmelidir. Motivasyon sağlanmalı ve takip ihmal edilmemelidir (Gorelick, Geiger, Gwinnet 1982; Sheridan et al., 1992).

2.3.2.5. Sabit Lingual Retainer Tellerinin Avantaj ve Dezavantajları

Sabit pekiştirme apareylerinin; hasta uyumu ve kooperasyonu gerektirmemesi, dişlerin yalnızca lingual veya palatinal yüzeylerine simante edildiği için estetik olması, fizyolojik diş hareketlerine izin vererek interdijitasyonun oluşmasına olanak sağlaması, uzun dönem kullanımda alt anterior bölgenin stabilizasyonuna anlamlı derecede katkı sağlaması gibi önemli avantajları bulunmaktadır (Sadowsky, Schneider, BeGole, Tahir 1994; Bearn, McCabe, Gordon, Aird 1997; Zachrisson 2017).

Bütün bu avantajların yanı sıra simantasyon işlemi uzun zaman alması ve hassasiyet gerektirmesi, eğer yeterince hassasiyet gösterilmez ve retainer teli pasif değilde aktif şekilde simante edilir ise istenmeyen diş hareketleri oluşturması, simantasyon aşamasında yeterli izalasyon sağlanamaz ise telde kopma gibi başarısızlıklar gözlemlenmesi, fonksiyon sırasında istenmeyen kuvvetler karşısında keser çapraşıklığı, keserler arası tork farkı veya kök dehisensleri görülebilmesi, ortodontist tarafından sık denetimlere ihtiyaç duyulması retainer tellerinin dezavantajları arasında yer almaktadır. Ayrıca interproksimal alan temizliği zorlaştığı için diş taşı ve plak birikimi arttığı bazı araştırmacılar tarafından savunulmaktadır (Heier, De Smit, Wijgaerts, Adriaens 1997; Atack, Harradine, Sandy, Ireland 2007; Zachrisson 2017).

Retainer tellerinde başarısızlık genellikle simantasyondan sonra ilk 3-6 ay arasında oluşmaktadır, en sık rastlanan başarısızlık tipi retainer telinin desimante olarak diş yüzeyinden ayrılmasıdır (Iliadi, Kloukos, Gkantidis, Katsaros, Pandis 2015). Telin diştten ayrılmasının birçok sebebi olmakla birlikte genellikle, simantasyon aşamasında az kompozit uygulaması tel ve kompozit ara yüzeyinde ayrılmalara neden olmaktadır. Ayrıca yapıştırma esnasında retainer telinin hareket ettirilmesi mine ve kompozit ara yüzeyinde ki temasın bozulmasına neden olurken, yeterli izalasyon sağlanamaması kompozitin hem telden hemde mineden ayrılmasına neden olabilmektedir. Ek olarak çiğneme kuvvetlerine bağlı olarak oluşan stres kırılmaları da gözlemlenmektedir (Zachrisson 2007). Yapılan literatür incelemeleri sonucunda retainer tellerinin başarısızlık oranı maksillada mandibulaya göre daha fazladır. Bunun sebebi olarak fonksiyonel hareketler sırasında kompozitin veya retainer tellerinin istenmeyen okluzal temasları ayrıca bu temaslardan kaçınmak için tellerin fazla apikale yerleştirilmesi sonucu diş eti çekilmesi olarak bildirilmektedir (Bearn 1995; Pandis, Fleming, Kloukos, Polychronopoulou, Katsaros et al., 2013).

2.3.2.6. Sabit Lingual Retainer Tellerinin Stabilite Üzerine Etkileri

Sabit lingual retainer tellerinin stabilite üzerine etkisi birçok çalışmacı tarafından incelenmektedir. Tedavi sonrası stabilite çalışmalarında genellikle Little'ın düzensizlik indeksi referans alınarak intermolar mesafe, interkanin mesafe ve ark uzunluğu ölçümleri yapılarak değerlendirilmektedir (Attack et al., 2007; Renkema, Bronkhorst, Katsaros 2011; Iliadi et al., 2015). Ancak relaps mevcuttur diyebilmek için geri dönüş miktarının ne kadar olması gerektiğiyle ilgili literatürde kesin bir bilgi bulunmamakla birlikte araştırmacılar tarafından farklı görüşler öne sürülmüştür. Booth ve arkadaşları, 2 mm'den fazla olan düzensizliği relaps olarak adlandırırken, Steinnes ve arkadaşları ise 3.5 mm'den fazla olan relapsın hastalar tarafından fark edilebilir olduğunu ve memnuniyetsizlik yarattığını belirtmişlerdir (Booth et al., 2008; Steinnes, Johnsen, Kerosuo 2017).

2.3.2.7. Sabit Lingual Retainer Telleri Ne Zaman Çıkarılmalıdır

Retansiyon süresi hakkında bilimsel kanıt yetersizliği nedeniyle henüz fikir birliğine varılamamış olmasına rağmen, retansiyon protokolunu belirlerken göz önünde bulundurulması gereken birçok faktör olduğu bildirilmektedir. Bunlardan bazıları hastanın büyüme paterni, başlangıç malokluzyonu, alışkanlıklar ve periodontal liflerin reorganizasyonudur. Periodontal liflerin yeni konumlarına adapte olması için en az 232 gün süre gerektiği dolayısıyla en kısa retansiyon süresinin 232 gün olması gerektiği çalışmalarda gösterilmektedir (Littlewood, Millett, Doubleday, Bearn, Worthington 2006).

Bazı araştırmacılar herhangi bir ortodontik tedavi görmemiş, ideal dental ilişkiye sahip hastalarda dahi olağan fizyolojik hareketlerden dolayı uzun yıllar sonra keser çapraşıklığı oluştuğunu göstermişlerdir. Bu nedenle tedavi edilen olguların diş dizimlerinde relaps olasılığı tedavi edilmeyenlere göre daha fazla olduğu öngörülerek, eğer relapstan ciddi anlamda kaçınılmak isteniyorsa ömür boyu retansiyon gerektiğini savunulmaktadır (Parker 1989).

2.3.3. Yardımcı Retansiyon Yöntemleri

2.3.3.1. Aşırı Düzeltme/Overcorrection)

Relapsın yönünü ve miktarını önceden tahmin etmek zordur bu nedenle yapılan fazla düzeltme ile oluşacak olan relapsın tolere edilebileceği düşünülmektedir (Van Leeuwen, Maltha, Kuijpers-Jagtman, Van't Hof 2003). Örneğin; rotasyonlu dişlerde gergin olan periodontal liflerin başlangıç pozisyonlarına dönme eğilimleri nedeniyle relaps payı hesaba katılarak fazla düzeltim yapılmalıdır (Reitan 1967; Edwards 1968; Surbeck, Artun, Hawkins 1998). Aynı şekilde transversal bozuklukların tedavisinde uygulanan ekspansiyon, overjet ve overbite tedavisi için de fazla düzeltim yapılmalıdır (Proffit et al., 2013).

2.3.3.2. İnterproksimal Aşındırma/Stripping

Ortodontik tedaviler sırasında genellikle Bolton uyumsuzluğunu gidermek amacıyla dişlerin mesial ve distal mine yüzeylerinden yapılan aşındırma işlemi ‘stripping’ veya ‘interproksimal aşındırma’ olarak adlandırılmaktadır. Yapılan interproksimal aşındırma ile noktasal olan diş kontakları, yüzeysel geniş temas alanları haline gelmektedir. Alt anterior bölgede yer kazancı sağlayarak çapraşıklığın ark formu değiştirilmeden düzeltilmesine katkı sağlayan bu uygulama, ayrıca horizontal alt çene büyümesi sonucu oluşabilecek ark uzunluğu kaybını kompanse etmesine katkı sağlayarak retansiyona yardımcı olmaktadır (Boese 1980). İnterproksimal aşındırmanın bu avantajlarının yanı sıra bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Zachrisson ve arkadaşları interproksimal aşındırma ile çürük oluşumu ve periodontal sağlık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamada, Roussow, interproksimal aşındırmanın çürük ve periodontal problem riskini arttırmakta olduğunu savunmaktadır. Ayrıca geri dönüşü olmayan bir uygulama olması ve hastada soğuk/sıcak hassasiyeti sebep olması da interproksimal aşındırmanın dezavantajları arasında bulunmaktadır (Rossouw and Tortorella 2003; Zachrisson, Nyøygard, Mobarak 2007).

Boese, pekiştirme tedavisine alternatif olarak uygulanan strippingin 3 aşamada yapılmasını önermektedir. Birinci aşındırma alt kesici seviyelemekten hemen sonra, ikinci aşındırma braketlerin sökümünden hemen sonra, üçüncü aşındırma ise, zamanlaması alt çene büyümesinin miktarına ve alt anterior ark formundaki değişikliğe göre ayarlanarak uygulanması gerektiğini söylemektedir (Boese 1980).

2.3.3.3. Fiberotomi

Reitan’ın 1959 yılından yaptığı hayvan çalışmasında dişlere rotasyonel hareketler uygulanmıştır. Tedavi sonrası pekiştirmede 28 gün sonunda serbest diş eti fibrilleri incelenmiş, fibrillerin gergin şekilde kaldığı yeni konumlarına adapte olmadığı gözlemlenmiştir. Literatürlerde periodontal liflerin 232 gün sonunda yeni konumlarına adapte olduğu söylense de Retain’ın çalışmasında 232 günlük pekiştirme tedavisinde bile serbest diş eti fibrillerinin gergin bir şekilde kaldığı

gözlemlenmektedir. Bu nedenle rotasyonlu dişlerin başlangıç konumuna dönme eğilimi fibrillerin ve supraalveolar yapıların gerginliği ile ilişkilendirilmiş ve yeni konumuna adapte olamamış fibrillerin cerrahi olarak kesilmesi fikri öne sürülmüştür (Reitan 1959). Edward 1970 yılında ortodontik tedavi sonrasında gergin olan suprakrestal fibrillerin etkisini azaltmak için cerrahi teknik uygulamasını tanıtmış, Campbell ve arkadaşları ise bu tekniği ‘sirkumferansiyal suprakrestal fiberotomi’ olarak isimlendirmiştir (Edward 1970; Campbell, Moore, Matthews 1975).

Fiberotomi tedavinin bitim aşamasında uygulanmakta olup scalpel bıçağı diş eti oluşuna yerleştirilerek intergingival, transseptal, transgingival ve semisirküler fibrillerin ayrılması sağlanmaktadır (Edwards 1970). Fiberotomi işlemi, sürdürülmüş diş varlığında ve şiddetli çapraşıklık olan orta ve fazla rotasyonlu dişlerde önerilmekte olup uygulama rotasyonlu dişlerin mesial ve distalinde ki komşu dişleri de kapsamalı ve iyileşme aşamasında pekiştirme apareyi mutlaka tam zamanlı kullanılmalıdır (Boese 1980; Kahl-Nieke 1996).

Fiberotomi işlemi cep derinliğinde artış, ataşman kaybı, alveolar kret kaybı ve diş eti çekilmesi gibi periodontal problemler oluşturmamasına rağmen bakteriyel plak tutulumu fazla olan ağız hijyeni kötü olan hastalarda, kronik gingivitis, kronik periodontitis, yapışık diş eti varlığının az olduğu hastalarda fiberotomi işlemi kontraendikedir (Edwards 1970; Boese 1980; Block, Kerns, Regennitter, Kerns 1998).

2.3.3.4. *Frenektomi*

Frenektomi, labial frenulumun apikale doğru konumlandırıldığı, transseptal liflerin tahrip edildiği, diş eti papilinin yeniden şekillendirilmesini içeren bir cerrahi işlemdir. Maksiller median diastema kapatılması hareketli ortodontik tedaviler ile yapılabildiği gibi sabit ortodontik tedavilerle de yapılabilmektedir ancak kapatılan median diastema sonrasında elde edilen durumun korunması ve boşluğun tekrar açılmasının önüne geçmek tedavide büyük önem taşımaktadır. Frenektomi işlemi labial frenulumun etkisini azaltarak boşluğun tekrar açılmamasında önemli derecede etkilidir (Edwards 1977; Sullivan, Turpin, Artun 1996).

Hareketli retansiyon apareyleri boşluğun tekrar açılmasını engellemede her ne kadar etkili olsa da uzun dönem retansiyon uygulamasında hastalarda kooperasyon

eksikliği görülmektedir. Bu nedenle kapatılan boşlukların geri açılmasını engellemek amacıyla hareketli retansiyon apareylerine kıyasla sabit lingual retainerlar kullanımı daha sık tercih edilmektedir (Graber and Vanarsdall 2000)

2.4. Ortodontide Kooperasyon

Jarabak 1965 yılında yaptığı çalışmada, ortodontide hasta uyumu/hasta kooperasyonunun önemini “Hasta uyumu eksikliği en iyi tedavi planını ve en iyi mekaniklerin varlığını bile başarısızlığa uğratar” şeklinde vurgulamıştır (Jarabak 1965). Uyumlu hasta kavramı çeşitli araştırmacılar tarafından; iyi ağız hijyenine sahip, apareyini belirtilen süre ve talimatlarda kullanan, randevularını aksatmayan, sabit tedavi sırasında braketlerini koparmayan ve hareketli apareyini özenli şekilde muhafaza eden bireyler olarak tanımlanmaktadır (Nanda and Nanda 1992).

Hasta uyumunu etkileyen birçok faktör mevcuttur. Bu faktörler çok yönlü olup hekim kaynaklı, hasta kaynaklı veya hasta hekim arasındaki ilişki kaynaklı da olabilmektedir. Hastanın cinsiyeti, yaşı, tedavi sırası/sonu memnuniyeti, apareyin konforu ve estetiği gibi etkenler kooperasyonu etkileyen faktörler arasındadır. Kooperasyon sıkıntısı yaşanan hastalarda tedavinin maliyetinin ve süresinin artabileceğini ve ideal olmayan sonuçlar elde edilebileceğinin bilgisi hastaya ve ailesine hekim tarafından verilmelidir (Kaplan 1988; Wong and Freer 2005; Pratt, Kluemper, Hartsfield, Jr Fardo, Nash et al., 2011).

Uzun dönem hasta kooperasyonunda tedavi şekli gibi retansiyon şeklide etkilidir. Retansiyon apareyinin uyumu, rahatlığı ve estetikliği hasta kooperasyonu ile doğrudan ilişkilidir (Pratt et al., 2011). Aktif tedavisi biten hastalar genellikle dişlerinin, tedavi sonu konumlarında stabil olarak kalacağını düşünmektedir. Yapılan çalışmalarda ortodontik tedavi görmeyi düşünen hastaların yaklaşık yarısı pekiştirme tedavisinin ne oluşunu ve ne kadar süre olması gerektiği hakkında bilgi sahibi olmadıkları görülmüştür. Bu nedenle pekiştirme tedavisinin önemi hastaya aktif tedaviye başlamadan önce son derece açıklayıcı şekilde anlatılmalı ve tedavi sonundaki durumun korunmasında en büyük sorumluluğun hastaya düştüğü aktarılmalıdır (Geoghegan, Birjandi, Xavier, Dibiase 2019). Bedenimiz yaşam boyu

değişikliğe uğradığı için nüksün sona ermeyeceğinin bilgisi verilmeli eğer sonuçların stabil olarak kalmasını istiyorsa ömür boyu retansiyon önerisinde bulunulmalıdır. Ancak hareketli retainerların ömür boyu kullanılmasını beklemek pek gerçekçi değildir. Hasta kooperasyonundan bağımsız olması ve estetik olması nedeniyle ömür boyu retansiyon gereken vakalarda sabit lingual retainerlar tercih edilmelidir (Joondeph 1966; Sheridan 1991).

Aktif tedavinin bitimini takip eden ilk aylarda yapılan retansiyon tedavisi son derece önemli olduğu, oluşacak relapsın ilk aylar en fazla olduğu ve yetersiz retansiyon tedavisinde dişlerin mevcut konumunu koruyamadığı ve relaps meydana gelebileceği konusunda hasta bilgilendirilmelidir (Reitan 1967; Edwards 1968). Ayrıca pekiştirme tedavisi ile, yalnızca ortodontik tedavi sonrası nüksü önlemeye ek olarak ortodontik tedavi görmemiş kişilerde de yaşlanmaya bağlı meydana gelen değişiklikler önlenmiş olmakta olduğunun bilgisi hastaya verilmelidir (Little et al., 1988).

2.5. Dental Materyallerin Biyouyumluluk Değerlendirmesi

2.5.1. Biyouyumluluk

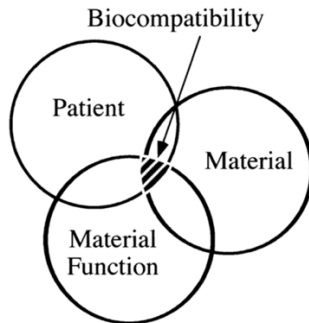
Biyouyumluluk; herhangi bir materyalin etkileşim içerisinde olduğu yumuşak veya sert doku üzerinde lokal ya da sistemik toksisite, alerjik, trombojenik, mutojenik veya karsinojenik doku reaksiyonu oluşturmaması olarak tanımlanabilir. Biyouyumluluğu olmayan materyallere karşı oluşan doku cevabı ‘toksisite’ olarak adlandırılmaktadır (Bergman 1986; Schmalz 1997; Wataha, Rueggeberg, Lapp, Lewis, Lockwoog et al., 1999).

Biyouyumluluk, materyalin mutlak veya statik bir özelliği olmamakla birlikte zamana ve şartlara bağlı değişkenlik gösterebilen dinamik bir durumdur (Wataha et al., 1999; Campbell 2003). Başlangıçta temasta olduğu dokularla uyumluluğa sahip herhangi bir materyal zaman ve ortama bağlı olarak çevre dokular için zararlı hale gelebilmektedir. Çünkü zaman ile materyalde meydana gelen değişiklikler (örneğin korozyon, kuvvet kaybı, yük) olabildiği gibi konak cevabı da yaşlanma, kronik hastalıklar gibi sebeplerden dolayı değişiklik göstermektedir. Dolayısıyla bir dokunun

materyale karşı verdiği cevap, zamanla farklılık gösterebilmektedir (Schmalz 1997; Hensten-Pettersen 1998).

Günümüzde bir materyalin klinik başarısı değerlendirilirken sadece mekanik ve estetik olarak değerlendirme yapılmamalı aynı zamanda biyolojik açıdan güvenilirliği ve çevre dokulara uyumluluğu da değerlendirilmelidir. Yani klinikte kullanılacak dental materyallerin seçiminde önemli etkenlerden bir tanesi de biyolojik uyumluluk yani biyouyumluluktur (Hanks et al., 1996).

Dental materyalin biyouyumluluğu; materyalin tipi, konak bölgesi ve materyalin fonksiyonuna bağlıdır. Dental materyalleri oluşturan komponentler, uygulandığı bölge ile temasta olan dokularda lokal toksisiteye sebep olabilecekleri gibi tükürük veya solunum ile kan dolaşımına karışarak sistemik toksisiteye de sebep olabilmektedirler. Salınan bu komponentler enflamasyonda artışa sebep olarak çevre dokulara da zarar verebilmektedir. Hücre yapısında hasara neden olabilen bu bileşenler, protein sentezinde inhibasyona yol açtığı gibi hücre ölümlerine ve iltihabi reaksiyonlara da yol açabilmektedir. Bu komponentlerin yüksek konsantrasyonu, farklı periyotlarda çeşitli organların fonksiyonlarını etkileyebilmekte, toksik reaksiyona ve doku nekrozuna sebep olabilmektedir (Schmalz 1997; Wataha et al., 1999; Power and Sakaguchi 2006). Ayrıca kullanılan materyallerin yüzey özellikleri de biyouyumluluğu etkileyen bir faktördür. Örneğin materyallerin yüzey özellikleri gram negatif bakterilere ait bazı toksinlerin dış plağına tutunmasını arttırarak, dişeti ve periodontal problemlere yol açabilmekte olup daha farklı biyolojik cevaplara da sebep olabilmektedir (Schmalz 1997; Lee, Lim, Lee, Ahn, Yang 2006; Senawongse and Pongrueksa 2007).



Şekil 2.1 Biyouyumluluk ile ilgili faktörler (Wataha 2001).

Dental materyallerden salınan bu birleşenlerin alerjik, karsinojenik, sitotoksik etkilere sebep olmaması için biyoyumluluklarının değerlendirilmesi oldukça önemli olup günümüzde bir materyalin biyoyumlu olarak kabul edilmesi amacıyla yapılan bazı testler mevcuttur. Bu testler Türk Standartları Enstitüsü (TSE 8227) ve Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO) tarafından standardize edilmiştir (Süsgün, Pınar, Bakır, Salih 2017). ISO10993 standardı, tıbbi cihazların ve tıbbi materyallerin biyoyumluluk değerlendirme yönteminin seçimi hakkında kapsamlı bir kılavuz olmaktadır (ISO 10993 1992).

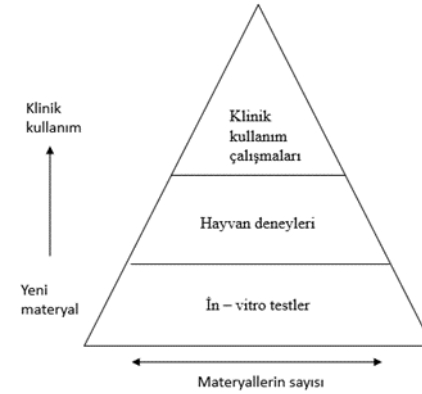
Tablo 2.1. Tıbbi materyallerin biyoyumluluk değerlendirme parametreleri (ISO 10993) (ISO 10993 1992).

ISO 10993-1	Bir risk yönetim sürecinde değerlendirme ve deney
ISO 10993-2	Hayvan sağlığı özellikleri
ISO 10993-3	Genotoksisite, karsinojenisite ve üreme toksisitesi için deneyler
ISO 10993-4	Kan ile etkileşim deneylerinin seçimi
ISO 10993-5	Vücut dışı (<i>in-vitro</i>) sitotoksisite deneyleri
ISO 10993-6	İmplantasyon sonrası yerel etkiler için deneyler
ISO 10993-7	Etilen oksitle sterilizasyon kalıntıları
ISO 10993-9	Potansiyel bozunma ürünlerinin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi için ön çalışma
ISO 10993-10	İrritasyon ve aşırı duyarlılık deneyleri
ISO 10993-11	Sistemik toksisite deneyleri
ISO 10993-12	Numune hazırlama ve referans malzemeler
ISO 10993-13	Polimer tıbbi cihazların bozunma ürünlerinin tanımlanması ve miktar tayininin yapılması
ISO 10993-14	Seramiklerden kaynaklanan bozunma ürünlerinin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi
ISO 10993-15	Metaller ve alaşımlarından kaynaklanan bozunma ürünlerinin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi
ISO 10993-16	Bozunma ürünleri ve özütlenebilir ürünler için toksikokinetik çalışma tasarımı
ISO 10993-17	Süzülebilir maddeler için izin verilebilir sınırların tespiti
ISO 10993-18	Malzemelerin kimyasal özellikleri
ISO 10993-19	Malzemelerin fiziko-kimyasal, morfolojik ve topoğrafik karakterizasyonu (Teknik Şartname)
ISO 10993-20	Tıbbi cihazların immünotoksikoloji deney prensipleri ve yöntemleri (Teknik Şartname)

2.5.2. Biyouyumluluk Değerlendirme Yöntemleri

Dental materyallerin biyouyumluluklarının değerlendirilmesi ile ilgili belge ilk kez 1926 yılında Amerikan Diş Hekimliği Birliği (ADA) tarafından yayınlanmıştır. Daha sonra ise Uluslararası Diş Hekimliği Birliği (FDI), Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO) ve Amerikan Diş Hekimliği Birliği (ADA) 1982 yılında biyouyumluluk testlerini 3 ana başlık altında toplamıştır (Schmalz 1997; ISO 10993 1992). Biyolojik uyum testlerinin temel prensibi, materyal ve konak teması sonucunda oluşacak reaksiyonları tespit etmek ve konak yapının biyolojik yapısında değişiklik meydana getirip/getirmeyeceğini belirlemektir (Schmalz 1994; Wataha 2001).

Diş hekimliğinde kullanılacak materyalin biyouyumluluğu test edilirken in vitro testler basamağından başlanarak in vivo testler ve sonrasında klinik kullanım testlerini içeren sıralama prosedürü önerilmektedir. Bu prosedürün amacı ise ilk basamak olan in vitro testlerde yüksek risk gruplarının tespit edilmesi sonrasında hayvan deneylerinde veya klinik uygulamalarda kullanılmadan devre dışı bırakılmasıdır (Schmalz 1997; Wataha 2001).



Şekil 2.2. Materyallerin biyouyumluluk değerlendirme prosedürü (Wataha 2001).

2.5.2.1. İn Vitro Testler

İn vitro testler, çoklu hücre bariyerlerini veya in vivo olanakları taklit etmek amacıyla laboratuvar ortam şartlarında gerçekleştirilmektedir (Hanks,

Wataha, Sun 1996). Materyal değeriendirilmesinde kısa sürede sonuç alınması, kontrol edilebilir olması, etik problemler oluşturmaması ve hayvan deneylerine duyulan ihtiyacı azaltması gibi avantajlarının yanı sıra in vivo testleri tam olarak yansıtamaması gibi dezavantajları vardır (Schmalz 1997; Aranha, Giro, Souza, Hebling, Souza Costa 2006). İn vitro testler; sitotoksisite testleri, genotoksisite (mutajenite) testleri, östrojenite testleri olarak sınıflandırılmaktadır:

Genotoksisite testleri; kimyasal maddelerin hücre genetiği üzerinde oluşturdıkları toksik etkilere denir. Toksik etkiler hücre metabolizması sayesinde onarılabilmekte, onarılamayan toksik etkiler sonucu kalıcı olarak değışen DNA'nın daha sonraki nesillere aktarılması durumuna ise mutojenite denilmektedir (Schmalz 1994; Schmalz 1998).

Östrojenite testleri; kimyasal maddelerin, subtoksik konsantrasyonda östrojen reseptörüne bağlanıp/ bağlanamama kapasitesine bakılır. Reseptöre bağlanan kimyasalların oluşturdıkları etkiye ise östrojenite denilmektedir (Schmalz 1994; Schmalz 1998).

Sitotoksisite testleri; in vitro biyoyumluluk çalışmalarında en sık kullanılan test yöntemidir. Dental materyallerin sitotoksisitesinin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda genellikle hücre kültürü kullanılmaktadır (Schmalz 1994).

2.5.2.2. İn Vivo Testler

İN vitro olarak gerçekleştirilen biyolojik uyum testlerinde, biyoyumlu kabul edilen materyaller daha sonra deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilen in vivo testler olan implantasyon, sensitizasyon ve mukoza irritasyon testlerine tabi tutulur. Genellikle fare, rat, tavşan, koyun veya maymun gibi hayvanlar kullanılmaktadır. Değişkenlerin kontrol zorluğu, sonuçların kantitatif olarak değeriendirilme zorluğu, ekonomik olmayışı, hayvan hakları ve etik problemlerden dolayı sıklıkla tercih edilmemektedir. İn vivo testlerin diğeri dezavantajları ise uzun süreli olması ve pahalı olmalarıdır (Schmalz 1997; Wataha 2001).

2.5.2.3. Klinik Kullanım Testleri

Uluslararası Diş Hekimliği Birliği (FDI), klinik kullanım testlerinde kullanılacak olan ideal deneğin insanlar veya memeli hayvanlar olduğunu belirtse de etik ve güvenilirlik açısından insanların denek olarak kullanılması kısıtlanmaktadır (Bural 2006). Klinik kullanım testleri ISO yönergelerinde belirtilen in vitro ve in vivo biyouyumluluk test kademelerinde uyumluluğunu ispatlanmış materyallerde yapılması gerekmektedir (Murray, Garcia Godoy, Garcia Godoy 2007). İn vivo testlerden önemli farkı aynı zamanda fonksiyon altındada değerlendirilmesidir (Craig 1997).

Klinik kullanım testleri; pulpa/dentin testi, kemik içi implantasyon testi ve endodontik materyal testi olarak gruplandırılır. Bu testlerin uzun zaman alması, kontrol ve değerlendirme zorluğu, etik olarak problemler ve yüksek komplikasyon riski gibi birçok dezavantajı bulunmaktadır (Schmalz 1997; Wataha 2001).

2.5.3. İn Vitro Sitotoksisite Testleri

Sistemik toksisite, materyal/doku teması sonrasında materyalden salınan ürünler kan dolaşımına aktarılılarak toksik etkinin görüldüğü alana ulaşmaktadır. Yani hedef bölge materyal doku temasının olduğu bölge değil, temas bölgesinden uzaktadır. Sistemik toksisite LD 50 (latent doz) ile ifade edilir. Lokal toksisite ise materyal/doku temasının olduğu bölgede oluşmaktadır ve TC50 (toksik konsantrasyon) ile ifade edilmektedir (Schmalz 1998). Sitotoksisite ise materyalin dozuna ve maruziyet süresine bağlı olarak hücrelerin yapısına ve fonksiyonuna zarar veren bir olay olarak ifade edilmektedir. Sitotoksisite araştırmaları için geliştirilen methodlar BSI (The British Standards Institute), ISO (International Organization For Standardization) ve ASTM (American Society for Testing and material) gibi kurumlar tarafından tanımlanmış ve standardize edilmiştir (İlbars 1997).

Sitotoksisite araştırmaları genellikle kullanılan materyallerin konak hücre ortamına saldığı maddeler üzerinde durmaktadır. Bu salınan maddeler, hücre metabolizmasındaki dengeyi değiştirerek apoptoz, otofaji ve nekroz gibi olaylar sonucunda hücrelerin ölümüne sebep olabilmektedir (Tateishi 1992).

Diş hekimliğinde yapılan sitotoksisiye çalışmalarında sıklıkla hücre kültürü kullanılmaktadır. Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu CCL 1 (NTCC clone 929, fare fibroblast hücresi), CCL 163 (Balb/3T3 clone A31, fare embriyo hücresi), CCL 171 (MRC-5, insan embriyo akciğer fibroblast hücresi), CCL 81 (VERO, Afrika yeĞil maymunu böbrek epitel hücresi), CCL 10 [(BHK-21) C-13, hamster böbrek fibroblast hücresi], V-79 (379A, Çin fare akciğer fibroblast hücresi) en çok tercih edilen ve önerilen kültürlerdir (Wataha 2001; Thonemann, Schmalz, Hiller, Schweikl 2002; Turhan, Sönmez, Bavbek, Akçaboy 2008). Bu hücreler in vitro sitotoksisiye testlerinde morfolojileri ve büyüme karakterleri sebebiyle tekrarlama imkânı vermekte, kolay bulunabilmekte ve hücre kültürü koşullarında verimli üreme karakterlerinden dolayı sıklıkla tercih edilmektedirler (Cao, Saw, Heng, Liu, Yap 2005). FDI, ISO ve ADA gibi uluslararası standardizasyon kuruluşları tarafından da önerilmektedirler (Tunçel 2005).

FDI, ISO, ADA gibi standardizasyon kuruluşlarına göre dental materyallerin sitotoksisiye değerlendirme yöntemleri şunlardır;

1. Hücre kültürü metodu;
 - a) Direkt hücre kültürü metodu; - Direkt temas testi
- İndirek temas testi (ekstraksiyon testi)
 - b) Bariyer test metodu
2. Agar difüzyon testi
3. Filtre difüzyon testi
4. Dentin bariyer testi

2.5.3.1. Hücre Kültürü Methodu

Laboratuvar ortamında üretilmiş veya canlı dokulardan elde edilmiş doku örnekleri proteolitik enzimler ile parçalanarak ana hücre hatlarına ayrılır. Bu hücreleri çoğaltmak ve üretmek amacıyla laboratuvar ortamında kültür kaplarına uygun besiyerler seçilerek (örneğin plazma, antibiyotik, aminoasitler, vitaminler, dana serumu) hücreler ekilir ve 36 C⁰ derecede enkübe edilir bu koşullar altında elde edilen yapılara hücre kültürü denilmektedir (Schmalz 1982; Tuncer ve Demirci 2011).

Hücre kültürü çalışmalarının kısa sürede veri elde edilmesi, standart şartlar altında çalışılabilmesi ve tekrarlanabilmesi ayrıca kültür ortamının kontrol edilebilir olması gibi avantajları bulunmaktadır. Dezavantajları ise kontaminasyon riskinin fazla olması, maliyetinin yüksek olması ve pasajlama sırasında hücrelerde farklılaşma ve ölme riskinin fazla olmasıdır (Aydıntuğ 2003).

Hücre kültürü metodu direk hücre kültürü ve bariyer test yöntemi olmak üzere 2 farklı şekilde uygulanabilmektedir: Direk hücre kültürü yönteminde, kültür içerisinde ki hücreler ile materyal ya doğrudan ya da materyalden elde edilen ekstrat sıvısı ile hücreler indirek olarak temas halindedir. Ekstraksiyon yoluyla yapılan testlerde, materyal önce sıvı bir çözücünde birleşenlerine ayrıştırılır, elde edilen ekstratlar uygun şartlarda hücreler ile temasa sokularak sitotoksitesisi incelenir (ISO 10993 1992; ISO 7405 1996). Ayrıca ekstraksiyon testinde ekstraların filtrasyonu ile sterilizasyon sağlanırken direk temas testinde; sterilizasyon, materyalin özelliğinde değişikliğe sebep olacağı için yapılamamaktadır. Bu da direk temas testinin ekstraksiyon testine göre dezavantajıdır (Keiser, Johnson, Tipton 2000).

Bariyer test methodunda, birleşenlerin difüzyonuna olanak sağlayan ve dentin geçirgenliğini başarılı şekilde taklit eden yapay bariyer sistemleri oluşturulmaktadır. Çünkü günümüzde insan dentin tedariğinde zorluk yaşanmaktadır ayrıca sığır dentin kesitlerinde ki geçirgenlik yeterince insan dentinini taklit edememektedir (Murray et al., 2007).

2.5.3.2. Agar Difüzyon Test Yöntemi

Bu yöntemde sitotoksitesisi incelenen materyalin %1,5'lik agar boyunca diffuze olma zorunluluğu bulunmaktadır. Eğer materyal agarda çözünmüyor veya diffuze olamıyor ise sitotoksitesite miktarı bu yöntem ile değerlendirilemez. Toksisitesi incelenecek olan materyalin, agar ile 24 saatlik difüzyonu gerçekleştirildikten sonra toksik etki sonrası değişen membran geçirgenliği ve hücre ölüm miktarı tripan mavisi ve nötral kırmızı boyama veya dekolarizasyon alanın ölçülmesi ile belirlenmektedir (Schmalz 1988).

2.5.3.3. Filtre Difüzyon Test Yöntemi

Bu yöntemde incelenen materyalin sitotoksik etki gösterebilmesi için 0,45 µm selüloz filtre boyunca diffüze olabilmesi gerekmektedir. Primer hücre hattı olarak genellikle epitelyal hücreler ve fibroblastlar tercih edilmekte ve filtrenin bir tarafına bu hücreler diğer tarafına ise incelenen materyal yerleştirilmektedir. Filtreden diffüze olan materyallerin sitotoksik etkisi sonucu oluşan hücre hasarı, hücre ölümleri nötral kırmızı boyamalar ile belirlenmektedir (ISO 7405 1996).

2.5.3.4. Dentin Bariyer Test Yöntemi

Bu yöntemde, kullanılan materyal ile hedef hücre arasında ki bariyerde, oral çevreyi daha iyi taklit ettiği için dentin dokusu kullanılmaktadır. İn vivo test imkanlarını en iyi şekilde taklit etmesinden dolayı insan dentin dokusu tercih edilse de ulaşılabilirliğinin zorluğu ve geçirgenliliğin farklılık göstermesi nedeniyle sığır dentin diskleri de tercih edilmektedir. Ayrıca dentin kesitlerinde ki standardizasyon zorluğu da testin dezavantajlarından (ISO 7405 1996; Schmalz 2001).

2.5.4. Sitotoksisite Değerlendirmesinde Belirleyici Faktörler

Materyaller, uygulandıkları bölge üzerinde bazı değişikliklere sebep olabilmektedir. Bunlar; hücre ölümünde artma, membran bütünlüğünde bozulma, hücre adezyonunda azalma, hücre morfolojisinde değişim, hücre poliferasyonunda azalma, biyosentez ve enzimatik aktivitelerde azalma gibi değişikliklerdir. Bu sitotoksik etkilerin değerlendirilmesinde dört farklı belirleyici yöntem kullanılmaktadır (Dekker 1994; Pizzoferrato, Ciapetti, Stea, Cenni, Arciola et al., 1994).

2.5.4.1. Canlılık Değerlendirme Yöntemleri

Nötral kırmızı testi, tripan mavisi testi ve floresan testi canlılık değerlendirme yöntemleri arasında yer almaktadır. Bu boyalar ile sitotoksite değerlendirmesinde hücre çekirdeğinde küçülme, granülasyon dokusu oluşumu, sitoplazma parçalanması ve hücrelerin ayrışması ve yuvarlaklaşması gibi değişiklikleri gösterilmektedir (İlbars 1997).

Tripan mavisi testi; non-vital boya olup hücre membran bütünlüğü bozulmuş hücreler içerisine alınırken boyanan hücreler cansız olarak kabul edilmektedir. Hasar görmüş hücreler ve ölü hücreler arasında ayrım yapamadığı için yüzde yüz sağlıklı sonuç vermemektedir. Eritrosin ve naftalin siyahı gibi boyalar da membran bütünlüğü bozulmuş hücrelerin içerisine alınmaktadır.

Nötral kırmızı testi; vital boyama testi olup, bu boya membran bütünlüğü bozulmamış hücreler içerisine alınırken boyanan hücreler canlı olarak kabul edilmektedir. Floresan methodunda kullanılan Floresan Diasetat (FDA) vital bir boya olup membran bütünlüğü bozulmamış hücreler içerisine alınırken FDA ile boyanan hücreler ultraviyole ışık altında yeşil görüntü vermektedir (Tuncer et al., 2011).

2.5.4.2. Poliferasyon Değerlendirme Yöntemleri

Poliferasyon değerlendirme yöntemleri arasında, H-Timidin ve Bromodeoksiuridin testi arasında yer almaktadır. Bu testlerdeki temel kriter materyal içerisindeki birleşenlerin salınımının kültür içerisindeki hücrelerin poliferasyonuna etkisinin belirlenmesidir (Tuncer et al., 2011).

2.5.4.3. Yaşam Değerlendirme Yöntemleri

Bu yöntemle, biyomateryalle karşılaşan hücrelerin kısa dönemde oluşturduğu sitotoksite miktarını değerlendirilebilmektedir. Tamir mekanizması sayesinde oluşan sitotoksik reaksiyonlarda geri dönüşüm olabileceği ve sadece ölü hücreleri gösterdiği için bu yöntem etkin şekilde kullanılmamaktadır (Yıldırım, Bakır, Bakır, Aydın 2017).

2.5.4.4. Metabolizma Değerlendirme Yöntemleri

MTT, Alamar Mavisi Testi, Laktat Dehidrogenaz (LDH) tesiti metabolizma değerlendirme yöntemleri arasında yer almaktadır (Tuncer et al., 2011). Hücreler, canlılığını sağlayabilmek, fonksiyonlarını devam ettirebilmek ve büyümesini sağlayabilmek için belirli miktar enerjiye ihtiyaç duymaktadırlar. Eğer hücrelerde hasar meydana gelir ise gereken enerjiyi sağlama ve canlılığını sürdürme kapasitesini kaybedebilirler. Bu test, materyal ile karşılaşan hücrenin mitokondiyal aktivitesini ölçerek uzun dönemde sitotoksik özelliğini değerlendirmektedir (Tuncer et al., 2011).

MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) yöntemi diğer testlere göre daha hassas ve karmaşık olmasına rağmen yüksek oranda doğruluğa sahip olması nedeniyle dental materyallerin sitotoksikite değerlendirmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Tuncer et al., 2011).

2.5.5. Çalışmada Yer Alan Sitotoksikite Değerlendirme Yöntemleri

2.5.5.1. MTT Testi

MTT test yöntemi diğer sitotoksikite test yöntemleriyle karşılaştırıldığında, kısa sürede sonuç vermesinin yanı sıra çok hassas olması, biyomateryalin çok düşük seviyede ki toksisitelerini dahi saptaması nedeniyle en güvenilir ve en yaygın olarak kullanılan değerlendirme yöntemlerinden biridir (Wataha, Craig, Hanks 1992).

Kolorimetrik bir yöntem olan bu yöntemde sitotoksikite ölçümü için MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) tetrazolyum tuzunun kullanılmaktadır. MTT, hücre membranından geçerek mitokondriye ulaştığında süksinat dehidrogenaz enzimi tarafından formazan birleşimine indirgenir. MTT sarı renkte olup, formazan mor renklidir. Bu testte yalnızca canlı hücrelerin mitokondrisi tetrazolyumu formazan birleşimine dönüştürebilmektedir ve böylece dönüşüm sonucu oluşan renk değişimi yalnızca canlı hücrelerde olmaktadır. Ölü hücreler tetrazolyumu formazan birleşimine indirgeyemediği için renk değişimi olmamaktadır. Meydana gelen formazan formasyonu ya spektrofotometre yardımıyla ya da elektron

mikroskopu ile ölçülerek canlı/ölü hücre miktarları belirlenmektedir (Mossman 1983; Denizot and Lang 1986; Jenkins 1999).

2.5.5.2. XCELLingence Testi

XCELLingence testi diğer adıyla gerçek zamanlı hücre analiz sistemi, Roche uygulamalı bilimler ve ACEA Biosciences tarafında geliştirilen mikroelektrik sensör teknolojisidir. Sistem 4 ana parçadan oluşmaktadır. Bu parçalar;

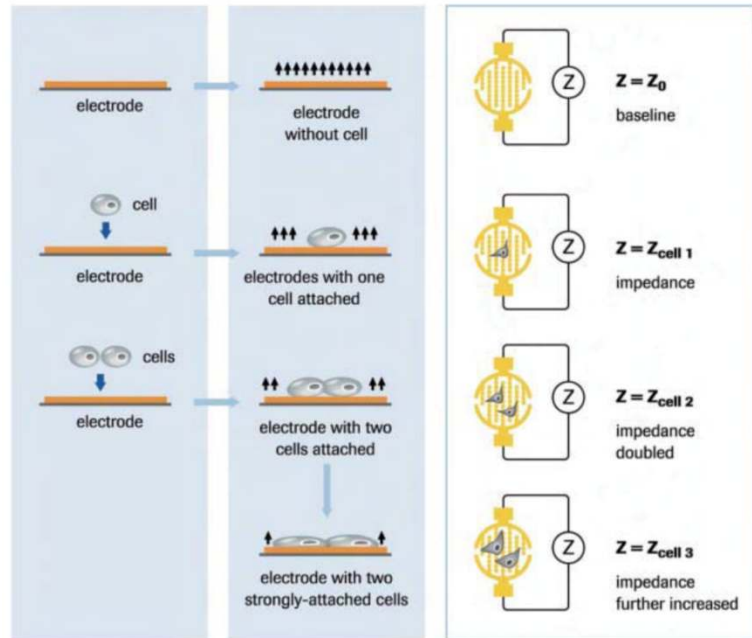
1. RCTA (Real Time Cell Analyzer) cihazı; Gerçek zamanlı hücre amplifikasyon analizatörü
2. Bilgisayar; RCTA ile entegre yazılım içermeli
3. RCTA Single Plate İstasyonu; Plaka yerleştirme bölgesi
4. E-Plate; Plakalar

Hücre kültüründe sıklıkla kullanılmakta olan 96 kutucuklu plakalara benzeyen e-plate'lerin tabanlarının altın plakalar ile kaplı olması, plakadaki her bir kutucukta ayrı ayrı deneyler yapılabilmesi ve sonuçlarının ayrı ayrı değerlendirilebilmesi 96 kutucuklu plakalara göre önemli farklılıklardır. Her bir kutucuğunun taban çapı 5 ± 0.05 mm ve toplam hacmi 243 ± 5 µl olup kuyucukların zeminleri, 15- 40 °C arasındaki sıcaklıklara ve %98 oranında nem içeren ortamlarda dahi buharlaşma olmadan kullanılması için mikroelettrotlar ile kaplanmıştır (Xing, Zhu, Jackson, Gabos, Sun et al., 2005; Roche Diagnostics 2008).

E-platelerin zeminine yerleştirilmiş olan mikroelettrotlar sayesinde elektriksel empedans (elektriksel direnç) ölçümü yapılmaktadır. Elektrotlara uygulanan 20 mV değerinde ki düşük voltajlı alternatif akım, elektriksel bir alan oluşturur ve bu alanda ki akım kuyucukların zeminine tutunan hücreler tarafından engellenerek ölçülen empedans değerlerinde değişikliklere sebep olur. Elektrot geometrisi, elektrot/çözelti etkileşimi, kuyucuklardaki iyon konsantrasyonu ve hücrelerin elektronlara tutunma miktarı gibi birçok faktör empedans değerinde farklılıklara sebep olup bu ölçüm; hücre sayısı, hücre canlılığı, hücre morfolojisi ve hücrelerin hareketleri dahil farklı sitotoksiste değerlendirme kriterleri hakkında bilgi vermektedir. Elektrotların yüzeylerine tutunan hücreler yalıtım görevi yapar ve elektrot-çözelti arasındaki iyon

farkını değiştirerek empedans değerini arttırmaktadır. Dolayısıyla elektrotlar üzerinde büyüyen hücrelerin sayısı ve elektrotlara tutunan hücrelerin yüzey alanları arttıkça empedans değeri de artmaktadır (Xing et al., 2005; Roche Diagnostics 2008).

Empedans değeri, elektrotlara tutunan hücre sayısı ve bu hücrelerin yüzey alanına bağlı olarak değişmektedir. Mikroelektrotların yüzeylerine hücre tutunmamışsa, empedans değerinde değişim olmayacaktır yani Z (Empedans Değeri)=0'dır. Mikroelektrotların yüzeyine tek hücrenin tutunması halinde empedans değeri 1 olacak yani $Z=1$ 'dir. Daha fazla hücrenin yüzeye tutunması halinde ise empedans değeri artacaktır. Elektrotlara tutunan hücre sayısına ek olarak hücrelerin yüzey alanları da CI (Hücre İndeksi) değerinde farklılıklara sebep olmaktadır. Tutunan hücrelerin yüzey alanları arttıkça CI değeri artacak, yüzey alanları azaldıkça CI değeri de azalacaktır. Örneğin sağlıklı hücrelerin mikroelektroda tutunan yüzey alanları fazla iken toksik bileşiklerin hücrelerin, tutunduğu elektrotlardan ayrılmasına sebep olması nedeniyle bağlanma alanı sağlıklı hücrelere göre daha az olarak gözlemlenmektedir. (Xing, Zhu, Gabos, Xie 2006).



Resim 2.6. Empedans ölçüm değerlendirme (Xing et al., 2006).

XCELLigence test yönteminin avantajları; (Xing et al., 2006)

- Hücresel farklılıkların eş zamanlı izlenebilmesi
- İşaretleme ihtiyacı duyulmaması/Non-invaziv olması
- Hassas ve güvenilir bir yöntem olması
- Değerlerin elde edilmesini sağlayan bir yazılıma sahip olması
- Tekrarlanabilir olması olarak sıralabilir.

XCELLigence test yönteminin dezavantajları;

- Yalnızca adherent hücre ile çalışılması yani süspansiyon hücre kültürü kullanılmaması
- Kullanılan e-plate'lerin maliyetlerinin çok yüksek olması ve tek kullanımlık olması olarak belirtilmiştir



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu çalışmada yedi farklı sabit lingual retainer teli (Stainless Steel 6-Strand, G&H Orthodontics, Franklin/ USA), (Strand Flat Lingual Wire, RMO, Denver/ CO), (Retainium, Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA), (Bond A Braid, Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA), (Stranded Retention Wire, Orthoclassic OC, Tokyo/JAPAN), (Flat Lingual Retainer Wire, Orthoessentials, Connecticut/USA), (Dead Soft Retention Wire, Orthoclassic OC, Reading/USA) kullanılmıştır. Retainer telleri Biruni Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı tarafından temin edilmiştir. Söz konusu retainer tellerinin sitotoksik etkilerini değerlendirmek üzere insan gingival fibroblast hücre hattı (PCS-201-018, ATTC; Manassas, Virginia, ABD) kullanılmıştır. Kullandığımız hücreler Amerikan Hücre Kültür Koleksiyonu (ATCC) hücre bankasından temin edilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan retainer telleri ve içerikleri

Numune	İçindekiler	Firma adı
Stainless Steel 6-Strand	Demir %69.5; Krom %18.5; Nikel %9; Magnezyum %1; Kobalt %0.75; Silikon, Karbon, Fosfor, Sülfür	G&H Orthodontics
Strand Flat Lingual Wire	Demir %65-75; Krom %15-21; Nikel %8-12; Magnezyum, Aliminyum %0-2; Tungsten, Molibden, Bakır %0-4; Silikon, Kobalt %0-5	Rocky Mountain Orthodontics (RMO)
Retainium	Titanyum %60-85; Titanyum %0-5; Zirkonyum %5-11; Demir %0-0.42; Aliminyum %0-8; Molibden %10-20; Krom %0-11; Vanadyum %0-5.15; Kalay %1-5; Bakır %0-0.2; Karbon %0-0.1; Tantal %0-1	Reliance Orthodontics Products
Bond A Braid	Krom %10.5-30; Nikel %0-40; Manganez %0-15; Bakır, Molibden %0-5; Silikon % 0-3; Selenyum %0-2; Titanyum, Kobalt, Aliminyum %0-1, Karbon, Kurşun, Nitrojen, Oksijen, Fosfor, Sülfür, Tungsten, Tantal, Vanadyum	Reliance Orthodontics Products

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan retainer telleri ve içerikleri (devamı)

Stranded Retention Wire	Niyobyum %14.3; Aliminyum %7.15; Zirkonyum %6; Vanadyum %4.65; Demir %0.65; Oksijen %0.45; Karbon, Silisyum, Manganez, Kükürt, Bakır, Nikel, Krom, Molibden, Kalay, Magnezyum, Klor, Bor, Azot %0.1; Hidrojen %0.018; Titanyum	Orthoclassic
Flat Lingual Retainer Wire	Krom %10-25; Nikel %1-10; Manganez %0.1-2.5; Kobalt %0.1-1	Orthoessentials
Dead Soft Retention Wire	Demir oksir %50-100; Krom %10-25; Nikel, Karbon, Nitrojen, Sülfür %2.5-10; Manganez %0.1-2.5	Orthoclassic OC

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan retainer tellerinin içerik elementlerinin yüzdeleri

Gruplar	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7
DEMİR%	69.5	65-75	0-0.42	-	0.065	-	50-100
KROM%	18.5	15-21	0-11	10.5-30	0.1	10-25	10-25
NİKEL%	9	8-12	-	0-40	0.1	1-10	2.5-10
MAGNEZYUM%	1	0-2	-	-	0.1	-	-
KOBALT%	0,75	0-5	-	0-1	-	0-1	-
ALİMİNYUM%	-	0-2	0-8	0-1	7.15	-	-
TUNGSTEN%	-	0-4	-	-	-	-	-
MOLİBDEN%	-	0-4	10-20	0-5	0.1	-	-
BAKIR%	-	0-4	0-0.2	0-5	0.1	-	-
SİLİKON%	+	0-5	-	0-3	-	-	-
TİTANYUM%	-	-	60-85	0-1	-	-	-
ZİRKONYUM%	-	-	5-11	-	6	-	-
MANGANEZ%	-	-	-	0-15	0.1	0-2.5	0-2.5
NİYOBYUM%	-	-	-	-	14.3	-	-
VANADYUM%	-	-	0.5-15	-	4.65	-	-

3.1.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı (+4, -20)

Su banyosu (Microtest, MCS30)

İnkübatör (Binder)

Santrifüj cihazı (Hettich Zentrifugen, Rotofix 32A)

Derin dondurucu (-80)

Inverter mikroskop (Nikon, Elips TS100)

Hassas terazi

Spektrofotometre cihazı

JuLITM FL, Fluorescence Cell History Recorder ("2013 NanoEnTek Inc.)

3.1.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) (ThermoFisher, Cat no: 11320-074)

Fetal bovin serumu (FBS) (GIBCO FBS 10270-106 500ml)

L-Glutamin (Sigma, Cat no: A5955)

Penicilin-Streptomisin (Sigma, Cat no: A5955)

Gentamisin (Sigma, Cat no: A5955)

Amfoterisin B (Sigma, Cat no: A5955)

Trypsin/EDTA (Etilendiamin Tetraasetik Asit) (Sigma, Cat no: T4799)

Trypan Mavi

Fosfat Tamponlu Salin (PBS) tablet (Invitrogen)

MTT kiti (Abcam)

3.1.3. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Sarf Malzemeler

Pipet seti ve tabancası 10-100-1000 µl (Axypet, Isolab)

T25 flask (Corning, Cat no: 3289)

Thoma (Heinz Herenz Hamburg)

Steril petri kabı

Falkon tüp (15ml)

Kültür kapları

3.2. Yöntem

3.2.1. Eluvatların Hazırlanması

Çalışmada kullanılan olan 7 farklı lingual retainer teli((Stainless Steel 6-Strand, G&H Orthodontics, Franklin/ USA), (Strand Flat Lingual Wire, RMO, Denver/ CO), (Ratainium, Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA), (Bond A Braid, Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA), (Stranded Retantion Wire, Orthoclassic OC, Tokyo/JAPAN), (Flat Lingual Retainer Wire, Orthoessentials, Connecticut/USA), (Dead Soft Retantion Wire, Orthoclassic OC, Reading/USA) Biruni Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalından temin edilmiştir. Numuneler parçalara bölündükten sonra, numune ağırlıkları ile seyreltilerin hacmi arasındaki oran, ISO-1999 parametreleri tarafından önerildiği gibi 0.2 g/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO) 10993-5 tarafından tanımlanan protokole bağlı kalınarak steril edilen numuneler, 63 gün boyunca Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Multicell; Cat. No: 319-005-CL)

solüsyonu içerisine alınarak sabit koşullar altında, hava geçirmez deney tüplerinde muhafaza edilmiştir. Ayrıca herhangi bir retainer teli içermeyen DMEM, negatif kontrol olarak kullanılabilmek amacıyla, aynı koşullar altında hazırlanmıştır. Altmış üç günlük sürenin ardından, DMEM solüsyonlarının içinden retainer parçacıkları çıkarılmış ve eluvatlar steril koşullarda filtreden geçirilmiştir. Elde edilen solüsyonlar, her grup için ependorf tüplere bölünerek analiz için kullanılmak üzere -80 °C'de derin dondurucuda depolanmıştır.

3.2.2. Hücre Kültürü

3.2.2.1. Hücre Kültürünün Hazırlanması

Çalışmamız Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi Hücre Kültürü Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiş. Retainer tellerin sitotoksitesini değerlendirmek üzere insan dişeti fibroblast (human gingival fibroblast-HGnF) (ATTC; Manassas, Virginia, ABD) hücre hattı kullanılmıştır.

3.2.2.2. Hücrelerin Çözülmesi

Hücrelerin çözülmesi aşamasında soğuk ortamdan çıkarılan hücreler, 37 °C'deki su banyosunda ~1 dk bekletilmiştir. Hücreler, dondurma aşamasında kullanılan Dimetil Sülfoksitli (DMSO) mediumun (DMEM-F12) uzaklaştırılması için 1 ml DMSO'suz medium olan tripsin/EDTA solüsyonu ile yıkanarak 37°C'de etüvde, 5 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra flask tabanından ayrılan hücelere yeni 1ml medyum ilave edilmiş ve pipetaj yapılarak 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısım atılarak, hücrelerin DMEM medyumuna ile homojenizasyonu sağlanmıştır.

3.2.2.2.Hücrelerin Pasajlanması

İnsan gingival fibroblast hücreleri, deneyden 24 saat önce kültür ortamında %75 yoğunluğa ulaşana kadar, tek bir tabaka halinde çoğaltılmıştır. Hücre sayısına göre 1.5 milyon hücre için 75'lik flaska 15 ml medyum içine veya 500 bin hücre için 25'lik flaska 5 ml medyum içine hücrelerin pasajlanması yapılmıştır. Pasaj serileri, 48-72 saatlik aralıklar ile invert mikroskopta gerçekleştirilerek oluşturulmuştur.

Deney için, fibroblastlar ayrı ayrı 96 kuyucuklu plakalara, mililitre başına 10.000 hücre olacak şekilde ekilmiştir. Deney gruplarına ait hücrelere daha sonra, DMEM içerisinde hazırlanan eluvatlar, 1:1 oranında ilave edilmiş ve 37 °C'de, %5 CO₂'li ortamda 63 saat inkübe edilmiştir. Kontrol hücrelerinede, deney hücreleri ile aynı şekilde DMEM çözeltisi eklenmiştir. Deney sonunda hücreler, besi yerinden çıkartılıp 3 kere fosfat tamponlu tuz solüsyonu (Phosphate Buffer Saline; PBS) ile yıkanmıştır. Tüm deneyler 6 kez tekrarlanmıştır.

3.2.3.Hücre Kültürü Deneyinin Uygulanması

Deneye başlamadan önce 8 farklı deney grubu belirlenmiştir. Bu gruplar:

Grup Z0: Hücrelere sadece DMEM solusyonunun uygulanmış olduğu grup.

Grup Z1: Stainless Steel 6-Strand (G&H Orthodontics, Franklin/ USA)

Grup Z2: Strand Flat Lingual Wire (RMO, Denver/ CO)

Grup Z3: Ratainium (Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA)

Grup Z4: Bond A Braid (Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA)

Grup Z5: Stranded Retantion Wire (Orthoclassic OC, Tokyo/JAPAN)

Grup Z6: Flat Lingual Retainer Wire (Orthoessentials, Connecticut/USA)

Grup Z7: Dead Soft Retantion Wire (Orthoclassic OC, Reading/USA) olarak numaralandırılmıştır.

3.2.3.1.MTT Testinin Uygulanması:

Çoğaltılıp sayılan hücreler daha sonra 10.000 hücre/kuyu yoğunluğunda olacak şekilde 250 µl besiyeri/kuyu içeren 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş ve 24 saat 37°C’de, kuyucuklara tutunmaları için inkübe edilmiştir. Deney gruplarına ait eluvatlar ertesi gün kuyucuklara uygulanmıştır. Bu maddelerin hücre canlılığına olan etkilerini zamana bağlı olarak incelenmek üzere, eluvat uygulamasından 24 saat sonra MTT (Abcam; ab211091) 10 µl olacak şekilde eklenmiştir. Materyallerin sitotoksitelerinin belirlenmesi için ‘direkt temas test metodu’ uygulanarak, MTT maddesi ile hücre canlılık oranları değerlendirilmiştir. Örnekler, absorbans (optik yoğunluk) spektrofometrede 550 nm dalga boyunda ölçülerek ortamdaki canlı hücre sayısı tespit edilmiş ve aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{Canlılık} = (\text{Örnek 540nm} - \text{Blank 540 nm}) / (\text{Kontrol 540nm} - \text{Blank 540nm})$$

3.2.3.2. Xcellingence Testinini Uygulanması

XCELL testi için sistemin ana parçalarından olan RCTA cihazı ve RCTA plaka yerleştirme bölgesi %70’lik alkol ile dezenfekte edildikten sonra 30 dakika UV altında sterilize edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan 96 kuyucuklu plakaların taban çapı 5 ± 0.05 mm iken toplam hacmi 210 ± 5 µl’dir. Yaklaşık %80 ‘i dairesel mikroelektrotlar ile kaplı olan kuyucuklar sıcaklık ve nem değişimlerinde buharlaşmayı engelleyecek şekilde tasarlanmıştır.

Gerçek zamanlı hücre analiz sisteminin 96 kuyucuklu plakalarına 200 µl besiyeri içerisine 40000 HGnF hücresi olacak şekilde hücre ekilmiştir. Hücrelerin plakaya tutunmaları için 24 saat beklendikten sonra, Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO) 10993-5 tarafından tanımlanan protokole bağlı kalınarak hazırlanan retainer eluvatları, hücrelerin üzerine aktarılmıştır. Ardından E-plaka, RTCA cihazının plaka bölgesine yerleştirilmiş ve hücrelerin logaritmik proliferasyon miktarları belirlenen zaman aralıklarında RTCA analiz cihazı ile takip edilmiştir. Poliferasyon sonucu hücre

sayısının artmasıyla elektrotların yüzeyine yapışan hücre miktarı artmıştır. Elektrotların yüzeyine tutunan hücreler, elektrot-çözelti arasındaki iyon farkını değiştirerek empedans değerinde değişikliklere sebep olmuştur. Ortaya çıkan değişiklik 96 saat boyunca takip edilmiştir. Gerçek zamanlı hücre analiz sistemi ile hücre artışı sayısı tespit edilmiş, farklı zamanlardaki proliferasyon miktarları hesaplanmış ve eluatların hücre proliferasyonuna bağlı olarak sitotoksosite değerlendirilme sonuçları elde edilmiştir. Ayrıca, kontrol kuyucuklarına ise herhangi bir retainer eluatına maruz bırakılmayan HGnF hücre besiyeri eklenmiştir. Deneyler 6 kez tekrarlanmıştır. Deney bitiminde elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4. İstatistiksel Analiz

MTT ve XCELL değişkenlerinin her bir gruptaki normal dağılım kontrolü Shapiro-Wilk normallik testi ile ve varyansların homojenlik kontrolleri Levene testi ile değerlendirilmiştir.

MTT analizi değerlendirildiğinde tüm grupların normal dağılıma uyumlu olduğu ancak varyans homojenliğinin sağlanmadığı görülmüştür. XCELL analizinde, bazı gruplardaki değerlerin normal dağılıma uyumluluğu olmadığı tespit edilmiştir ($p < .05$). Grup karşılaştırmaları Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiş ve istatistik olarak minimum-maksimum, yüzdeler (%25-75) ve medyan (%50) değerleri verilmiştir. Yapılan analizler sonucunda istatistiksel anlamlı farklılık elde edilen gruplarda farkın hangi gruplar arasında olduğunu tespit etmek için Dunn post hoc istatistiği kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık seviyesi $p < .05$ olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

MTT ve XCELL değişkenlerinin her bir gruptaki normal dağılım kontrolü Shapiro-Wilk normallik testi ile değerlendirilmiştir. XCELL değişkeni bakımından bazı gruptaki değerlerin normal dağılıma uyumlu olmadığı ($p < .05$), MTT değişkeni bakımından tüm grupların normal dağılıma uyumlu olduğu görölmüştür ($p > .05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Sharipo WILK normallik testi sonuçları.

Gruplar	Değişkenler	Shapiro-Wilk (p)
Z0	XCELL	0,085
	MTT	0,769
Z1	XCELL	0,632
	MTT	0,936
Z2	XCELL	0,010
	MTT	0,491
Z3	XCELL	0,020
	MTT	0,539
Z4	XCELL	0,056
	MTT	0,277
Z5	XCELL	0,112
	MTT	0,811
Z6	XCELL	0,016
	MTT	0,218
Z7	XCELL	0,022
	MTT	0,644

MTT ve XCELL değişkenleri için gruptaki varyansların homojenlik kontrolleri Levene testi ile değerlendirilmiş ve her iki değişken için de varyansların homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p<.05$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Levene testi ile değerlendirilen varyans homojenliği sonuçları.

Değişkenler	Levene İstatistiği (p)
XCELL	<0,001
MTT	<0,001

Grup karşılaştırmaları Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiştir. Özet istatistik olarak minimum-maksimum, yüzdelikler (%25-75) ve medyan (%50) değerleri verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, MTT ve XCELL değişkenleri bakımından çalışma grupları arasında istatistiksel anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p < .001$) (Tablo 4.3, Tablo 4.4).

Tablo 4.3. MTT deneyi sonuçlarının Kruskal Wallis test ve özet istatistiksel verileri

Gruplar	Minimum	Maksimum	Medyan %50	%25-75	p
Z0	0,51	0,55	0,5250	0,5105- 0,5375	<.001
Z1	0,39	0,43	0,4050	0,3978- 0,4160	<.001
Z2	0,37	0,60	0,4450	0,3775- 0,5175	<.001
Z3	0,40	0,80	0,6700	0,5500- 0,7700	<.001
Z4	0,36	0,50	0,4700	0,3975- 0,4925	<.001
Z5	0,11	0,28	0,2050	0,1625- 0,2575	<.001
Z6	0,27	0,40	0,3450	0,2850- 0,3925	<.001
Z7	0,26	0,57	0,4350	0,3050- 0,5400	<.001

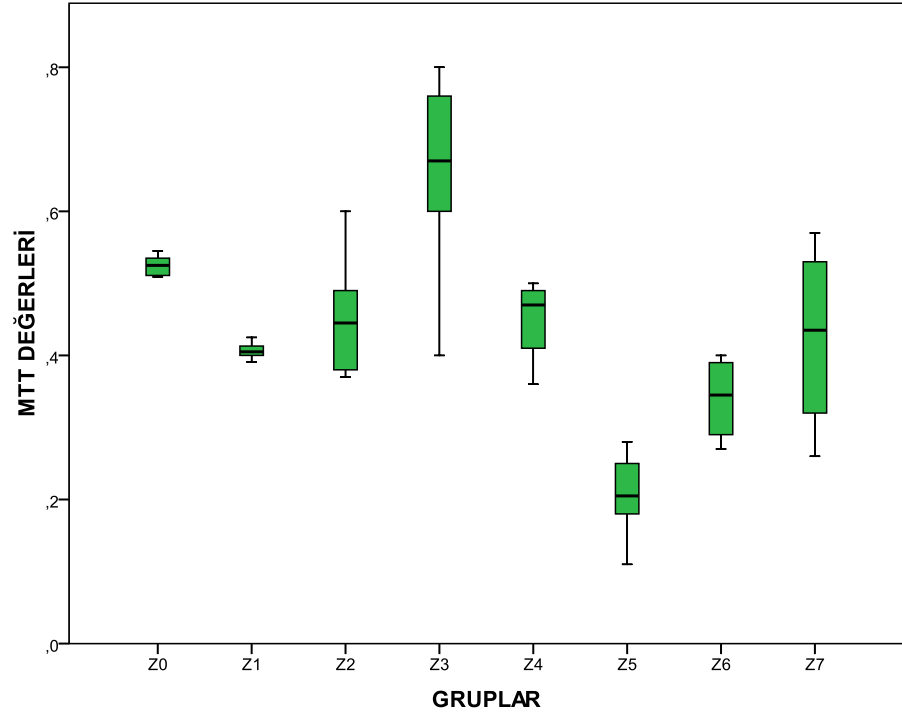
Tablo 4.4. Xcell deneyi sonuçlarının Kruskal Wallis test ve özet istatistiksel verileri

Gruplar	Minimum	Maksimum	Medyan %50	%25-75	p
Z0	4,6109	4,7553	4,6811	4,6191- 4,7455	<.001
Z1	4,3270	4,4376	4,3873	4,3420- 4,4263	<.001
Z2	4,0800	4,9550	4,5120	4,0931- 4,9377	<.001
Z3	4,3638	4,5621	4,4619	4,3698- 4,5553	<.001
Z4	5,5168	5,6080	5,5654	5,5228- 5,6042	<.001
Z5	2,0357	2,1947	2,1172	2,0473- 2,1846	<.001
Z6	3,5014	3,8327	3,6676	3,5106- 3,8239	<.001
Z7	5,4974	5,8358	5,6681	5,5096- 5,8247	<.001

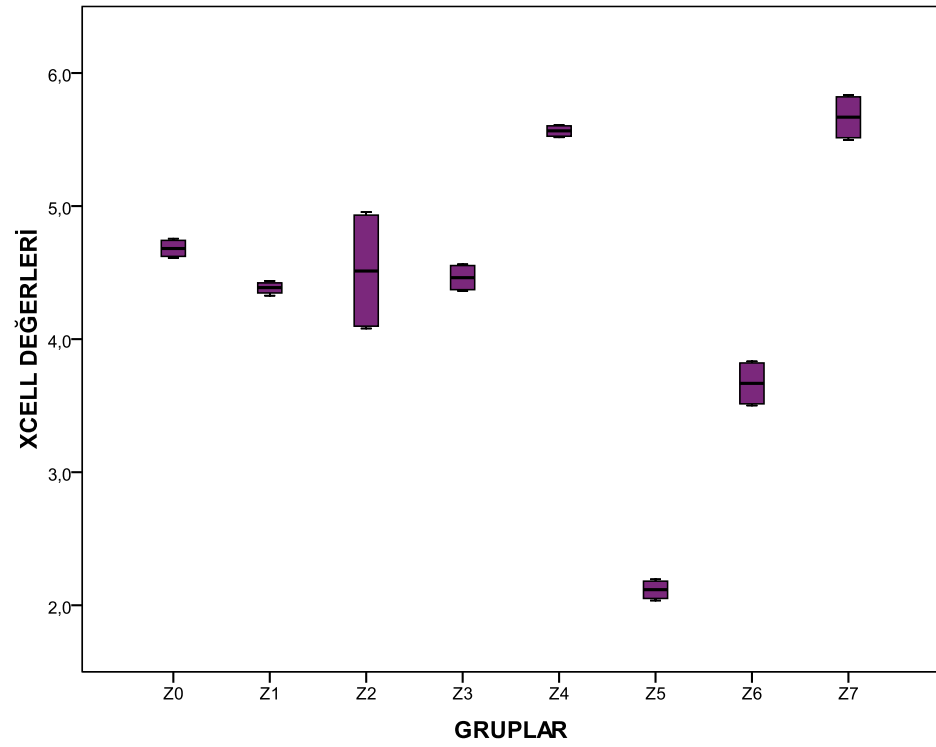
İstatistiksel anlamlı farklılık elde edilen değişkenlerde farkın hangi gruplar arasında olduğunu tespit etmek için Dunn post hoc istatistiği kullanılmıştır. MTT değişkeni bakımından değerlendirildiğinde bu farklılık; Z0 ile Z5 grupları arasında, Z3 ile Z5 grupları arasında ve Z3 ile Z6 grupları arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

Xcell değişkeni bakımından değerlendirildiğinde bu farklılık; Z0 ile Z5 grupları arasında, Z4 ile Z5 grupları arasında, Z4 ile Z6 grupları arasında, Z5 ile Z7 grupları arasında ve Z6 ile Z7 grupları arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

Bu değerlerin grafiksel gösterimi için box-plot kullanılmıştır. MTT analizine ait değerlerin grafiksel gösterimi Şekil 4.1’de verilmiştir. X celligence analizine ait değerlerin grafiksel gösterimi Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. MTT değerlerine ait değerlerin grafiksel gösterimi.



Şekil 4.2. XCELL değerlerine ait değerlerin grafiksel gösterimi.

5. TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER

5.1. Tartışma

Ortodontik tedavilerin genel amacı ideal okluzyonu sağlayarak; dental ve fasiyal estetiği temin etmek, çiğneme konuşma solunum gibi fonksiyonları iyileştirmek ve aktif tedavi sonucunda elde edilen durumu korumaktır (Angle 1907; Ülgen 2005).

Pekiştirme tedavisi, aktif tedavi sonrasında elde edilen diş hareketlerinin stabilize edildiği ve elde edilen tedavi sonuçlarının kalıcılığının sağlandığı, uzun süreç gerektiren tedavi aşamasıdır. Ortodontik tedavi sonrasında yaşanan en büyük sorunlardan birisinin relaps olduğu göz önünde bulundurulduğunda pekiştirme tedavisinin önemi daha da artmaktadır (Proffit et al., 2013).

Ortodontik tedavi ile elde edilen son durumun stabilizasyonu; başlangıç malokluzyonun tipi ve şiddeti, tedavi protokolü, hasta kooperasyonu, büyüme gelişim, periodontal ve gingival gibi birçok faktöre bağlıdır. Stabil olmayan son durumun geriye dönme eğilimi sebebiyle aktif tedavi ile elde edilen sonucun sürekliliğini sağlamak için retansiyon tedavisinin uygulanması gerekmektedir (Proffit et al., 2013; Dewey 1909; Dewey 1920).

Klinikte rutin olarak uygulanan çok çeşitli retansiyon apareyleri ve retansiyon protokolü bulunmaktadır. Hareketli ve/veya sabit retansiyon apareylerini içeren pekiştirme prosedürleri çok sayıda araştırmacı tarafından önerilmektedir (Zachrisson 1977; Proffit et al., 2013). 2006 yılında yapılan sistematik derlemede, pekiştirme prosedürleri üzerine karara varabilmek için yeterli kanıt olmadığı ve kanıta dayalı bilgi eksikliği nedeniyle pekiştirme protokolünün genellikle ortodontistlerin kişisel deneyimleri ile yapıldığının sanucuna varılmıştır (Littlewood et al., 2006).

Literatür incelemesi yapıldığında, son zamanlarda hekimlerin pekiştirme apareyi seçimleri ve bu seçimlerin gün geçtikçe değiştiği ile ilgili birçok çalışma yapıldığı görülmektedir. Keim ve arkadaşları 2008 yılında, son 25 yıl içerisinde ortodontik eğilimler, tedavi planı ve retansiyon uygulamalarını içeren geniş kapsamlı anketler düzenlemiş ve 1986, 1990, 1996, 2002 ve 2008 yıllarında yapılan anketlerin sonucuna göre retansiyon türleri olarak termoplastik plaklar ve kanin-kanin arası sabit

lingual retainerların kullanımında bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca bu dönem boyunca, hareketli pekiştirme aygıtlı olan Hawley aparatlarının kullanımında da azalma görülmüştür (Keim et al., 2008).

Ortodonti pratiğinde pekiştirme tedavisinin gerekliliği, süresi ve kullanım şekli hala tartışmalı konulardır ve her duruma uyum sağlayan nihai bir uygulama şekli bulunmamaktadır. Geçmişten bugüne literatür incelemesi yapıldığında pekiştirme tedavisi ihtiyacı duymayanlar ile ömür boyu/sürekli pekiştirme tedavisi gerektiren durumların tanımlandığı görülmektedir. Jackson, tedavi sonrası pekiştirme tedavisine ihtiyacı olmayanların yok denecek kadar az olduğunu söyleyerek sabit retansiyon fikrinden bahseden ilk kişi olmuştur (Jackson 1904).

Retansiyon dönemi boyunca meydana gelen değişiklikler tek bir faktöre bağlı olmadığı için retansiyon süresi konusunda kesin bir süre vermek oldukça zordur. Aktif tedavinin tamamlanmasından sonra alveol kemiğinde trabeküler yapının remodelingi, yumuşak doku adaptasyonu ve stabil bir oklüzyonun oluşabilmesi için belirli bir süreye ihtiyaç duyulmaktadır (Proffit et al., 2013). Retansiyon süresi konusunda ise; Guilford bu sürenin 6 aydan daha az olmaması gerektiğini savunurken, Kingsley retansiyonun 2-3 yıl sürmesi gerektiğini, Lischer 3 haftadan 7 yıla kadar uzayabilen bir süreye ihtiyaç olduğunu belirtmektedir (Kingsley 1880; Lischer 1912).

Literatürde ortodontistlerin pekiştirme protokollerini araştıran pek çok çalışma bulunmaktadır. Türkiye’de yapılan bir anket çalışmasında; sabit lingual retainerlar ile yapılan pekiştirme süresi sorulmuş, bu soruya hekimlerin %34’ü 2 yıl, %16’sı 2-5 yıl, %8’i beş yıldan uzun, %7’si büyüme tamamlanıncaya kadar %17’si üçüncü molar dişler çekilene kadar %19’u ise ömür boyu retansiyon yanıtını vermişlerdir (Paşaoğlu, Aras, Mert, Aras 2016).

Dr. Gottlieb ve Dr. Zachrisson, yalnızca kanin dişlere simante edilen lingual retainerların üçüncü molar dişler çekilene veya büyüme tamamlanana kadar, kanin-kanin arası dişlere simante edilen lingual retainerların ise tolere edilebildiği süre boyunca veya sürekli retansiyon gerektiren durumlarda ise ömür boyu kullanılması gerektiğini savunmaktadırlar. İki yıl sonunda kontrol değerlendirmesi yapılması yapılarak bu kontrol sonucuna göre isteğe bağlı olarak sabit retainerın çıkartılabileceği veya retansiyona devam edilip yılda bir kez kontrol edilmesi önerilmektedirler (Zachrisson 2007).

Ortodonti hastalarında tedavi sonrası tatmin edici diş diziliminin sürdürülme oranı %30' dan azdır ve hastaların %20'sinde tedavi sonrası çapraşıklık görülmüştür. Retansiyon dönemi boyunca 10 yıllık stabiliteyi değerlendiren çalışmalarda anlamlı derecede relaps görüldüğü, özellikle alt anterior diş diziliminin bozulduğu bildirilmiştir. Bu araştırmalar sonucunda uzun süreli ve hatta daimî retansiyon yapılması gerekliliği düşüncesi giderek artmaktadır (Litte et al., 1988; Zachrisson 2015).

Westerlund ve arkadaşları, 108 hastanın 10 yıl takibi sonucunda sabit retainerların başarısını değerlendirmişler ve sonuç olarak ortodontik tedavi sonuçlarının yüksek standartta korunduğunu bulmuşlardır (Westerlund, Daxberg, Liljegren, Oikonomou, Ransio et al., 2014). Bearn, özellikle anterior segmentteki dişlerde relaps eğilimi mevcutsa, tüm dişlere retainer uygulamanın endike olduğunu, uzun dönem stabilitenin sağlanabilmesi ve nüksün önlenmesi için en etkili yolun, hayat boyu pekiştirme olduğu vurgulamıştır (Bearn 1995).

Ağız içerisinde yıllarca kullanılabilmesi, etkin ve güvenilir olması nedeniyle en çok tercih edilen retansiyon apareyi, sabit retainerlardır. Ancak bu retainerların kullanımında düzenli takip göz ardı edilmemelidir (Litte, et al., 1988; Littlewood et al., 2006).

Sabit lingual retainerlar yaygın olarak kullanılsa da ağız sağlığı ve çevre dokular üzerindeki etkileri hakkında yapılan sistematik incelemelerde çelişkili sonuçlar bulunmuştur. Bir çok çalışmada, lingual retanierların diş taşı birikimi, diş eti iltihabı, sondalamada kanama, cep derinliğinde artış ve diş eti çekilmesine neden olduğunu belirtilirken diğer çalışmalarda ise, sabit lingual retainerların çevre periodontal dokular üzerinde uzun vadede olumsuz bir etkisinin bulunmadığı sonucuna varılmıştır (Artun 1984; Litte et al., 1988; Bearn 1995).

Litaratürde retansiyon döneminde kullanılan sabit lingual retainerların oral hijyen veya oral flora üzerine etkisi ile ilgili birçok çalışma mevcut olup konuyla ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında retainer tellerinin sitotoksik etkisi araştırılmamıştır ve anlaşılamamıştır. Günümüzde bir materyalin klinik başarısı değerlendirilirken sadece mekanik ve estetik olarak değerlendirme yapılmamalı aynı zamanda biyolojik açıdan güvenilirliği ve dokulara uyumluluğu da oldukça önem taşımaktadır (Hanks et al., 1996).

Literatürde çeşitli dental materyallerin sitotoksitesisi veya biyouyumluluğu ile ilgili yapılmış birçok çalışma mevcuttur ancak ortodontide retansiyon tedavisinde sıklıkla kullanılmakta olan retainer tellerinin sitotoksitesisini araştıran herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamız retainer tellerinin dişeti hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini inceleyen ilk ve tek çalışma olma niteliğindedir. Bu çalışmada; ortodonti pratiğinde aktif tedavi sonrası sıklıkla ve uzun dönem kullanılmakta olan sabit pekiştirme tellerinin sitotoksitesisi in vitro bir test ile değerlendirilerek, çalışma sonunda elde edilen veriler ışığında kabul edilebilir sitotoksitesite potansiyeli olan retainerların kullanımının tercih edilmesi, yüksek sitotoksik potansiyel gösteren ürünlerin kullanımının sınırlandırılması yönünde ortodontistlere yol gösterici olunması amaçlanmaktadır.

Materyalin biyouyumlu olarak değerlendirilmesinde; materyalin kimyasal yapısı, tasarımı, elde edilme yöntemleri, mekanik özellikleri, doku ile temasının şekli, yeri ve dokunun özellikleri gibi faktörlerin göz önüne alınması büyük önem taşımaktadır. Üreticilerin materyalin mekanik ve fiziksel özelliklerini geliştirmek için yaptıkları çalışmalar sonrasında çoğu materyaller biyouyumluluk testlerine maruz bırakılmadan piyasaya sürülmektedir. Biyolojik uyumu olmayan materyaller değişik doku reaksiyonlarına neden olmaktadır (Hanks et al., 1996). Bu açıdan değerlendirildiğinde yeni geliştirilen dental materyallerin klinik uygulama öncesinde biyouyumluluk açısından test edilmesi gerekmektedir. Toksik etkisinin olup/olmadığı bilinmeyen bir materyallerin insanlar üzerinde kullanılması etik değildir.

Biyouyumluluk, canlı dokularla temasta olan herhangi bir materyalin, sistemik ve lokal toksisiteye yol açmaması, alerjik, mutajenik ve karsinojenik etkilere sebep olmaması ve yumuşak ya da sert dokularda doku reaksiyonu oluşturmaması olarak tanımlanmaktadır (Wataha 2001). Dental materyallerin biyolojik özelliklerinin incelemeleri üç aşamada yapılmaktadır; materyallerin biyouyumluluğunun belirlenmesine genellikle hücre kültürlerinin kullanıldığı in vitro test yöntemleri ile başlanmaktadır. Değerlendirmelere olumlu sonuçlar veren materyaller in vivo hayvan testlerine tabi tutulmakta ve bu testlerden istenilen sonuçlar elde edildiğinde insanlarda klinik uygulamaları içeren kullanım testleri gibi daha kapsamlı çalışmalar yapılmaktadır (Hensten-Pettersen 1988; Schmalz 1994; Schmalz 1997; Tuncer et al., 2011).

In vitro testlerin, in vivo test yöntemlerine göre bazı avantajları vardır. İn vitro testlerin kısa sürede sonuç vermesi, maliyetinin düşük olması, deneyin aynı şartlar altında ve aynı koşullarda tekrar edilebilmesi, sonuçların kolayca standardize edilebilmesi, hassas olması ve kontrolünün kolay olması gibi avantajları bulunmaktadır. Buna ek olarak, hayvan deneylerinin maliyetinin yüksek olması, uzun sürede sonuç vermesi, deney hayvanlarına bağlı bireysel faktörlerin deney sonuçlarının güvenilirliğini etkilemesi ve hayvanları besleme bakımlarında ortaya çıkabilecek sorunlar in vitro testlerin tercih edilmesinde başlıca etkenler arasındadır. Ayrıca hayvan deneylerinin etik konusunda tartışma yaratması da daha az tercih edilme sebebi olmaktadır (Hanks et al., 1996).

In vitro sitotoksikite testlerinde kullanılan en yaygın biyolojik sistem hücre kültürleridir (Davis 1996). Hücre kültürü yönteminin birçok avantajları mevcuttur. Hücre kültüründe çevre ve buna bağlı olan fizyolojik koşullar daha iyi kontrol ve standardize edilebilirken, in vivo test yöntemlerinde standardizasyon yapmak çok daha zordur. Tekrarlanabilir olması ve ekonomik olması ayrıca bireysel faktörlerden etkilenmemesi kültür ortamının avantajları arasında yer almaktadır. Hücre kültürlerinin bir diğer avantajı ise hazırlanan örneklerin homojenitesini kolayca sağlamasıdır. In vivo sistemlerde, test maddelerin bir kısmı çeşitli yollarla dışarıya atılırken bir kısmı da organizmanın bağışıklık sistemi tarafından tolere edilmektedir. Canlı organizmalarda test edilen maddeden düşük oranda sitotoksik etki (yaklaşık %10) cevabı alınırken, in vitro teste tabi tutulan hücre kültürlerinde ise sitotoksik etki cevabı daha yüksek oranlara (yaklaşık %90) çıkabilmektedir (Freshney 1987, Davis,1996). İn vitro testlerin yüksek hassasiyeti nedeniyle çalışmamızda hücre kültürü kullanması tercih edilmiştir.

In vitro testlerde hücre-materyal teması direkt, indirekt ve ekstrakt vasıtasıyla olabilmektedir. Bu metodlardan direk temas testi ve ekstrakt testinde hem kalitatif hem de kantitatif değerlendirme yapmak mümkün iken indirekt testte yalnızca kalitatif değerlendirme yapılabilmektedir (ISO 10993-5 1992; Bouillaguet, Wataha, Lockwood, Galgano, Golay et al., 2004). Tez çalışmamızda ekstraksiyon test metodu kullanılarak retainerların ortodonti pratiğindeki kullanımının taklit edilmesi amaçlanmıştır.

ISO parametlerine göre materyalin deney solüsyonu içerisindeki inkübasyon süresinin en az 24 saat olması gerekmektedir. Camilleri ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, materyallerin 1 günlük inkübasyon süresi ile 28 günlük inkübasyon süresi sonundaki biyoyumluluğun farklı olduğunu, 1 günlük inkübasyon süresi sonunda biyoyumluluğun yüksek, 28 günlük inkübasyon süresi sonunda ise biyoyumluluk değerlerinin düşük olduğu sonucuna varılmıştır (Camilleri, Montesin, Papaioannou, McDonald, Pitt Ford 2004). Schulz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, materyallerinin insan gingival fibroblast ve insan diş eti keratinosit hücrelerinin gen ekspresyonu üzerindeki 24 saat ve 1 hafta sonundaki etkilerini incelemiş ve çalışma sonucunda, 1 haftalık zaman diliminde Hgf hücreleri üzerindeki sitotoksik etkinin arttığını belirtmişlerdir. Bu sonuç Camilleri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayı destekler niteliktedir (Schulz, Ruppell, Tomakidi, Steinberg, Reichl et al., 2015). Anand ve arkadaşları da hücrelerin dozdan bağımsız olarak, maruziyet süresine daha duyarlı olduğunu yaptıkları çalışma ile ortaya koymuşlardır (Anand and Balasubramanian 2014). Materyallerden salınımının devam etmesi ve bunun yarattığı kümülatif etkiyle ilişkili olarak maruziyet süresi arttıkça sitotoksitenin arttığı Putzery ve arkadaşları tarafından da öne sürülmüştür (Putzeys, De Nys, Cokic, Duca, Vanoirbeek et al., 2019). Hücresel adezyonun daha iyi olabilmesi amacıyla çalışmamızda inkübasyon süresi 63 gün olarak belirlenmiştir.

Hücre kültür çalışmalarında hangi tip hücrenin seçileceğinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Devamlı hücre hatlarının aneuploid kromozoma sahip olmaları, üreme hızlarının yüksek olması, doğru ve titiz bir çalışma ile pasajlanma işlemi yapıldığında çok uzun süre yaşatılmalarının mümkün olması gibi avantajlarının yanı sıra in vivo özellikleri daha az yansıtması, transformasyon sonrası genotipik ve fizyolojik özelliklerini tam olarak barındırmaması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Ayrıca devamlı hücre hatlarının elde edilmesi primer hücre kültürüne göre daha kolay olup fenotipik özelliklerini çok uzun bir süre boyunca korumaları ve hızlı sonuçlar vermeleri nedeniyle tez çalışmamızda devamlı hücre hatları kullanılmıştır (Wataha 2001).

Hensten-Pettersen 1988 yılında yaptığı çalışmada, insan gingival hücre hattını primer hücrelerle karşılaştırmış ve devamlı hücre hattının daha iyi derecede çoğalma yeteneğine sahip olduğunu belirtmiştir. Araştırmacı, gingival fibroblastların odontoblast benzeri hücre dizilerine göre daha hassas olduklarını bildirmiştir. Bu

durum gingival fibroblastlarının sitotoksosite çalışmaları için uygun ve tatmin edici sonuçlar veren hücre dizileri olduğunu göstermektedir (Hensten-Pettersen 1988). Ayrıca ISO 10993'te insan diş eti fibroblast hücrelerinin sitotoksosite tayini için kullanımlarının uygun olduğu belirtilmiştir (ISO 1993-5 1992). Bu nedenle sabit lingual retainer tellerinin sitotoksitesini değerlendirildiğimiz bu çalışmada insan gingival fibroblast hücre hattı kullanılmıştır.

Materyallerin biyouyumluluğunun değerlendirmesinde, 1979'da tanıtılan standart test kriterleri, günümüzde ANSI (Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü) aracılığı ile ADA (Amerika Diş Hekimleri Birliği), ASTM (Amerika Deney ve Materyaller Derneği), CEN (Avrupa Standardizasyon Komitesi) ve en önemlisi ISO gibi birçok kuruluş tarafından geliştirilen biyolojik test standartları şeklinde sürdürülmektedir. Çalışmamızda kullanılan tellerin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde; International Organization for Standardization (ISO) tarafından hazırlanan 10993-5 no'lu 'Sitotoksosite Testleri- In vitro Yöntemler' bölümü rehber alınmıştır (ISO 1993-5 1992).

Sitotoksitenin değerlendirilmesinde kullanılan MTT (Mosmann'ın Tetrazolium Toksisite) analizi, hücre canlılığını değerlendirmek için kullanılan kolorimetrik bir yöntemdir. Canlı hücrelerin mitokondrisinde bulunan süksinik dehidrojenaz enzimi suda çözünür sarı tetrazolium tuzunu, çözünür olmayan mor formazan kristallerine indirgeme kapasitesine göre sonuçlar vermektedir. Üretilen formazan kristallerinin miktarı canlı hücrelerin sayısı ile doğru orantılı olarak artmakta ve hücrelere uygulanan maddenin sitotoksik etkisi nedeniyle dehidrojenaz enzim aktivitesi etkilendiği koşullarda mavi renkli formazon oluşmamaktadır. Hücre canlılığı / formazon formasyonu ya optik yoğunluğun ölçülmesi ya da test örneğinin çevresindeki formazon ışığın elektron mikroskopuyla belirlenmesiyle değerlendirilmektedir (Freshney 1987; Wataha et al., 1992; Jenkins 1999).

Mitokondriyal aktiviteyi gösteren MTT yöntemi, uygulama kolaylığı, hızlı sonuç vermesi ve hassasiyetinin yüksek olmasının yanı sıra, çok düşük düzeydeki toksisitelerinin değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır. Bu sebeple en güvenilir testlerden birisi olarak kabul edilmektedir (Freshney 1987; Wataha et al., 1992). Çalışmamızda, hücrelerin canlılığındaki değişim ekstrat temas yöntemi ile kalitatif olarak değerlendirilmiş ve kantitatif değerlendirmede MTT yöntemi kullanılmıştır.

Wataha ve ark, dental materyallerin sitotoksik etkilerini karşılaştırdıkları çalışmada; MTT testinde kullanılan boyanın hücre tarafından kısa sürede metabolize edilebilmesi ve verilerin tekrar edilebilir olmasının yanı sıra, farklı çalışma sonuçlarının karşılaştırılabilmesi sebebiyle MTT yönteminin diğer yöntemlere oranla daha avantajlı olduğunu belirtmişlerdir (Wataha et al., 1992).

Literatürde, dental materyallerin sitotoksiste çalışmasında çoğunlukla MTT yönteminin tercih edildiği görülmüştür. Örneğin, Osorio ve arkadaşları, kök ucu dolgu materyallerinin ve kök kanal dolgu maddelerinin sitotoksiste değerlendirmesinde MTT yöntemini kullanmışlardır (Osorio, Hefti, Vertucci, Shawlet 1998). Telli ve arkadaşları ise kalsiyum fosfat içerikli kök kanal dolgu patlarının sitotoksisteleri ile ilgili yaptıkları çalışmada MTT yöntemini kullanmışlardır (Telli, Serper, Doğan, Güc 1999). Chan ve arkadaşlarının, sitrik asitin sitotoksik etkisini inceledikleri çalışmalarında MTT metodu kullanılmıştır (Chang, Huang, Cheng, Chou, Chou 1998).

Issa ve arkadaşları, rezin monomerlerin insan gingiva fibroblastları üzerindeki sitotoksik etkileri belirlemek üzere yaptıkları çalışmada, iki kalorimetrik fonksiyonel deney yöntemi olan MTT ve laktat dehidrogenaz aktivitesi (LDH) testi kullanmışlar ve çalışma sonucunda TC50 değerleri bakılarak MTT testinin, LDH testinden daha duyarlı olduğu sonucuna varılmıştır. MTT testinde, monomerlerin düşük miktarlardaki konsantrasyonları, mitokondriyal dehidrogenaz aktivitesinde çok farklılık yaratırken LDH salınımında az farklılık yarattığı gözlenmiştir. Bu sonuç, materyal düşük konsantrasyonlarda olduğunda hücre lizisine sebebiyet vermeden hücreler içerisine alınabildiğini göstermekte ve ilk hedefin genellikle mitokondriyel aktivite olduğu sonucunu desteklemektedir. Bu nedenlerle çalışmamızda MTT yöntemini kullanılması tercih edilmiştir (Issa, Watts, Brunton, Waters, Duxburry 2004).

Çalışmamızda kullandığımız sitotoksiste değerlendirme yöntemlerinden bir diğeri “xCELLigence” test yöntemidir. Sitotoksiste değerlendirmede sıklıkla tercih edilmekte olan MTT testi xCELLigence testi ile karşılaştırıldığında, XCELL ile daha hassas sonuçlar alındığı bildirilmiştir (Acea Biosciences 2013; Limame, Wouters, Pauwels, Fransen, Peeters et al., 2012). Dolayısıyla bu çalışmanın MTT testine ek olarak gerçek zamanlı hücre analizine imkân veren xCELLigence sistemi ile desteklenmesi uygun bulunmuştur.

XCELLigence sistemi adherent hücreleri incelemek için geliştirilmiş mikro elektronik sensor teknolojisidir. Sistem, E-Plate'lerinin zeminine yerleştirilmiş mikroeletrotlar sayesinde elektriksel empedans ölçümü yapmaktadır. Empedans ölçümü ile hücre sayısı, canlılığı, morfolojisi ve hareketi dahil hücrelerin biyolojik durumu hakkında bilgi elde edilmektedir. Veri analizi, sisteme ait bilgisayarda bulunan RTCA yazılımıyla yapılabilmektedir. Deney süresince CI değerlerinin ölçümü gerçek zamanlı olarak analiz edilmektedir. RTCA yazılımı, maksimum, minimum ve ortalama değerler, standart sapma (SD), hücre indeksi (CI), maksimum etkinin yarısını yapan konsantrasyon (EC50), maksimum inhibisyonun yarı konsantrasyonu (IC50) ve elde edilen deney verilerine göre "sigmoidal doz-cevap" grafiğini çizmektedir (RocheDiagnosticsGmbH 2008).

Sadece adherent hücrelerle çalışılabilmesi, cihazda kullanılan E-plaka'ların pahalı ve tek kullanımlık olması xCELLigence testinin dezavantajları arasındadır. Hassas ve yeni bir yöntem olan "xCELLigence" test yöntemi her yeni cihazda ve metotta olduğu gibi hassasiyeti, doğruluğu, etkinliği; hangi şartlarda, hangi hücreleri değerlendirmede başarılı olduğu gibi faktörlerin belirlenmesi için daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Xing et al., 2006).

Sitotoksikite ölçüm metodlarının bazıları plazma membranındaki permeabilite değişikliklerine dayanmaktadır. Kullanılan boyayıcı madde, canlı hücreler tarafından sitoplazmaya alınmaz ve dışarıya atılır iken ölü hücreler bu boyayı sitoplazmalarına alır fakat dışarıya atılamazlar ve bunun sonucunda mikroskop altında boyanmış olarak görünürler. Sitoplazma geçirgenliğine dayanan bu tip ölçüm metodlarının bazı dezavantajları bulunmaktadır. Birçok sitotoksik etken, hücrelerde ki ilk yıkımlarını aynı anda birkaç bölgede başlatmaları nedeniyle hücreler geri dönüşsüz olarak tahrip edildiği halde hücre zarları hala sağlam kalabilmektedir. Bu nedenle diğer metodlarla karşılaştırıldığı zaman hücre membranları tahrip olmadan meydana gelen bu tip hücre ölümleri boyama yöntemi ile saptanamamaktadır. XCELL sisteminde herhangi bir işaretleme ve boyama işlemi olmadığı için böyle bir dezavantajı bulunmamaktadır.

Literatürde, aktif ortodontik tedavi sonrasında kullanılan retainerların sitotoksik etkisi ile ilgili herhangi bir literatür göze çarpmamaktadır. Milheiro ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, retainer tellerinin, sitotoksikiteye sebep olan nikel salınımları incelenmiştir. Çalışma için seçilen retainer telleri ağırlıkça yaklaşık %8

nikel içeren paslanmaz çelikten oluşmaktadır. Secilen tellerin nikel salınımları, standartize edilmiş in vitro koşullar altında farklı pH ve farklı mekanik yüklemeler altında incelenmiş ve çalışma sonucunda, pH değerinin veya mekanik yükün değişmesinin, nikel iyonlarının salınımı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu ve benzer nikel içeriğine sahip retainer tellerinin farklı salınım miktarlarına sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca retainer tellerinin yalnızca nikel serbest bırakmakla kalmayıp, demir (Fe), krom (Cr) gibi iyonlar salarak hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ve DNA hasarını indükleyerek hücresel metabolizmayı etkilediği gösterilmiştir (Milheiro, Kleverlaan, Muris, Feilzer, Pallav 2012).

Hend Salah Hafez ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, 28 kişilik deney grubu ve 18 kişilik kontrol grubu oluşturularak 4 farklı braket çeşiti ve 4 farklı ark telinin metal salınımı sonucu sitotoksik ve genotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Tedavi öncesi ve sırasında olmak üzere 3. ve 6. aylarda bukkal mukoza hücreleri toplanarak bulgular elde edilmiştir. Bulgularda deney grubunda bukkal mukoza hücre canlılığı değerleri; tedavi öncesi % 8.1 iken 3. ve 6. Aylarda % 6.4 ‘ten % 4.5 ‘e düşmüş ve hesaplanan DNA hasar değeri ise, 3. ayda 125.6 iken 6. ayda ise 98.8'e düşmüştür. Hücresel nikel içeriği mililitre başına 0.52'den, 0.68'e ve 0.78 ng'ye yükselmiş iken krom içeriğinin sırasıyla 0.31'den 0.41'e ve 0.78 ng'ye yükseldiği gözlemlenmiştir. Araştırma sonucunda, sabit ortodontik cihazların hücresel canlılığı azalttığı, DNA hasarını indüklediği ve bukkal mukoza hücrelerinin nikel ve krom içeriğini arttırdı saptanmıştır. Ancak kontrol grubuyla karşılaştırılma yapıldığında; bu değişikliklerin 3. ayda belirgin olup 6. ayda belirgin olmayışı, zaman içerisinde iyon salınımının azaldığını ve hücrelerin DNA için tolerans veya onarım mekanizması geliştirdiğini göstermektedir. Salınan elementlerin sistemik toksisiteyi ne kadar etkilediğine dair çok az çalışma vardır. Ortodontik aletlerden salınan metal iyonlarının miktarları üzerine yapılan çoğu çalışmada, salınım miktarı, önerilen günlük nikel ve krom alımlarının altında olduğundan tehlike arz etmediği düşünülmektedir ancak kronik düşük metal iyon salınımı hücresel metabolizmayı değiştirmekte, inflamasyon ve DNA hasarı oluşturabilmektedir (Hend, Essam, Faten, Wael, Emad, et al., 2011).

Marget Rosa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, ortodontide sıklıkla kullanılan ve çeşitli metalik birleşenler içeren facebow, molar bantları, braketler ve ark tellerinin sitotoksik incelemesi yapılmıştır. Seçilen ark tellerinden bazıları yaklaşık

%54 oranında nikel içermesine rağmen fare fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi olmadığı görülmüştür. Ancak bakır içeren çok birleşenli lehimli cihazlar (en yaygın kullanılan lehim alaşımı bakırdır) sitotoksik etki göstermiş ve bu sonuç bakırın nikelden daha fazla sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Çalışma sonucunda en fazla sitotoksik etkinin görüldüğü örneğin, en fazla miktarda metalin serbest bırakıldığı örnek olduğu sonucu doğrulanmıştır (Grimdottir, Hensten-Pettersen, Kullman 1992).

Costa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 2 farklı braket çeşitinin [(0.022 slot AISI 304 SS (Roth Light®), Morelli-Brazil ve 0.022 slot manganese SS (Nickel-free Monobloc®, Morelli-Brazil)] 21, 42, 63 gün sonunda korozyon direnci ve açığa çıkan korozyon ürünlerinin hücre kültürü üzerindeki sitotoksik etkileri; hücre canlılığı, hücre metabolizması, hücre poliferasyonu açısından değerlendirilmiştir. Korozyon ürünlerinin hücre kültürü üzerindeki sitotoksik etkilerini değerlendirmek için MTT testi kullanılmıştır. Braket ekstraktlarından hiçbirisi hücre canlılığını veya morfolojisini değiştirmesede, AISI 304 SS braket ekstraktlarının hücre metabolizmayı azalttığı görülmüştür. SS-braket ekstrakt hücrelerinde mitokondriyal metabolik aktivite değerlendirmesinde, 21 günlük sonuçlarda herhangi bir değişiklik gözlemlenmeyip, 63 günlük sonuçlara benzer şekilde, 42 günlük metabolik aktivitede de hafif bir azalma tespit edilmiştir. Düşük nikel SS-braket ekstratları, hücre metabolizmasında önemli değişikliklere yol açmamıştır. Işık mikroskobu altında, ekstrakt maruziyetinden sonra hücre kültürü, morfolojisinde herhangi bir değişiklik göstermemiş ve hücre canlılığı korunmuştur. En yüksek nikel konsantrasyonu, 42 günlük daldırma periyodundan sonra AISI 304 SS-braket ekstraktlarında ve 63 günlük daldırma periyodunda sonra düşük nikel SS-braket ekstraktlarında tespit edilmiştir. Tarama elektron mikroskobu altında, SS braket yüzeylerinde artan küçük düzensizliklere rastlanırken düşük nikel SS braketleri aynı gözlem süresinde herhangi bir düzensizlik göstermemiştir. AISI 304 SS-korozyon ekstreleri hücre metabolizmasında inhibasyona yol açmasına rağmen herhangi bir hücre ölümüne sebep olmamaktadır. Bu sonuçlar, korozyon ürünleri için ilk hedef olarak mitokondriyal metabolizmayı göstermekte ve hücre mitokondriyal metabolizmanın düşük nikel iyonu konsantrasyonundan etkilenebileceğini göstermektedir, ancak hücre ölümü için daha yüksek konsantrasyonlar gereklidir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, düşük nikel SS braketlerin AISI 304 SS braketlerden

daha yüksek in vitro biyouyumluluk sunduğunu göstermektedir (Costa, Lenza, Gosch, Costa, Ribeiro Dias 2007).

Sitotoksikite ölçümlerinde yedi farklı retainer teli karşılaştırılmalı olarak değerlendirildiğinde en yüksek sitotoksik etkiyi Stranded Retention Wire (Orthoclassic OC, Tokyo/JAPAN) teli göstermiştir. Bu telde diğer retainer telleri ile benzer içerikler bulunmasına rağmen, diğer tellerde bulunmayan niyobyum elementinin bu sitotoksik etkinin sebebi olabileceği düşünülebilir. Aliminyum elementi de diğer tellere göre yüksek düzeyde bulunması niyobyum elementi gibi sitotoksik etkiye sebep olarak gösterilebilir.

Çalışmamızda elde edilen veriler ışığında deneyde kullanılan retainer telleri arasında Retainium (Reliance Orthodontics Products, Itasca/USA) teli, diğer retainer tellerine göre daha fazla biyouyumluluk gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu retainer telinin içeriğine bakıldığından yüksek konsantrasyondan titanyum içermekte olduğu görülmüştür. Bu sonuç, titanyumun insan dişeti fibroblast hücreleri üzerinde anlamlı derecede sitotoksik etkisi bulunmadığını göstergesi olarak kabul edilebilir. Retantif girişimlerde Retainium telinin kullanılması biyouyumluluk açısından önerilmektedir.

Çalışmada kullanılan tellerde, tungsten, molibden, bakır, silikon, zirkon, manganez gibi elementlerin eser miktarda bulunmasının dişeti hücreleri üzerinde sitotoksik etkiyi anlamlı derecede etkilemediği gözlemlenmiştir

5.2. Sonuç

Ortodontide pekiştirme tedavisinde kullanılan yedi farklı retainer telinin sitotoksikitesinin insan gingival fibroblastları üzerinde, hücre kültürü yöntemi kullanılarak, MTT analizi ile değerlendirildiği bu tez çalışmasından şu sonuçlar elde edilmiştir:

Niyobyum %14.3; Aliminyum %7.15; Zirkonyum %6; Vanadyum %4.65; Demir %0.65; Oksijen %0.45; Karbon, Silisyum, Manganez, Kükürt, Bakır, Nikel, Krom, Molibden, Kalay, Magnezyum, Klor, Bor, Azot %0.1; Hidrojen %0.018; Titanyum içeriğine sahip olan, Z5 kodu ile numaralandırdığımız ‘Stranded Retention Wire’

retainer teli, 2,2050 değeri ile en sitotoksik etkiyi gösteren retainer teli olmuştur.

Diğer tellerin sitotoksik etkileri;

Flat Lingual Retainer Wire (0,3450)> Stainless Steel 6-Strand (0,4050)> Dead Soft Retention Wire (0,4350) > Strand Flat Lingual Wire (0,4450)> Bond A Braid (0,4700)> Retanium (0,6700) olarak sıralanmaktadır

Retainer tellerinin sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde, Xcelling analiz sistemi kullandığımızda ise şu sonuçlar elde edilmiştir:

Niyobyum %14.3; Aliminyum %7.15; Zirkonyum %6; Vanadyum %4.65; Demir %0.65; Oksijen %0.45; Karbon, Silisyum, Manganez, Kükürt, Bakır, Nikel, Krom, Molibden, Kalay, Magnezyum, Klor, Bor, Azot %0.1; Hidrojen %0.018; Titanyum içeriğine sahip olan, Z5 kodu ile numaralandırdığımız ‘Stranded Retention Wire’ retainer teli, 2,1172 değeri ile en sitotoksik etkiyi gösteren retainer teli olmuştur. Diğer tellerin sitotoksik etkileri;

Flat Lingual Retainer Wire (3,6676)> Stainless Steel 6-Strand (4,3873)> Retanium (4,4619)> Strand Flat Lingual Wire (4,5120)> Bond A Braid (5,5654)> Dead Soft Retention Wire (5,6681) olarak sıralanmaktadır

5.3. Öneriler

Bir materyalin hangi yolla toksik etkiye neden olduğunun tespiti için ve toksisite sunucu nekroz veya apoptozun hangi basamakta meydana geldiğini araştırmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Meydana gelen toksik etkinin hangi hücre ve mediatörü etkilediği ve kullanılan malzemeye bağlı olarak gelişen reaksiyonların hangi aşamada meydana geldiğinin tespit edilmesi yeni üretilecek materyallerde ideal malzemenin diş hekimlerine sunulması için öncü olacaktır. Retainer tellerinin ağız içinde gösterdikleri toksik etkilerin belirlenmesi için daha fazla örnek ve daha fazla süre ile uzun dönemi kapsayan ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

Al-Moghrabi, D., Johal, A., O'Rourke, N., Donos, N., Pandis, N., Gonzales-Marin, C., Fleming, P.S. (2018), Effects of fixed vs removable orthodontic retainers on stability and periodontal health: 4-year follow-up of a randomized controlled trial. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 154(2), 167-174.

Anand, V.S., Balasubramanian, V. (2014), Effect of resin chemistry on depth of cure and cytotoxicity of dental resin composites. *Materials Science and Engineering*, 181, 33-38.

Angle, E.H. (1907), Treatment of Malocclusion of the Teeth. 7th edition, Philadelphia: White Dental Manufacturing Company 217-254

Anusavice, K.J., Shen, C., Rawls, H.R. (2012), Phillips' Science of Dental Materials. 12 edition, Elsevier Health Sciences 176-212

Aranha, A.M., Giro, E.M., Souza, P.P., Hebling, J., Souza Costa, C.A. (2006), Effect of curing regime on the cytotoxicity of resin modified glass ionomer lining cements applied to an odontoblast cell line. *Dental Materials*, 22, 864-869.

Artun, J. (1984), Caries and periodontal reactions associated with long-term use of different types of bonded lingual retainers. *American Journal of Orthodontics*, 86 (2), 112-118.

Artun, J., Urbye, K.S. (1988), The effect of orthodontic treatment on periodontal bone support in patients with advanced loss of marginal periodontium. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 93, 143-148.

Atack, N., Harradine, N., Sandy, J. R., Ireland, A. J. (2007), Which way forward? Fixed or removable lower retainers. *Angle Orthod*, 77(6), 954- 959.

Aydıntuğ, Y.S. (2003), Hücre Kültürü ve diş hekimliğindeki uygulamaları, Doktora Semineri, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Bantleon, H.P., Droschl, H. (1988), A precise and time-saving method of setting up an indirectly bonded retainer. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 93(1), 78-82.

Baysal, A., Uysal, T., Gul, N., Alan, M.B., Ramoglu, S.I. (2012), Comparison of three different orthodontic wires for bonded lingual retainer fabrication. *Korean Journal of Orthodontics*, 42(1), 39-46.

Bearn, D. R., McCabe, J. F., Gordon, P. H., Aird, J. C. (1997), Bonded orthodontic retainers: The wire-composite interface. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 111(1), 67-74.

Bearn, D.R. (1995), Bonded orthodontic retainers: a review. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 108(2), 207-213.

Behrents, R.G., Harris, E.F., Vaden, J.L., Williams R.A., Kemp, D.H. (1989), Relapse of orthodontic treatment results: growth as an etiologic factor. *The Tweed Profil*, 17,65-80.

Bennett, C. J. (2006), Orthodontic Management of Uncrowded Class II Division One Malocclusion in Children. Philadelphia: St. Louis, Missouri: Elsevier Sciences

Bergman, M. (1986), Corrosion in the oral cavity-potential local and systemic effects, *International Dental Journal*, 36, 41-44.

Bergstrom, K., Jensen, R. (1961), Responsibility of the third molar for secondary crowding. *Dental Abstract*, 6:544-548

Bishara, S., Treadler, J.E., Damon, P., Olsen, M., (1996), Changes in the dental arches and dentition between 25 and 45 years of age. *Angle Orthodontics*, 6, 417-422.

Björk, A., Skieller, V. (1972), Facial development and tooth eruption. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 62(4), 339-383.

Block, R.W., Kerns, D.G., Regennitter, F.J., Kerns, L.L. (1998), The circumferential supracrestal fiberotomy. *General Dentistry*, 55:48-54.

- Boese, L.R. (1980), Fiberotomy and reproximation without lower retention, nine years in retrospect. *Angle Orthodontics*, 50(2), 88-97.
- Booth, F.A., Edelman, J.M., Proffit, W.R. (2008), Twenty-year follow-up of patients with permanently bonded mandibular canine-to-canine retainers. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 133(1), 70–6.
- Bouillaguet, S., Wataha, J.C., Lockwood, P.E., Galgano, C., Golay, A., Krejci, I. (2004), Cytotoxicity sealing properties of four classes of endodontic sealers evaluated by succinic laser scanning microscopy. *European Journal Oral Science*, 112, 182-186.
- Bovalı, E., Kılıarıdıs, S., Cornelis M.A. (2014), Indirect vs direct bonding of mandibular fixed retainers in orthodontic patients: a single-center randomized controlled trial comparing placement time and failure over a 6-month period. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 146(6), 701-718.
- Bural, C. (2006), Protez Kaide Polimerlerinde Monomerin Polimere Dönüşüm oranının İn Vitro Sitotoksiste İle İlişkisinin İncelenmesi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, (Danışman: Prof. Dr. Belkıs Gülsen Bayraktar) 36-38.
- Burke, S.P., Silveira, A.M., Goldsmith, L.J., Yancey, J.M., Stewart, A.V., Scarfe, W.C. (1988), A meta- analysis of mandibular intercanine width in treatment and postretention. *Angle Orthod*, 68(1), 53–60
- Camilleri, J., Montesin, F.E., Papaioannou, S., McDonald, F., Pitt Ford, T.R. (2004), Biocompatibility of two commercial forms of mineral trioxide aggregate. *International Endodontic Journal*, 37(10), 699-704.
- Campbell, P.M., Moore, J.W., Matthews, J.L. (1975), Orthodontically corrected midline diastemas: a histologic study and surgical procedure. *American Journal of Orthodontics*, 67, 139-158.
- Campbell, S.D. (2003), Biological compatibility of prosthodontic materials, *International Journal of Prosthodont*, 16, 52-70.

- Cao, T., Saw T.Y., Heng, B., Liu, H. and Yap, A.U.J. (2005), Comparison of different test models for the assesment of cytotoxicity of composite resins. *Journal of Applied Toxicology*, 25,101-108.
- Chang, Y.C., Huang, F.M., Cheng, M.H., Chou, L.S.S, Chou, M.Y. (1998), In vitro evaluation of the cytotoxicity and genotoxicity of root canal medicines on human pulp fibroblasts. *Journal of Endodontics*, 24, 604-606
- Collet, T. (1998), A rationale for removable retainers. *Journal of Clinical Orthodontics*, 32(11), 667–669.
- Corti, A.F. (1991), An indirect bonded lingual retainer. *Journal of Clinical Orthodontics*, 25(10), 631-632.
- Costa, M.T., Lenza, M.A., Gosch, C.S., Costa, I., Ribeiro-Dias, F. (2007), In vitro Evaluation of Corrosion and Cytotoxicity of Orthodontic Brackets. *Biomaterials&Bioengineering*, 86 (5), 441-445
- Craig, R. (1997), Prosthetic Applications of Polymers. St Louis: Mosby Yearbook Inc.
- Dahl, E.H., Zachrisson, B.U. (1991), Long-term experience with direct-bonded lingual retainers. *Journal of Clinical Orthodontics*, 25, 619-30.
- Davis, J.M. (1996), Basic Cell Culture. 2 nd edition, Chapter 12, 13, New York: Oxford University Press.
- Degirmenci, Z. ve Ozsoy, O. P. (2009), Sabit ortodontik tedavi sonrası retansiyon. *Cumhuriyet Dental Journal*, 12(1), 83-90.
- Dekker, A. (1994), Quantitative methods for in vitro cytotoxicity testing of biomaterials. *Cells Materials*, 4,101.
- Denizot, F., Lang, R. (1986), Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *Journal of Immunological Methods*, 89, 271-277.
- Dewey, M. (1909), Some principles of retention. *Am Dent* 1(8), 254
- Dewey, M. (1920), Practical orthodontia. 4 th edition, St Louis: Mosby Company

Dietrich, P., Patcas, R., Pandis, N., Eliades, T. (2014), Long-term follow-up of maxillary fixed retention: survival rate and periodontal health. *European Journal of Orthodontics*, 1–6

Edgerton, M., Levine, M.J. (1993), Biocompatibility: its future in prosthodontic research. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 69, 406-415.

Edwards, J.G. (1968), A study of the periodontium during orthodontic rotation of teeth. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 54(6), 441-461.

Edwards, J.G. (1970), A surgical procedure to eliminate rotational relapse. *American Journal of Orthodontics*, 57:35-46.

Edwards, J.G. (1977), The diastema, the frenum, the frenectomy: A clinical study. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 71(5), 489–507.

Egli, F., Bovali, E., Kiliaridis, S., Cornelis, M.A. (2017), Indirect vs direct bonding of mandibular fixed retainers in orthodontic patients: Comparison of retainer failures and posttreatment stability. A 2-year follow-up of a single-center randomized controlled trial. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 151(1), 15–27.

Ferguson, J.W. (1988), Multistrand wire retainers: an indirect technique. *British Journal of Orthodontics*, 15(1), 51-54.

Fors, R., Persson, M., (2006), Nickel in dental plaque and saliva in patients with and without orthodontic appliances. *European Journal of Orthodontics* 28:292–297.

Fränkel, R. ve Fränkel, C. (1989), Orofacial orthopedics with the function regülatör. Basel: Karger 69-72

Freshney, R.I. (1987), Culture of animal cells: A manual of basic technique, Chapter 3,4, London: Quintessence Publishing

Geoghegan, F., Birjandi, A.A., Xavier, G.M., Dibiasi, A.T. (2019), Motivation, expectations and understanding of patients and their parents seeking

orthodontic treatment in specialist practice. *Journal of Orthodontics*, 46(1), 46–50.

Gorelick, L., Geiger, A. M., Gwinnett, A. J. (1982), Incidence of white spot formation after bonding and banding. *American Journal of Orthodontics*, 81, 92–98.

Graber, T.M., Lee, W., Vanarsdall, R.L., Vig K. (2012), Stability, retention, and relapse. In: *Orthodontics Current Principle and Techniques*. 5th edition, St. Louis, Missouri: Elsevier Health Sciences 1-27.

Graber, T.M., Vanarsdall, R.L. (2000), *Orthodontics current principles and techniques*. 3 rd edition. St. Louis: Mosby Company, 1075.

Grieve, G. W. (1944), The stability of the treated denture. *American Journal Orthodontics and Oral Surgery*, 30(4), 171-195.

Grimsdottir, M.R., Hensten-Pettersen, A., Kullmann, A. (1992), Cytotoxic effect of orthodontic appliances. *European Journal of Orthodontic*, 14, 47-53

Günay, F. (2017), İki Farklı Lingual Retainer Uygulamasının Klinik Etkinliğinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Samsun, 96 (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Abdullah Alper Öz)

Hanks, C. T., Wataha, J.C., Sun, Z. (1996), In vitro models of biocompatibility: A review. *Dental Materials*, 12, 186-193.

Hawley, C. A. (1919), A removable retainer. *American Journal Orthodontics and Oral Surgery*, 5(6), 291-305.

Hegde, N., Vinay, P., Handa, A. (2011), Bonded retainers in Orthodontics: A review. *International Journal of Clinical Dentistry*, 3(3):53–4.

Heier, E. E., De Smit, A., Wijgaerts, I. A. ve Adriaens, P. A. (1997), Periodontal implications of bonded versus removable retainers. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 112(6), 607-616.

Heiser, W., Niederwanger, A., Bancher, B., Bittermann, G., Neunteufel, N., Kulmer, S. (2004), Three-dimensional dental arch and palatal form changes

after extraction and nonextraction treatment. Part 1 Arch length and area. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 126(1), 71-81.

Hellman, M. (1944), Fundamental principles and expedient compromises in orthodontic procedures. *American Journal Orthodontics and Oral Surgery*, 30(8), 429-436.

Hend, S.H., Essam M. N. S., Faten H. K. E., Wael A.T., Emad A. A., Yehya A.M. (2011), Cytotoxicity, genotoxicity, and metal release in patients with fixed orthodontic appliances: A longitudinal in-vivo study. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 140, 298-308

Hensten-Pettersen, A. (1998), Skin and mucosal reactions associated with dental materials. *European Journal of Oral Sciences*, 106, 707-712.

Horowitz, S.L., Hixon, E.H. (1969), Physiologic recovery following orthodontic treatment. *American Journal of Orthodontics*, 55(1):1-4.

Iliadi, A., Kloukos, D., Gkantidis N., Katsaros, C., Pandis, N. (2015), Failure of fixed orthodontic retainers: A systematic review. *Journal of Dentistry*, 43(8), 876-96.

International Organization for Standardization (ISO) 10993-5: (1992), Biological Evaluation of Medical Devices. Part 5: Test For in Vitro Cytotoxicity.

International Organization for Standardization (ISO) 7405: (1996), Preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry. Test methods for dental materials.

Issa, Y., Watts, D.C., Brunton, P.A., Waters, C.M., Duxburry, A.J. (2004), Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dental Materials*, 20, 12-20.

İlbars, N. (1997), Yeni Nesil Metal Desteksiz Seramikler ve Yapıştırılmasında Kullanılan Rezin Simanların Biyouyumluluğunun Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (Danışman: Doç. Dr. Mehmet Dalkız) 11, 14, 24-38.

- Jackson, V. H. (1904), *Orthodontia and orthopaedia of the face*. Philadelphia: JB Lippincott. 540-578
- Jäderberg, S., Feldmann, I., Engström, C. (2012), Removable thermoplastic appliances as orthodontic retainers-A prospective study of different wear regimens. *European Journal Orthodontics*, 34(4), 475–479.
- Jarabak, J.R. (1965), *Management of an orthodontic practice*. St. Louis: Mosby Company, s.150-181.
- Jenkins, N. (1999), *Animal Cell Biotechnology Methods and Protocols*. New Jersey: Bioprocess research and Development Eli Lilly&Co, Human Press., 139-156, 248-250
- John, C., Bennett, Richard, P., McLaughlin (2014), *Fundamentals of Orthodontic Treatment Mechanics*. Retention, Relaps and Post Treatment Change (Chapter 14), 266-276
- Johnston, C.D., Littlewood, S.J. (2015), Retention in orthodontics. *British Dental Journal*, 218(3), 119– 122.
- Joondeph, D.R. (1966), Stability, Retention and relapse. In: *Orthodontics Current Principles and Techniques*, 5 th edition, T.M. Graber and R.L. Vanarsdall, Jr., Mosby, St. Louis, (eds) (2012), St. Louis: Mosby Company, 985-1012.
- Kaan, M., Madléna, M. (2011), Retention and relapse. *Review of the literature*, 104 (4):139
- Kahl-Nieke, B. (1996), Retention and stability considerations for adult patients. *Dental Clinics of North America*, 40(4), 961-994.
- Kahl-Nieke, B., Fischbach, H., Schwarze, C. (1995), Post-retention crowding and incisor irregularity: A long-term follow-up evaluation of stability and relapse. *British Journal Orthodontics*, 22:249- 257.
- Kaplan, H. (1988), The logic of modern retention procedures. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 93(4), 325-340.

Karaman, A.I., Polat, Ö., Büyükyılmaz, T. A, (2003), Practical metot of fabricating a lingual retainer. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 124(3), 327–30.

Karaman, AI., Kir, N., Belli, S. (2002), Four applications of reinforced polyethylene fiber material in orthodontic practice. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 121, 650-4.

Keiser, K., Johnson, C. C., Tipton, D. A. (2000), Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *Journal of Endodontics*, 26, 288- 291.

Keim, R.G., Gottlieb, E.L., Nelson, A.H., Vogels, D.S. (2008), JCO study of orthodontic diagnosis and treatment procedures, results and trends. *Journal of Clinical Orthodontics*, 42, 625-40.

Kesling, H. D. (1945), The philosophy of the tooth positioning appliance. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 31(6), 297-304.

Kingsley, N. W. (1880), A Treatise on Oral Deformities as a Branch of Mechanical Surgery. New York: D. Appleton & Company, 1001-1023

Kneirim, R.W. (1973), Invisible lower cuspid to cuspid retainer. *Angle Orthodontics*, 43, 218-9.

La Boda, M., Sheridan, J., Weiburg, R., (1995) The feasibility of open bite whit an Essix retainer. (Posdoctoral research), Florida: LSU Department of Orthodontics

Lee, D.H., Lim, B.S., Lee, Y.K., Ahn, S.J., Yang, H.C. (2006), Involvement of oxidative stress in mutagenicity and apoptosis caused by dental resin monomers in cell cultures. *Dental Materials*, 22, 1086-92.

Lee, J.S., Ihm, J.A., Ahn, S.J. (2004), Time-saving fixed lingual retainer using Duralay resin transfer. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 125, 203-5.

Lee, R.T. (1981), The lower incisor bonded retainer in clinical practice: a three year study. *British Journal Orthodontics*, 8(1), 15–8.

- Levin, L., Samorodnitzky-Naveh, G.R., Machtei, E.E. (2008), The association of orthodontic treatment and fixed retainers with gingival health. *Journal of Periodontology*, 79(11), 2087– 2092.
- Limame, R., Wouters, A., Pauwels, B., Fransen, E., Peeters, M., Lardon, F., De Wever, O., Pauwels, P. (2012), Comparative analysis of dynamic cell viability, migration and invasion assessments by novel real-time technology and classic endpoint assays. *Plos One*, 7(10).
- Lindauer, S.J., Shoff, R.C., (1998), Comparison of Essix and Hawley retainers. *Journal of Clinical Orthodontics*, 32, 95-7.
- Lindqvist, B., Thilander, B. (1982), Extraction of third molars in cases of anticipated crowding in the lower jaw. *American Journal of Orthodontics*, 81(2), 130-139.
- Liou, E.J.W., Chen, L.I.J., Huang, C.S. (2001), Nickel-titanium mandibular bonded lingual 3-3 retainer: for permanent retention and solving relapse of mandibular anterior crowding. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 119(4), 443–9.
- Lischer, B. E. (1912), Principles and Methods of Orthodontics: An introductory study of the art for students and practitioners of dentistry. Philadelphia: Lea & Febiger Company.
- Little, R.M., Riedel, R.A., Artun, J. (1988), An evaluation of changes in mandibular anterior alignment from 10 to 20 years postretention. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 93(5), 423- 428.
- Littlewood, S. J., Millett, D. T., Doubleday, B., Bearn, D. R., Worthington, H. V. (2006), Orthodontic retention: a systematic review. *Journal of Orthodontics*, 33(3), 205-212.
- Lu, Y., Chen, W., Ke, W., Wu, S. (2009), Nickel-based (Ni–Cr and Ni–Cr–Be) alloys used in dental restorations may be a potential cause for immune-mediated hypersensitivity. *Medical Hypotheses*, 75(5): 716–717

- Lundström, A. (1925), Malocclusion of the teeth regarded as a problem in connection with the apical base. *International Journal of Orthodontia Oral Surgery and Radiography*, 11(9), 793-812.
- Luther, F., Nelson-Moon, Z. (2013), Orthodontic Retainers and Removable Appliances: Principles of design and use. Blackwell: Willey
- McCauley, D.R. (1944), The cuspid and its function in retention. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 30(4), 196–205
- McNally, M., Mullin, M., Dhopatkar, A., Rock, W.P. (2003), Orthodontic retention: why when and how?. *Dent Update Publication*, 30(8), 446–452.
- Melrose, C., Millett, D.T. (1998), Toward a perspective on orthodontic retention. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 113(5), 507-514.
- Milheiro, A., Kleverlaan, C., Muris, J., Feilzer, A., Pallav, P. (2012), Nickel release from orthodontic retention wires- The action of mechanical loading and pH. *Dental Materials*, 28,548-553
- Moss, J. (1980), The soft tissue environment of teeth and jaws. Experimental malocclusion, *British Journal of Orthodontics*, 7(4), 205-216.
- Mossman, T. (1983), Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63
- Moyers, R.E. (1973), Handbook of orthodontics for the student and general practitioner. 3 rd Edition, Chicago: Year Book
- Murray, P.E., García Godoy, C., García Godoy, F. (2007), How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated?. *Medicina Oral, Patologia Oral, Cirugia Bucal*, 12(3), 258-266.
- Nance, H. N. (1947), The limitations of orthodontic treatment; diagnosis and treatment in the permanent dentition. *American Journal of Orthodontics*, 33(5), 253-301.

- Nanda, R.S., Nanda, S.K. (1992), Considerations of dentofacial growth in longterm retention and stability: is active retention needed?. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 101(4): 297-302.
- Newman, G.V. (1965), Epoxy adhesives for orthodontic attachments: progress report. *American Journal of Orthodontics*, 51, 901-12.
- Noble, J., Ahing, S.I., Karaiskos, N.E., Wiltshire, W.A. (2008), Nickel allergy and orthodontics, a review and report of two cases. *British Dental Journal*, 204, 297–300.
- O'Rourke, N., Albeedh, H., Sharma, P., Johan, A. (2016), Effectiveness of bonded and vacuum formed retainers: A prospective randomized controlled clinical trial. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 150(3), 406–415.
- Osorio, R. M., Hefti, A., Vertucci, F.J., Shawley, A.L. (1998), Cytotoxicity of Endodontic Materials. *Journal of Endodontics*, 24, 91-96
- Pandis, N., Fleming, P.S., Kloukos, D., Polychronopoulou, A., Katsaros, C., Eliades, T. (2013), Survival of bonded lingual retainers with chemical or photo polymerization over a 2-year period: a single-center, randomized controlled clinical trial. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 144(2), 169-175.
- Pandis, N., Vlahopoulos, K., Madianos, P., Eliades, T. (2007), Long-term periodontal status of patients with mandibular lingual fixed retention. *European Journal Orthodontics*, 29, 471-6.
- Parker, W.S. (1989), Retention- Retainers may be forever. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 95, 505-13.
- Parshan, K.M., Jain, K.R.A. (2014), Review on flexible spiral wire retainer. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 13, 24-6.
- Paşaoğlu, A., Aras, I., Mert, A., Aras, A. (2016), Survey on Retention Protocols Among Turkish Orthodontists. *Turkish Journal Orthodontics*, 29, 51–8.

- Pazera, P., Fudalej, P., Katsaros, C. (2012), Severe complication of a bonded mandibular lingual retainer. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 142, 406-9.
- Perkün F. (1973), Çene Ortopedisi. İstanbul: Ar Basım Yayım Evi
- Pizzoferrato, A., Ciapetti, G., Stea, S., Cenni, E., Arciola, C.R., Granchi, D. (1994), Cell culture methods for testing biocompatibility, *Clinical Materials*, 15, 173-190.
- Powers, J.M., Sakaguchi, R.L. (2006), Craig's Restorative Dental Materials. 12th edition, St. Louis: Mosby Elsevier 97-125.
- Pratt, M.C., Kluemper, G.T., Hartsfield, J.K., Jr Fardo, D., Nash, D.A. (2011), Evaluation of retention protocols among members of the american association of orthodontists in the united states. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 140(4), 520-526.
- Proffit, W. (1972), Lingual pressure patterns in the transition from tongue thrust to adult swallowing. *Archives of Oral Biology*, 17(3), 555-563.
- Proffit, W.R., Fields, H.W., Sarver, D. M. (2013), Contemporary Orthodontics. 5th edition, St. Louis, Missouri: Elsevier Sciences, 606-620
- Putzeys, E., De Nys, S., Cokic, S.M., Duca, R.C., Vanoirbeek, J., Godderis, L., Van Meerbeek, B., Van Landuyt, K.L. (2019), Long-term elution of monomers from resin-based dental composites. *Dental Materials* 35(3). 477-485
- Reitan, K. (1959), Tissue rearrangement during the retention of orthodontically rotated teeth. *Angle Orthodontist*, 29, 105-113.
- Reitan, K. (1960), Tissue behavior during orthodontic tooth movement. *American Journal Orthodontics*, 46(12), 881–900.
- Reitan, K. (1967), Clinical and histologic observations on tooth movement during and after orthodontic treatment. *American Journal Orthodontics*, 53(10), 721-745.
- Reitan, K. (1969), Principles of retention and avoidance of posttreatment relapse. *American Journal Orthodontics*, 55(6), 776-790.

- Renkema, A.M., Al-Assad, S., Bronkhorst, E., Weindel, S. (2008), Effectiveness of lingual retainers bonded to the canines in preventing mandibular incisor relapse. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 134, 179-80.
- Renkema, A.M., Renkema, A., Bronkhorst, E., Katsaros, C. (2011), Long-term effectiveness of canine-to-canine bonded flexible spiral wire lingual retainers. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 139(5), 614–621
- Renkema, A.M., Sips, E.T., Bronkhorst, E., Kuijpers-Jagtman, A.M. (2019), A survey on orthodontic retention procedures in The Netherlands. *European Journal of Orthodontics*, 31, 432-7
- Riedel, R.A. (1960), A review of the retention problem. *Angle Orthodontics*, 30(4), 179–194.
- Rinchuse, D.J., Miles, P.G., Sheridan, J.J. (2007), Orthodontic retention and stability: A clinical perspective. *Journal of Clinical Orthodontics*, 41(3), 125-132.
- Roche Diagnostics GmbH.: (2008), Introduction of the RTCA SP Instrument. RTCA SP Instrument Operator's Manual, A. Acea Biosciences, 14–16.
- Rodriguez, E., Casasa, R., Rocha, A., Del Pozo, E., Natera, A., Coutifio, C., Mozqueda, J.L., Villanueva, H. (2007), Retention in Orthodontics. In: 1001 Tips for Orthodontics and its Secrets. Yanez, E.E.R., White, L., Araujo, R.C., Galuffo, A.M.G., Yanez, S.E.R. (Eds), 1th edition, Spain: Amolca Company, 312-349
- Rogers, A. P. (1922), Making facial muscles our allies in treatment and retention. *The Dental Cosmos*, 64, 711-730.
- Rose, E., Frucht, S., Jonas, I.E. (2002), Clinical comparison of a multistranded wire and a direct bonded polyethylene ribbon reinforced resin composite used for lingual retention. *Quintessence International*, 33(8).
- Rossouw, P. E., Tortorella, A. (2003), Enamel reduction procedures in orthodontic treatment. *Journal Canadian Dental Association*, 69(6), 378-383.

Rossouw, P.E., Joseph, V.P. (1992), Indirect Fabrication of a Bonded Lower Lingual Retainer. *Journal of Clinical Orthodontics*, 26, 413-15.

Rossouw, P.E., Malik, S. (2017), The retention protocol. (Seminars in Orthodontics) 23(2), 237–248.

Sadowsky, C., Schneider, B.J., Begole, E.A., Tahir, E. (1994), Long-term stability alter orthodontic treatment: Nonextraction with prolonged retention. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 106(3), 243-249.

Sakaguchi, R.L. (2006), Craig's Restorative Dental Materials. 14 th edition, St. Louis, Missouri: Elsevier Health Sciences

Sakuda, M., Kuroda, Y., Wanda, K., Matsumoto, M. (1976), Changes in crowding of teeth during adolescence and their relation to the growth of the facial skeleton. *European Orthodontics Society*, 93-104.

Schmalz, G. (1982), Biomaterials: A cell culture method for the screening the biocompatibility of dental materials. New York: John Wiley and Sons LTD, 321-6.

Schmalz, G. (1988) The agar overlay method. *International Endodontic Journal*, 21, 59-66.

Schmalz, G. (1994), Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials advantages and limitations. *Journal of Dentistry*, 22, 6-11.

Schmalz, G. (1997), Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clinical Oral Investigations*, 1, 154–162.

Schmalz, G. (1998), The biocompatibility of non amalgam dental filling materials. *European Journal Oral Sciences*, 106, 696-706.

Schmalz, G., Schuster, U., Thonemann, B., Barth, M., Esterbauer, S. (2001), Dentin barrier test with transfected bovine pulp derived cells. *Journal of Endodontics*, 27, 96-102.

Schulz, S.D., Ruppell, C., Tomakidi, P., Steinberg, T., Reichl, F.X., Hellwig, E., Polydorou, O. (2015), Gene expression analysis of conventional and

interactive human gingival cell systems exposed to dental composites. *Dental Materials*, 31(11), 1321-1334.

Schütz-Fransson, U., Lindsten, R., Bjerklin, K., Bondemark, L. (2017), Twelve-year follow-up of mandibular incisor stability: Comparison between two bonded lingual orthodontic retainers. *Angle Orthodontics*, 87(2), 200-208.

Senawongse, P., Pongprueksa, P. (2007), Surface roughness of nanofill and nanohybrid resin composites after polishing and brushing. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 19, 265-73.

Sharpe, W., Reed, B., Subtelny, J.D., Polson, A. (1987), Orthodontic relapse, apical root resorption and crestal alveolar bone levels. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 91(3), 252-258.

Shenaman, J.R. (1968), Third molar teeth and their effect upon the lower anterior teeth: a survey of forty nine orthodontic cases five years after band removal. *American Journal of Orthodontics*, 5(2), 196-198.

Sheridan, J. J., McMinn, R., LeDoux, W. (1995), Essix thermosealed appliances: various orthodontic uses. *Journal of Clinical Orthodontics*, 29(2), 108.

Sheridan, J.J. (1991), The three keys of retention. *Journal of Clinical Orthodontics*, 25, 717-8.

Sheridan, J.J., Gaylord, R.E., Hamula, W., Hickham, J.H., Kokich, V.G., Tuverson, D.L. (1992) Finishing and Retention. *Journal of Clinical Orthodontics*, 26, 551-564.

Singh, P., Grammati, S., Kirschen, R. (2009), Orthodontic retention patterns in the United Kingdom. *Journal of Clinical Orthodontics*, 36, 115-21.

Sobouti, F., Rakhshan, V., Saravi, M.G., Zamanian, A., Shariati, M. (2016), Two year survival analysis of twisted wire fixed retainer versus spiral wire and fiber-reinforced composite retainers: a preliminary explorative single-blind randomized clinical trial. *The Korean Journal of Orthodontics*, 46(2), 104-110.

Southard, T. E., Southard, K. A., Tolley, E. A. (1992), Periodontal force: a potential cause of relapse. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 101(3), 221-227.

Southard, T.E., Southard, K.A., Weeda, L.W. (1991), Mesial force from unerupted third molars. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 99, 220-5.

Steadman, S.R. (1961), Changes of intermolar and intercuspid distances following orthodontic treatment. *Angle Orthodontics*, 31(4), 207–215.

Steinnes, J., Johnsen, G., Kerosuo, H. (2017), Stability of orthodontic treatment outcome in relation to retention status: An 8-year follow-up. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 151(6), 1027–1033.

Störmann, I., Ehmer, U. (2002), A prospective randomized study of different retainer types. *Journal of Orofacial Orthopedics*, 63, 42-50

Strang, R.H.W. (1946), Factors of influence in producing a stable result in treatment of malocclusions. *American Journal of Orthodontics*, 32, 313

Strang, R.H.W. (1949), The Fallacy of Denture Expansion As a Treatment Procedure. *Angle Orthodontics*, 19(1), 12-22

Sullivan, T.C., Turpin, D. L., Artun, J. A. (1996), Postretention study of patients presenting with a maxillary median diastema. *Angle Orthodontics*, 66(2), 131-8.

Surbeck, B.T., Artun, J., Hawkins, N.R. (1998), Associations between initial, posttreatment, and postretention alignment of maxillary anterior teeth. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 113:186

Süsgün, Z., Pınar, E., Bakır Ş., Salih, M. (2017), Diş Hekimliğinde Biyouyumluluk ve Değerlendirme Yöntemleri. *Selcuk Dental Journal*, 4, 162-169.

Tacken, M.P.E., Cosyn, J., De Wilde, P., Aerts, J., Govaerts, E., Vannet, Vande. (2010), Glass fibre reinforced versus multistranded bonded orthodontic retainers: a 2 year prospective multi-centre study. *European Journal of Orthodontics*, 32(2), 117–23.

Tateishi, T. (1992), Round-robin test for standardisation of biocompatibility test procedure by cell culture method. *Biomaterials*, 10,89.

Telli, A., Serper, A., Dogan, A.L., Guc, D. (1999), Evaluation of the cytotoxicity of calcium phosphate root canal sealers by MTT assay. *Journal of Endodontics*, 25, 811-813

Thilander, B. (2000), Biological basis for orthodontic relapse. *Seminars in Orthodontics*, 6, 195-205.

Thonemann, B., Schmalz, G., Hiller, K., Schweikl, H. (2002), Responses of L929 mouse fibroblasts, primary and immortalized bovine dental papilla-derived cell lines to dental resin components. *Dental Materials*, 18,18-23.

Thüer, U., Ingervall, B. (1986), Pressure from the lips on the teeth and malocclusion. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 90(3), 234-242.

Tuncer, S., Demirci, M. (2011), Dental materyallerde biyouyumluluk değerlendirmeleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 21, 141-9.

Tunçel, A. (2005), Sabit Protetik Restorasyonlarda Kullanılan Farklı Fiberle Güçlendirilmiş Kompozit Yapıların Yüzey Sertliği, Yüzey Pürüzlülüğü ve Sitotoksisitelerinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi, Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas, (Danışman: Doç. Dr. Ali Kemal Özdemir) 34-41.

Turhan Bal, B., Ayhan Sönmez, N., Bavbek, B. ve Akçaboy, C. (2008), Farklı Kompozit Materyallerinin Sitotoksisitelerinin İki Farklı Hücre Kültürü Test Yöntemiyle Değerlendirilmesi. *Ankara Diş Hekimleri Odası Klinik Bilimler Dergisi*, 2,98-103.

Tweed, C. H. (1944), Indications for the extraction of teeth in orthodontic procedure. *American Journal of Orthodontics and Oral Surgery*, 30(8), 405-428.

Tweed, C. H. (1952), Why I extract teeth in the treatment of certain types of malocclusion. *Alpha Omegan*, 46, 93-104.

Ülgen, M. (1999), Ortodontik Tedavi Prensipleri. 5. baskı, Ankara: Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yayınları 512-527

Ülgen, M. (2005), Ortodontik Tedavi Prensipleri. 7.baskı, Ankara: Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yayınları 40-44

Vaden, J.L., Harris, E.F., Gardner, R.L.Z. (1997), Relapse revisited. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 111(5), 543- 553.

Van Leeuwen, E. J., Maltha, J. C., Kuijpers-Jagtman, A. M., Van't Hof, M. A. (2003), The effect of retention on orthodontic relapse after the use of small continuous or discontinuous forces. An experimental study in beagle dogs. *European Journal of Oral Sciences*, 111(2), 111-116.

Wataha, J.C. (2001) Principles of Biocompatibility for Dental Practitioners. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 86, 203-209.

Wataha, J.C., Craig, R.G., Hanks, C.T. (1992), Precision of and new methods for testing in vitro alloy cytotoxicity. *Dental Materials*, 8,65-70.

Wataha, J.C., Rueggeberg, F.A., Lapp, C.A., Lewis, J.B., Lockwood, P.E., Ergle, J.W. (1999), In vitro cytotoxicity of resin-containing restorative materials after aging in artificial saliva, *Clinical Oral Investigations*, 3,144-149.

Watted, N., Wieber, M., Teuscher, T., Schmitz, N. (2001), Comparison of incisor mobility after insertion of canine-to-canine lingual retainers bonded to two or to six teeth: A clinical study. *Journal of Orofacial Orthopedics*, 62, 387-96.

Westerlund, A., Daxberg, E.L., Liljegren, A., Oikonomou, C., Ransjo, M., Samuelsson, O. (2014), Stability and side effects of orthodontic retainers: a systematic review. *Dentistry*, 4 (9), 258.

Wong, P., Freer, T.J. (2005), Patients' attitudes towards compliance with retainer wear. *Australasian Orthodontic Journal*, 21(1), 45-53.

Wong, P.M., Freer, T.J. (2004), A comprehensive survey of retention procedures in Australia and New Zealand. *Australasian Orthodontic Journal*, 20, 99-106.

Xing, J.Z., Zhu, L., Gabos, S., Xie, L. (2006), Microelectronic cell sensor assay for detection of cytotoxicity and prediction of acute toxicity. *Toxicol In Vitro*, 20, 995-1004.

Xing, J.Z., Zhu, L., Jackson, J.A., Gabos, S., Sun, X.B., Wang, X. (2005), Dynamic monitoring on microelectronic sensors. *Chemical Research in Toxicology*, 18:154-61

Yıldırım, Z.S., Bakır, E.P., Bakır, Ş., Aydın, M.S. (2017), Diş hekimliğinde biyouyumluluk ve değerlendirme yöntemleri. *Selcuk Dental Journal*, 4(3), 162-9.

Zachrisson, B.U. (1977), Clinical experience with direct-bonded orthodontic retainers. *American Journal of Orthodontics*, 71(4), 440-8.

Zachrisson, B.U. (1978), Improving orthodontic results in cases with maxillary incisors missing. *American Journal of Orthodontics*, 73,274-89.

Zachrisson, B.U. (1983), The bonded lingual retainer and multiple spacing of anterior teeth. *Journal of Clinical Orthodontics*, 17, 838-44.

Zachrisson, B.U. (1995), Third-generation mandibular bonded lingual 3-3 retainer. *Journal of Clinical Orthodontics*, 29, 39-48.

Zachrisson, B.U. (2007), Long-term experiences with direct-bonded retainers: update and clinical advice. *Journal of Clinical Orthodontics*, 41, 728-37.

Zachrisson, B.U. (2015), Multistranded wire bonded retainers: From start to success, *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 148, 724-7

Zachrisson, B.U. (2017), Bonding in orthodontics. In: Current Principles and Techniques. Graber, Lee W., Vanarsdall, Robert L., Vig, Katherine W. L., Huang, Greg J. (eds.) St. Louis, Missouri: Elsevier Company, s: 981-997.

Zachrisson, B.U., Nyøygard, L., Mobarak, K. (2007), Dental health assessed more than 10 years after interproximal enamel reduction of mandibular anterior teeth. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 131(2), 162-169.

Zachrisson, B.U. (1975), The acid etch technique in orthodontics: clinical studies. In: Proceedings of an International Symposium on the Acid Etch Technique. Silverstone, L.M., Dogon, L., (eds), (1974), St Moritz, Switzerland, St Paul, Minn: North Central Publishing, 265-75.



7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Zübeyde BÖLÜKBAŞI

Doğum Tarihi ve Yeri :

Öğrenim Durumu : Üniversite

<u>Derece</u>	<u>Okul Adı ve Bölümü</u>	<u>Mezuniyet Yılı</u>
Yüksek Lisans		

İş Deneyimi:

<u>Unvan</u>	<u>Görev Yeri</u>	<u>Yıl</u>
--------------	-------------------	------------

Yayınları:

Ödülleri:

8. İNTAHAL RAPORU

ORTODONTİDE PEKİŞTİRME TEDAVİSİNDE KULLANILAN RETAINER TELLERİNİN SİTOTOKSİSİTESİNİN İN VİTRO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%6	%6	%1	%1
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	openaccess.bezmialem.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
2	dspace.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
3	acikerisim.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
4	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%1
5	dspace.baskent.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
6	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	<%1
7	dfd.atauni.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	Submitted to Cumhuriyet University Öğrenci Ödevi	<%1