

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

ÜÇ FARKLI DUAL CURE SELF ADEZİV REZİN
SİMANIN IŞIKLA VEYA KENDİLİĞİNDEN
POLİMERİZASYONUN HÜCRE CANLILIĞI ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Ahmet Tolga DENİZ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ulviye Şebnem BÜYÜKKAPLAN

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2020-5184 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

2021-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı Protetik Diş Tedavisi Doktora Programında doktora tezi olarak kabul edilmiştir. 22/12/2021

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. U. Şebnem BÜYÜKKAPLAN
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. M. Üstün GÜLDAĞ
Beykent Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Funda BAYINDIR
Atatürk Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. M. Mustafa ÖZARSLAN
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Özlem DAL TABAN
Akdeniz Üniversitesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun / / tarih ve / sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Melike CENGİZ
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Öğrenci

Dt. Ahmet Tolga DENİZ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Ulviye Şebnem BÜYÜKKAPLAN

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, ışıkla veya kendiliğinden polimerize edilen üç farklı dual kür self adeziv rezin simanın L929 hücreleri üzerindeki potansiyel sitotoksik etkisinin *in vitro* koşullarda 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (MTT) testi ile değerlendirilmesi amaçlandı.

Yöntem: Üç farklı dual kür self adeziv rezin siman [Theracem (Bisco Inc., ABD), Speedcem Plus (Ivoclar Vivadent AG, Liechtenstein) ve Calibra Universal (Dentsply Sirona, ABD)] 5 mm çap ve 2 mm kalınlıkta boşluklar içeren teflon kalıplar içerisinde üretici firma talimatlarına uygun olarak LED ışık kaynağı ile veya kendiliğinden aktivasyon yoluyla polimerize edildi. Örnekler Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) besiyeri içinde 48 saat süreyle inkübe edilerek örnek özütleri elde edildi. Özütün %100 konsantrasyonu seyreltilerek %66,7, %44,4, %29,6 ve %19,8 konsantrasyonda özütler hazırlandı. Örnek özütleri 96 kuyucuklu plakalarda L929 [Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (ATCC), ABD] fare fibroblast hücreleri ile 37°C ve %5 CO₂ koşulları altında 24, 48 ve 72 saat süreyle inkübe edildi. İnkubasyon sonunda materyallerin hücre canlılığına etkileri MTT testi ile değerlendirildi. Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 25.0 (SPSS Inc., ABD) analiz programı kullanıldı.

Bulgular: Test edilen tüm siman örnekleri hücre canlılığın önemli ölçüde azalttı. Test edilen tüm örneklerde konsantrasyon ve inkubasyon süresi arttıkça hücre canlılık oranı azaldı. Konsantrasyon ve inkubasyon süresinden bağımsız olarak ışıkla polimerize edilen Speedcem Plus en az sitotoksosite gösterirken bunu Theracem izledi. Bununla birlikte kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal hücre canlılığını önemli ölçüde azalttı. Işıkla polimerize edilen tüm siman örneklerinin hücre canlılık oranı kendiliğinden polimerize olan örneklerden oldukça yüksekti ($p<0,05$).

Sonuç: Test edilen tüm self adeziv rezin simanlar L929 hücrelerinin canlılığında önemli bir azalmaya neden olmuştur. Self adeziv rezin simanın bileşimi ve polimerizasyonun aktivasyon tipi sitotoksitesite üzerinde etkilidir.

Anahtar Kelimeler: Self adeziv rezin siman, hücre kültürü, MTT, sitotoksosite

ABSTRACT

Objective: In the present study, it was aimed to investigate the potential cytotoxic effects of three different dual cure self adhesive resin cements polymerized by light cure or self cure on L929 cells *in vitro* using by the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromid (MTT) test.

Method: Three different dual cure self adhesive resin cements [Theracem (Bisco Inc., USA), Speedcem Plus (Ivoclar Vivadent AG, Liechtenstein) and Calibra Universal (Dentsply Sirona, USA)] were polymerized with LED light source or self activation in teflon molds containing 5 mm diameter and 2 mm thick cells in accordance with the manufacturer's instructions. The samples were incubated in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) for 48 hours and their extracts were obtained. 100% concentration of the extract was diluted and extracts at 66,7%, 44,4%, 29,6% and 19,8% concentrations were obtained. Sample extracts at five different concentrations were incubated with L929 [American Type Culture Collection (ATCC), USA] mouse fibroblast cells in 96-well tissue culture plates under 37 ° C and 5% CO₂ for 24, 48 and 72 hours. At the end of the incubation period, the effects of the materials on cell viability were evaluated with the MTT test. The SPSS 25.0 (SPSS Inc., USA) analysis program was used for the statistical analysis of the data.

Results: All tested cement samples significantly reduced cell viability. Cell viability decreased with increasing concentration and incubation time in all samples tested. The light-cured Speedcem Plus showed the least cytotoxicity regardless of concentration and incubation time, followed by Theracem. However, self-cured Calibra Universal significantly reduced cell viability. Cell viability rate of all light polymerized cements is considerably higher than chemically polymerized cements ($p < 0,05$).

Conclusion: All the tested self-adhesive resin cements caused a significant reduction in viability of L929 cells. The composition of the self-adhesive resin cement and the activation type of polymerization are effective on its cytotoxicity.

Keywords: Self adhesive resin cement, cell culture, MTT, cytotoxicity

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLOLAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diş Hekimliğinde Kullanılan Simanlar	3
2.1.1. Geleneksel Simanlar.....	5
2.1.2. Güncel Simanlar	10
2.2. Sitotoksosite	23
2.3. Biyouyumluluk.....	23
2.3.1. Biyouyumluluk Değerlendirmesinde Hasta ve Personel Güvenliği	24
2.3.2. Biyouyumluluk Test Standartları	25
2.4. Biyouyumluluk Test Yöntemleri.....	26
2.4.1. Başlangıç Testleri	27
2.4.2. İkincil Testler	35
2.4.3. Kullanım Testleri.....	36
3. GEREÇ ve YÖNTEM	38
3.1. Çalışmada Kullanılan Self Adeziv Resin Siman Materyalleri ve Özellikleri .	38
3.2. Test Materyallerinin Hazırlanması.....	40
3.2.1. Siman Örneklerin Hazırlanması	40
3.2.2. Kontrol Grubu Materyallerinin Hazırlanması	44
3.3. Çalışmada Kullanılan Resin Siman Örnek Grupları ve Negatif Kontrol Grubu Özütlerinin Hazırlanması	45
3.4. Test Örneklerinin Sterilizasyonu.....	46
3.5. <i>İn Vitro</i> Sitotoksosite Test Protokolü.....	46
3.5.1. Hücre Kültürü Çalışması	47
3.5.2. MTT Sitotoksosite Testi.....	49

3.6. İstatistiksel Analiz	52
4. BULGULAR	53
4.1. MTT Test Bulguları	53
4.1.1. Kendiliğinden Polimerize Olan Calibra Universal ve Kontrol Gruplarının MTT Test Bulguları.....	53
4.1.2. Işıkla Polimerize Edilen Calibra Universal ve Kontrol Gruplarının MTT Test Bulguları	53
4.1.3. Kendiliğinden Polimerize Olan Speedcem Plus ve Kontrol Gruplarının MTT Test Bulguları.....	54
4.1.4. Işıkla Polimerize Edilen Speedcem Plus ve Kontrol Gruplarının MTT Test Bulguları	55
4.1.5. Kendiliğinden Polimerize Olan Theracem ve Kontrol Gruplarının MTT Test Bulguları	56
4.1.6. Işıkla Polimerize Edilen Theracem ve Kontrol Gruplarının MTT Test Bulguları	57
4.2. İstatistiksel Analiz Bulguları.....	58
4.2.1. Kendiliğinden Polimerize Olan Calibra Universal'in Farklı Zaman ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	58
4.2.2. Işıkla Polimerize Edilen Calibra Universal'in Farklı Zaman ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	59
4.2.3. Kendiliğinden Polimerize Olan Speedcem Plus'ın Farklı Zaman ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	60
4.2.4. Işıkla Polimerize Edilen Speedcem Plus'ın Farklı Zaman ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	62
4.2.5. Kendiliğinden Polimerize Olan Theracem'in Farklı Zaman ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	63

4.2.6. Işıklı Polimerize Edilen Theracem'in Farklı Zaman ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	65
4.2.7. Rezin Simanların %19,8 Konsantrasyonda Farklı Sürelerdeki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	66
4.2.9. Rezin Simanların %44,4 Konsantrasyonda Farklı Sürelerdeki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	68
4.2.10. Rezin Simanların %66,7 Konsantrasyonda Farklı Sürelerdeki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	70
4.2.11. Rezin Simanların %100 Konsantrasyonda Farklı Sürelerdeki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	71
4.2.12. Kendiliğinden Polimerize Olan Calibra Universal ve Işıklı Polimerize Edilen Calibra Universal'in Farklı Süre ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	72
4.2.13. Kendiliğinden Polimerize Olan Speedcem Plus ve Işıklı Polimerize Edilen Speedcem Plus'ın Farklı Süre ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	73
4.2.14. Kendiliğinden Polimerize Olan Theracem ve Işıklı Polimerize Edilen Theracem'in Farklı Süre ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	74
4.2.15. Kendiliğinden Polimerize Olan Rezin Simanların Farklı Süre ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	76
4.2.16. Işıklı Polimerize Edilen Rezin Simanların Farklı Süre ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları	77
5. TARTIŞMA	80
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	107
KAYNAKLAR	109
EKLER	

Ek 1. 96 Kuyucuklu Plaka Hücre Ekim Çizelgesi

EK 2. MTT Kalibrasyon Eğrisi

ÖZGEÇMİŞ	128
-----------------------	-----



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1.	Çalışmada kullanılan dual kür self-etch self adeziv rezin siman materyallerinin içerikleri, üretici firmaları ve üretim numaraları (LOT)	40
Tablo 3.2.	Standart yüzey alanları ve ekstraksiyon aracı hacimleri	45
Tablo 4.1.	Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal ve kontrol gruplarının MTT testine göre 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen canlı hücre sayıları	53
Tablo 4.2.	Işıkla polimerize edilen Calibra Universal ve kontrol gruplarının MTT testine göre 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen canlı hücre sayıları	54
Tablo 4.3.	Kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus ve kontrol gruplarının MTT testine göre 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen canlı hücre sayıları	55
Tablo 4.4.	Işıkla polimerize edilen Speedcem Plus ve kontrol gruplarının MTT testine göre 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen canlı hücre sayıları	55
Tablo 4.5.	Kendiliğinden polimerize olan Theracem ve kontrol gruplarının MTT testine göre 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen canlı hücre sayıları	56
Tablo 4.6.	Işıkla polimerize edilen Theracem ve kontrol gruplarının MTT testine göre 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen canlı hücre sayıları	57
Tablo 4.7.	Işıkla polimerize edilen Theracem negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen hücre canlılık oranları	57
Tablo 4.8.	Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal'in süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	58
Tablo 4.9.	Işıkla polimerize edilen Calibra Universal'in süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	60

Tablo 4.10.	Kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus'ın süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	61
Tablo 4.11.	Işıkla polimerize edilen Speedcem Plus'ın süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	62
Tablo 4.12.	Kendiliğinden polimerize olan Theracem'in süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	64
Tablo 4.13.	Işıkla polimerize edilen Theracem'in süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	65
Tablo 4.14.	Rezin simanların %19,8 konsantrasyonda süre bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	66
Tablo 4.15.	Rezin simanların %29,6 konsantrasyonda süre bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	68
Tablo 4.16.	Rezin simanların %44,4 konsantrasyonda süre bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	69
Tablo 4.17.	Rezin simanların %66,7 konsantrasyonda süre bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	70
Tablo 4.18.	Rezin simanların %100 konsantrasyonda süre bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	71
Tablo 4.19.	Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal ve ışıkla polimerize edilen Calibra Universal'in süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	73
Tablo 4.20.	Kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus ve ışıkla polimerize edilen Speedcem Plus'ın süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	74
Tablo 4.21.	Kendiliğinden polimerize olan Theracem ve ışıkla polimerize edilen Theracem'in süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	75
Tablo 4.22.	Kendiliğinden polimerize olan rezin simanların süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	76
Tablo 4.23.	Işıkla polimerize edilen rezin simanların süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları	78

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Çalışmada kullanılan dual kür self adeziv rezin siman materyali	39
Şekil 3.2.	Çalışmada kullanılan dual kür self adeziv rezin siman materyali	39
Şekil 3.3.	Çalışmada kullanılan dual kür self adeziv rezin siman materyali	39
Şekil 3.4.	Çalışmada kullanılan teflon (PTFE) kalıp ve cam levhalar	41
Şekil 3.5.	Çalışmada kullanılan teflon (PTFE) kalıp	41
Şekil 3.6.	Test örneklerinin hazırlanmasında kullanılan üretim düzeneği	42
Şekil 3.7.	Çalışmada kullanılan LED ışık kaynağı ve ışık yoğunluğunun kontrol edilmesi	43
Şekil 3.8.	Polimerizasyonu tamamlanan siman örnekleri	44
Şekil 3.9.	Çalışmada kullanılan inkübatör cihazı ve test materyallerinin inkubatördeki görünümü	46
Şekil 3.10.	Çalışmada kullanılan L929 fare fibroblast hücreleri	47
Şekil 3.11.	Çalışmada kullanılan santrifüj cihazı	48
Şekil 3.12.	Çalışmada kullanılan hücre sayım cihazı	48
Şekil 3.13.	Çalışmada kullanılan ters faz kontrast mikroskop	49
Şekil 3.14.	Materyal özütü ve kontrol grubu ekimi tamamlanan kuyucuklu plaka	96
Şekil 3.15.	MTT çözeltisi eklenen mikrolaklar	51
Şekil 3.16.	Çalışmada kullanılan spektrofotometre (Microplaka okuyucu)	51
Şekil 4.1.	Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen hücre canlılık oranları	53

Şekil 4.2.	Işıkla polimerize edilen Calibra Universal negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen hücre canlılık oranları	54
Şekil 4.3.	Kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen hücre canlılık oranları	55
Şekil 4.4.	Işıkla polimerize edilen Speedcem Plus negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen hücre canlılık oranları	56
Şekil 4.5.	Kendiliğinden polimerize olan Theracem negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen hücre canlılık oranları	56
Şekil 4.6.	Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal'ın farklı konsantrasyonlardaki hücre sayısının zamana göre değişimi	58
Şekil 4.7.	Işıkla polimerize edilen Calibra Universal'ın farklı konsantrasyonlardaki hücre sayısının zamana göre değişimi	59
Şekil 4.8.	Kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus'ın farklı konsantrasyonlardaki hücre sayısının zamana göre değişimi	61
Şekil 4.9.	Işıkla polimerize edilen Speedcem Plus'ın farklı konsantrasyonlardaki hücre sayısının zamana göre değişimi	62
Şekil 4.10.	Kendiliğinden polimerize olan Theracem'in farklı konsantrasyonlardaki hücre sayısının zamana göre değişimi	64
Şekil 4.11.	Işıkla polimerize edilen Theracem'in farklı konsantrasyonlardaki hücre sayısının zamana göre değişimi	65

SİMGELER ve KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
4-META	: 4-metakriloksietil trimellitit anhidrat
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADA	: Amerikan Diş Hekimleri Birliği
ADP	: Adenozin difosfat
ANSI	: Amerikan Ulusal Standart Enstitüsü
ATCC	: Amerika kültür bankası
ATP	: Adenozin trifosfat
Bis-GMA	: Bisfenol-A Glisidil Metakrilat
Bis-EMA	: Bisphenol A ethoxylate dimethacrylate
cm	: Santimetre
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EGDMA	: Etilen glikol dimetakrilat
FBS	: Fetal Sığır Serumı
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
Fenil-P	: 2-metakriloksietil fenil hidrojen fosfat
GDMA	: Gliserol dimetakrilat
GMA	: Glisidilmetakrilat
HEMA	: Hidroksietil Metakrilat
ISO	: Uluslararası Standartlar Örgütü
kg	: Kilogram

LDH	:Laktat Dehidrogenaz
LED	:Işık yayan diyot
ml	:Mililitre
mm	:Milimetre
MPa	:Megapaskal
MTT	:Metiltyazol tetrazolyum testi
PBS	:Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
PEGDMA	:Polietilen glikol dimetakrilat
PENTA	:Dipentaeritritol penttakrilat monofosfat
PET	:Polietilen tereftalat
pH	:Ortamdaki hidrojen iyonlarının konsantrasyonu
PMGDM	:Piromellitik gliserol dimetakrilat
PMMA	:Polimetil metakrilat
PTFE	:Politetrafloroetilen
RNA	:Ribonükleik Asit
ROS	:Reaktif Oksijen Ürünleri
TEGDMA	:Trietilen Glikol Dimetakrilat
TMPTMA	:Trimetilpropan trimetakrilat
TNF	:Tümör nekroz faktörü
UDMA	:Üretan Dimetakrilat

1. GİRİŞ

Self adeziv rezin simanlar, geleneksel simanların ve rezin simanların özelliklerini geliştirerek mevcut sınırlamalarının üstesinden gelmek ve simantasyon sürecini basitleştirmek amacıyla tasarlanmıştır (Burgess ve ark., 2010). Self adeziv rezin simanlar, doldurucu polimerler içeren ve ayrı bir bağlayıcı sistem veya asit uygulaması gerektirmeyen hibrit materyallerdir (Ferracane ve ark., 2011).

Self adeziv rezin simanların ana bileşenlerini; bisfenol-A glisidil metakrilat (Bis-GMA), Bis-GMA üretan oligomerleri, üretan dimetakrilat (UDMA), hidroksietil metakrilat (HEMA), gliserol dimetakrilat (GDMA), trietilen glkol dimetakrilat (TEGDMA) ve trimetilpropan trimetakrilat (TMPTMA) gibi geleneksel monomerler, fonsiyonel asidik monomerler, asitle çözünür iyon salabililen cam doldurucu parçacıklar, aktivatörler ve başlatıcı sistemler oluşturur (Ferracane ve ark., 2011; Manso ve Carvalho, 2017).

Fonsiyonel asidik monomerler ortamın pH'nı önemli ölçüde düşürerek mine ve dentin yüzeyini demineralize eder; böylelikle mikromekanik bağlanma gerçekleşir. Asidik gruplar ile hidroksiapatit arasındaki kimyasal etkileşim sonucunda mine ve dentin ile kimyasal bağlanma gerçekleşir (De Munck ve ark., 2004; Gerth ve ark., 2006; Radovic ve ark., 2008).

Self adeziv rezin simanlar dual kür materyallerdir. Işıkla ve kimyasal yolla aktive edilen polimerizasyon reaksiyonu sonucu monomerler polimer forma dönüştürülür (Leprince ve ark., 2013). Polimerizasyon reaksiyonu sırasında monomerlerin tamamı polimere dönüşmez, bu nedenle polimerize rezin değişen miktarlarda serbest ve reaksiyona girmemiş monomer barındırır (Hamid ve Hume, 1997). Polimerize dental metakrilat bileşimindeki komonomerler ve diğer kimyasal içerikler materyalden ayrıştırılabilir (Ferracane ve Condon, 1990). Simanlardan salınan bu maddeler diş eti veya pulpa hücrelerini etkileyebilir (Schmid-Schwap ve ark., 2009). Resin esaslı materyallerden salınan monomerler sitotoksitenin öncelikli nedenir (Nakamura ve ark., 1985; Lee ve ark., 1995; Schedle ve ark., 1998). Bis-GMA ve TEGDMA yüksek sitotoksik potansiyele sahiptir (Theilig ve ark., 2000). Dental resin materyallerden salınan UDMA ve TEGDMA hücrelerde sitotoksik ve genotoksik etkilere neden olabilmektedir (Wisniewska-Jarosinska ve ark., 2011). TEGDMA ve

UDMA yüksek derecede sitotoksik bulunmuş (Geurtsen ve ark., 1998) ve fibroblast hücrelerinde apoptoza neden olduğu gösterilmiştir (Kurt ve ark., 2018). Monomerler dışında inorganik fazda bulunan reaksiyon başlatıcılar veya iyonlar sitotoksositeye neden olabilmektedir (Van Landuyt ve ark., 2015). Bis-GMA ve TEGDMA gibi geleneksel monomerler dışında 4-metakriloksietil trimellitik anhidrit (4-META), 10-metakriloiloksidetil dihidrojen fosfat (10-MDP) gibi asidik monomerler ve reaksiyon başlatıcılarda sitotoksositeye neden olabilmektedir (Ratanasathien ve ark., 1995; Sun ve ark., 2016).

Self adeziv rezin simanlar dual kür materyallerdir ve farklı aktivasyon protokolleri simanların biyolojik uyumluluğunu farklı şekillerde etkileyebilir (Pereira ve ark., 2010; da Rocha Svizero ve ark., 2013; D'Alpino ve ark., 2017; Sun ve ark., 2018). Self adeziv rezin simanlar geleneksel rezin simanlara göre daha yavaş polimerizasyon hızı ve daha düşük nihai polimerizasyon derecesi gösterebilir ayrıca, dual aktivasyon ile polimerize edilen self adeziv rezin simanların son polimerizasyon derecesi kendiliğinden polimerizasyondan daha yüksektir (Moraes ve ark., 2011).

L929 fare fibroblast devamlı hücre serisi primer hücrelere göre sahip olduğu avantajlar nedeniyle sitotoksosite çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Schedle ve ark., 1998; Kostoryz ve ark., 2003; Schmid-Schwap ve ark., 2009; Kusdemir ve ark., 2011; Malkoc ve ark., 2014). MTT testi hızlı ve ucuz bir yöntem olduğu için dental materyallerin sitotoksitesini değerlendirmede yaygın olarak kullanılmaktadır (Bouillaguet ve ark., 2002; Chen ve ark., 2003; Issa ve ark., 2004; Kusdemir ve ark., 2011; Malkoc ve ark., 2014).

Bu çalışmanın amacı, farklı aktivasyon yöntemleri ile polimerize edilen farklı self adeziv rezin siman örneklerinin L929 hücreleri üzerindeki potansiyel sitotoksik etkisini MTT testi ile değerlendirmektir. Çalışmamızda aşağıdaki hipotezleri test etmek amacıyla ticari olarak temin edilebilen self adeziv rezin simanlar farklı aktivasyon yöntemleri ile polimerize edilmiştir.

1. Test edilen üç farklı self adeziv rezin siman hücre canlılığını farklı seviyelerde etkileyecektir.
2. Polimerizasyonun aktivasyon yöntemi hücre canlılığını farklı seviyelerde etkileyecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diş Hekimliğinde Kullanılan Simanlar

Sabit protetik uygulamaların en önemli amacı kaybedilmiş fonksiyonu geri kazandırırken protez desteği olarak kullanılan doğal dişlerin pulpa canlılığını korumak ve restorasyonun uzun ömürlü olmasını sağlamaktır (Baldissara ve ark., 1998). Dental simanlar hazırlanmış dişlere sabit restorasyonları bağlamak için kullanılır ve yapıştırma ajanları olarak adlandırılır. Bir yapıştırma ajanının birincil işlevi restorasyon ile diş ara yüzündeki boşluğu doldurmak ve çiğneme sırasında yerinden çıkmasını önlemek amacıyla restorasyonu mekanik olarak kilitlemektir (Hill, 2007; Hill ve Lott, 2011).

İdeal simanın özellikleri şu şekilde sıralanabilir:

- Ağız içi sıvılarında çok düşük çözünürlük oranlarına sahip olmalıdır.
- Diş ve çevresindeki canlı dokulara iyi adapte olmalı, pulpa üzerinde irritan etkiye bulanabilecek toksik maddeler içermemeli ve antikaryojenik özelliklere sahip olmalıdır.
- Restorasyon ve diş arasındaki en küçük boşluklara ulaşabilmesi için düşük viskoziteye ve film kalınlığına sahip olmalıdır.
- Yeterli ışık geçirgenliğine sahip olmalıdır.
- Çiğneme kuvvetlerine ve yapışkan gıdaların etkisi ile oluşan çekme kuvvetlerine karşı dayanıklı olmalıdır.
- Canlı diş termal etkilerden korumak için yeterli ısı yalıtımı sağlamalıdır.
- Sert diş dokularına yapışabilmelidir.
- Uzun bir raf ömrüne sahip olmalıdır.
- Yeterli çalışma süresi sağlamalı ve hazırlanması kolay olmalıdır.

Tüm mevcut daimi yapıştırma ajanları bu gereksinimleri bir şekilde karşılamaktadır ve hepsi klinik başarı ile kullanılmaktadır (Diaz-Arnold ve ark., 1999; Hill ve Rubel, 2009).

Diş preparasyonu sırasında paralel yüzeyler oluşturularak mekanik kilitlenme sağlanması kimyasal bileşiminden bağımsız olarak yapıştırma simanları için temel bağlanma yöntemidir (Smith, 1983). Simanlar diş yapılarına nonadeziv,

mikromekanik ve moleküler bağlanma olmak üzere üç farklı şekilde bağlanır (Hill, 2007). Adeziv olmayan bağlanmada siman restorasyon ve diş arasındaki boşluğu doldurur ve küçük yüzey düzensizliklerine girerek tutunma sağlar, tüm simanları bunu yapabilmektedir. Mikromekanik bağlanmada simanın doldurması için çeşitli yöntemlerle diş yüzeyleri pürüzlendirilerek daha büyük yüzey defektleri oluşturulur. Bu yüksek gerilme mukavemetine sahip rezin ve rezin modifiye cam iyonomer siman gibi materyallerde uygulanan bir yöntemdir. Moleküler bağlanma ise bipolar, Van der Waals kuvvetleri ve siman ile diş yapısı arasındaki zayıf kimyasal bağ oluşumuyla sağlanır. Polikarboksilat ve cam iyonomer simanlar diş yapısına moleküler adezyon ile bağlanır (Goodacre ve ark., 2001).

Dental Simanlar farklı yazarlar tarafından çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır (Hill, 2007; Lad ve ark., 2014):

Ana bileşenleri esas alınarak Craig (Craig, 1989) tarafından yapılan sınıflandırma:

- Çinko fosfat
- Çinko silikofosfat
- Çinko oksit-öjenol
- Çinko poliakrilat
- Cam iyonomer
- Resin simanlar şeklindedir.

Matrisin bağ yapma tipine göre O'Brien (O'Brien, 2002) tarafından yapılan sınıflandırma ise:

- Fosfat
- Fenolat
- Polikarboksilat
- Resin
- Resin modifiye cam iyonomerleri içerir

Bilgi ve kullanım deneyimine dayanarak Donovan (Donovan ve Cho, 1999) tarafından yapılan sınıflandırma:

- Geleneksel (Konvansiyonel) simanlar
 - Çinko fosfat
 - Polikarboksilat

- Cam-iyonomer
- Güncel (Contemporary) simanlar
 - Rezin modifiye cam-iyonomer
 - Rezin simanlar olmak üzere yapılmıştır.

Ana sertleşme reaksiyonu tipine dayanarak Wilson (Wilson ve Kent, 1971) tarafından yapılan sınıflandırma:

- Asit-baz reaksiyonu ile sertleşen simanlar ve
- Polimerizasyon reaksiyonu ile sertleşen simanları içerir.

2.1.1. Geleneksel Simanlar

Çinko Fosfat Siman

Çinko fosfat siman, 1878'de piyasaya sürülmesinden bu yana 130 yılı aşkın bir süredir klinik olarak başarılı bir geçmişe sahip en eski yapıştırma simanıdır. Uzun yıllar boyunca kalıcı simantasyon ajanları için “altın standart” olarak kabul edilmiş ve %98'e varan klinik başarı oranı göstermiştir (Wingo, 2018).

Çinko fosfat siman, toz-likit sistem veya kapsül formları halinde kullanıma sunulmuştur. Toz; %90,2 oranında çinko oksit, %8,2 magnezyum oksit, %1,4 silikon dioksit gibi inaktif doldurucular, simanın çalışma özellikleri ile final özelliklerini geliştirmek amacıyla bileşime eklenen %0,2 oranında bizmut trioksit, kalsiyum oksit ve baryum oksit içerir. Çinko fosfat sıvısı; reaksiyonun sertleşme hızını kontrol eden %38,2 oranında sulu fosforik asit çözeltisi ile %36 oranında sudan oluşur. Ayrıca, tamponlayıcı madde olarak %16,2 oranında alüminyum fosfat veya çinko fosfat içerir. Likitin su içeriği reaksiyonun hızını etkileyen asit iyonizasyonunu kontrol etmesinden dolayı önemlidir, likitin su içeriği üretici tarafından belirlenir. Hazırlama sırasında likitin bulanık görünmesi likitin su içeriğinin buharlaşmasından kaynaklanır. Siman sertleşirken su kontaminasyonundan kaçınılmalıdır. Su fosforik asidin dışarı atılmasına sebep olur ve simanın çözünürlüğünü büyük ölçüde artırır (Anusavice ve ark., 2003).

Karıştırma tekniği, ideal özellikte simanın elde edilmesinde kritik öneme sahiptir. Karıştırma işlemi geniş bir alanda küçük miktarda toz ilavesiyle soğutulmuş bir plaka üzerinde gerçekleştirilmelidir. Karıştırma sırasındaki başarısızlık reaksiyonu hızlandırır ve simanın son kıvamını etkiler. Simanın viskozitesi hızla arttığı için

siman karıştırıldıktan hemen sonra kron yerine oturtulmalıdır. İdeal şartlarda simantasyon için uygun karıştırma ile sertleşme esnasında sabit ve yeterli kuvvet uygulanması önemlidir (Kay ve ark., 1986).

Çinko fosfat siman uygulanmasından 48 saat sonra bile ortamda amorf yapıda çinko fosfat, reaksiyona girmemiş çinko oksit ve fosforik asit bulunur. Buna rağmen uygulama sonrasında üzerinden uzun yıllar geçmiş eski çinko fosfat siman kimyasal olarak son derece kararlıdır. Ayrıca, çinko fosfat siman düşük başlangıç pH'na (1-2) rağmen pulpa üzerinde iritan etki göstermez ve pratikte de bu potansiyel etki önemli görünmemektedir (Margerit ve ark., 1996). Çinko fosfat simanın düşük pH ve hidrolik oturma basıncı nedeniyle derin preparasyonlarda ve pulpa irritasyon riskinin söz konusu olduğu durumlarda kullanılması önerilmez (Brännström ve Nyborg, 1977).

Simanın dayanımı doğrusal olarak toz/sıvı oranına bağlıdır, yüksek toz oranı daha dayanıklı siman elde edilmesini sağlar. Uygun şekilde karıştırılmış çinko fosfat 80-110 MPa arasında basınç dayanımı ve 5-7 MPa arasında çekme dayanımı gösterir, bu değerler simanın çiğneme stresine dayanması için yeterlidir (Smith, 1983). Reaksiyonu tamamlanmış siman son derece serttir ve 13 GPa gibi yüksek bir elastisite modülü sergiler. Bu durum, simanın yüksek çiğneme kuvveti olan bölgelerde veya uzun protezlerde elastik deformasyona direnç göstermesine olanak tanır (Anusavice ve ark., 2012).

Çinko fosfat siman dentine kimyasal olarak bağlanmaz, bağlanma tamamen mekanik yollarla sağlanır. Bu nedenle diş preparasyonunun koniklik, uzunluk ve yüzey alanı simanın başarısı için kritik öneme sahiptir (Oilo ve Jorgensen, 1978). Çinko fosfat siman kabul edilebilir fiziksel özellikleri, son derece düşük maliyeti ve teknik duyarlılığın az olması nedeniyle prefabrike kronlar, döküm post ve kronlar, metal inley ve onleyler ile metal-seramik restorasyonlar ve uzun sabit protetik uygulamaların simantasyonunda rutin olarak kullanılmaktadır (Donovan ve Cho, 1999).

Polikarboksilat Siman

Polikarboksilat siman, çinko polikarboksilat siman veya poliakrilat siman olarak da adlandırılır. Dr. Dennis Smith (Smith, 1983) tarafından 1968 yılında tanıtılmıştır. Dr.

Smith fosforik asit yerine yeni bir polimerik asit olan poliakrilik asit kullanarak dentin yapısına kimyasal olarak bağlanma potansiyeli bulunan ilk siman sistemini geliştirmiştir.

Polikarboksilat siman, toz ve likit sistemi ile kullanıma sunulmuştur. Likit; sulu bir poliakrilik asit ve kopolimer çözeltisidir. Toz; çinko fosfat siman ile benzerdir, bileşiminde esas olarak çinko oksit, %10 oranında magnezyum oksit, az miktarda kalay florür içerir. Ayrıca, sertleşme süresini değiştiren ve manipülasyon özelliklerini geliştiren kalay florür gibi tuzlar içerir. Kalay florür simanın dayanımını artırması yanında simana antikaryojenik özellikler kazandırabilen florür kaynağı olarak görev yapar (Hill, 2007). Polikarboksilat siman, çinko iyonlarının poliakrilik asitin karboksil grubuyla etkileşimi sonucunda asit-baz reaksiyonuyla sertleşir. Çinko ayrıca bitişik poliakrilik asit zincirinin karboksil grubuyla da reaksiyona girebilir, böylece iyonik olarak çapraz bağlı bir yapı oluşur (Sita Ramaraju ve ark., 2014).

Polikarboksilat siman hidrofilitiktir ve dentin yüzeylerini ıslatabilir. Serbest karboksilik asit gruplarının mine ve dentindeki kalsiyum ile şelasyon reaksiyonu sonucu diş yapısına kimyasal bağlanma gösterir. Adeziv bağlanma esas olarak mineyle sağlanırken dentinle daha zayıf bir bağlanma gerçekleşir (Diaz-Arnold ve ark., 1999).

Polikarboksilat siman, 55-85 MPa arasında basınç dayanımı ve 8–12 MPa arasında çekme dayanımı gösterir (White ve Yu, 1993), elastisite modülü dentin ile benzerdir, suda çözünmeye karşı yeterli direnci sağlar, asit çözünmesine karşı direnci düşüktür, yük altında deforme olur (Hill, 2007). Polikarboksilat simanın elastikiyet modülü çinko fosfat simanın üçte biri kadardır ve daha fazla plastik deformasyon gösterir. Bu sebeple, çiğneme kuvvetinin yüksek olduğu bölgelerde veya uzun sabit protezlerin simantasyonu için kullanımı uygun değildir (Oilo, 1991).

Polikarboksilat siman, altın alaşımlarının inert yapısına rağmen bu alaşımla zayıf bağlanma gerçekleştirir. Porselen ile somut bir bağ oluşturmaz, bununla birlikte oksit tabakasının varlığı ile ilişkili olarak değersiz alaşımlarla bağ oluşturur. Bağlanmadaki başarısızlık adeziv başarısızlıktan çok koheziv başarısızlıktır. Taze karıştırılmış siman, psödoplastik olma özelliği ile bal benzeri bir kıvama sahiptir ve kopmadan incelerak akma davranışı gösterir. Bu nedenle karıştırılmış siman çok

kalın görünse de basınç altında 25-35 µm film kalınlığına kadar yeterince akar. Karıştırma sırasında toz/likit oranının azaltılması, simanın direncinin düşmesine ve çözünürlüğünün artmasına yol açar (Rosenstiel ve ark., 1998). Karıştırmadan sonra simanın pH değerinin hızla artması, ayrıca büyük ve zayıf ayrılmış poliakrilik asit moleküllerinin tübüler penetrasyon yetersizliği simanın dental pulpa ile biyouyumlu olmasına yol açar (Charlton ve ark., 1991).

Vital diş preparasyonun pulpaya yakın bitirildiği sabit restorasyonların simantasyonunda, çiğneme kuvvetinin düşük olduğu bölgelerde, tek ünite kronlarda veya kısa köprülerin simantasyonu için polikarboksilat simanın kullanımı uygundur (Ladha ve Verma, 2010).

Cam İyonomer Simanlar

Cam iyonomer simanlar 1960 yılı sonlarında İngiltere Devlet Kimya Laboratuvarında geliştirilmiş ve ilk olarak 1971 yılında Wilson ve Kent tarafından tanıtılmıştır (Wilson ve Kent, 1971).

Cam iyonomer simanlar, silikat simanların yarı saydamlık ve florür salınımı, polikarboksilat simanın pulpa üzerindeki olumlu etkisi ve diş yapılarına kimyasal olarak bağlanma gibi olumlu özelliklerini birleştirmek amacıyla geliştirilmiştir (Ladha ve Verma, 2010). Cam iyonomer, silikat cam tozu ve COOH grupları içeren bir iyonomerik asit (poliakrilik asit) çözeltisi kullanılan bir grup materyalin genel adıdır. Cam iyonomer simanlar, polialkanoat simanları veya alüminosilikat poliakrilik asit (ASPA) simanlar olarak adlandırılır. Esas olarak iyon salabilen florü alüminosilikat cam ve sıvı olarak bir polielektrolit içerir. Mine ve dentine kimyasal olarak bağlanabilir, florür salınımı yapar, üstün fiziksel ve mekanik özelliklere sahiptir (Croll ve Berg, 2010; Mohammadi ve Shalavi, 2012).

Cam iyonomer simanlar toz ve likit sistemi veya kapsül formunda kullanıma sunulmuştur. Toz; silika, alümina ayrıca kalsiyum florit, alüminyum florit ve sodyum alüminyum florit gibi florürler içerir. Florürler, akışkanlığı artırıcı ve antikaryojenik ajanlar olarak görev yapar. Toz sinterleme işlemiyle üretilir. Likit; itakonik, maleik ve trikarboksilik gibi nispeten zayıf polialkenoik asitlerin kopolimerlerinden oluşur ayrıca, tartarik asit ve su içerir. Tartarik asit akışkanlık sağlar ve çalışma süresini artırır. Su başlangıçta bir reaksiyon ortamı görevi görür ve çapraz bağlı matrisi yavaş

yavaş hidrate eder (McLean ve ark., 1984; Cochran, 1993). Cam iyonomer simanın asitteki karboksil gruplarının apatit yapısında bulunan kalsiyum veya fosfat iyonlarıyla şelasyon reaksiyonu sonucu dentin-siman arayüzeyinde iyonik bağlar oluşturarak diş yapılarına bağlandığı düşünülmektedir (Hosada ve ark., 1993).

Sertleşme reaksiyonu, asidik polielektrolit ve alüminosilikat cam arasındaki asit-baz reaksiyonudur. Toz ve sıvı karıştırıldığında sıvının asidi cam parçacıkların yüzeyinden sulu ortama komplek tuz yapıda kalsiyum, alüminyum, sodyum ve florür iyonları salınmasına sebep olur. Tuzlar bir jel matris oluşturmak üzere hidrate olur ve reaksiyona girmemiş cam partikülleri, partiküllerin yüzeyinden katyonların uzaklaştırılması sebebiyle silika jel ile kaplanır. Tartarik asidin varlığı materyalin sertleşme özelliklerini kontrol etmede önemli bir rol oynar. Tartarik asit, cam parçacıkların yüzey katmanlarının parçalanmasına neden olur ve alüminyum iyonlarını hızla serbest bırakarak bu iyonlarla kompleks oluşturur. Alüminyum iyonları kompleks hale geldiği için ortamda poliasit ile reaksiyona giren yeterli miktarda serbest alüminyum iyonu bulunmaz. Bu durum simanın çalışma süresinin uzamasına neden olur. Tartarik asit ayrıca poliasit zincirlerinin çözülmesini ve iyonlaşmasını önleyerek sertleşme süresinin uzamasını sağlar (Anusavice ve ark., 2003).

Cam iyonomer siman erken nem kontaminasyonu ve kurumaya duyarlıdır. İlk sertleşme reaksiyonu sırasında simanın ortamdaki nem ile kontaminasyonu siman yapısının bozulmasına, yarı saydamlığın kaybolmasına ve final sertliğinin önemli ölçüde azalmasına sebep olur (Um ve Øilo, 1992; Mojon ve ark., 1996). Yeni karıştırılmış cam iyonomer simanı ortam havasından koruyacak önlemler alınmazsa siman kurumaya başlar. Kuruma sonucu yüzeyde çatlaklar oluşur, siman yüzeyindeki bu mikro çatlaklar koheziv başarısızlığın başlıca nedenidir (Hornsby, 1980). Cam iyonomerin başlangıçtaki düşük pH'ı simantasyon sonrası hassasiyete neden olur (Smith ve Ruse, 1986). Simantasyon sonrası hassasiyet insidansını arttırdığı için simanın aşırı kurummasını önlemek gereklidir. Fazla simanın kaldırılmasından sonra dehidrasyonu önlemek için kron marjinleri jel veya vernikler ile örtülmelidir (Ogimoto ve Ogawa, 1997). Cam iyonomer simanları düşük film kalınlığına sahiptir, karıştırıldıktan sonra kısa bir süre için viskozitesini korur böylece restorasyonların daha iyi oturması sağlanır (Øilo ve Evje, 1986; Strutz ve ark., 1994).

Cam iyonomer siman, düşük elastikiyet modülü nedeniyle yüksek çiğneme kuvvetinin olduğu alanlarda elastik deformasyon potansiyeli sergiler, yetersiz aşınma direnci gösterir, dişe benzer termal genleşme katsayısı vardır, yarı saydam özelliği sayesinde porselen kuronlarla kullanılabilir. Cam iyonomer siman, asit çözünmesine karşı yeterli direnç gösterir, sürekli flor salınımı ve florürü ağız ortamından emme yeteneği nedeniyle çürük insidansı yüksek bireylerde tercih edilen simandır (Forsten, 1990).

2.1.2. Güncel Simanlar

Diş hekimliğinde kullanılan simanlar, geleneksel simanlar ve adeziv simanlar olarak sınıflandırılabilir. Geleneksel simanlar veya adeziv olmayan simanlar diş yapısına bağlanma potansiyeline sahip olmayan simanlardır. Adeziv özellik gösteren yapıştırma simanları ise iki ana gruba ayrılabilir. Birinci grup; cam iyonomer siman ve rezin modifiye cam iyonomer simandan oluşur. Bu tip simanlar, iyon değişimi ile diş dokularıyla kimyasal bağ oluşturur ve bu bağ işlem görmüş diş yapısı ile mikromekanik kenetlenme oluşturarak elde eder. İkinci grup; doldurucusuz adeziv rezin siman ve kompozit rezin siman gibi rezin esaslı simanlardan oluşur (Ferracane ve ark., 2011).

Rezin Modifiye Cam İyonomer Siman

Sertliği ve çözünmeye karşı direnci geliştirmek amacıyla geleneksel cam iyonomer simana suda çözünür polimerler veya polimerize edilebilir rezinler eklenmiştir. Cam iyonomer simanların florür salınımı, diş yapılarına kimyasal bağlanma ile yüksek dayanım ve düşük çözünürlük gibi özelliklerini birleştirmek amacıyla rezin modifiye cam iyonomer siman geliştirilmiştir.

Rezin modifiye cam iyonomer siman toz-likit sistemi, otomiks kapsül formunda veya pat/pat sistemiyle kullanıma sunulmuştur. Toz; iyon salınımı yapan florealüminosilikat cam parçacıkları ile kimyasal ve ışıkla polimerizasyon reaksiyonu başlatıcılarından oluşur. Likit bileşiminde; HEMA, etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), gliserol dimetakrilat (GMA) ve Bis-GMA gibi metakrilat grupları, tartarik asit, poliakrilik asit ve su bulunur. Bis-GMA, polimerizasyon reaksiyonunu mümkün kılar. Hidrofilmetakrilat olan HEMA asit bileşenlerinin sulu bir çözelti içinde bir arada bulunmasını sağlar ve polimerizasyon reaksiyonunda yer

alır. Asit-baz reaksiyonu, poliasit ve floroalüminosilikat cam arasında meydana gelir. Likit bileşiminde ayrıca polimerizasyon aktivatörleri ve stabilizatörler bulunur.

Rezin modifiye cam iyonmer simanın sertleşme reaksiyonu, iyonik matriks oluşumuyla sonuçlanan asit-baz reaksiyonu ve polimer matriks oluşumuyla sonuçlanan polimerizasyon reaksiyonudur. Asit-baz reaksiyonu floroalüminosilikat cam tozu ve asılı metakrilat gruplarıyla modifiye edilmiş sulu bir polialkenoik asit çözeltisi arasındaki etkileşim sonucu poliakrilat tuzu oluşumuyla sonuçlanır. Serbest radikal polimerizasyonu ışıkla veya kimyasal olarak başlatılır. Polimerizasyon reaksiyonu başlangıç sertleşmesini sağlarken, yavaş asit-baz reaksiyonu ise simanın son sertliği ve dayanımından sorumludur (Hill, 2007; Ladha ve Verma, 2010).

Rezin modifiye cam iyonmer simanlarda sıkıştırma dayanımı, diyametrik gerilme dayanımı ve eğilme dayanımı çinko fosfat, polikarboksilat ve cam iyonmer simanlarına kıyasla önemli ölçüde geliştirilmiştir ancak rezin simanlardan daha azdır (White ve Yu, 1993). Rezin modifiye cam iyonmer siman serbest radikal polimerizasyonunda poliakrilat tuzunun kovalent çapraz bağlanması nedeniyle sertleşme reaksiyonu sırasında erken nem kontaminasyonu ve kurumaya daha az duyarlıdır. Cam iyonmer simandan daha az çözünür (Cho ve ark., 1995; McComb, 1996) ve simantasyonda yeterince düşük film kalınlığı oluşur (White ve Yu, 1992; White ve ark., 1995) ayrıca geleneksel cam iyonmer simana benzer flor salınımı yapar (Robertello ve ark., 1999). Rezin modifiye cam iyonmer siman geçici simantasyon için öjenol içeren simanlar kullanılsa bile polimerizasyon önemli ölçüde etkilenmez. Minimum post operatif hassasiyete sebep olur, nemli dentine yüksek bağlanma kuvveti (14 MPa) gösterir (Fujisawa ve Kadoma, 1997).

Cam iyonmer bileşenine bağlı dehidrasyon büzülmesi ile polimerizasyon büzülmesinin sertleşme tamamlandıktan sonra üç ay kadar daha devam ettiği gözlenmiştir. Bu sebeple, simandan kaynaklanan diş preparasyonu ile restorasyon ara yüzünde stres kırıkları oluşabilir (Sidhu ve ark., 1997). Rezin modifiye cam iyonmer simanlarda genişleme kaynaklı kırık meydana geldiği için devital dişlere yapılan tam seramik kron ve post uygulamalarının simantasyonu için kullanılmaları kontrendikedir (Christensen ve Christensen, 1996), metal veya porselen-metal krunlar ile diğer sabit protez uygulamalarının simantasyonu için önerilmektedir (Diaz-Arnold ve ark., 1999).

Rezin Siman

Simantasyon, sabit protetik restorasyonların yerinde tutulması, marjinal sızdırmazlık ve dayanıklılığının sağlanması sürecinde çok önemli bir adımdır (Vargas ve ark., 2011). Protetik restorasyonların başarısı kullanılan siman ve simantasyon tekniğine bağlıdır. 1900'lerin başında ilk tam porselenin piyasaya sürülmesinden bu yana porseleni diş yapısına bağlamak için çeşitli simanlar kullanılmıştır. Başlangıçta geleneksel yapıştırma simanların kullanılması birçok başarısızlığa yol açmıştır. Tam seramik restorasyonlar, geleneksel asit-baz simanlarla yapıştırılamazlar. Günümüzde adeziv sistemlerin gelişmesiyle estetik tam seramiklerin yapıştırılması için adeziv siman kategorisi içinde bulunan rezin simanlar kullanılmaktadır (Ferracane ve ark., 2011).

Rezin simanlar diş yapısına ve porselene yüksek bağlanma göstermelerinin yanı sıra yüksek çekme ve basınç dayanımı sergilerler ek olarak, mevcut simanlar içerisinde en düşük çözünürlüğe sahiptirler. Bunlar gibi birçok özelliği rezin simanı klinik olarak üstün yapıştırma ajanı yapar.

Rezin esaslı yapıştırma simanlarının iki ana kategorisi vardır (Manso ve ark., 2011):

- Geleneksel rezin simanlar; diş yapısına kendiliğinden yapışmaz ve ayrı bir yapıştırıcı ajan gerektirir.
- Self adeziv rezin siman; diş yapılarına bağlanmak için ayrı bir yapıştırma işlemi gerektirmez.

Rezin (polimer) esaslı simanlar iki tip polimetilmetakrilattan oluşur (Ferracane ve ark., 2011):

- Metil metakrilat bazlı materyaller
 - Akrilik Rezin siman (Doldurucu içermeyen)
 - Modifiye Akrilik Rezin Siman (Adeziv rezin siman)
- Aromatik dimetakrilat bazlı (Bis-GMA) materyaller
 - Kompozit Rezin Siman

Akrilik Rezin Siman

Metil metakrilat esaslı rezin siman 1950'lerde geliştirilmiş ve protetik restorasyonların simantasyonu için 1952'den beri kullanılmaktadır. Toz ve likit olarak iki yapıda üretilmiştir. Toz; kimyasal aktivatörler (benzoil peroksit),

polimetilmetakrilat polimeri ve pigmentten oluşur. Likit bileşiminde ise; metilmetakrilat monomeri ve amin hızlandırıcı kimyasal aktivatör bulunur. Akrilik rezin siman herhangi bir bağlayıcı ajana gerek duymadan kullanılabilir (Platt, 1999). İlk rezin simanlar düşük doldurucu içermeleri nedeniyle yüksek polimerizasyon büzülmesi ve artan mikro sızıntı göstermiştir. Ayrıca bileşimindeki yüksek artık amin seviyesinin polimerizasyondan sonra kayda değer renk değişimine neden olduğu gözlenmiştir (Petrich ve ark., 2004).

Modifiye Akrilik Resin Siman

1981 yılında geleneksel Bis-GMA resin simanın adeziv yapışma özelliklerini iyileştirmek amacıyla bileşimine diş yapısına ve uygun şekilde hazırlanmış metal yüzeyine kimyasal bağlanmayı sağlayacak iki işlevli bir fosfat monomeri olan 10-MDP, karboksilik monomer ve 4-META gibi adeziv monomerler eklenmiştir (Tjan ve Li, 1992). Metal yüzeyi üzerindeki oksit tabakasıyla meydana gelen kimyasal etkileşimler sonucu metal alaşımıyla kuvvetli bağlantı oluşturur. Adeziv resin siman toz-likit veya iki pasta sistemi ile kullanıma sunulmuştur. Doldurucu oranı düşük olduğu için (<%10) fiziksel özellikleri akrilik rezine benzer, uygulama sonrası temizlenmesi zordur ve kısa raf ömrüne sahiptir. Ayrıca yük altında deformasyona karşı dayanıklılığı yüksektir ve uygulanması teknik hassasiyet gerektirir (Koroglu ve ark., 2012).

Kompozit Resin Siman

Diş hekimliğinde ilk kez çok fonksiyonlu bir metakrilatın kullanıldığı aromatik dimetakrilat bazlı resin siman 1963 yılında Dr. Rafael Bowen (Bowen, 1963) tarafından geliştirilmiş ve Bisgma veya Bowen reçinesi adını almıştır. Bis-GMA reçinesi epoksi reçine ve metil metakrilattan sentezlenmiş dimetakrilatın aromatik bir esteri olarak tanımlanabilir. Bis-GMA son derece viskozdur ve TEGDMA gibi düşük viskoziteli bir dimetakrilat viskoziteyi azaltmak için matriks içine katılır (Bowen, 1963).

Son 20 yılda estetik tam seramik restorasyonlara talebin artması resin simanın popülerliğini artırmıştır. Bu sayede resin siman formülasyonları gelişerek özelliklerinde iyileşmeler meydana gelmiştir. Günümüzde kullanılan resin simanlar Bis-GMA veya üretan dimetakrilat reçine matrisinden, koloidal silika veya baryum cam doldurucudan (%20-%80) oluşur. Bileşimleri resin kompozit restoratif

materyale benzer ancak daha düşük doldurucu yüküne sahiptir. Sertleşme reaksiyonu asit-baz reaksiyonlu simanlardan farklı olarak polimerizasyon reaksiyonu ile gerçekleşir (Hill, 2007).

Günümüzde rezin simanlar, yüksek basınç ve gerilme dayanımları, düşük çözünürlükleri ve üstün estetik özellikleri nedeniyle popüler hale gelmiştir. Tam seramik, veneer, metal veya metal seramik restorasyonların simantasyonunda ve endodontik tedavili dişlerde post simantasyonu için kullanılmaktadır (Pegoraro ve ark., 2007; Christensen, 2008).

Rezin Simanların Yapısı

Kompozit rezin simanlar organik polimer matriks, inorganik doldurucular, polimerizasyon reaksiyonunu başlatıcılar ve renk pigmentlerinden oluşmaktadır.

Organik matriks faz, Bis-GMA, UDMA ve TEGDMA gibi yüksek moleküllü monomerler ile viskoziteyi kontrol eden düşük moleküllü monomerlerden oluşur. Ek olarak kimyasal başlatıcılar, fotoaktivatörler ve yeterli kullanım süresi sağlama amacıyla kullanılan reaksiyon inhibitörleri bulunur. Yakın zamana kadar organik faz Bis-GMA'dan oluşmaktayken son yıllarda adezyonu yüksek ve renk değişimine karşı dirençli olan UDMA polimer matriks olarak kullanıma girmiştir (Anusavice ve ark., 2003). Visköz yapıdaki Bis-GMA ve UDMA oligomerlerini dengelemek için 1974 yılında geliştirilen daha düşük viskoziteli TEGDMA matriks yapıya eklenmiş, daha sonra geliştirilen HEMA monomeri aynı amaçla kullanılmıştır (Anusavice, 2003).

Kompozit rezin simanın fiziksel ve mekanik özelliklerini geliştirmek amacıyla bileşimine ağırlık olarak %20–75 oranında inorganik doldurucular eklenmiştir. Kompozit rezin simanların bileşiminde bulunan inorganik doldurucular, organik matriks içine dağılmış çeşitli şekil ve büyüklükteki kuartz, borosilikat cam, lityum, alüminyum silikat, stronsiyum, baryum, çinko, yttrium cam ve baryum-alüminyum silikat gibi partiküllerden oluşur (Crispin, 1994). İnorganik doldurucuların bileşime eklenmesi ile rezinin dayanımında artış sağlandı, uygulanması kolaylaştı, radyo opak görünüm elde edilirken polimerizasyon büzülmesi ve termal genleşme katsayısında azalma sağlandı. Stronsiyum, baryum, çinko ve yttrium gibi inorganikler rezine radyoopasite sağlar, silika partikülleri ise rezinin mekanik özelliklerini artırır ve translusent bir görünüm sağlar (Gladwin ve Bagby, 2013).

Kompozit rezinlerde matriks ile doldurucular arasındaki bağlanma ara faz ajanı ile sağlanır ve bu faz organik silisyum bileşiği olan silanlardan oluşur. Modern rezin simanlarda silika partiküllerinin yüzeyi çift fonksiyonlu ince bir silan bağlama ajanı ile önceden kaplanmıştır. Silan bağlayıcı ajanların bir ucu silika partiküllerinin yüzeyindeki serbest hidroksil grupları ile bağlanırken diğer ucu organik matriksteki polimer ile bağlanır. Bağlayıcı ajanlar rezinin fiziksel ve mekanik özelliklerini geliştirir, su geçişini engelleyerek simanın su emilimini ve çözünürlüğünü azaltır (Chang ve ark., 1998).

Kimyasal reaksiyon ile polimerize olan rezin sistemlerde poimerizasyonu başlatmak için başlatıcı organik peroksit, hızlandırıcı tersiyer amin ile reaksiyona girerek oligomer molekülü ile çift bağ yapan serbest radikalleri açığa çıkarır. Işıkla aktive olan rezin sistemlerde 470 nanometre dalga boyunda mavi ışığın ışık aktifleştirici molekül (komforokinon) tarafından emilimi ile ışık aktivasyonu sağlanmaktadır. Hızlandırıcı alifatik amin serbest radikalleri açığa çıkarır ve polimerizasyon başlar. Dual kür mekanizmasına sahip rezin simanlar ise ışık aktivasyonu takiben kimyasal aktivasyonu başlatan moleküller içermektedir (Powers ve ark., 1980).

Kompozit rezin simanlar polimerizasyon mekanizmasına göre veya birlikte kullanıldığı adeziv sisteme göre sınıflandırılmaktadır (Burgess ve ark., 2010):

Polimerizasyon mekanizmasına göre sınıflandırma:

- Kimyasal yolla polimerize olan rezin simanlar
- Işıkla polimerize olan rezin simanlar
- Kimyasal ve ışıkla polimerize olan rezin simanlar şeklindedir.

Birlikte kullanıldığı adeziv sistemlerine göre:

- Asitlenen ve yıkanan (Total-Etch, Etch&Rinse) rezin simanlar
- Kendinden asitli (Self-etch) rezin simanlar
- Kendinden adezivli (Self-adeziv) rezin simanlar şeklinde sınıflandırılmaktadır.

Self adeziv rezin simanlar, hepsi bir arada rezin siman veya evrensel siman olarak adlandırılır (Simon ve Darnell, 2012).

Rezin Simanların Polimerizasyon Mekanizmasına Göre Sınıflandırılması

Kimyasal Yolla Polimerize Olan Kompozit Rezin Simanlar

Kimyasal yolla polimerize olan kompozit rezin simanlar tipik olarak elle karıştırılan baz ve katalizör içeren iki pat veya toz-likit sisteminde üretilmiştir. Toz-likit sisteminde polimerizasyon iki komponentin karıştırılmasıyla kimyasal yolla başlar. Toz; borosilikat veya silika cam ile polimer ve organik peroksit başlatıcıdan oluşur. Likiti ise; Bis-GMA ve diğer dimetakrilat monomerlerinden oluşur. Pat sistemlerinde patlardan her biri yarı yarıya organik monomer ve doldurucular içerir. Patlardan birinde polimerizasyonu başlatan benzoil peroksit diğerinde ise polimerizasyonu hızlandıran tersiyer amin bulunur. Kimyasal yolla polimerize olan rezin simanların çalışma süreleri kısa olduğundan sertleşme zamanının kontrolü zordur ayrıca içerdikleri tersiyer aromatik aminlerin ağız ortamında kimyasal değişikliğe uğramasıyla amin renklenmesi görülür (Dayangac, 2000).

Kimyasal yolla polimerize olan kompozit rezin simanlar, ışıkla polimerizasyonun tam olarak sağlanamayacağı 1,5–2mm'den daha kalın restorasyonlar ile optimal retansiyonun sağlanamadığı vakaların simantasyonunda başarıyla kullanılabilirler. Farklı renk ve opasite seçenekleri sunarlar ve ağız ortamında düşük çözünürlük gösterirler ancak diş dokusunun ya da çevre dokularının rengini yansıtırlar. Kendiliğinden kimyasal yolla polimerize olan simanlar tam seramik kronların, seramik inley ve onley restorasyonların simantasyonunda kullanılmaktadır (Zaimoğlu ve Can, 2004).

Işıkla Polimerize Olan Rezin Simanlar

Işıkla polimerize olan rezin simanlar, tek pat olarak üretildiler. Pat içeriğinde genellikle düşük viskoziteli Bis-GMA, yaklaşık 465 nm dalga boyundaki görünür ışık ile polimerizasyonu başlatan fotoaktivatör ve reaksiyon hızlandırıcı alifatik amin bulunur. Komponentler tüp içinde birlikte olmalarına rağmen ışık uygulanmadıkça polimerizasyon reaksiyonu başlamaz. Işıkla polimerize olan rezin simanlar başlangıçta UV ışıkla polimerize edilerek kullanıldılar ancak günümüzde görünür ışıkla polimerize edilerek kullanılmaktadır (de Souza ve ark., 2010). Işıkla polimerize olan rezin simanlar simantasyon sırasında kronun yerleştirilmesi ve siman artıklarının temizlenmesi için yeterli süre tanır. Kimyasal ve dual kür simanlarda zamanla oluşan renk değişimi ışıkla polimerize olan simanlarda gözlenmez. Farklı

opasite ve renk seçeneklerine sahip olması nedeniyle estetik açıdan başarılıdır. Kalınlığı 1,5-2 mm'den az görünür ışığın penetrasyonuna izin veren translusent yapıdaki seramik ve kompozit laminelerin simantasyonunda kullanılır (Zaimoğlu ve Can, 2004).

Kimyasal ve Işıkla Polimerize Olan (Dual Kür) Rezin Simanlar

Dual kür rezin simanlar günümüzde yaygın olarak kullanılan iki pat sistemli rezin esaslı yapıştırma materyalleridir. Baz; pat alifatik aminleri ve tersiyer aminleri içerir. Katalizör patta ise; kendiliğinden polimerize olan kompozitlerin amin/peroksit bileşenleri ve ışıkla polimerize olan rezinlerdeki ışığa duyarlı aktivatörler bulunur. Dual kür simanlarda sertleşme ışık etkisi ile başlayıp kimyasal polimerizasyon ile devam eder. Böylece, ışığın ulaşmakta yetersiz kaldığı alanlarda devam eden kimyasal polimerizasyon ile tüm simanın sertleşmesi sağlanır. Dual kür rezin simanların kimyasal sertleşme hızı düşüktür bu sayede rahat çalışma olanağı ve kontrollü bir polimerizasyon sağlanır (Lu ve ark., 2005).

Rezin Simanların Adeziv Sistemlerine Göre Sınıflandırılması

Diş Hekimliğinde Bağlanma ve Bağlayıcı Sistemler

Adeziv diş hekimliği diş dokuları ile etkili bağ kuran materyallerin geliştirilmesine dayanır. İki materyalin adezyonu; ara yüzeylerinin birbirleriyle kesin bir şekilde teması olarak ifade edilebilir. Adeziv terminolojisinde yapışma, bir maddenin diğerine bağlanmasıdır. Adezyonu oluşturmak amacıyla kullanılan materyale adeziv, adeziv uygulanan materyale ise 'aderent' denir. Diş hekimliği literatüründe üç farklı adezyon mekanizması vardır (Terry ve Blatz, 2011).

Kimyasal bağlanma; yapı olarak farklı olan yüzeylerin atomları arasındaki sınırlı ve zayıf bağıdır. Kovalent, iyonik ve metalik bağlar gibi birincil bağ (birleştirme kuvvetleri) değerlerine dayanır. Fiziksel bağlanma; yapısı farklı olan yüzeyler arasında Van der Waals kuvvetleri ve hidrojen bağlarından kaynaklanan zayıf bir bağlanma türüdür. Mekanik bağlanma ise; bir materyalin farklı bir materyale mikroskobik düzeyde nüfuz etmesine dayanır, pürüzlü yüzeyler arasında oluşan güçlü kilitlenmedir ve bu kilitlenmede hem geometrik hem de reolojik faktörler etkilidir. Yüzey pürüzlülüğü veya mikroskobik gözeneklerin neden olduğu mekanik yapışma geometrik faktörlere bir örnek iken malzemenin akışkan özelliklerinden

dolayı bir çıkıntı etrafındaki akışı ve büzülme ile asılı kalması reolojik faktörlere bir örnektir (Kazak ve Dönmez, 2019).

Diş hekimliğinde adhezyon teknolojisi yıllar içinde önemli gelişmeler göstermiştir. Diş hekimliğinde adhezyon teknolojisinin kullanımı ilk olarak 1955 yılında Buonocore tarafından sağlanmıştır. 1952'de Oskar Hagger tarafından icat edilen diğer bir materyal ise gliserofosforik asit ve dimetakrilat karışımı olan Servitron adındaki materyaldir, Kramer ve McLean (McLean, 2000) Servitron'nun diş yapısına kimyasal bağlanmada kullanılabileceğini belirlemiştir. Etch&rins adezivler ise 1980'li yıllarda popüler hale gelmiştir ve 1982'de Nakabayashi, monomerlerin diş yapısına infiltre olmasıyla gerçekleşen bağlanmayı önermiştir. 90'lı yılların sonlarında hibrit katman ve tek asamalı adezivler ile adeziv konsepti modernize edilmiştir (Kanca, 1992). Dentin adezivleri hem dentin dokusu hem de kompozit rezin ile bağlanabilen ara materyallerdir ayrıca dentin tübüllerini kapatarak simantasyon sonrası oluşabilecek mikro sızıntıyı ve dentin hassasiyetini önler (Youngson ve Grey, 1992).

Rezin simanlar smear tabakası ile kaplı nemli dentin yüzeyine bağlanabilmek için adeziv sistemlere ihtiyaç duymaktadır. Yıllar içinde dentin adeziv sistemleri çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır (Sofan ve ark., 2017).

Modern adeziv sistemler üç şekilde sınıflandırılmaktadır (Van Meerbeek ve ark., 2003):

- Asitlenen ve Yıkanan Adezivler (total-etch, etch&rinse)
 - Üç basamaklı total-etch sistemler (multi-step)
 - İki basamaklı total-etch sistemler (tek şişe sistemler)
- Kendinden Asitli Adezivler (self-etch)
 - İki basamaklı self-etch sistemler (self-etching primer)
 - Tek basamaklı self-etch sistemler (all-in-one, self-etching adeziv)
- Cam iyonomer adezivleri

Mine Dokusuna Bağlanma Mekanizması

Diş minesi, ağırlıkça %95 inorganik, %4 organik ve %1 su içeren ultra morfolojik yapıya sahiptir. Diş minesi, su ve organik içerikle birlikte güçlü intermoleküler bağ ve yüksek enerjili yüzeylerin bulunduğu dayanıklı kristalize yapıdaki hidroksi

apatitten oluşmaktadır. Hidroksiapatit kristalleri düzenlenerek mine prizmalarını oluşturur, yüzeyde oluşan bu aprizmatik tabaka aside karşı dayanıklı bir yapı meydana getirir. Mineye asit uygulanması yüzeyde makro ve mikro gözeneklere sahip pürüzlü bir yapının oluşmasını sağlar ek olarak yüzey alanı artar böylece hidrofobik adezivlerin bağlanması için daha uygun yüksek mineralize bir yapı meydana gelir (Nakabayashi ve ark., 1982; Toledano ve ark., 2001). Mineye asit uygulaması yüzeyden 10µm'lik kısmı ortadan kaldırır ayrıca, 5-50 µm derinlikte mikro çukurcuklar oluşmasını sağlar böylece, ıslanabilirlik, yüzey enerjisi ve toplam yüzey alanı artırılarak rezin esaslı adeziv materyaller için ideal klitlenme alanı oluşturulur. Adeziv rezin mine yüzeyindeki mikro çukurcuklara dağılır ve bu yapı içindeki rezin materyalin polimerize olmasıyla mikromekanik bağlanma sağlanır (Barkmeier ve ark., 1986).

Dentin Dokusuna Bağlanma Mekanizması

Dentin, ağırlıkça %70 inorganik bileşenlerden, %18 organik bileşenlerden ve %12 sudan meydana gelir. İnorganik yapı hidroksiapatit kristallerinden oluşur (Duke ve Lindemuth, 1990). Dentin mineye göre oldukça nemlidir ve mineden daha yumuşaktır ayrıca dentinin moleküler kuvvetleri ve yüzey enerjisi daha düşüktür (Perdigão, 2010). Dentin, çok sayıda tübül ve tübülleri saran iyi mineralize olmuş peritübüler dentin ve intertübüler dentinden oluşur. Dentinin tübül yoğunluğu derinliği bakımından değişiklik gösterir (Swift ve ark., 1995). Diş preparasyonu sırasında smear tabakası oluşur, oluşan smear tabakası dentin geçirgenliğini azaltarak adeziv materyalin dentine bağlanmasını olumsuz yönde etkiler (Pashley ve ark., 1981). Dentine bağlanma mikromekanik ve kimyasal olarak gerçekleşir. Dentine adezyonu sağlamak için ilk önce dentin yüzeyi ve tübüllerinin demineralize edilerek kollajen yapının ortaya çıkarılması gerekmektedir. Bu amaçla dentin adeziv sistemlerinde bir asit uygulaması bulunmaktadır. Asit uygulaması sonrası dentin yapısındaki kollajen fibriller açığa çıkar ve adeziv rezinin dentin kanalları içine infiltrasyonu gerçekleşir (Perdigao ve ark., 2014).

Asitle ve Yıkama (Total Etch / Etch & Rinse) Sistemlerle Birlikte Kullanılan Resin Simanlar

Etch & rinse sistemleri, rezin bonding sistemlerinin en eskisidir. Asitle ve yıkama adeziv sistemi ikiye ayrılır. Üç aşamalı geleneksel asitle ve yıkama sistemde sırasıyla

asit, primer ve bond uygulaması yapılmaktadır. Asit uygulamasında mine ve dentine %30-40'lık fosforik asit uygulanır. Uygulama aşamalarını azaltmak amacıyla primer ve bond'un tek şişede birleştirildiği iki basamaklı total-etch sistemler üretilmiştir. İki aşamalı asitle ve yıka adeziv sistemlerinde asitleme sonrası aynı şişedeki primer ve bond uygulanır. İki ve üç adımlı asitle ve yıka adeziv sistemlerinde bağlanma mekanizması aynıdır (Alex, 2012).

Üç aşamalı total etch adeziv sistemleri ise 1990'ların başında tanıtılmıştır (Deliperi ve ark., 2007). Bu sistem asitle aşındırma, astarlama ve ayrı bir yapıştırıcının uygulanması aşamalarını içerir. Üç aşamadan her biri bağlanan her ara yüzün hibrit katman adı verilen hidrofobik yapışkan bir tabaka ile kapalanmasını sağlar. Etch & rinse adezivler, asit uygulanması sonrasında smear tabakasını ve smear plaklarını uzaklaştıran zorunlu bir durulama prosedürü içerir. Minenin asitle aşındırılması, hidroksiapatit kristallerini seçici olarak çözerek kılcal çekim yoluyla hidrofobik bonding ajanlar tarafında kolayca nüfuz edilen makro ve mikro gözenekleri oluşturur (Gwinnett ve Matsui, 1967).

Total-etch rezin simanlar dentin ve mineyi aşındırmak amacıyla %30-%40 oranında seyreltilmiş ortofosforik asit kullanır. Asitle aşındırma işlemi smear tabakasını kaldırır ve dentin tübülleri açılır. Asitleme sonrasında preparasyona adeziv uygulanarak rezin simanın dişe bağlanması sağlanır. Resin siman ile birlikte kullanılan adeziv sistemi ışıkla veya dual polimerizasyon yöntemiyle sertleştirilebilir (Ferracane ve ark., 2011). Total-etch rezin simanlar, rezin bazlı simanların bağlanma dayanımını mineye bağlanma kuvveti seviyesine yükseltmiş ve mikro sızıntıyı önemli ölçüde azaltmıştır (Swift Jr ve Bayne, 1997). Bu kategorideki sistemler en yüksek siman-diş bağlantı dayanımı sağlar ancak seramik, kompozit rezin veya metali dişe bağlamak için en fazla adımı gerektirir. Bu çok adımlı uygulama tekniği karmaşıktır ve her adım sistemin bağlama etkinliğini tehlikeye atabilecek olası bir kontaminasyona sebep olabilir (Burgess ve ark., 2010).

Kendinden Asitli (Self-Etch Adezivler) Bağlayıcı Sistemlerle Birlikte Kullanılan Resin Simanlar

Çok aşamalı adeziv sistemlerin uygulama zorluklarını ortadan kaldırmak, uygulama süresini kısaltarak teknik duyarlılığı azaltmak amacıyla self-etch adeziv sistemleri piyasaya sürülmüştür. Self-etch adeziv sistemleri tek veya iki basamaklı olarak

uygulanabilmektedir. İki adımlı sistemde, asit ve primer birleştirilmiştir, self-etch primer ve bond olmak üzere iki ayrı şişeden oluşmaktadır. Tek aşamalı sistemde ise tüm bileşenler tek bir şişe içerisinde bulunmaktadır (Kugel ve Ferrari, 2000). Self-etch adeziv sistemlerin uygulama basamağının az olması, kullanımlarını daha kolay hale getirmiştir. Self-etch adeziv sistemler ayrı bir asitleme ve yıkama basamağı gerektirmezler, asit ve primer mine ve dentine aynı anda uygulanır (Tay ve ark., 2000; Tay ve Pashley, 2003). Bu kategorideki simanların diş yapısına bağlanma kuvveti total-etch simanlarındaki kadar yüksektir (Ferracane ve ark., 2011).

Self-etch sistemleri kullanımlarının kolay olmasından dolayı popüler hale gelmiştir ancak total-etch sistemlerden daha zayıf mine bağlanma dayanımı göstermiştir. Rezin simanlar ile birlikte self-etch primerlerin kullanılması uygulama sırasındaki adımları ortadan kaldırarak uygulama hatalarını ve teknik hassasiyeti azaltmış böylece kullanım kolaylığı sağlanmıştır (Cekic ve ark., 2007).

Kendinden Bağlayıcı (Self Adeziv) Rezin Simanlar

Self adeziv rezin simanlar, geleneksel simanlar ve rezin bazlı simanlardaki sınırlamaların üstesinden gelmek ve simantasyon sürecini basitleştirmek amacıyla tasarlanmıştır (Burgess ve ark., 2010). Self adeziv rezin simanlar, ayrı bir bağlayıcı veya aşındırıcı gerektirmeden diş yapısına bağlanacak şekilde tasarlanmış doldurucu polimer içeren hibrit materyallerdir (Ferracane ve ark., 2011).

Self adeziv rezin simanların ana bileşenleri; fonksiyonel asidik monomerler, geleneksel di-metakrilat monomerler, doldurucu parçacıklar, aktivatörler ve başlatıcı sistemlerdir. Asitle işlevsel hale getirilmiş metakrilat monomerler self adeziv rezin simanlarda kritik bileşendir. Dişe etkili kimyasal bağlanma, polialkenoit veya asidik monomer içeren sertleşme reaksiyonu sırasında poliasit matris yapısı oluşumuyla gerçekleşir (Hill ve Lott, 2011).

Self adeziv rezin simanlar, iki ayrı şırınga veya çift hazneli otomiks şırınga olmak üzere iki ayrı taşıyıcı formda bulunur. Bir taşıyıcı içerisinde; Bis-GMA, Bis-GMA üretan oligomerleri, UDMA, HEMA, GDMA, TEGDMA, TMPTMA gibi geleneksel mono-, di- ve / veya multi-metakrilat monomerleri bulunur. Diğer taşıyıcıda ise; diş yüzeyine demineralizasyon ve bağlanmayı sağlamak amacıyla kullanılan 4-META ve piromellitik gliserol dimetakrilat (PMGDM) gibi fonksiyonel asidik monomerler veya fosforik asit grupları bulunan 2-metakriloksietil fenil hidrojen fosfat (Fenil-P),

10-MDP, bis-(2-metakriloksietil) asit fosfat (BMP) ve dipentaeritritol pentaakrilat monofosfat (Penta-P) gibi her iki karboksilik asit grubuna sahip (met)akrilat monomerleri bulunur. Bileşimde ağırlıkça toplam %60-75 oranında inorganik doldurucu içeriği bulunmaktadır. Doldurucu içeriği; baryum floroalüminoborosilikat cam, stronsiyum kalsiyum alüminosilikat cam, kuvars, koloidal silika, iterbiyum florür ve diğer cam dolduruculardan seçilen kombinasyonlardan oluşur (Ferracane ve ark., 2011) .

Mine ve dentinin yüzey demineralizasyonunu gerçekleştirmek ve esas olarak kalsiyum içeren stabil tuz oluşumunu indüklemek amacıyla fosfat ve fosfonat esaslı birçok yeni asidik monomer geliştirilmiştir. Asidik monomer yapısı kritik derecede önemlidir. 4-Meta ve Fenil-P, kalsiyum ve hidrofobik MDP ile güçlü, suda çözünmez bir tuz kompleksi oluşturur. Oluşan tuz kompleksi ortamda bulunan kalsiyumla çözünmeye karşı daha sınırlı stabiliteye sahip kalsiyum kompleksi üretir. Self adeziv rezin siman karıştırıldıktan sonra başlangıçta oldukça hidrofildir, bu özelliği diş yüzeyini ıslatmasını ve yüzey adaptasyonunu kolaylaştırır. Ancak fonksiyonel asidik monomerlerin diş yapısındaki kalsiyum ve inorganik dolduruculardan salınan çeşitli metal oksitlerle reaksiyona girerek asit işlevselliğinin azalmasıyla başlangıçta hidrofilik olan siman daha hidrofobik hale gelir. Siman içeriğindeki asidik monomerler diğer bileşenler ile ayrı taşıyıcılar içinde bulunmak zorundadır. Asidik monomerler, erken asit-baz etkileşimi olasılığı nedeniyle iyon salan cam doldurucu maddelerden ve ışıkla reaksiyon başlatma mekanizmasında kullanılan üçüncül aminlerden ayrı izole halde bulunmalıdır. Kendiliğinden sertleşme mekanizmasında görev alan kimyasal bileşenlerde ayrı tüplerde bulunmalıdır (Van Landuyt ve ark., 2007; Stansbury, 2012).

Self adeziv rezin simanlar, self-etch adeziv sistemleri gibi bileşiminde bulunan fosforile metakrilatın diş üzerindeki su veya nemle temas ettiğinde oluşturulan düşük bir pH'a sahiptir. Bu düşük pH, dentini mineye göre daha kolay demineralize eder. Dentinde mineye göre daha yüksek bağlanma kuvvetleri meydana gelir. Demineralizasyon devam ederken siman pürüzlenmiş yüzeye nüfuz ederek polimerize olur ve yüzeyle mikromekanik bağ oluşturur. Simanın sertleşme reaksiyonu sırasında su oluşur ve oluşan bu su simanın başlangıç hidrofiliği ve asit pH'ını nötralize eder. Bazı self adeziv rezin simanlarda bileşimde bulunan asit, flor

iyonu barındıran doldurucu madde ile reaksiyona girerek ortama flor salınmasına neden olur (Manso ve Carvalho, 2017).

Self adeziv rezin simanlar, total-etch simanlar için gereken birden fazla adımı ortadan kaldırarak simantasyon prosedürünü basitleştirir, zamandan tasarruf sağlar ve en önemlisi ‘kontaminasyon penceresini’ kısaltır. Bağlanma dayanımı simanın birlikte kullanıldığı adeziv sisteme göre değişir. Total-etch simanlar genellikle en yüksek tutuculuğu sağlar, self-etch sistemler orta düzeydedir. Self adeziv simanlar self-etch sistemlerine benzer bağlanma dayanımı gösterir. Self adeziv simanlar rezin modifiye cam iyonomerlere göre daha fazla bağlanma oluşturur ve özellikle yüksek dayanıma sahip tam seramik restorasyonlarda kullanımı uygundur. Tam seramik restorasyonlar metal restorasyonlardan daha fazla oklüzal redüksiyon gerektirdiğinden preparasyonun tutuculuğu azalır. Self adeziv simanlar retansiyonu artırır ve seramik restorasyonları destekler (Burgess ve ark., 2010). Self adeziv rezin simanlar, mine ve dentine mikromekanik ve kimyasal bağlanma gerçekleştirir (Bitter ve ark., 2014), neme karşı toleransı yüksektir ve geleneksel rezin simanlardan daha düşük polimerizasyon gerilimi oluşturur (Frassetto ve ark., 2012).

2.2. Sitotoksosite

Materyalin hücre canlılığı üzerindeki etkisi biyoyumluluğun açık bir belirleyicisidir. Sitotoksosite, makromolekül sentezini inhibe eden moleküler olaylar zinciridir. Hücresel proteinlerin hücrelerin yaşamı üzerindeki etkiside dikkate alındığında hücresel bozulmayı tetiklemenin neredeyse sonsuz sayıda yolu vardır. Bu nedenle sitotoksosite karakterize edilmesi zor bir süreçtir. Dental tedavinin bir parçası olarak tüm dental bileşikler klinik olarak kullanılmadan önce maksimum doku canlılığını korumak ve sitotoksik reaksiyonların önlenmesi amacıyla test edilmelidir (Murray ve ark., 2007).

2.3. Biyoyumluluk

Biyoyumluluk “bir materyalin belirli bir uygulamada uygun bir konak yanıtı varlığında işlev görme yeteneği” olarak tanımlanır. Bu tanım konak, materyal ve materyalin beklenen fonksiyonu arasında meydana gelen etkileşimi ifade eder. Materyalin biyoyumlu olarak kabul edilebilmesi için her üç faktörün de uyumlu olması gerekir. Biyoyumluluk materyalin çevresiyle etkileşimine bağlıdır. Canlı dokuya materyal yerleştirildiğinde etrafındaki karmaşık biyolojik sistemlerle

etkileşimler meydana gelir ve bu etkileşimler bir tür biyolojik yanıtla sonuçlanır. Etkileşimler materyale, konağa, materyalin işlevine, maruz kaldığı kuvvetlere ve ortam koşullarına bağlıdır. Her durumda materyal ve konak arasında etkileşim vardır, materyalin sabitliği bu tür bir etkileşimin olmadığı anlamına gelir. “İnert” materyal olamayacağı anlaşılmaması gereken bir konudur. Vücudun bir materyale tepkisi dinamiktir bu yüzden biyouyumluluk statik değil dinamik ve devam eden bir süreçtir. İnsan vücudu hastalık veya yaşlanma ile değişmekteyken materyalde korozyon veya yorgunluk ile değişebilmektedir. Bu değişikliklerden herhangi biri başlangıçta uygun ve istenen biyolojik yanıtı oluşturan koşulları değiştirebilir. Materyal, konakçı ve materyalin işlevi arasındaki etkileşimler sürekli bu nedenle bir materyale biyolojik tepki devam eden bir süreçtir. Biyouyumluluk tek başına materyalin bir özelliği değil, aynı zamanda çevresiyle etkileşimdeki materyalin bir özelliğidir (Wataha, 2001).

2.3.1. Biyouyumluluk Değerlendirmesinde Hasta ve Personel Güvenliği

Diş hekimliği personelinin biyomateryallere karşı advers reaksiyon riski hastalara göre daha fazla olabilmektedir. Dental rezinler özellikle akrilikler ve kauçuk ürünler esas olarak dişhekimliği personelinde olumsuz reaksiyonlara neden olmaktadır. Kuruma, çatlama ve dökülme, kaşıntı, tahriş ve şişme gibi el ve parmak ucu reaksiyonlarının yanı sıra 14 yıl metakrilatlara maruz kalım sonrası genel nöropati bildirilmiştir (Sadok ve ark., 1999; Scott ve ark., 2004). Rezin esaslı dental materyallerin mukoza tahrişi, epitel proliferasyonu ve oral likenoid reaksiyonlar gibi oral mukoza üzerinde olumsuz reaksiyonlara neden olabileceği bildirilmiştir (Hensten-Pettersen, 1998).

Dental materyallere, özellikle alaşımlar ve rezin esaslı materyallere karşı alerjik reaksiyonlar bildirilmiştir (Garner, 2004; Gonçalves ve ark., 2006). Bu reaksiyonlar esas olarak polimetil metakrilat (PMMA) esaslı protez materyallerine karşı gelişen alerjiye bağlı protez stomatitidir. PMMA alerjisi olan hastalar için hipoalerjenik protez kaide materyalleri geliştirilmiştir ve bu materyaller PMMA’dan çok daha düşük artık monomer içerir (Pfeiffer ve Rosenbauer, 2004).

Diş hekimliğinde son yıllarda estetik talebin artmasıyla estetik gereksinimleri karşılaması, mine ve dentine daha iyi bağlanma sağlaması nedeniyle rezin esaslı materyallerin kullanımı artmıştır. Ancak kompozit rezin bileşenlerinin rezinden

salındığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Lee ve ark., 1998; Michelsen ve ark., 2003). Polimerize edilmemiş monomerler tükürük içine sızabilmekte (Baker ve ark., 1988; Arenholt-Bindslev ve ark., 1999) ve advers reaksiyonlara sebep olabilmektedir (Hensten-Pettersen, 1998). Kompozit rezin materyallerin diş hekimlerinde %7 üzerindeki bir oranda erişkin el egzaması ve tahriş edici kontakt dermatit gibi cilt tepkilerine neden olduğu bildirilmiştir (Ortengren, 2000). Koruyucu eldivenlerdeki kauçuk kimyasalları ve doğal lateks ile restoratif materyal (met)akrilatları, diş hekimliği kliniklerinde çalışan hemşirelerde alerjik kontakt dermatit, kontakt ürtiker ve tahriş edici kontakt dermatit gibi cilt tepkilerine neden olmaktadır (Alanko ve ark., 2004). Dental rezinler diş teknisyenlerinde advers reaksiyonların ana nedenir ve genel olarak advers reaksiyonların %12'si rezin kaynaklıdır (Scott ve ark., 2004).

2.3.2. Biyouyumluluk Test Standartları

Dental materyallerin kullanımını kontrol eden ilk düzenleme 1979 yılında Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü (ANSI/ADA) tarafından yayınlanan 41 numaralı belgedir. Materyallerin biyolojik özelliklerini değerlendirmeye yönelik testler için standartlar yıllar içinde önemli ölçüde gelişmiştir. Günümüzde biyolojik test standartları, ANSI/ADA, Amerikan Test ve Malzemeler Topluluğu (ASTM), Avrupa Normalleştirme Komitesi (CEN) ve Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO) gibi çeşitli kuruluşlar tarafından sürdürülmektedir (Wataha, 2012).

Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO), dünya çapında ulusal standart örgütlerinin (ISO üye örgütleri) federasyonudur. ISO, biyouyumluluk çalışmalarında kullanılan test yöntemleri için standartları düzenlemiştir. Uluslararası standartlar özellikle dental materyalleri (ISO 7405) ve dental materyalleri de içeren tıbbi cihazları (ISO 10993) kapsar. ISO 7405 ve ISO 10993 kılavuzları dental materyallerin biyolojik değerlendirmesi için tavsiye edilen standart uygulamalara sahiptir.

Tıbbi cihazların biyolojik olarak değerlendirilmesi başlıklı uluslararası ISO 10993 standardı, cihaz güvenliği ve dental ve tıbbi materyallere karşı oluşacak biyolojik cevabı değerlendirmede kullanılacak test yöntemleri hakkında kapsamlı rehberlik sunmaktadır (Murray ve ark., 2007).

ISO 7405: Diş hekimliğinde kullanılan tıbbi cihazların biyouyumluluğunun prelinik değerlendirmesi ve diş hekimliği materyalleri için test yöntemleri başlığına sahiptir. Dental materyaller için agar kaplama testi, moleküler filtre testi gibi özel hücre kültürü testlerini içerir (ISO 7405(E), 2008).

ISO 10993-12: ISO 10993'ün bu bölümü, ISO 10993'ün bir veya daha fazla bölümüne uygun olarak biyolojik sistemlerde tıbbi cihaz testi için referans malzemelerin seçiminde ve numunelerin hazırlanmasında izlenecek prosedürler hakkında gereklilikleri belirtir ve rehberlik eder. ISO 10993'ün bu bölümünde test numunesi seçimi, bir cihazdan temsili bölümlerin seçimi, test numunesi hazırlama, deneyde kullanılan kontroller, referans materyallerin seçimi ve gereksinimleri ile ekstraktların (özüt) hazırlanması konularını spesifik olarak ele alır (ISO 10993-12(E), 2012).

ISO 10993-5: *In vitro* sitotoksisite testlerinin genel uygulanabilirliği ve çok çeşitli cihaz ve malzemelerin değerlendirilmesinde yaygın kullanımları nedeniyle ISO 10993'ün bu bölümünün amacı tek bir test belirtmek yerine, bir dizi adımda karar verilmesini gerektiren bir test şeması tanımlayarak en uygun testin seçilmesini sağlamaktır. Materyal özütüyle doğrudan temas testi, materyalle doğrudan temas testi ve materyalle dolaylı temas testi şeklinde üç test kategorisi listelenmiştir. Test kategorisi seçildikten sonra test edilecek numunelerin hazırlanmasının ayrıntılarını, hücre kültürlelerinin hazırlanmasını ve hücrelerin numunelere veya ekstraktlarına maruz kalma şeklini belirler (ISO 10993-5(E), 2009).

2.4. Biyouyumluluk Test Yöntemleri

1984 yılında materyallerin biyolojik değerlendirmesi için ISO 7405 (ISO 7405(E), 2008) yönergesine uygun olarak aşağıdaki sıralama önerilmiştir (Murray ve ark., 2007):

- Başlangıç Testleri
 - Sitotoksisite Testleri
 - Genotoksisite (Mutajenite) testleri
 - Östrojenisite testleri
- İkincil Testler
 - İmplantasyon testleri
 - Mukozal irritasyon testleri

- Alerji testleri
- Kullanım Testleri

Bu konseptte göre bir materyal, *in vitro* başlangıç testlerinden başlayarak *in vivo* ikincil testler ve insanlar üzerindeki preklinik ve klinik testler gibi karmaşık test yöntemine doğru verilen sırayla üç adımda test edilmelidir (Schmalz, 1998). ISO 7405 ve ISO 10993 yönergeleri dental materyallerin biyolojik değerlendirmesi için standart uygulamalar önermiştir (Murray ve ark., 2007).

2.4.1. Başlangıç Testleri

Biyouyumlu materyallere duyulan ihtiyaç toksisite testlerinin gerekliliğini ortaya koymaktadır. *In vitro* biyouyumluluk testleri canlı organizmanın dışında gerçekleştirilir. *In vitro* testlerin amacı vücut dokusu üzerine veya içine yerleştirilen materyallere karşı gelişen biyolojik reaksiyonları simüle etmektir. *In vitro* çalışmalar esas olarak bir dental materyalin sitotoksitesini veya genotoksitesini değerlendirmek amacıyla yapılır (Hanks ve ark., 1996). Materyalin etkisi; materyale maruz kalan hücrelerin sayısı, büyüme hızı, metabolik fonksiyonu veya diğer hücresel fonksiyonları ölçülerek belirlenir. Bu testler pahalı ve zaman alıcı hayvan testlerine kıyasla yeni ürünleri araştırmak için uygundur. Tekrarlanabilir ve deneysel olarak kontrol edilebilirler, hızlı ve nispeten basittirler. Etik açıdan sorun oluşturmazlar (Wataha, 2001).

Çok sayıda farklı *in vitro* test yöntemi bulunmaktadır ancak her test yöntemi temel olarak üç bileşenden oluşur (Schmalz, 1994):

- Biyolojik sistem (Hücre kültürü sistemleri)
- Hücre/materyal teması
- Toksisitenin hücreler üzerindeki etkisinin biyolojik olarak değerlendirilmesi

Biyolojik Sistem

In vitro sitotoksisite testlerinde organ kültürleri, hücre kültürleri veya hücre organelleri gibi biyolojik sistemler kullanılmaktadır. Dental materyallerin *in vitro* toksisite testi için yaygın olarak kullanılan biyolojik sistemler hücre kültürleridir. Kültür koleksiyonlarından türetilen devamlı hücre hatları veya doku eksplantlarından elde edilen birincil (primer) hücreler hücre kültürü çalışmalarında kullanılan biyolojik sistemlerdir (Schmalz, 1994). Devamlı hücre hatları kullanıma hazır halde

temin edilebilmektedir bu sayede uygulanan testin tekrarlanabilirliği bakımından birincil hücrelere göre avantaj sağlamaktadır (Johnson ve ark., 1985).

Tek tabakalı hücre kültüründe hücreler kültür ortamına ekilerek çoğaltılır ve kültür ortamında muhafaza edilir. Diş eti fibroblastları ve keratinositler, diş eti dokusuna yakın olan dental materyallerin sitotoksitesite testi için uygundur (Moharamzadeh ve ark., 2009). İnsan diş eti fibroblastları hastalardan kolayca izole edilebilir, normal kültür ortamında hızla çoğaltılabilirler ve ayrıca sitotoksitesite testlerinde yüksek hassasiyet gösterirler. Bu özelliklerinden dolayı insan diş eti fibroblastları dental materyallerin biyouyumluluk testlerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Willershausen ve ark., 1999; Issa ve ark., 2004). L929 fare fibroblastları (Schedle ve ark., 1998; Kostoryz ve ark., 2003) ve 3T3 fare fibroblastları (Hanks ve ark., 1991; Wataha ve ark., 2003) yaygın olarak kullanılan diğer hücre hatlarıdır. İnsan fibroblastları, fare fibroblastlarına göre dental materyallere karşı daha duyarlıdır (Hanks ve ark., 1981; Feigal ve ark., 1985).

Son yıllarda rezin esaslı dental materyallerin *in vitro* biyouyumluluk değerlendirmesi için insan ağız mukozasının üç boyutlu doku mühendisliği modelleri geliştirilmiştir. Tek tabakalı kültür epitel hücrelerinde insan oral mukozasında bulunan hücrelerin farklılaşmış fonksiyon ve bariyer özellikleri bulunmadığından tek tabakalı hücre kültürü sistemlerinden elde edilen sonuçların insan oral mukoza hücreleri ile klinik olarak ilişkilendirilmesi uygun olamamaktadır. Doğru bir risk değerlendirmesi elde etmek ve klinik durumu olabildiğince yakın şekilde simüle etmek için üç boyutlu oral mukoza modelleri tanıtılmıştır (Moharamzadeh ve ark., 2007; Moharamzadeh ve ark., 2008). Schmalz ve arkadaşları (Schmalz ve ark., 1997), diş hekimliğinde kullanılan metallerin mukozal irritasyonunu değerlendirmek için naylon ağ üzerinde üç boyutlu insan fibroblast ve keratinosit ko-kültür sistemini tanıtmıştır. Ayrıca naylon ağ üzerinde üç boyutlu fibroblast kültüründen oluşan *in vitro* pulpa odası şeklinde tasarlanmış başka bir test sistemi kullanmışlardır. Schuster ve arkadaşları (Schuster ve ark., 2001), dental materyallerin sitotoksitesitesini test etmek amacıyla sıgır pulpa hücrelerinin poliamid ağlar üzerinde transfeke edilmesiyle elde edilmiş üç boyutlu hücre kültürünü kullanmıştır. Bu *in vitro* modeller klinik durumu tek katmanlı hücre kültürü test modellerinden daha iyi yansıttıkları ve oral mukozanın restoratif materyallere yanıtının çoklu hücresel analizine izin verdikleri için dental

biyomateryallerin biyoyumluluk değerlendirmesi için umut verici görünmektedir. Ayrıca, hayvan testi ihtiyaını azaltabilmekte ve daha belirgin sonuçlar elde edilmesi sağlanabilmektedir (Moharamzadeh ve ark., 2009).

Hücre / Materyal Teması

Materyallerin biyolojik değerlendirilmesinde hücreler ile test materyali arasında yeterli temasın sağlanması önem taşıtmaktadır. *In vitro* sitotoksisite test yöntemlerinde hücreler ile materyal arasındaki temas üç şekilde sağlanabilmektedir (Schmalz, 1994):

- Doğrudan (Direk) temas
- Dolaylı (Bariyer) temas
- Materyal ekstraktları ile temas

Doğrudan Temas

Doğrudan temasa dayalı bir testte, test edilecek materyal hücreler veya kültür ortamı ile fiziksel temas halindedir. Suda znr materyaller doğrudan kültür ortamında çözünür ve böylece çok iyi bir materyal/hücre teması sağlanmış olur (Polyzois, 1994).

Sıvılarda çözünemeyen materyallerin hücrelerle doğrudan teması;

- Test örneğinin doku eksplantına mümkün olduğunca yakın yerleştirilmesi
- Test örneğinin yerleşik bir hücre tabakasının üzerine yerleştirilmesi
- Test rneği kültür kabının tabanına yerleştirilerek üzerine hücre süspansiyonu eklenmesi
- Hücreler doğrudan örnekler üzerinde kültürlenmesi gibi yöntemlerle sağlanabilmektedir (Schmalz ve ark., 1999).

Bu yöntemlerden hücrelerin doğrudan örnekler üzerinde kültürlenmesi yöntemi ile iyi bir hücre/materyal teması elde edilebilir (Moharamzadeh ve ark., 2009).

Dolaylı Temas

Dolaylı hücre/materyal temasına dayanan bu test sisteminde test rneği geçirgen bir ayırıcı ile hücrelerden ayrılır. Dentin, dental materyaller ile pulpa dokusu arasında ayırıcı görevi görmektedir, bu nedenle direkt temas testleri klinik tabloyu tam olarak ifade edememektedir. Bariyer test yönteminde, dentin dokusunu taklit eden ve materyal bileşenlerinin difüzyonuna izin veren çeşitli hücre kültür insert sistemleri

ayırıcı olarak kullanılır. İnsert içine yerleştirilen materyal ortamda asılı bir şekilde durur. İnsertin alt kısmında bulunan poröz bir membran ayırıcı gibi davranarak materyalden salınan bileşenlerin geçişine izin vererek ortam tabanında bulunan hücrelerle temas etmesini sağlar (Tang ve ark., 1999; Murray ve ark., 2007). Bu yöntem, materyalin fiziksel durumundan bağımsızdır, katı, yarı katı ve sıvı materyallerle kullanılabilir (Polyzois, 1994).

Tek tabakalı hücre kültürü ile kaplanmış agar tabakasına yayılan bileşenlerin sitotoksik etkilerini değerlendirmek amacıyla Agar Kaplama Tekniği olarak adlandırılan ilk dolaylı hücre/materyal teması tekniği tanıtılmıştır. Bu teknik dental materyallerin biyouyumluluk testlerinde uzun süredir sıkça kullanılmaktadır (Murray ve ark., 2007). Bu testin amacı katı materyal veya materyalin ekstraktlarından salınan bileşenlerin akut sitotoksitesini tespit etmektir. Test materyali nötr kırmızı vital boya ile boyanarak agar tabakası ile kaplanmış tek tabakalı L929 fare fibroblast hücreleri ile temas edecek şekilde yerleştirilir. 24 saatlik inkübasyondan sonra materyalden salınan toksik maddeler difüzyon bölgesi içindeki hücrelerde renk kaybına neden olur. Yayılan toksik maddelerin konsantrasyonu yeterince yüksekse hücrelerin parçalanması bölge içinde gerçekleşir. Sitotoksik tepki difüzyon görülen dekolorizasyon alanının boyutuna ve lizise uğrayarak ölen hücrelerin yüzdesine dayanan bir tepki indeksi ile belirlenir (Hensten-Pettersen, 1988).

Wennberg (Wennberg ve ark., 1979), dolaylı temas test yöntemi olarak Millipore filtrelerinde kültüre edilen hücreler kullanılmıştır. 0,45 µm çapında gözenekler içeren selüloz asetatın (milipor) filtre olarak kullanıldığı bu yöntemde, filtrenin bir tarafına test materyali diğer tarafına primer hücreler yerleştirilmiştir. Bu yöntem ağız içi temas durumunu tanımlamaktadır. Filtreden difüze olabilen bileşenlerin sitotoksik etki sonucu hücrelerde meydana getirdiği hücre hasarı nötral kırmızı ile yapılan boyama sonucunda dekolorizasyon alanı veya boyanma yoğunluğunun incelenmesiyle belirlenmiştir. Filtre incedir, hücreler gözeler içerisinde büyür böylelikle hücreler ve test materyali arasında yakın temas meydana gelir, bu sayede suda çözünmeyen salınım bileşenleri bile hücrelere ulaşabilmektedir (Moharamzadeh ve ark., 2009).

Agar Kaplama Tekniği testi ve Filtre Difüzyon Testi ISO 7405 tarafından sitotoksik test yöntemleri olarak önerilmesine rağmen, ağız ortamı bariyerlerini taklit etmek

için yeterli değildir bu nedenle, sitotoksosite testlerine yeni bir ilave test olarak Dentin Bariyer Test Yöntemi geliştirilmiştir (Tyas ve Martin, 1977). Outhwaite ve arkadaşlarının (Outhwaite ve ark., 1974) orijinal fikri dentin tübülleri yoluyla difüzyonu etkileyen faktörleri tanımlamak için yıllar boyunca geliştirilmiştir. Bu faktörler; moleküllerin büyüklüğü ve konsantrasyonu, dentin tübüllerinin yoğunluğu, dentin tübüllerinin uzunluğu, tübüllerin çapı, sıcaklığın etkisi ve pulpal hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerin ölçülmesini içerir (Meryon ve Riches, 1982; Li ve ark., 1992). *İn vitro* dentin bariyer sistemlerinin kullanılması ile ağız ortamına daha yakın durumlar taklit edilerek dentin yoluyla pulpayı etkileyen dental materyal bileşenlerinin tespiti sağlanmış olmaktadır. Dentin Bariyer Testi dentin geçirgenliğini azaltarak veya artırarak bir maddenin sitotoksik etkisini baskılayan veya yoğunlaştıran bileşiklerin belirlenmesine de yardımcı olabilir (Pashley, 1985; Gerzina ve Hume, 1993).

Ekstrakt (Özüt) Yoluyla Temas

Katı haldeki materyallerle hücreler arasındaki temas, sıvılaştırıcı ajan kullanılarak veya materyalden salınabilecek bileşenlerin bir çözücü ile ekstrakte edilmesiyle sağlanmaktadır. Ekstraksiyon tekniği restoratif materyaller, dental simanlar, amalgamlar, protez kaide materyalleri ve dentin yapıştırıcıları gibi farklı dental materyallerin sitotoksosite değerlendirmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Bouillaguet ve ark., 2002; Sun ve ark., 2018; Şişmanoğlu ve ark., 2020). Çalışmalarda ekstraksiyon aracı olarak kültür ortamı, damıtılmış su, salin gibi farklı ortamlar kullanılmaktadır (Moharamzadeh ve ark., 2009).

Ekstraksiyon; zaman, sıcaklık, yüzey alanı/hacim oranı, ekstraksiyon aracı ve malzemenin faz dengesinden etkilenen karmaşık bir süreçtir. Standart yüzey alanı ihtiyaç duyulan ekstraksiyon aracının hacmini belirlemek için kullanılabilir. Yüzey alanı numunenin tüm yüzeylerinin toplam alanını içerir. Alanı hesaplanamayan belirsiz yüzey düzensizlikleri hariç tutulabilir (ISO 10993-12(E), 2012).

Sitotoksosite Testleri

MTT Testi

Kolorimetrik MTT testi mitokondriyal dehidrojenaz aktivitelerindeki değişikliklerin hücre canlılığı üzerindeki etkilerini gösterir. Hazırlama sırasında suda çözünen

tetrazolyum tuzu sarı renklidir. Yaşayan hücrelerin mitokondrilerinde bulunan süksinat dehidrojenaz enzimine seçici olarak bağlanır ve hücre içinde suda çözünmeyen mavi-mor formazana dönüştürülür. Formazan kristalleri organik çözücülerde çözündürülür ve konsantrasyonu spektrofotometrik olarak belirlenir. MTT testi hızlı ve ucuz bir yöntem olduğu için dental materyallerin sitotoksitesini değerlendirmde kullanılan en yaygın testtir (Mosmann, 1983).

Alamar Mavisi Testi

Alamar mavisi hücre canlılığını ve hücre çoğalmasını değerlendirmek için kullanılan güvenli, toksik olmayan bir boyadır (Ahmed ve ark., 1994). Alamar mavisi testi, metabolik aktivitenin saptanmasına dayanan bir florometrik / kolorimetrik büyüme göstergesi içerir. Sistem oksidasyonu azaltan bir indikatör içerir. İndikatör hücre büyümesinden kaynaklanan büyüme ortamının kimyasal olarak azaltılmasına tepki olarak floresans hale gelir ve renk değiştirir (Nociari ve ark., 1998). Alamar mavisi çözünürdür, kültür ortamında kararlıdır ve toksik değildir bu nedenle kültürdeki hücreleri sürekli izlemek mümkündür. Ayrıca kültürdeki hücrelerin yaşama yeteneğini zamanla değiştirmez (Fields ve Lancaster, 1993).

Nötr Kırmızı Testi

Nötr kırmızı boyası canlı hücrelerde depolanır ve membran hasarından sonra ortama salınır. Bu sayede canlı hücre ölçümü yapılabilir. Nötr kırmızı testinde hayatta kalan hücrelerin oranı sadece canlı hücreler tarafından tutulan ve kontrollü lizizden sonra fotometrik olarak ölçülebilen boya içeriği ile belirlenmektedir (Borg ve ark., 1984).

LDH Testi

Bu kolorimetrik sitotoksite testi önemli membran hasarı veya sitolize maruz kaldıklarında hücreler tarafından salınan nispeten kararlı bir sitozolik enzim olan laktat dehidrojenazı (LDH) ölçer. Serbest bırakılan LDH miktarı, hasar gören veya parçalanan hücre sayısı ile orantılıdır. Sitotoksite çalışmalarında, dental materyale maruz kalan hücrelerden salınan LDH salım yüzdesi, hücrelerin kontrollü lizizi ile elde edilen maksimum LDH salımı ile karşılaştırılarak hesaplanır (Reichl ve ark., 2001; Issa ve ark., 2004).

Glutasyon Tayini

Glutasyon (GSH) bir tripeptittir ve birkaç belirleyici metabolik reaksiyona katılan serbest radikaller, oksidanlar ve elektrofiller gibi toksik maddelerin detoksifikasyonu ve inaktivasyonunda önemli rol oynayan hücre içi indirgeyici bir ajandır (Meister ve Anderson, 1983). Hücre içi GSH ile reaksiyona girerek hücrel glutasyon seviyelerinin belirlenmesine izin verebilen Monobromobiman insan hücrelerinde GSH ölçmek için tercih edilen floresant reaktif bir ajandır (Hedley ve Chow, 1994).

Rezin monomerleri TEGDMA ve UDMA, insan fibroblastlarında erken ve yaygın glutasyon azalmasına neden olmuştur. Bu sonuç monomerlerin sitotoksik gücünü göstermesi bakımından oldukça önemlidir (Stanislawski ve ark., 2003; Volk ve ark., 2006). Radikal metabolitler HEMA veya TEGDMA toksisite mekanizmalarında etkinlik gösterebilir TEGDMA'nın primer insan fibroblastlarında reaktif oksijen metabolit seviyelerini yükseltmediği bildirilmiştir (Engelmann ve ark., 2005).

Apoptoz Testleri

Apoptoz programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanabilir ve toksik bir maddeye bağlı hücre hasarına yanıt olarak ortaya çıkar. Apoptoz, hücrelerde meydana gelen biyokimyasal ve morfolojik değişiklikler nedeniyle nekrozdan farklıdır. Canlı hücreleri erken ve geç apoptotik ve nekrotik hücrelerden ayırt etmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Comet Testi (Tek Hücreli Jel Elektroforezi), annexin V konjugatları (antikor-toksin bağlayıcılar), caspase gibi proteaz aktivitesine dayanan analizler, mitokondriyal boyama kullanarak yapılan analizler, serbest radikal problemleri kullanan analizler, iyon indikatörleri kullanarak yapılan testler, esteraz substratları kullanarak yapılan analizler ve ATP/ ADP oranını ölçen analizler başlıca apoptoz değerlendirme yöntemleridir (Moharamzadeh ve ark., 2009).

Genotoksisite (Mutajenite) Testleri

Genetik toksisite veya genotoksisite genotoksinlerin çekirdek, kromozom ve DNA yapısında meydana getirdiği gen mutasyonları, kromozom anormallikleri, DNA zincir kırıkları ve DNA eklentileri gen mutasyonları, kromozom anormallikleri, klastojenite ve anöploid gibi hasarların incelenmesini içerir. Genotoksisite testleri, materyallerin mutajenik ve karsinojenik potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Genotoksik etki genotoksik maddelerin DNA'da hasar meydana

getirmesi olarak tanımlanmaktadır. Mutajenler, doğrudan veya genomik bilgilere göre sentezlenen proteinlere bağlanarak DNA molekülünde mutasyonlara sebep olur.

Genetik toksisite veya genotoksisite testleri 1970'lerden bu yana kullanılmaktadır. Günümüze kadar mutajenik ve genotoksik maddelerin karsinojenik potansiyellerini ölçebilmek için birçok genotoksisite testi geliştirilmiştir. Bu testler materyalde meydana gelen hasarları saptamak amacıyla geliştirilmiş *invitro* ve *in vivo* testlerden oluşur. En yaygın olarak kullanılan standart *in vitro* ve *in vivo* mutajenite testleri; Ames testi, Comet testi, Kromozom anormallikleri (KA) testi, Kardeş kromatit değişimi (KKD) testi ve Mikronükleus (MN) testidir.

Genotoksisite testleri ile mutajenlerin tanımlanması, insanda risk tayininin yapılması ve bu maddelere gereksiz maruziyetin önlenmesi genetik toksikolojinin başlıca amaçlarını oluşturmaktadır. Genellikle kısa dönem mutajenite testleri tarama amaçlı kullanılırken, memeli testleri ise insanda risk tayini için kullanılmaktadır (Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011).

Östrojenisite Testleri

Kimyasallar steroid hormon reseptörleri ile etkileşime girebilir ve normal endokrin fonksiyonunu bozarak insan sağlığını etkileyebilir (McLachlan, 1993). Materyallerin östrojenik aktivitesini belirlemek için birkaç *in vitro* teknik vardır. Bu yöntemler arasında MCF-7 hücre çoğalma testi (E-Screen), reseptör bağlanma testi ve hücre hatları ve maya hücreleri kullanılarak yapılan raportör gen testi bulunur (Klotz ve ark., 1996).

E-Screen testi; MCF-7 meme kanseri hücrelerinin östrojenler varlığında çoğalma yeteneğine dayanmaktadır. Bu niceleyici analiz, benzer şekilde kültür ile elde edilen MCF-7 hücrelerinin östrojen yokluğunda (negatif kontrol) ve 17 β -östradiol (pozitif kontrol) varlığında östrojenik olduğundan şüphe edilen kimyasalın bir dizi konsantrasyonuyla teması sonrasında belirlenen hücre sayılarını karşılaştırır (Soto ve ark., 1995; Villalobos ve ark., 1995). Reseptör bağlanma testi; materyalin östrojen reseptörlerinin bağlanma yerlerinin sayısı ve affiniteleri üzerindeki etkisini belirler (Kurebayashi ve ark., 1987). Raportör gen testi; birbirlerine iyon bağı ile bağlı iki protein molekülünün (bir hormon reseptörü ve bir koaktivatör) hormonal aktivitesi, p-galaktosidaz aktivitesi ile tespit edilir. Memeli hücreleri ve maya hücreleri raportör gen testi için kullanılabilir. Bununla birlikte, maya bazlı reseptör testi, steroid

reseptörleri ile kimyasal etkileşimi değerlendirmek için hassas ve tekrarlanabilir bir yöntemdir (Gaido ve ark., 1997).

2.4.2. İkincil Testler

In vivo biyouyumluluk testleri, *in vitro* testlerden farklı olarak memeli hayvanlar üzerinde yapılır. Test edilecek materyal bir fareye implante edilebilir veya rat, köpek, kedi, koyun, keçi veya maymunun dişine yerleştirilebilir. Bir memeli organizması kullanılarak uygulanan testler biyolojik çevre ile materyal arasında meydana gelen birçok karmaşık etkileşimin değerlendirilmesine olanak sağlar. Bu nedenle biyolojik yanıt *in vitro* testlerde elde edilen biyolojik yanıtın daha kapsamlı ve karmaşıktır. Hayvan testlerinde değişkenleri kontrol etmek ve biyolojik yanıtı nicel olarak değerlendirmek genellikle zordur. Etik kaygılar ve hayvan hakları konuları giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Bu testler zaman alıcı ve pahalıdır ayrıca hayvanlarda uygulanan testlerde gelişen biyolojik yanıtın insanlarda benzer biyolojik yanıt oluşturabilmesi tartışmalı bir konudur.

Hayvan testleri kemik içi veya deri altı implantasyon testlerini, oral mukoz membran iritasyon testlerini ve alerji testlerini kapsar (Schmalz, 1998; Wataha, 2001).

İmplantasyon Testi

İmplantasyon çalışmalarında materyal örnekleri bir hayvanın bağ dokusu, kas veya kemiğine implante edilir. Bir süre sonra test ve kontrol materyallerine karşı gelişen doku reaksiyonu nekroz, inflamasyon, infiltrasyon, fibrojenik hücre fonksiyonu, kapsül formasyonu gelişimi bakımından değerlendirilir (Ellender ve ark., 1990).

Mukozal İritasyon Testi

Belirli materyaller sistemik immün yanıt gelişmemesine rağmen dokularda lokal inflamasyona neden olma potansiyeline sahiptir. İritasyon testleri, test hayvanının materyal ile tekrarlanan temasa doku tepkisi geliştirip geliştirmeyeceğini belirler. Ek olarak materyalin *in vitro* veya hayvanlarda iritasyon geliştirme potansiyelini ölçer ancak belirli hastaların belirli bir materyalden kaçınması gerekip gerekmediğini belirlemez (John, 2007).

Alerji Testleri

Alerji testleri, bir kişinin çevresel maddelere karşı alerjik duyarlılığını gösterir. Sık kullanılan alerji testleri cilt testleri ve yama testidir.

Cilt testleri perkütan ve intradermal olarak yapılır. Perkütan testlerde alerjen çözeltileri cilde yerleştirilir ve cilt daha sonra bir iğne ile delinir veya çizilir bu da alerjenin cilde girmesine izin verir. İntradermal test ise alerjen çözeltilerinin doğrudan cilde enjekte edilmesiyle yapılır. Her iki tip testte de kişi maddeye duyarlıysa maruz kalma bölgesinde kızarıklık, şişmiş bir nokta gelişir.

Yama testinde alerjenler beyaz yumuşak parafin içinde uygun konsantrasyonlarda hazırlanır ve daha sonra 1 cm çapında disklerle yayılır. Diskler cilde yerleştirilir ve 48 saat boyunca yerinde tutulur. 48 saat sonra diskler çıkarılır ve ciltte kızarıklık veya şişme olup olmadığı incelenir (Moharamzadeh ve ark., 2009).

2.4.3. Kullanım Testleri

Biyouyumluluk değerlendirmesi için ideal yaklaşım *in vivo* testlerin insan deneklerle yapılmasıdır. Klinik testler, ISO yönergeleri tarafından önerilen biyouyumluluk testlerinin ilk üç aşamasını başarıyla geçen materyallerle yapılabilir. Dental materyallerin klinik testleri Amerika Birleşik Devletleri Halk Sağlığı Servisi (USPHS) veya Ryge kriterlerine göre değerlendirilir (Murray ve ark., 2007). Dental materyallerin değerlendirmesinde insanlar üzerinde yapılan klinik testler "altın standart" olarak kabul edilir (Mjör, 2007).

Klinik testler, birbirinden farklı birçok tasarımda olabilir. En basit ve en ucuz klinik test hastanın materyalin performansını değerlendirdiği retrospektif testtir. Retrospektif testler doğrudan hasta muayenesi gerektirmedikleri için verimli ve daha ucuz olmalarna rağmen materyalin klinik performansı hakkında toplanabilecek bilgiler sınırlıdır. Kesitsel testler (Cross-sectional), bir hasta grubunu zaman içinde bir noktada inceler. Kesitsel testler hasta dahil etme veya hariç tutma kriterlerini tanımlar ve belirli verilerin toplanmasında standardizasyon sağlanır. Test edilen dental materyalini nasıl kullanıldığını veya önemli olabilecek ancak tedavi sırasında kaydedilmemiş değişkenleri kontrol edemez (Wataha, 2012).

Oral muköz membran irritasyon testi dışında kemik implantasyon testi, dental implantlar için kullanım testi olarak kabul edilebilir. Mevcut diğer kullanım testleri operatif diş hekimliği ve endodonti ile ilgilidir. Bu nedenle operatif materyallere, pulpa kaplama ve pulpotomi materyallerine karşı pulpa ve dentin reaksiyonlarının değerlendirilmesi için test yöntemleri geliştirilmiştir (Hensten-Pettersen, 1988).

Kullanım testleri, bir materyalin klinik denemeleridir ve materyal amaçlanan nihai kullanım şekliyle insan gönüllüye yerleştirilir. Kullanım testleri tanımı gereği materyalin nihai kullanım amacına en uygun biyouyumluluk testidir ancak pahalı, zaman alıcı, kontrol edilmesi ve elde edilen sonuçların yorumlanması son derecede zordur ayrıca yasal ve etik olarak karmaşık olabilmektedir (Wataha, 2001).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, 3 farklı dual kür self adeziv rezin simanın [Calibra Universal (Dentsply Sirona, ABD), Speedcem Plus (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein) ve Theracem (Bisco Inc., ABD)] kendiliğinden veya ışıqla polimerizasyonunun L929 (American Type Culture Collection, ABD) fare fibroblast hücreleri üzerindeki potansiyel sitotoksik etkisini değerlendirmek amacıyla ISO 10993 standardına uygun olarak gerçekleştirildi.

Çalışmamızda kullanılacak test materyallerinin hazırlanması ISO 10993-12 (ISO 10993-12(E), 2012) yönergesine uygun olarak aşağıda belirtilen sırayla gerçekleştirildi:

- Çalışmada kullanılan self adeziv rezin simanların ve özelliklerinin tanımlanması
- Self adeziv rezin simanlardan test örneklerinin hazırlanması
- Kontrol grubu materyallerinin hazırlanması
- Test örnekleri ve negatif kontrol materyali özütlerinin hazırlanması

Çalışmamızda materyallerin *in vitro* sitotoksik potansiyeli ISO 10993-5 (ISO 10993-5(E), 2009) standardına uygun olarak MTT testi ile değerlendirildi. Bu yöntemde, test materyallerinin özütleri kontrol gruplarıyla karşılaştırıldı.

Test edilecek self adeziv rezin siman örneklerinden özüt elde edilmesi, kontrol materyallerinin hazırlanması, L929 hücrelerinin test için hazır hale getirilmesi, MTT sitotoksikite testi ve hücre canlılık oranlarının belirlenmesi Orta Doğu Teknik Üniversitesi Biyomalzeme ve Doku Mühendisliği Uygulama ve Araştırma Merkezi (BIOMATEN) tarafından gerçekleştirildi.

3.1. Çalışmada Kullanılan Self Adeziv Resin Siman Materyalleri ve Özellikleri

Bu çalışmada ticari olarak temin edilebilen dual kür özelliğe sahip self adeziv rezin siman materyalleri olan TheraCem (Bisco Inc., ABD) (Şekil 3.1), Calibra Universal (Dentsply Sirona, ABD) (Şekil 3.2) ve kendiliğinden polimerizasyon özelliği iyileştirilmiş SpeedCem Plus (Ivoclar Vivadent AG, Liechtenstein) (Şekil 3.3) kullanıldı.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan dual kür self adeziv rezin siman materyali



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan dual kür self adeziv rezin siman materyali



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan dual kür self adeziv rezin siman materyali

Çalışmada kullanılan self adeziv rezin siman materyallerinin üretici firmaları, üretim numaraları (LOT) ve kimyasal içerikleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

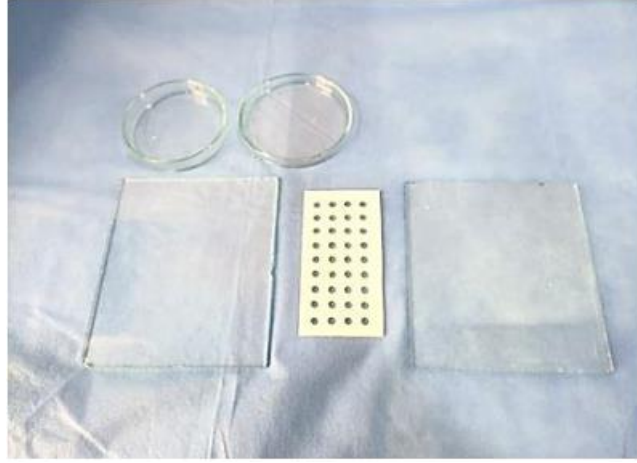
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan dual kür self adeziv rezin siman materyallerinin içerikleri, üretici firmaları ve üretim numaraları (LOT)

Materyal	Üretici Firma	Kimyasal İçerik	LOT
TheraCem Ca	Biscoİnc., Schaumburg, IL., ABD	Baz: Kalsiyum bazlı ana doldurucu, cam doldurucu, Bis-GMA (bisfenol A diglisidilmetakrilat), dimetakrilatlar, HEMA (2-hidroksietil metakrilat), yiterbium florid, polimerizasyon başlatıcılar, amorf silika. Katalist: Cam doldurucu, 10-MDP (10-metakriloiloksidesil dihidrojen fosfat), amorf silika.	2000001423
	Dentsply Sirona, Charlotte, NC, ABD	UDMA (üretan dimetakrilat), TMPTMA (trimetilolpropan trimetakrilat), bis-EMA (Bisfenol A etoksilat dimetakrilat), TEGDMA (triitilen glikol dimetakrilat), HEMA (hidroksietil metakrilat), 3-(akriloiloksi)-2-hidroksipropil metakrilat, üretan modifiye Bis-GMA (bisfenol A glikol dimetakrilat), PENTA (dipentaeritritol penttakrilat monofosfat), silane barium cam, fume silika (hacimce % 48)	00037250
SpeedCem Plus	Ivoclar Vivadent AG, Shaan, Liechtenstein	UDMA (üretan dimetakrilat), TEGDMA (triitilen glikol dimetakrilat), PEGDMA (polietilen glikol dimetakrilat), metakrilatlı fosforik asit ester, 1,10-dekandiol dimetakrilat, kopolimerler, dibenzoil peroksit, iterbiyum triflorür, baryum camı, silikon dioksit (ağırlıkça % 75/hacimce % 45)	Y45803

3.2. Test Materyallerinin Hazırlanması

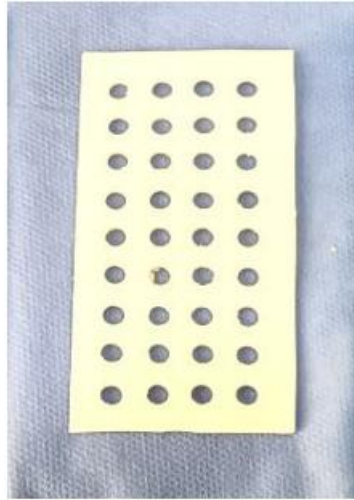
3.2.1. Siman Örneklerin Hazırlanması

Self adeziv rezin siman materyalleri otomatik karıştırıcı şırınga içerisinde akışkan halde kullanıma sunulmaktadır. Polimerizasyonu tamamlanmış katı yapıda ve standart boyutta test örneklerinin üretilmesi amacıyla 2 cam levha, 2 polyester (PET) film tabakası ve 1 teflon (politetrafloroetilen-PTFE) kalıp kullanıldı (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan teflon (PTFE) kalıp ve cam levhalar

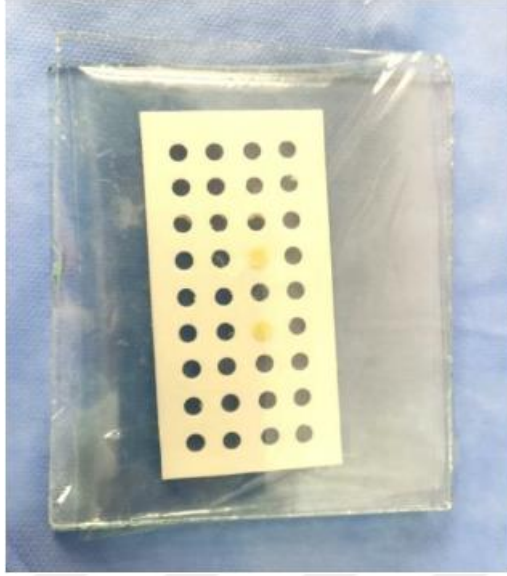
Bu çalışmada test örnekleri 5×2 mm boyutta silindirik şekilli (Krifka ve ark., 2012) olarak hazırlandı. Test örneklerinin üretilmesinde 2 mm derinliğinde ve 5 mm çapında silindirik boşluklar içeren ısıya dayanıklı teflon kalıplar kullanıldı (Şekil 3.5). Teflon kalıplar ve cam levhalar kullanılmadan önce saf su ile yıkanarak temizlendi. Daha sonra otoklavda 121°C’de 45 dakika koşulları altında sterilize edildi. PET filmler ise Ultra Viyole (UV) ışık altında 30 dakika süreyle bekletilerek sterilize edildi.



Şekil 3.5. Çalışmada kullanılan teflon (PTFE) kalıp

İlk steril cam levha üzerine PET film tabakası ve bunların üzerine teflon kalıp yerleştirildi. Şırınganın otomatik karıştırıcı ucu takıldıktan sonra bir miktar dışarı akıtılarak teflon kalıp üzerinde bulunan 5×2 mm boyutundaki 26 adet göze akışkan haldeki polimerize olmamış self adeziv rezin siman ile dolduruldu. Doldurma işlemi tamamlandıktan sonra teflon kalıbın üzeri PET film tabakası ile kaplandı, PET film

tabakası üzerinede ikinci cam levha yerleştirilerek parmak basıncıyla basınç altında tutuldu. Bu üretim düzeneğinden 6 adet elde edildi (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Test örneklerinin hazırlanmasında kullanılan üretim düzeneği

Bu çalışmada, TheraCem, SpeedCem Plus ve Calibra Universal self adeziv rezin siman materyalleri 2 farklı yöntemle (ışıkla veya kendiliğinden polimerizasyon) polimerize edilerek sitotoksite bakımından değerlendirildi. Bu amaçla self adeziv rezin simanlardan polimerizasyon yöntemine bağlı olarak 2 farklı grupta test örnekleri hazırlandı.

Işıkla Polimerize Edilen Rezin Siman Örnek Gruplarının Hazırlanması

TheraCem, SpeedCem Plus ve Calibra Universal self adeziv rezin simanların ışıkla polimerize edilen örnek grupları aşağıdaki gibi isimlendirilmiştir:

- Işıkla polimerize edilen TheraCem self adeziv rezin siman grubu: Theracem Dc
- Işıkla polimerize edilen Speedcem Plus self adeziv rezin siman grubu: Speedcem Plus Dc
- Işıkla polimerize edilen Calibra Universal self adeziv rezin siman grubu: Calibra Universal Dc

Self adeziv rezin simanlardan ışıkla polimerize edilen örnekler elde etmek için teflon kalıplarda akışkan kıvamdaki siman materyaline LED ışık kaynağı (Woodpecker Curing Light LED.F, Guilin Woodpecker Medical Instrument Co., Çin) (Şekil 3.7)

ile üretim düzeneğinin her iki yüzeyinden 20 saniye süreyle ışık uygulandı. Işıklı polimerizasyonu tamamlanan siman örnekleri teflon kalıptan ayrılarak petri kaplarına alındı. Petri kaplarına alınan tüm siman örnekleri polimerizasyon sürecini garanti altına almak amacıyla 30 dakika süreyle ışık geçirmeyen ortamda bekletildi. LED ışık kaynağı kullanılmadan önce tam şarj edildi. LED ışın cihazı Normal Mod çalışma seviyesine ayarlanarak 1200 mW/cm^2 ışık yoğunluğu elde edildi. Her ışınlamadan önce cihaz üzerindeki radyometre ile ışık yoğunluğu kontrol edilerek sürekli 1200 mW/cm^2 yoğunlukta ışık uygulanması sağlandı (Şekil 3.7)



Şekil 3.7. Çalışmada kullanılan LED ışık kaynağı ve ışık yoğunluğunun kontrol edilmesi

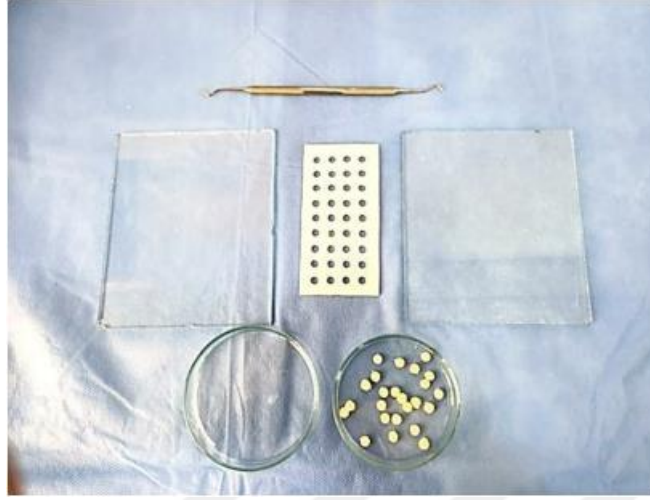
Kendiliğinden Polimerize Olan Rezin Siman Örnek Gruplarının Hazırlanması

TheraCem, SpeedCem Plus ve Calibra Universal self adeziv resin simanların kendiliğinden polimerize olan örnek grupları aşağıdaki gibi isimlendirilmiştir:

- Kendiliğinden polimerize olan TheraCem self adeziv resin siman grubu: Theracem Sc
- Kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus self adeziv resin siman grubu: Speedcem Plus Sc
- Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal self adeziv resin siman grubu: Calibra Universal Sc

Self adeziv resin simanın kendiliğinden polimerize olan örneklerini hazırlamak amacıyla akışkan haldeki simanlar teflon kalıba karıştırıcı uç ile dolduruldu. Ürtetim düzeneği ışık geçirmeyen kutu içerisine yerleştirilerek üzerlerine 1,5 kg ağırlık konuldu ve simanlar bu ortamda 6 dakika süreyle bekletilerek kendiliğinden polimerize olmaları sağlandı. Kendiliğinden polimerizasyonu tamamlanan siman örnekleri teflon kalıptan ayrılarak petri kaplarına alındı (Şekil 3.8). Petri kaplarına

alınan tüm siman örnekleri polimerizasyon sürecini garanti altına almak amacıyla 30 dakika süreyle ışık geçirmeyen ortamda bekletildi.



Şekil 3.8. Polimerizasyonu tamamlanan siman örnekleri

3.2.2. Kontrol Grubu Materyallerinin Hazırlanması

Her sitotoksosite testi pozitif kontrol, negatif kontrol ve çözelti kontrolü grubu içermektedir. Bu çalışmada hazırlanan pozitif ve negatif kontrol grupları rezin siman örneklerinin MTT testinden elde edilen canlı hücre sayılarının karşılaştırılması amacı ile kullanılmıştır. Pozitif, negatif ve çözelti kontrol gruplarının hazırlanmasında kullanılan materyaller ve hazırlanmaları aşağıda verilmiştir.

Pozitif Kontrol Grubu

Özütü ya da kendisi hücrelere uygulandığında hücre canlılığını tamamen engelleyen kontroldür. DMSO (Dimetil sülfoksit, Sigma-Aldrich, Almanya) rensiz ve sıvı halde bulunan önemli bir polar çözücüdür. Bu çalışmada pozitif kontrol materyali olarak DMSO kullanılmıştır. DMSO tam besiyeri içinde çözülerek %20'lik DMSO çözeltisi hazırlandı.

Negatif Kontrol Grubu

Özütü hücrelere uygulandığında hücre canlılığını hiç etkileyemeyecek olan kontroldür. Falkon tüpler üretici firma tarafından biyouyumlu olarak hücre kültürü çalışmaları için kullanıma sunulmaktadır. Bu çalışmada negatif kontrol materyali olarak polipropilen falkon tüp (Grainer, Lp Italiana Spa, İtalya) kullanıldı.

Çözelti Kontrolü Grubu

Herhangi bir özüt ya da kimyasal eklenmeden uygulanan, hücre kültürü besiyerini içeren kontroldür.

3.3. Çalışmada Kullanılan Rezin Siman Örnek Grupları ve Negatif Kontrol Grubu Özütlerinin Hazırlanması

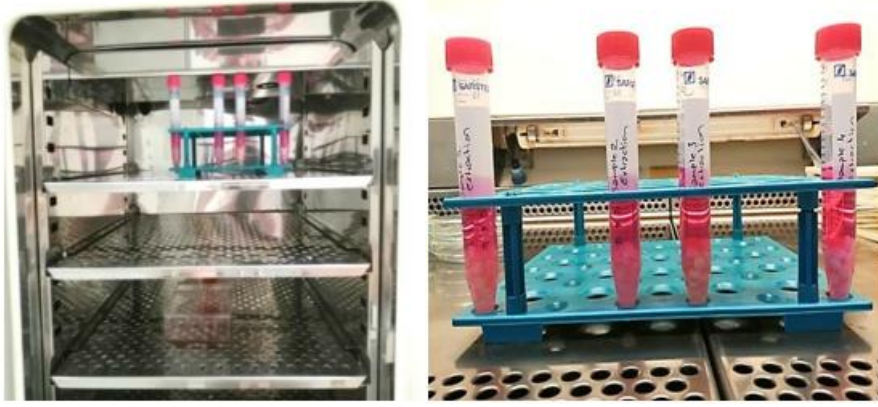
Belirli hacimlerde ekstraksiyon aracı elde etmek için özütü elde edilecek örnekler belirli toplam yüzey alanına sahip olmalıdır. ISO 10993-12 (ISO 10993-12(E), 2012) yönergesi kalınlığı 1 mm'den fazla şekilli materyaller için materyal toplam yüzey alanı/ekstraksiyon aracı hacmini 3 cm²/ml olarak belirlemiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Standart yüzey alanları ve ekstraksiyon aracı hacimleri

Kalınlık (mm)	Ekstraksiyon Oranı (Yüzey alanı /hacim)	Materyal Formu
<0,5	6 cm ² /ml	Film, levha, boru
0,5 to 1,0	3 cm ² /ml	Boru, levha, küçük kalıplanmış parçalar
>1,0	3 cm ² /ml	Daha büyük kalıplanmış ürünler
>1,0	1,25 cm ² /ml	Elastomerikler

Bu alışmada 6 ml hacimde ekstraksiyon aracı kullanıldı. Bu hacim için gerekli yüzey alanını hesaplamak amacıyla üretilen her test örneğinin yüzey alanı hasaplandı (Franz ve ark., 2007). Bu amaçla 6 ml ekstraksiyon aracı hacmi için her test örneğinden 26 adet üretildi. Böylece yönergeye uygun olarak materyal yüzey alanı (cm²) ile hücre kültür ortamı (ml) oranı %100 olarak elde edildi.

Bu çalışmada test örneklerinden özüt elde etmek amacıyla DMEM-High besiyeri kullanıldı. Bu amaçla test materyalleri ile %10 FBS (Fetal Bovine Serum, Capricorn Scientific, Almanya), 100 IU/ml penisilin-100 IU/ml streptomisin (Biosera, Fransa) ve %89,5 DMEM-High (Dulbecco's Modified Eagle Medium High, Capricorn Scientific, Almanya) kullanılarak hazırlanan 6 ml besiyeri ortamı 50 ml hacimli falkon tüpler içersine konuldu. Bu işlem 6 farklı test materyali için ayrı ayrı uygulanarak test materyali ile besiyeri ortamı 37°C ve %5 CO₂ koşulları altındaki inkubatörde (Sanyo MCO-19AIC, Japonya) 48 saat süreyle inkübe edildi (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Çalışmada kullanılan inkübatör cihazı ve test materyallerinin inkubatördeki görünümü

48 saatlik sürenin sonunda elde edilen çözelti 0,22 µm şırınga filtre ile yeni santrifüj tüplerine aktarıldı. Çözelti içindeki örnek miktarı 0,2 g/ml olarak belirlendi. 48 saat sonunda test özütünün %100 konsantrasyonundan tam besiyeri kullanılarak aşağıda verilen 4 farklı konsantrasyonda örnek özütleri hazırlandı.

- %66.7
- %44.4
- %29.6
- %19.8

Negatif kontrol özütünün elde edilmesi amacıyla negatif kontrol materyali %10 FBS %1 penisilin-streptomisin içeren DMEM-High besiyeri içinde 37°C ve %5 CO₂ koşulları altındaki inkubatörde 48 saat süreyle inkübe edildi. 48 saat sonunda elde edilen negatif kontrol özütü çalışmamızda %100 konsantrasyonda kullanıldı.

3.4. Test Örneklerinin Sterilizasyonu

Test örneklerinin sterilizasyonu, örneklerin her iki yüzünün UV ışık altında 30 dakika süreyle inkübasyonu ile gerçekleştirildi.

3.5. *In Vitro* Sitotoksosite Test Protokolü

Test materyallerinin, *in vitro* sitotoksitesinin kandidatif olarak değerlendirilmesi aşağıdaki aşamaları içermektedir:

- Hücre Kültürü Çalışması
- MTT Sitotoksosite Testi
 - Konsantrasyon (Doz) Bağımlı

- İnkubasyon Süresi (Süre) Bağımlı

3.5.1. Hücre Kültürü Çalışması

Hücre Kültürü Besiyeri Hazırlığı

Tam besiyeri hazırlamak için %10 FBS, 100 IU/ml penisilin-100 IU/ml streptomisin (Biosera, Fransa), % 89,5 DMEM-High kullanıldı. Toz haldeki DMEM-High distile su içerisinde çözöldü ve filtre edilerek cam şişeye aktarıldı. Cam şişe içerisindeki çözeltiye 100 IU/ml penisilin ve 100 IU/ml streptomisin ilave edilerek kullanılıncaya kadar +4 °C’de muhafaza edildi.

Donmuş L929 Hücrelerinin Çözölmesi ve Pasajlanması

-80°C stoğundan alınan 17. Pasaj L929 (NCTC clone 929: CCL 1, American Type Culture Collection [ATCC], ABD) hücreleri (Şekil 3.10) daha önceden hazırlanarak 37°C’ye getirilmiş 5 mL besiyeri içerisinde çözöldü.



Şekil 3.10. Çalışmada kullanılan L929 fare fibroblast hücreleri

Çözelti santrifüj cihazında (Hettich Rotofix 32, Merck, Almanya) (Şekil 3.11) 3000 rpm’de 5 dk santrifüjden sonra süpernatant (hücre üst fazı) pastör pipet (Sartorius, Sartorius AG, Almanya) ile toplanarak atıldı. Hücre peleti 1 ml besiyeri içerisinde çözölerek T75 hücre kültürü kabı (Lp Italiana Spa, İtalya) içerisine konuldu. Hücrelerin üzerine 9 ml tam besiyeri eklenerek ve 24 saat boyunca 37°C ve %5 CO₂ koşulları altındaki inkubatörde MTT testi başlatılana kadar inkübe edildi.



Şekil 3.11. Çalışmada kullanılan santrifüj cihazı

Çalışma süresince kullanılacak L929 hücre serisini canlı halde tutmak ve devamlılığının sağlanması amacıyla serinin pasajlanması gereklidir. Bu amaçla hücrelerin yapışarak çoğaldığı T75 hücre kültür kabındaki tam besiyeri aspire edilerek PBS (Phosphate Buffer Saline, Gündüz Kimya, Türkiye) ile yıkandı. PBS aspire edildikten sonra 2 ml Tripsin/EDTA solüsyonu (Sigma-Aldrich, Almanya) ilave edildi ve 37°C’de 3 dk inkübatörde bekletilerek hücrelerin flask yüzeyinden ayrılması sağlandı. Flasktan ayrılan hücre süspansiyonu pastör pipet ile falkon tüplere aktarıldı. Hücre süspansiyonu oda sıcaklığında 3000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra süpernatant pastör pipetle toplanarak atıldı. Hücre peleti 1 mL besiyeri içerisinde çözülerek T75 hücre kültürü kabına aktarıldı. Yeni pasaj için hücre sayım cihazında (NucleoCounter NC-100, ChemoMetec, Danimarka) (Şekil 3.12) hücre sayımı yapılarak 9 ml tam besiyeri içerisinde 1×10^5 hücre olacak şekilde flaska konuldu. Hücre serisinin devamlılığı sağlamak için hücre çoğalması izlenerek bu işlemler her iki günde bir tekrar edildi.



Şekil 3.12. Çalışmada kullanılan hücre sayım cihazı

3.5.2. MTT Sitotoksisite Testi

MTT (Sigma-Aldrich, Almanya) renksiz besiyeri içinde uygulanmadan hemen önce çözülerek hazırlandı. 5 mg MTT takviyesiz ve fenol kırmızısı içermeyen 5 mL MEM (Minimum Eagle's Medium, Capricorn Scientific, Almanya) içinde çözülerek 1mg/ml konsantrasyonda hazırlandı. MTT hazırlandıktan sonra filtrelendi ve su banyosu (Thermomac, Türkiye) içinde 37°C'ye kadar ısıtılarak kullanım için hazır hale getirildi.

L929 hücre hattı, “Donmuş L929 Hücrelerinin Çözülmesi ve Pasajlanması” bölümünde ayrıntılı şekilde anlatıldığı gibi T75 hücre kültürü kabı içerisine konuldu, hücrelerin üzerine 9 mL tam besiyeri eklenerek 24 saat boyunca 37°C ve %5 CO₂ koşulları altında inkübe edildi. İnkübasyondan sonra L929 hücreleri hücre sayım cihazında sayılarak 96 kuyucuklu hücre kültürü plakalarının (Lp Italiana Spa, İtalya) her kuyucuğuna 1x10⁴ adet ekildi. Daha sonra kuyucuklardaki hücrelerin üstüne 100 µL tam besiyeri eklenerek 37°C ve %5 CO₂ %95 nem koşulları altında inkübatörde 24 saat inkübe edildi. 3 farklı zamanda (24, 48 ve 72 saat) test için 3 adet set hazırlandı.



Şekil 3.13. Çalışmada kullanılan ters faz kontrast mikroskop

24 saat inkübasyondan sonra L929 hücreleri mikroskop (Olympus, Japonya) (Şekil 3.13) altında kontrol edilerek kuyucuklardaki besiyerleri mikropipet yardımı ile uzaklaştırıldı. Daha sonra hücrelerin üzerine daha önce hazırlanmış olan 5 farklı konsantrasyondaki (%19,8, %29,6, %44,4, %66,7 ve %100,0) test materyali özütünden 100 µL eklendi. 96 kuyucuklu plakaya ekim çizelgesine uygun olarak her

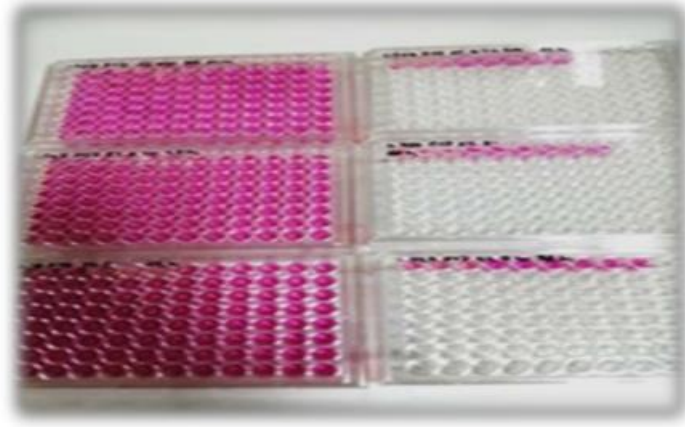
konsantrasyondan üçer adet eklendi. Çözelti kontrolü için ekim çizelgesine uygun olarak üç kuyucuktaki L929 hücreleri üzerine normal besiyeri eklendi. Pozitif kontrol için ekim çizelgesine uygun olarak üç kuyucuktaki hücrelerin üzerine 100 μ L %20 DMSO çözeltisi eklendi. Negatif kontrol için ekim çizelgesine uygun olarak üç kuyucuktaki hücrelerin üstüne 100 μ L yüksek moleküler ağırlıklı polietilen özütünden eklendi (Ek 1, Şekil 3.14).

Tüm işlemler 3 adet 96 kuyucuklu mikroplağa aynı şekilde uygulandı. L929 hücreleri mikroskop altında kontrol edildikten sonra hazırlanan üç mikropalak 37°C’de, %5 CO₂ ve %95 nem koşulları altındaki inkübatörde 24, 48 ve 72 saat süreyle inkübe edildi. Oluşturulan bu çalışma düzeneği ile test materyallerinin L929 hücreleri üzerindeki süreye ve doza bağlı potansiyel sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.



Şekil 3.14. Materyal özütü ve kontrol grubu ekimi tamamlanan 96 kuyucuklu plaka

İnkübasyon süresi tamamlanan her setteki hücrelere morfolojik değişimler için mikroskopik değerlendirme yapıldı. Daha sonra kuyucuklardaki besiyerleri çekildi ve her kuyucuk FBS çözeltisi ile yıkandı. Kuyucuklara 100 μ L serumsuz besi yeri ve 100 μ L MTT çözeltisi eklendi. MTT eklenen mikropalaklar (Şekil 3.15) 37°C’de, %5 CO₂ ve %95 nem koşulları altındaki inkübatörde 3 saat daha inkübe edildi.



Şekil 3.15. MTT çözeltisi eklenen mikrolaklar

MTT, yaşayan hücrelerin mitokondrilerinde bulunan süksinat dehidrojenaz enzimine seçici olarak bağlanır ve hücre içinde suda çözünmeyen mavi-mor formazana dönüştürülür. MTT çözeltisi eklenen mikrolakların üç saatlik inkübasyonu sonunda kuyucuklardaki MTT içeren ortam atıldı ve yerine 0,04 mol HCl (Merck, Almanya) içeren 200 μ L isopropanol (Wogens, Almanya) eklenerek 30 dakika süreyle oluşan formazan kristallerinin çözünmesi beklendi. Bu sürenin sonunda çözeltinin fotometrik ölçümü 570 nm’de mikrolaka okuyuculu spektrofotometre cihazı (Multiskan Spectrum, Thermo Fisher Scientific, ABD) ile yapıldı (Şekil 3.16).



Şekil 3.16. Çalışmada kullanılan spektrofotometre (Microplaka okuyucu)

Test ve kontrol materyali içeren kuyucukların fotometrik ölçümü yapılarak her kuyucuğun optik densite değeri belirlendi. Optik densite değeri aracılığıyla MTT kalibrasyon eğrisi (Ek 2) kullanılarak her kuyucuktaki canlı hücre sayısı hesaplandı. Test materyallerinin her bir konsantrasyonu için canlı hücre oranı ise (%) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Canlı hücre (\%)} = \frac{(\text{Örnek için hesaplanan hücre sayısı})}{(\text{Negatif kontrol için hesaplanan hücre sayısı})} \cdot 100$$

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda MTT testinden elde edilen verilerin analizi SPSS 25 (SPSS Inc., ABD) programı ile yapılmış ve %95 güven düzeyi ile çalışılmıştır. Ölçümler için ortalama (X), standart sapma (ss), minimum (Min) ve maksimum (Maks) istatistikleri verilmiştir.

Çalışmada fotometrik ölçümler sonucunda elde edilen hücre sayısının farklılık gösterdiği gruplar tek yönlü ANOVA testi ile belirlendi. Farklılık gösteren grupların çoklu karşılaştırmaları TUKEY testi ile analiz edildi. Hücre sayısındaki değişimin süreye ve konsantrasyona bağlı olarak farklılık gösterdiği gruplar tekrarlı ANOVA testi ile analiz edildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

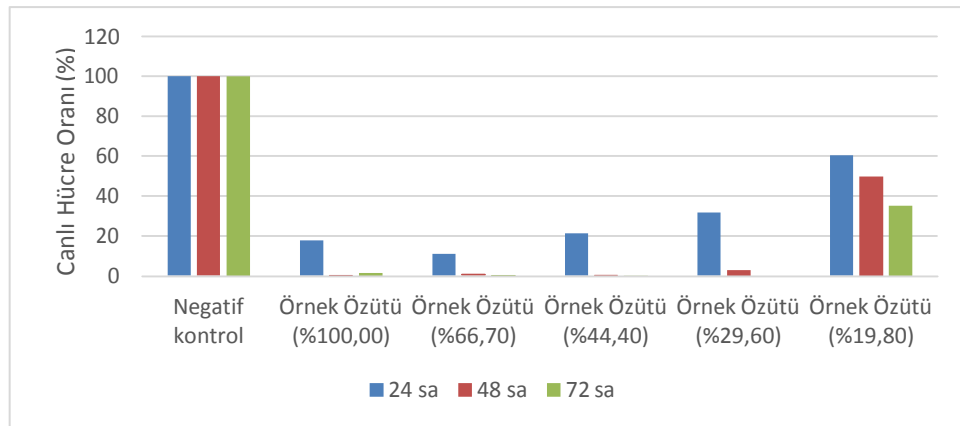
4.1. MTT Test Bulguları

4.1.1. Kendiliğinden Polimerize Olan Calibra Universal ve Kontrol Gruplarının MTT Test Bulguları

Calibra Universal Sc ve kontrol gruplarının MTT kalibrasyon eğrisi (Ek 2) kullanılarak hesaplanan 24, 48 ve 72 saat sonundaki canlı hücre sayıları Tablo 4.1’de verilmiştir. Negatif kontrol grubunun değeri % 100 olarak kabul edilerek Calibra Universal Sc’nin her konsantrasyonu için hesaplanan hücre canlılık oranları (%) Şekil 4.1’de bulunmaktadır.

Tablo 4.1. Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal ve kontrol gruplarının MTT testine göre 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen canlı hücre sayıları

Örnek	24 sa		48 sa		72 sa	
	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma
Pozitif Kontrol	0.595	0.178	0.739	0.599	0.625	0.593
Negatif Kontrol	9.723	0.697	15.539	3.990	52.046	7.804
Çözelti Kontrolü	7.682	0.335	10.872	0.577	51.830	4.866
Örnek Özütü (%100,00)	1.718	1.665	0.014	0.019	0.094	0.133
Örnek Özütü (%66,70)	1.067	0.670	0.145	0.107	0.065	0.047
Örnek Özütü (%44,40)	2.062	2.067	0.050	0.070	0.012	0.017
Örnek Özütü (%29,60)	3.082	0.493	0.427	0.493	0.000	0.000
Örnek Özütü (%19,80)	5.872	1.005	7.744	1.745	10.620	2.740



Şekil 4.1. Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen hücre canlılık oranları

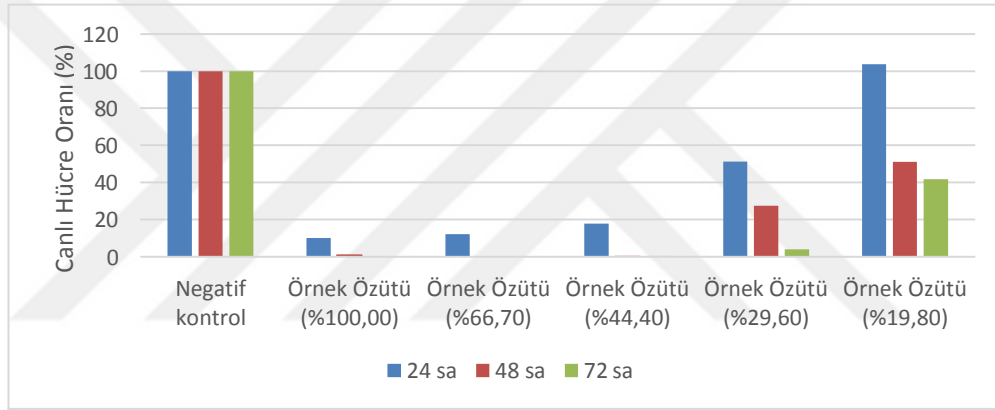
4.1.2. Işıklı Polimerize Edilen Calibra Universal ve Kontrol Gruplarının MTT Test Bulguları

Calibra Universal Dc ve kontrol gruplarının MTT kalibrasyon eğrisi (Ek 2) kullanılarak hesaplanan 24, 48 ve 72 saat sonundaki canlı hücre sayıları Tablo 4.2’de

verilmiştir. Negatif kontrol grubunun değeri % 100 olarak kabul edilerek Calibra Universal Dc'nin her konsantrasyonu için hesaplanan hücre canlılık oranı (%) Şekil 4.2'de bulunmaktadır.

Tablo 4.2. Işıklı polimerize edilen Calibra Universal ve kontrol gruplarının MTT testine göre 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen canlı hücre sayıları

Örnek	24 sa		48 sa		72 sa	
	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma
Pozitif Kontrol	0.595	0.178	0.739	0.599	0.625	0.593
Negatif Kontrol	9.723	0.697	15.539	3.990	52.046	7.804
Çözümlü Kontrolü	7.682	0.335	10.872	0.577	51.830	4.866
Örnek Özütü (%100,00)	0.969	0.285	0.198	0.280	0.000	0.000
Örnek Özütü (%66,70)	1.169	0.078	0.000	0.000	0.000	0.000
Örnek Özütü (%44,40)	1.728	0.793	0.055	0.077	0.037	0.053
Örnek Özütü (%29,60)	4.990	0.965	4.256	0.295	2.066	1.034
Örnek Özütü (%19,80)	10.082	2.544	7.933	0.577	21.753	2.596



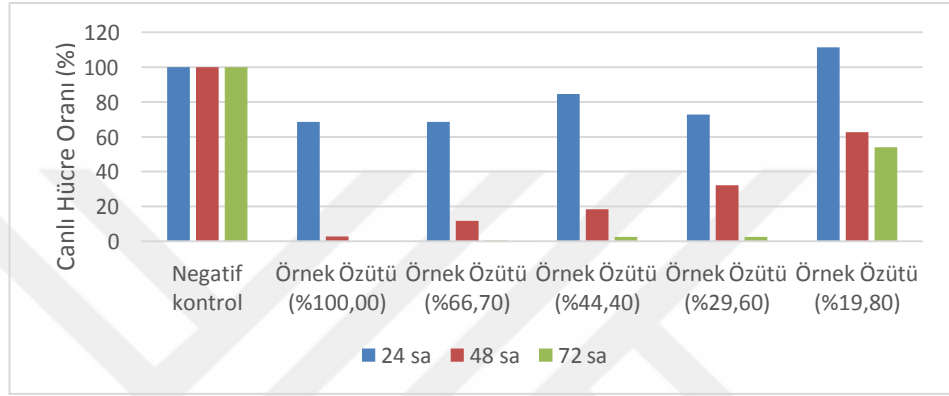
Şekil 4.2. Işıklı polimerize edilen Calibra Universal negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen hücre canlılık oranları

4.1.3. Kendiliğinden Polimerize Olan Speedcem Plus ve Kontrol Gruplarının MTT Test Bulguları

Speedcem Plus Sc ve kontrol gruplarının MTT kalibrasyon eğrisi (Ek 2) kullanılarak hesaplanan 24, 48 ve 72 saat sonundaki canlı hücre sayıları Tablo 4.3'te verilmiştir. Negatif kontrol grubunun değeri % 100 olarak kabul edilerek Speedcem Plus Sc'nin her konsantrasyonu için hesaplanan hücre canlılık oranı (%) Şekil 4.3'te bulunmaktadır.

Tablo 4.3. Kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus ve kontrol gruplarının MTT testine göre 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen canlı hücre sayıları

Örnek	24 sa		48 sa		72 sa	
	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma
Pozitif Kontrol	0.595	0.178	0.739	0.599	0.625	0.593
Negatif Kontrol	9.723	0.697	15.539	3.990	52.046	7.804
Çözelti Kontrolü	7.682	0.335	10.872	0.577	51.830	4.866
Örnek Özüdü (%100,00)	6.672	0.842	0.438	0.383	0.000	0.000
Örnek Özüdü (%66,70)	6.656	2.127	1.846	0.226	0.256	0.110
Örnek Özüdü (%44,40)	8.221	1.714	2.851	1.228	1.393	1.006
Örnek Özüdü (%29,60)	7.072	1.533	5.015	1.304	1.394	0.192
Örnek Özüdü (%19,80)	10.831	1.658	9.744	3.315	28.153	2.734



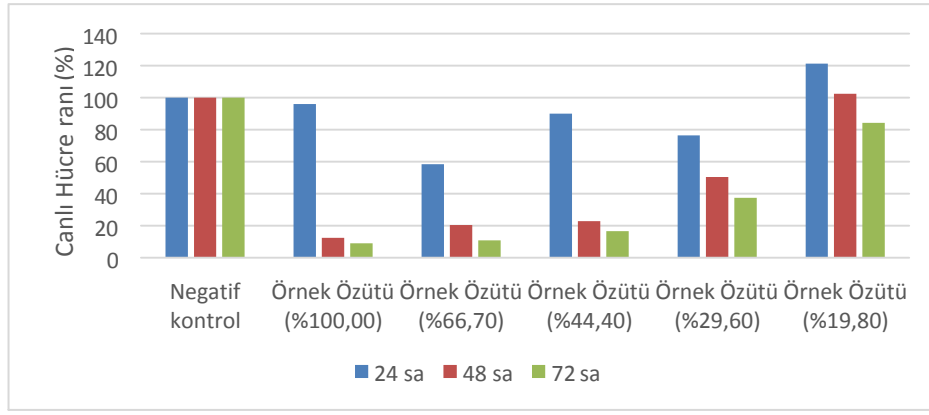
Şekil 4.3. Kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen hücre canlılık oranları

4.1.4. Işıklı Polimerize Edilen Speedcem Plus ve Kontrol Gruplarının MTT Test Bulguları

Speedcem Plus Dc ve kontrol gruplarının MTT kalibrasyon eğrisi (Ek 2) kullanılarak hesaplanan 24, 48 ve 72 saat sonundaki canlı hücre sayıları Tablo 4.4'te verilmiştir. Negatif kontrol grubunun değeri % 100 olarak kabul edilerek Speedcem Plus Dc'nin her konsantrasyonu için hesaplanan hücre canlılık oranı (%) Şekil 4.4'te bulunmaktadır.

Tablo 4.4. Işıklı polimerize edilen Speedcem Plus ve kontrol gruplarının MTT testine göre 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen canlı hücre sayıları

Örnek	24 sa		48 sa		72 sa	
	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma
Pozitif Kontrol	0.595	0.178	0.739	0.599	0.625	0.593
Negatif Kontrol	9.723	0.697	15.539	3.990	52.046	7.804
Çözelti Kontrolü	7.682	0.335	10.872	0.577	51.830	4.866
Örnek Özüdü (%100,00)	9.323	0.821	1.913	1.302	4.646	0.401
Örnek Özüdü (%66,70)	5.677	0.697	3.174	1.486	5.584	1.652
Örnek Özüdü (%44,40)	8.738	0.984	3.528	0.145	8.671	1.308
Örnek Özüdü (%29,60)	7.421	0.147	7.831	1.817	19.441	0.869
Örnek Özüdü (%19,80)	11.774	2.991	15.908	3.089	43.851	6.267



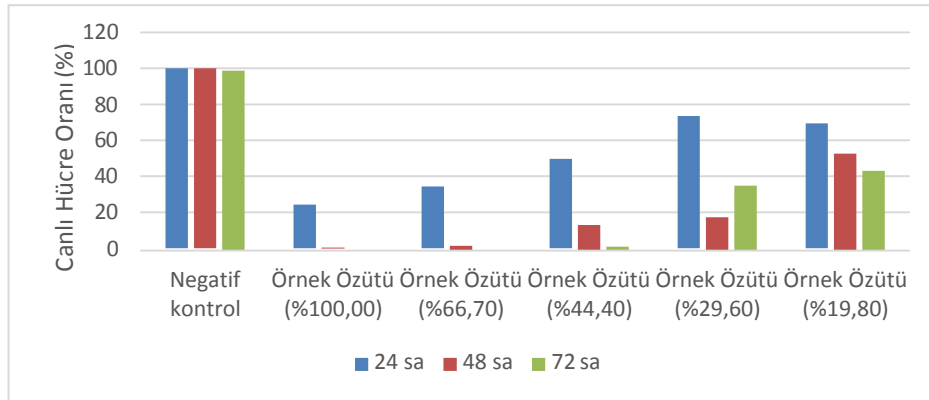
Şekil 4.4. Işıklı polimerize edilen Speedcem Plus negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen hücre canlılık oranları

4.1.5. Kendiliğinden Polimerize Olan Theracem ve Kontrol Gruplarının MTT Test Bulguları

Theracem Sc ve kontrol gruplarının MTT kalibrasyon eğrisi (Ek 2) kullanılarak hesaplanan 24, 48 ve 72 saat sonundaki canlı hücre sayıları Tablo 4.5'te verilmiştir. Negatif kontrol grubunun değeri % 100 olarak kabul edilerek Theracem Sc'nin her konsantrasyonu için hesaplanan hücre canlılık oranı (%) Şekil 4.5'te bulunmaktadır.

Tablo 4.5. Kendiliğinden polimerize olan Theracem ve kontrol gruplarının MTT testine göre 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen canlı hücre sayıları

Örnek	24 sa		48 sa		72 sa	
	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma
Pozitif Kontrol	0.595	0.178	0.739	0.599	0.625128205	0.593499744
Negatif Kontrol	9.723	0.697	15.539	3.990	52.04564103	7.804134173
Çözelti Kontrolü	7.682	0.335	10.872	0.577	51.83025641	4.866085724
Örnek Özütü (%100,00)	2.349	1.300	0.014	0.019	0.000	0.000
Örnek Özütü (%66,70)	3.349	1.894	0.421	0.212	0.000	0.000
Örnek Özütü (%44,40)	4.826	1.536	2.205	0.923	1.117	0.171
Örnek Özütü (%29,60)	7.149	2.177	2.892	0.283	18.794	2.711
Örnek Özütü (%19,80)	6.749	0.225	8.385	1.209	23.056	2.652



Şekil 4.5. Kendiliğinden polimerize olan Theracem negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen hücre canlılık oranları

4.1.6. Işıklı Polimerize Edilen Theracem ve Kontrol Gruplarının MTT Test Bulguları

Theracem Dc ve kontrol gruplarının MTT kalibrasyon eğrisi (Ek 2) kullanılarak hesaplanan 24, 48 ve 72 saat sonundaki canlı hücre sayıları Tablo 4.6’da verilmiştir. Negatif kontrol grubunun değeri % 100 olarak kabul edilerek Theracem Dc’nin her konsantrasyonu için hesaplanan hücre canlılık oranı (%) Tablo 4.7’de bulunmaktadır.

Tablo 4.6. Işıklı polimerize edilen Theracem ve kontrol gruplarının MTT testine göre 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen canlı hücre sayıları

Örnek	24 sa		48 sa		72 sa	
	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma	Hücre Sayısı (x10 ³)	Standart Sapma
Pozitif Kontrol	0.595	0.178	0.739	0.599	0.625	0.593
Negatif Kontrol	9.723	0.697	15.539	3.990	52.046	7.804
Çözelti Kontrolü	7.682	0.335	10.872	0.577	51.830	4.866
Örnek Özüdü (%100,00)	3.005	0.792	2.764	0.518	0.000	0.000
Örnek Özüdü (%66,70)	4.785	0.317	3.215	1.081	2.774	0.647
Örnek Özüdü (%44,40)	8.456	2.016	4.695	0.192	3.397	0.946
Örnek Özüdü (%29,60)	8.020	1.344	10.600	2.494	0.000	0.000
Örnek Özüdü (%19,80)	5.210	3.239	6.723	3.296	27.564	3.780

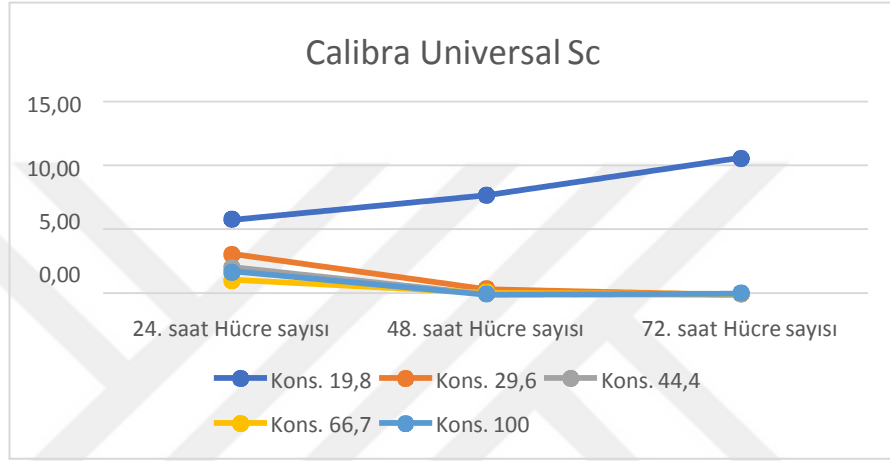
Tablo 4.7. Işıklı polimerize edilen Theracem negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen hücre canlılık oranları

Örnek	Hücre Yüzdesi (%)		
	24 sa	48 sa	72 sa
Negatif kontrol	100	100	100
Örnek Özüdü (%100,00)	31	18	0
Örnek Özüdü (%66,70)	49	21	5
Örnek Özüdü (%44,40)	87	30	7
Örnek Özüdü (%29,60)	82	68	0
Örnek Özüdü (%19,80)	54	43	53

4.2. İstatistiksel Analiz Bulguları

4.2.1. Kendiliğinden Polimerize Olan Calibra Universal'in Farklı Zaman ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Calibra Universal Sc örneğin farklı zaman ve konsantrasyonlardaki hücre sayısının (Şekil 4.6) karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.6. Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal'in farklı konsantrasyonlardaki hücre sayısının zamana göre değişimi

Tablo 4.8. Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal'in süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Grup	Konsantrasyon (%)	24. saat Hücre sayısı	48. saat Hücre sayısı	72. saat Hücre sayısı
Calibra Universal Sc	19,8 ₁	5,87±1,23	7,74±2,14	10,62±3,36
	29,6 ₂	3,08±0,6	0,43±0,6	0±0
	44,4 ₃	2,06±2,53	0,05±0,09	0,01±0,02
	66,7 ₄	1,07±0,82	0,15±0,13	0,06±0,06
	100 ₅	1,72±2,04	0,01±0,02	0,09±0,16
p değeri		0,033*	0,000*	0,000*
İkili Karşılaştırma		1-3	1-2	1-2
		1-4	1-3	1-3
		1-5	1-4	1-4
			1-5	1-5

*($p<0,05$); Tek Yönlü ANOVA, TUKEY

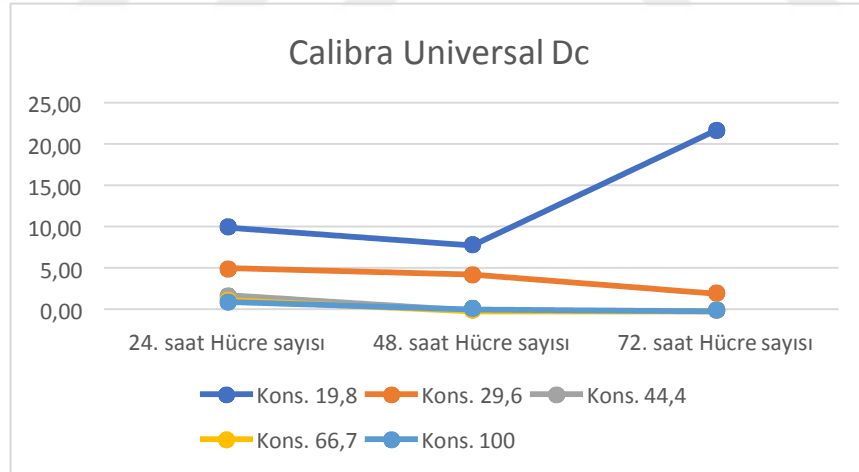
24. saat hücre sayısı, konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla iken %66,7 konsantrasyonda hücre sayısı en azdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %44,4; %66,7 ve %100 konsantrasyondaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

48. saat hücre sayısı, konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla iken %100,0 konsantrasyonda hücre sayısı en azdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6; %44,4; %66,7 ve %100 konsantrasyondaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

72. saat hücre sayısı, konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre en fazla iken %29,6 konsantrasyonda hücre sayısı sıfırdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6; %44,4; %66,7 ve %100 konsantrasyonlardaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

4.2.2. Işıklı Polimerize Edilen Calibra Universal'in Farklı Zaman ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Calibra Universal Dc örneğin farklı zaman ve konsantrasyonlardaki hücre sayısının (Şekil 4.7) karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.7. Işıklı polimerize edilen Calibra Universal'in farklı konsantrasyonlardaki hücre sayısının zamana göre değişimi

24. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla iken %100,0 konsantrasyonda hücre sayısı en azdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6; %44,4; %66,7 ve %100 konsantrasyondaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

%29,6 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %44,4; %66,7 ve %100 konsantrasyonlardaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

Tablo 4.9. Işıklı polimerize edilen Calibra Universal’ın süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Grup	Konsantrasyon (%)	24. saat Hücre sayısı	48. saat Hücre sayısı	72. saat Hücre sayısı
Calibra Universal Dc	19,8 ₁	10,08±3,12	7,93±0,71	21,75±3,18
	29,6 ₂	4,99±1,18	4,26±0,36	2,07±1,27
	44,4 ₃	1,73±0,97	0,05±0,09	0,04±0,06
	66,7 ₄	1,17±0,1	0±0	0±0
	100 ₅	0,97±0,35	0,2±0,34	0±0
p değeri		0,000*	0,000*	0,000*
İkili Karşılaştırma		1-2	1-2	
		1-3	1-3	
		1-4	1-4	1-2
		1-5	1-5	1-3
		2-3	2-3	1-4
		2-4	2-4	1-5
		2-5	2-5	

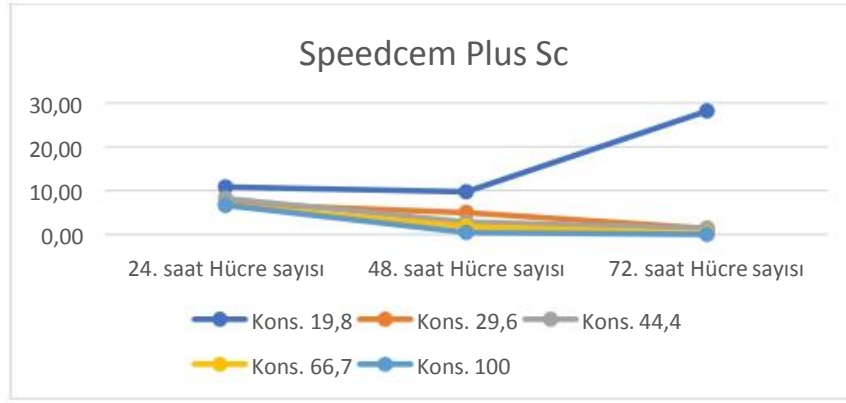
*($p<0,05$); Tek Yönlü ANOVA, TUKEY

48. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla iken %66,7 konsantrasyonda hücre sayısı sıfırdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6; %44,4; %66,7 ve %100 konsantrasyonlardaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir. %29,6 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %44,4; %66,7 ve %100 konsantrasyonlardaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

72. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla iken %66,7 ve %100 konsantrasyonda hücre sayısı sıfırdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6; %44,4; %66,7 ve %100 konsantrasyonlardaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

4.2.3. Kendiliğinden Polimerize Olan Speedcem Plus’ın Farklı Zaman ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Speedcem Plus Sc örneğin farklı zaman ve konsantrasyonlardaki hücre sayısının (Şekil 4.8) karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.10’da verilmiştir.



Şekil 4.8. Kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus'ın farklı konsantrasyonlardaki hücre sayısının zamana göre değişimi

Tablo 4.10. Kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus'ın süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Grup	Konsantrasyon (%)	24. saat Hücre sayısı	48. saat Hücre sayısı	72. saat Hücre sayısı
Speedcem Plus Sc	19,8 ₁	10,83±2,03	9,74±4,06	28,15±3,35
	29,6 ₂	7,07±1,88	5,02±1,6	1,39±0,24
	44,4 ₃	8,22±2,1	2,85±1,5	1,39±1,23
	66,7 ₄	6,66±2,61	1,85±0,28	0,26±0,13
	100 ₅	6,67±1,03	0,44±0,47	0±0
p değeri		0,025*	0,002*	0,000*
İkili Karşılaştırma		1-2	1-2	1-2
		1-3	1-3	1-3
		1-4	1-4	1-4
		1-5	1-5	1-5

*($p<0,05$); Tek Yönlü ANOVA, TUKEY

24. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla iken %66,7 konsantrasyonda hücre sayısı en azdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6; %66,7 ve %100 konsantrasyonlardaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

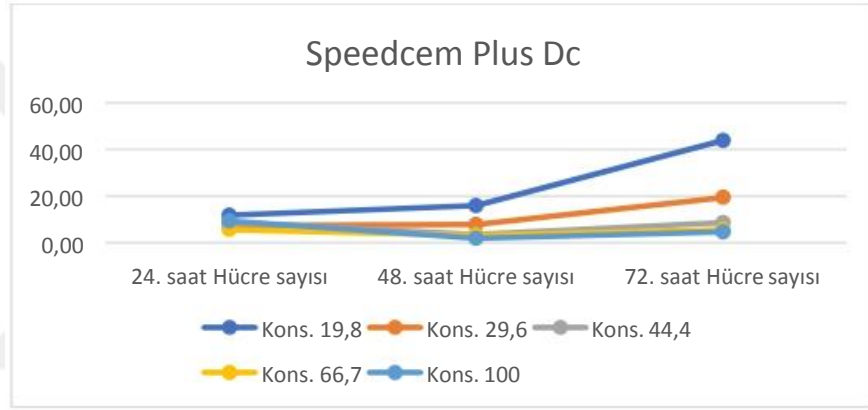
48. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla iken %100,0 konsantrasyonda hücre sayısı en azdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6; %44,4; %66,7 ve %100 konsantrasyonlardaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir. %29,6 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %100 konsantrasyondaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

72. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla

iken %100,0 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması sıfırdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6; %44,4; %66,7 ve %100 konsantrasyonlardaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

4.2.4. Işıklı Polimerize Edilen Speedcem Plus'ın Farklı Zaman ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Speedcem Plus Dc örneğin farklı zaman ve konsantrasyonlardaki hücre sayısının (Şekil 4.9) karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.11'de verilmiştir



Şekil 4.9. Işıklı olimerize edilen Speedcem Plus'ın farklı konsantrasyonlardaki hücre sayısının zamana göre değişimi

Tablo 4.11. Işıklı polimerize edilen Speedcem Plus'ın süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Grup	Konsantrasyon (%)	24. saat Hücre sayısı	48. saat Hücre sayısı	72. saat Hücre sayısı
Speedcem Plus Dc	19,8 ₁	11,77±3,66	15,91±3,78	43,85±7,68
	29,6 ₂	7,42±0,18	7,83±2,23	19,44±1,06
	44,4 ₃	8,74±1,21	3,53±0,18	8,67±1,6
	66,7 ₄	5,68±0,85	3,17±1,82	5,58±2,02
	100 ₅	9,32±1,01	1,91±1,59	4,65±0,49
p değeri		0,022*	0,000*	0,000*
İkili Karşılaştırma			1-2	1-2
			1-3	1-3
			1-4	1-4
	1-2		1-5	1-5
	1-4		2-3	2-3
	4-5		2-4	2-4
			2-5	2-5

*($p<0,05$) ; Tek Yönlü ANOVA, TUKEY

24. saat hücre sayısı, konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre en fazla iken

%66,7 konsantrasyonda hücre sayısı en azdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6 ve %66,7 konsantrasyondaki hücre sayısına ortalamasına göre daha yüksektir. %100,0 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması 66,7 konsantrasyondaki hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

48. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla iken %100,0 konsantrasyonda hücre sayısı en azdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6; %44,4; %66,7 ve %100,0 konsantrasyonlardaki hücre sayısına göre daha yüksektir. %29,6 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %44,4; %66,7 ve %100,0 konsantrasyonlardaki hücre sayısına göre daha yüksektir.

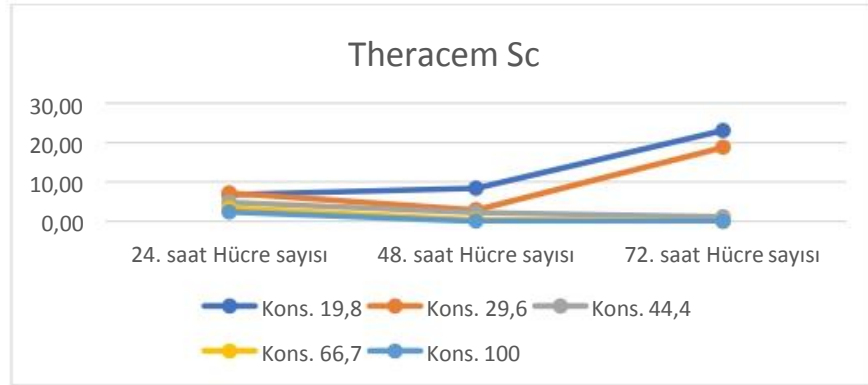
72. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla iken %100,0 konsantrasyonda hücre sayısı en azdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6; %44,4; %66,7 ve %100,0 konsantrasyonlardaki hücre sayısına göre daha yüksektir. %29,6 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %44,4; %66,7 ve %100,0 konsantrasyonlardaki hücre sayısına göre daha yüksektir.

4.2.5. Kendiliğinden Polimerize Olan Theracem'in Farklı Zaman ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Theracem Sc örneğin farklı zaman ve konsantrasyonlardaki hücre sayısının (Şekil 4.10) karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.12'de verilmiştir.

24. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %29,6 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla iken 100,0 konsantrasyonda hücre sayıs en azdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %29,6 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %19,8; %66,7 ve %100,0 konsantrasyondaki hücre sayısına göre daha yüksektir. %19,8

konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %100,0 konsantrasyondaki hücre sayısına göre daha yüksektir.



Şekil 4.10. Kendiliğinden polimerize olan Theracem'in farklı konsantrasyonlardaki hücre sayısının zamana göre değişimi

Tablo 4.12. Kendiliğinden polimerize olan Theracem'in süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Grup	Konsantrasyon (%)	24. saat Hücre sayısı	48. saat Hücre sayısı	72. saat Hücre sayısı
Theracem Sc	19,8 ₁	6,75±0,28	8,38±1,48	23,06±3,25
	29,6 ₂	7,15±2,67	2,89±0,35	18,79±3,32
	44,4 ₃	4,83±1,88	2,21±1,13	1,12±0,21
	66,7 ₄	3,35±2,32	0,42±0,26	0±0
	100 ₅	2,35±1,59	0,01±0,02	0±0
p değeri		0,049*	0,000*	0,000*
İkili Karşılaştırma			1-2	
			1-3	1-2
			1-4	1-3
			1-5	1-4
	1-5		1-5	1-5
	2-4		2-4	2-3
	2-5		2-5	2-4
			3-4	2-5
			3-5	

*($p<0,05$) ; Tek Yönlü ANOVA, TUKEY

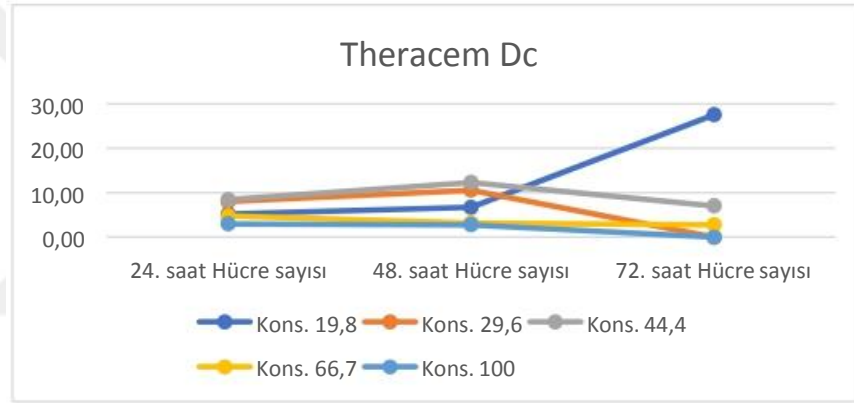
48. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla iken %100,0 konsantrasyonda hücre sayısı en azdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6; %44,4; %66,7 ve %100,0 konsantrasyonlardaki hücre sayısına göre daha yüksektir. %29,6 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %66,7 ve %100,0 konsantrasyondaki hücre sayısı göre daha yüksektir. %44,4 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %66,7 ve %100,0 konsantrasyondaki hücre sayısına göre daha yüksektir.

72. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla

iken %66,7 ve %100,0 konsantrasyonda hücre sayısı sıfırdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %29,6; %44,4; %66,7 ve %100,0 konsantrasyonlardaki hücre sayısına göre daha yüksektir. %29,6 konsantrasyonda hücre sayısı ortalaması %44,4; %66,7 ve %100,0 konsantrasyonlardaki hücre sayısına göre daha yüksektir.

4.2.6. Işıklı Polimerize Edilen Theracem'in Farklı Zaman ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Theracem Dc örneğin farklı zaman ve konsantrasyonlardaki hücre sayısının (Şekil 4.11) karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.13'te verilmiştir.



Şekil 4.11. Işıklı olimerize edilen Theracem'in farklı konsantrasyonlardaki hücre sayısının zamana göre değişimi

Tablo 4.13. Işıklı polimerize edilen Theracem'in süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Grup	Konsantrasyon (%)	24. saat Hücre sayısı	48. saat Hücre sayısı	72. saat Hücre sayısı
Theracem Dc	19,8 ₁	5,21±3,23	6,72±4,04	27,56±4,63
	29,6 ₂	8,02±1,65	10,6±3,05	0±0
	44,4 ₃	8,46±2,47	12,32±13,21	7,05±6,4
	66,7 ₄	4,78±0,39	3,22±1,32	2,77±0,79
	100 ₅	3,01±0,97	2,76±0,63	0±0
p değeri		0,067	0,314	0,000*
İkili Karşılaştırma				1-2
				1-3
				1-4
				1-5
				2-3
				3-5

*($p < 0,05$); Tek Yönlü ANOVA, TUKEY

24. ve 48. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p > 0,05$).

72. saat hücre sayısı konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Buna göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı en fazla iken %29,6 ve %100,0 konsantrasyonda hücre sayısı sıfırdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre %19,8 konsantrasyonda hücre sayısı %29,6; %44,4; %66,7 ve %100,0 konsantrasyonlardaki hücre sayısına göre daha yüksektir. %44,4 konsantrasyonda hücre sayısı %29,6 ve %100,0 konsantrasyondaki hücre sayısına göre daha yüksektir.

4.2.7. Rezin Simanların %19,8 Konsantrasyonda Farklı Sürelerdeki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Rezin simanların %19,8 konsantrasyonda farklı sürelerdeki hücre sayısının karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.14'te verilmiştir.

Tablo 4.14. Rezin simanların%19,8 konsantrasyonda süre bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Konsantrasyon (%)	Grup	24. saat Hücre sayısı	48. saat Hücre sayısı	72. saat Hücre sayısı
19,8	Calibra Universal Sc ₁	5,87±1,23	7,74±2,14	10,62±3,36
	Calibra Universal Dc ₂	10,08±3,12	7,93±0,71	21,75±3,18
	Speedcem Plus Sc ₃	10,83±2,03	9,74±4,06	28,15±3,35
	Speedcem Plus Dc ₄	11,77±3,66	15,91±3,78	43,85±7,68
	Theracem Sc ₅	6,75±0,28	8,38±1,48	23,06±3,25
	Theracem Dc ₆	5,21±3,97	6,72±4,04	27,56±4,63
p değeri		0,047*	0,030*	0,000*
İkili Karşılaştırma				1-2
				1-3
		1-3		1-4
		1-4	1-4	1-5
		2-6	2-4	1-6
		3-6	3-4	2-4
		4-5	4-5	3-4
		4-6	4-6	4-5
				4-6

*($p<0,05$); Tek Yönlü ANOVA, TUKEY

24. saat hücre sayısı örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc örneğin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalaması en küçüktür. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Theracem Dc örneğin hücre sayısı Speedcem Plus Sc ve Calibra Universal Dc örneklerin hücre sayısına göre daha düşüktür. Speedcem Plus Dc örneğin hücre sayısı Calibra Universal Sc, Theracem Sc ve Theracem Dc örneklerin hücre sayısı göre daha yüksektir. Speedcem Plus Sc

örneğin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Sc örneğin hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

48. saat hücre sayısı örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc örneğin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Theracem Dc'nin ortalaması en küçüktür. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Speedcem Plus Dc örneğin hücre sayısı ortalaması, Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc, Theracem Sc ve Theracem Dc örneklerinin hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

72. saat hücre sayısı örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc örneğin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Sc'nin ortalaması en küçüktür. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Calibra Universal Sc örneğin hücre sayısı ortalaması, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc, Speedcem Plus Dc, Theracem Sc ve Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalamasına göre daha düşüktür. Speedcem Plus Dc örneğin hücre sayısı ortalaması, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc, Theracem Sc ve Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalamasına göre daha yüksektir.

4.2.8. Rezin Simanların %29,6 Konsantrasyonda Farklı Sürelerdeki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Rezin simanların %29,6 konsantrasyonda farklı sürelerdeki hücre sayısının karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.15'te verilmiştir.

24. saat hücre sayısı örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Theracem Dc örneğin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Sc'nin ortalaması en küçüktür. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Calibra Universal Sc örneğin hücre sayısı ortalaması, Speedcem Plus Sc, Speedcem Plus Dc, Theracem Sc ve Theracem Dc'ye göre daha düşüktür. Theracem Dc örneğin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Dc'ye göre daha yüksektir.

48. saat hücre sayısı örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Sc'nin ortalaması en küçüktür. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Calibra Universal Sc'nin hücre sayısı ortalaması, Calibra

Universal Dc, Speedcem Plus Sc, Speedcem Plus Dc, Theracem Sc ve Theracem Dc'ye göre daha düşüktür. Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Sc'ye göre daha yüksektir. Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Dc ve Theracem Sc'ye göre daha yüksektir.

Tablo 4.15. Rezin simanların %29,6 konsantrasyonda süre bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Konsantrasyon (%)	Grup	24. saat Hücre sayısı	48. saat Hücre sayısı	72. saat Hücre sayısı
29,6	Calibra Universal Sc ₁	3,08±0,6	0,43±0,6	0±0
	Calibra Universal Dc ₂	4,99±1,18	4,26±0,36	2,07±1,27
	Speedcem Plus Sc ₃	7,07±1,88	5,02±1,6	1,39±0,24
	Speedcem Plus Dc ₄	7,42±0,18	7,83±2,23	19,44±1,06
	Theracem Sc ₅	7,15±2,67	2,89±0,35	18,79±3,32
	Theracem Dc ₆	8,02±1,65	10,6±3,05	0±0
p değeri		0,020*	0,000*	0,000*
İkili Karşılaştırma			1-2	
			1-3	
			1-4	1-4
			1-5	1-5
		1-3	1-6	2-4
		1-4	2-4	2-5
		1-5	2-6	3-4
		1-6	3-6	3-5
		2-6	4-5	4-6
			4-6	5-6
			5-6	

*($p<0,05$); Tek Yönlü ANOVA, TUKEY

72. saat hücre sayısı örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc örneğin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Sc ve Theracem Dc'nin ortalaması sıfırdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Dc'ye göre daha yüksektir. Theracem Sc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Dc'ye göre daha yüksektir.

4.2.9. Rezin Simanların %44,4 Konsantrasyonda Farklı Sürelerdeki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Rezin simanların %44,4 konsantrasyonda farklı sürelerdeki hücre sayısının karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.16'da verilmiştir.

Tablo 4.16. Rezin simanların %44,4 konsantrasyonda süre bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Konsantrasyon (%)	Grup	24. saat Hücre sayısı	48. saat Hücre sayısı	72. saat Hücre sayısı
44,4	Calibra Universal Sc ₁	2,06±2,53	0,05±0,09	0,01±0,02
	Calibra Universal Dc ₂	1,73±0,97	0,05±0,09	0,04±0,06
	Speedcem Plus Sc ₃	8,22±2,1	2,85±1,5	1,39±1,23
	Speedcem Plus Dc ₄	8,74±1,21	3,53±0,18	8,67±1,6
	Theracem Sc ₅	4,83±1,88	2,21±1,13	1,12±0,21
	Theracem Dc ₆	8,46±2,47	12,32±13,21	7,05±6,4
p değeri		0,001*	0,036*	0,006*
İkili Karşılaştırma		1-3		1-4
		1-4		1-6
		1-6		2-4
		2-3	1-6	2-6
		2-4	2-6	3-4
		2-6	5-6	3-6
		4-5		4-5
		5-6		5-6

*($p<0,05$); Tek Yönlü ANOVA, TUKEY

24. saat hücre sayısı örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Dc'nin hücre sayısı ortalaması en küçüktür. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Calibra Universal Sc'nin hücre sayısı ortalaması Speedcem Plus Sc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc'ye göre daha düşüktür. Calibra Universal Dc'nin hücre sayısı ortalaması Speedcem Plus Sc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc'ye göre daha düşüktür. Theracem Sc'nin hücre sayısı ortalaması Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc'ye göre daha düşüktür.

48. saat hücre sayısı örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Sc ve Calibra Universal Dc'nin ortalaması en küçüktür. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc ve Theracem Sc'ye göre daha yüksektir.

72. saat hücre sayısı örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Sc'nin hücre sayısı ortalaması en küçüktür. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Sc'ye göre daha yüksektir. Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalaması

Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Sc'ye göre daha yüksektir.

4.2.10. Rezin Simanların %66,7 Konsantrasyonda Farklı Sürelerdeki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Rezin simanların %66,7 konsantrasyonda farklı sürelerdeki hücre sayısının karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.17. Rezin simanların %66,7 konsantrasyonda süre bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Konsantrasyon (%)	Grup	24. saat Hücre sayısı	48. saat Hücre sayısı	72. saat Hücre sayısı
66,7	Calibra Universal Sc ₁	1,07±0,82	0,15±0,13	0,06±0,06
	Calibra Universal Dc ₂	1,17±0,1	0±0	0±0
	Speedcem Plus Sc ₃	6,66±2,61	1,85±0,28	0,26±0,13
	Speedcem Plus Dc ₄	5,68±0,85	3,17±1,82	5,58±2,02
	Theracem Sc ₅	3,35±2,32	0,42±0,26	0±0
	Theracem Dc ₆	4,78±0,39	3,22±1,32	2,77±0,79
p değeri		0,003*	0,002*	0,000*
İkili Karşılaştırma		1-3	1-3	1-4
		1-4	1-4	1-6
		1-6	1-6	2-4
		2-3	2-3	2-6
		2-4	2-4	3-4
		2-6	2-6	3-6
		3-5	4-5	4-5
			5-6	4-6
				5-6

*($p<0,05$); Tek Yönlü ANOVA, TUKEY

24. saat hücre sayısı örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Speedcem Plus Sc'nin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Sc'nin hücre sayısı ortalaması en küçüktür. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Calibra Universal Sc'nin hücre sayısı ortalaması Speedcem Plus Sc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc'ye göre daha düşüktür. Calibra Universal Dc'nin hücre sayısı ortalaması Speedcem Plus Sc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc'ye göre daha düşüktür. Speedcem Plus Sc'nin hücre sayısı ortalaması Theracem Sc'ye göre daha düşüktür.

48. saat hücre sayısı örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Dc'nin hücre sayısı ortalaması sıfırdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Calibra Universal Sc'nin hücre sayısı ortalaması Speedcem Plus Sc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc'ye göre daha düşüktür.

Calibra Universal Dc'nin hücre sayısı ortalaması Speedcem Plus Sc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc'ye göre daha düşüktür. Theracem Sc'nin hücre sayısı ortalaması Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc'ye göre daha düşüktür.

72. saat hücre sayısı örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Dc ve Theracem Sc'nin ortalaması sıfırdır. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc, Theracem Sc ve Theracem Dc'ye göre daha yüksektir. Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Dc'ye göre daha yüksektir. Theracem Sc'nin hücre sayısı ortalaması Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc'ye göre daha düşüktür.

4.2.11. Rezin Simanların %100 Konsantrasyonda Farklı Sürelerdeki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Rezin simanların %100,0 konsantrasyonda farklı sürelerdeki hücre sayısının karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.18'de verilmiştir.

Tablo 4.18. Rezin simanların %100 konsantrasyonda süre bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Konsantrasyon (%)	Grup	24. saat Hücre sayısı	48. saat Hücre sayısı	72. saat Hücre sayısı
100	Calibra Universal Sc ₁	1,72±2,04	0,01±0,02	0,09±0,16
	Calibra Universal Dc ₂	0,97±0,35	0,2±0,34	0±0
	Speedcem Plus Sc ₃	6,67±1,03	0,44±0,47	0±0
	Speedcem Plus Dc ₄	9,32±1,01	1,91±1,59	4,65±0,49
	Theracem Sc ₅	2,35±1,59	0,01±0,02	0±0
	Theracem Dc ₆	3,01±0,97	2,76±0,63	0±0
p değeri		0,000*	0,002*	0,000*
İkili Karşılaştırma		1-3	1-4	
		1-4	1-6	
		2-3	2-4	1-4
		2-4	2-6	2-4
		3-4	3-4	3-4
		3-5	3-6	4-5
		3-6	4-5	4-6
		4-5	5-6	
		4-6		

*($p<0,05$); Tek Yönlü ANOVA, TUKEY

24. saat hücre sayısı örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Dc'nin hücre sayısı ortalaması en küçüktür. Çoklu

karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc, Theracem Sc ve Theracem Dc'ye göre daha yüksektir. Speedcem Plus Sc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc, Theracem Sc ve Theracem Dc'ye göre daha yüksektir.

48. saat hücre sayısı örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Sc ve Theracem Sc'nin ortalaması en küçüktür. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Sc'ye göre daha yüksektir. Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Sc'ye göre daha yüksektir.

72. saat hücre sayısı örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı ortalaması en büyük iken Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc, Theracem Sc ve Theracem Dc'nin hücre sayısı ortalaması en küçüktür. Çoklu karşılaştırma için yapılan TUKEY testine göre Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı ortalaması Calibra Universal Sc, Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Sc, Theracem Sc ve Theracem Dc'ye göre daha yüksektir.

4.2.12. Kendiliğinden Polimerize Olan Calibra Universal ve Işıklı Polimerize Edilen Calibra Universal'in Farklı Süre ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Calibra Universal Sc ve Calibra Universal Dc örneklerin hücre sayısındaki değişimin süre ve konsantrasyona göre karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.19'da verilmiştir.

%19,8 konsantrasyonda 72. saatte Calibra Universal Sc ile Calibra Universal Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$) ve Calibra Universal Dc'nin hücre sayısı daha fazladır.

%29,6 konsantrasyonda 48. saatte Calibra Universal Sc ile Calibra Universal Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$) ve Calibra Universal Dc'nin hücre sayısı daha fazladır.

Tablo 4.19. Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal ve ışıkla polimerize edilen Calibra Universal'in süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Konsantrasyon %	Süre	Calibra Universal Sc	Calibra Universal Dc	p değeri
19,8	24. saat Hücre sayısı	5,87±1,23	10,08±3,12	0,083
	48. saat Hücre sayısı	7,74±2,14	7,93±0,71	0,940
	72. saat Hücre sayısı	10,62±3,36	21,75±3,18	0,011*
29,6	24. saat Hücre sayısı	3,08±0,6	4,99±1,18	0,167
	48. saat Hücre sayısı	0,43±0,6	4,26±0,36	0,018*
	72. saat Hücre sayısı	0,00±0,00	2,07±1,27	0,121
44,4	24. saat Hücre sayısı	2,06±2,53	1,73±0,97	0,838
	48. saat Hücre sayısı	0,05±0,09	0,05±0,09	0,999
	72. saat Hücre sayısı	0,01±0,02	0,04±0,06	0,991
66,7	24. saat Hücre sayısı	1,07±0,82	1,17±0,1	0,935
	48. saat Hücre sayısı	0,15±0,13	0,00±0,00	0,852
	72. saat Hücre sayısı	0,06±0,06	0,00±0,00	0,931
100,0	24. saat Hücre sayısı	1,72±2,04	0,97±0,35	0,488
	48. saat Hücre sayısı	0,01±0,02	0,20±0,34	0,765
	72. saat Hücre sayısı	0,09±0,16	0,00±0,00	0,596

*($p<0,05$); Tekrarlı ANOVA

4.2.13. Kendiliğinden Polimerize Olan Speedcem Plus ve Işıkla Polimerize Edilen Speedcem Plus'ın Farklı Süre ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Speedcem Plus Sc ve Speedcem Plus Dc örneklerin hücre sayısındaki değişimin süre ve konsantrasyona göre karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.20'de verilmiştir.

%19,8 konsantrasyonda 48. ve 72. saatte Speedcem Plus Sc ile Speedcem Plus Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı daha fazladır.

%29,6 konsantrasyonda 72. saatte Speedcem Plus Sc ile Speedcem Plus Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Speedcem Plus pDc'nin hücre sayısı daha fazladır.

%44,4 konsantrasyonda 72. saatte Speedcem Plus Sc ile Speedcem Plus Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı daha fazladır.

Tablo 4.20. Kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus ve ışıkla polimerize edilen Speedcem Plus'ın süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Konsantrasyon (%)	Süre	Speedcem Plus Sc	Speedcem Plus Dc	p değeri
19,8	24. saat Hücre sayısı	10,83±2,03	11,77±3,66	0,679
	48. saat Hücre sayısı	9,74±4,06	15,91±3,78	0,027*
	72. saat Hücre sayısı	28,15±3,35	43,85±7,68	0,001*
29,6	24. saat Hücre sayısı	7,07±1,88	7,42±0,18	0,793
	48. saat Hücre sayısı	5,02±1,6	7,83±2,23	0,066
	72. saat Hücre sayısı	1,39±0,24	19,44±1,06	0,000*
44,4	24. saat Hücre sayısı	8,22±2,1	8,74±1,21	0,751
	48. saat Hücre sayısı	2,85±1,5	3,53±0,18	0,882
	72. saat Hücre sayısı	1,39±1,23	8,67±1,6	0,007*
66,7	24. saat Hücre sayısı	6,66±2,61	5,68±0,85	0,443
	48. saat Hücre sayısı	1,85±0,28	3,17±1,82	0,107
	72. saat Hücre sayısı	0,26±0,13	5,58±2,02	0,000*
100,0	24. saat Hücre sayısı	6,67±1,03	9,32±1,01	0,026*
	48. saat Hücre sayısı	0,44±0,47	1,91±1,59	0,031*
	72. saat Hücre sayısı	0,00±0,00	4,65±0,49	0,000*

*($p<0,05$); Tekrarlı ANOVA

%100 konsantrasyonda 24. - 48. ve 72. saatte Speedcem Plus Sc ile Speedcem Plus Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı daha fazladır.

4.2.14. Kendiliğinden Polimerize Olan Theracem ve Işıkla Polimerize Edilen Theracem'in Farklı Süre ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Theracem Sc ve Theracem Dc'nin farklı süre ve konsantrasyonlardaki hücre sayısının karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.21'de verilmiştir.

%26,6 konsantrasyonda 48.saatte Theracem Sc ile Theracem Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Theracem Dc'nin hücre sayısı daha fazladır.

%26,6 konsantrasyonda 72. saatte Theracem Sc ile Theracem Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Theracem Sc'nin hücre sayısı daha fazladır.

Tablo 4.21. Kendiliğinden polimerize olan Theracem ve ışıkla polimerize edilen Theracem'in süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Konsantrasyon (%)	Süre	Theracem Sc	Theracem Dc	p değeri
19,8	24. saat Hücre sayısı	6,75±0,28	5,21±3,97	0,503
	48. saat Hücre sayısı	8,38±1,48	6,72±4,04	0,512
	72. saat Hücre sayısı	23,06±3,25	27,56±4,63	0,247
29,6	24. saat Hücre sayısı	7,15±2,67	8,02±1,65	0,514
	48. saat Hücre sayısı	2,89±0,35	10,60±3,05	0,000*
	72. saat Hücre sayısı	18,79±3,32	0,00±0,00	0,000*
44,4	24. saat Hücre sayısı	4,83±1,88	8,46±2,47	0,042*
	48. saat Hücre sayısı	2,21±1,13	12,32±13,21	0,042*
	72. saat Hücre sayısı	1,12±0,21	7,05±6,4	0,021*
66,7	24. saat Hücre sayısı	3,35±2,32	4,78±0,39	0,268
	48. saat Hücre sayısı	0,42±0,26	3,22±1,32	0,003*
	72. saat Hücre sayısı	0,00±0,00	2,77±0,79	0,002*
100,0	24. saat Hücre sayısı	2,35±1,59	3,01±0,97	0,542
	48. saat Hücre sayısı	0,01±0,02	2,76±0,63	0,001*
	72. saat Hücre sayısı	0,00±0,00	0,00±0,00	1,000

*($p<0,05$); Tekrarlı ANOVA

%44,4 konsantrasyonda 24.- 48. ve 72. saatte Theracem Sc ile Theracem Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Theracem Dc'nin hücre sayısı daha fazladır.

%66,7 konsantrasyonda 48. ve 72. saatte Theracem Sc ile Theracem Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Theracem Dc'nin hücre sayısı daha fazladır.

%100 konsantrasyonda 48. saatte Theracem Sc ile Theracem Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Theracem Dc'nin hücre sayısı daha fazladır.

4.2.15. Kendiliğinden Polimerize Olan Rezin Simanların Farklı Süre ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Kendiliğinden polimerize olan rezin simanların farklı süre ve konsantrasyonlardaki hücre sayısının karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.22’de verilmiştir.

Tablo 4.22. Kendiliğinden polimerize olan rezin simanların süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Konsantrasyon (%)	Süre	Calibra Universal Sc ₁	Speedcem Plus Sc ₃	Theracem Sc ₅	p değeri	İkili Karşılaştırma
19,8	24. saat Hücre sayısı	5,87±1,23	10,83±2,03	6,75±0,28	0,020*	1-3 3-5
	48. saat Hücre sayısı	7,74±2,14	9,74±4,06	8,38±1,48	0,685	
	72. saat Hücre sayısı	10,62±3,36	28,15±3,35	23,06±3,25	0,002*	1-3 1-5
29,6	24. saat Hücre sayısı	3,08±0,6	7,07±1,88	7,15±2,67	0,066	
	48. saat Hücre sayısı	0,43±0,6	5,02±1,6	2,89±0,35	0,004*	1-3 1-5 3-5
	72. saat Hücre sayısı	0,00±0,00	1,39±0,24	18,79±3,32	0,000*	1-5 3-5
44,4	24. saat Hücre sayısı	2,06±2,53	8,22±2,1	4,83±1,88	0,037*	1-3
	48. saat Hücre sayısı	0,05±0,09	2,85±1,5	2,21±1,13	0,045*	1-3
	72. saat Hücre sayısı	0,01±0,02	1,39±1,23	1,12±0,21	0,043*	1-3
66,7	24. saat Hücre sayısı	1,07±0,82	6,66±2,61	3,35±2,32	0,043*	1-3
	48. saat Hücre sayısı	0,15±0,13	1,85±0,28	0,42±0,26	0,000*	1-3 3-5
	72. saat Hücre sayısı	0,06±0,06	0,26±0,13	0,00±0,00	0,024*	1-3 3-5
100,0	24. saat Hücre sayısı	1,72±2,04	6,67±1,03	2,35±1,59	0,028*	1-3 3-5
	48. saat Hücre sayısı	0,01±0,02	0,44±0,47	0,01±0,02	0,168	
	72. saat Hücre sayısı	0,09±0,16	0,00±0,00	0,00±0,00	0,422	

*(p<0,05); Tekrarlı ANOVA

%19,8 konsantrasyonda 24. ve 72. saatte Calibra Universal Sc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Sc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05). Speedcem Plus Sc’nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Sc’nin en azdır.

%%29,6 konsantrasyonda 48. saatte Calibra Universal Sc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Sc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05). Speedcem Plus Sc’nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Sc’nin en azdır

29,6 konsantrasyonda 72. saatte Calibra Universal Sc, Speedcem Plus Sc ile Theracem Sc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Theracem Sc'nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Sc'nin en azdır.

%44,4 konsantrasyonda 24. ve 48. saatte Calibra Universal Sc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Sc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Speedcem Plus Sc'nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Sc'nin en azdır.

%66,7 konsantrasyonda 24. ve 48. saatte Calibra Universal Sc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Sc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Speedcem Plus Sc'nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Sc'nin en azdır.

%66,7 konsantrasyonda 72. saatte Calibra Universal Sc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Sc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Speedcem Plus Sc'nin hücre sayısı en fazla iken Theracem Sc'nin en azdır.

%100,0 konsantrasyonda 24. saatte Calibra Universal Sc, Speedcem Plus Sc ve Theracem Sc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Speedcem Plus Sc'nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Sc'nin en azdır.

4.2.16. Işıklı Polimerize Edilen Rezin Simanların Farklı Süre ve Konsantrasyonlardaki Hücre Sayısının Karşılaştırmalı İstatistiksel Analiz Bulguları

Işıklı polimerize edilen rezin simanların farklı süre ve konsantrasyonlardaki hücre sayısının karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.23'te verilmiştir.

%19,8 konsantrasyonda 48. ve 72. saatte Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Dc'nin en azdır.

%29,6 konsantrasyonda 24. ve 48. saatte Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Theracem Dc'nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Dc'nin en azdır.

Tablo 4.23. Işıklı polimerize edilen rezin simanların süre ve konsantrasyon bağımlı istatistiksel analiz sonuçları

Konst. (%)	Süre	CalibraUniversal Dc ₂	SpeedcemPlus Dc ₄	Theracem Dc ₆	P değeri	İkili Karşılaştırma
19,8	24. saat Hücre sayısı	10,08±3,12	11,77±3,66	5,21±3,97	0,147	
	48. saat Hücre sayısı	7,93±0,71	15,91±3,78	6,72±4,04	0,025*	2-4
	72. saat Hücre sayısı	21,75±3,18	43,85±7,68	27,56±4,63	0,007*	2-4 4-6
29,6	24. saat Hücre sayısı	4,99±1,18	7,42±0,18	8,02±1,65	0,042*	2-4 2-6
	48. saat Hücre sayısı	4,26±0,36	7,83±2,23	10,60±3,05	0,033*	2-6
	72. saat Hücre sayısı	2,07±1,27	19,44±1,06	0,00±0,00	0,000*	2-4 2-6 4-6
44,4	24. saat Hücre sayısı	1,73±0,97	8,74±1,21	8,46±2,47	0,004*	2-4 2-6
	48. saat Hücre sayısı	0,05±0,09	3,53±0,18	12,32±13,21	0,028*	2-4 2-6 4-6
	72. saat Hücre sayısı	0,04±0,06	8,67±1,6	7,05±6,40	0,008*	2-4 2-6
66,7	24. saat Hücre sayısı	1,17±0,1	5,68±0,85	4,78±0,39	0,000*	2-4 2-6
	48. saat Hücre sayısı	0,00±0,00	3,17±1,82	3,22±1,32	0,036*	2-4 2-6
	72. saat Hücre sayısı	0,00±0,00	5,58±2,02	2,77±0,79	0,005*	2-4 2-6 4-6
100,0	24. saat Hücre sayısı	0,97±0,35	9,32±1,01	3,01±0,97	0,000*	2-4 2-6 4-6
	48. saat Hücre sayısı	0,20±0,34	1,91±1,59	2,76±0,63	0,052	
	72. saat Hücre sayısı	0,00±0,00	4,65±0,49	0,00±0,00	0,000*	2-4 4-6

*($p<0,05$); Tekrarlı ANOVA

%44,4 konsantrasyonda 24.-48. ve 72. saatte Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Dc'nin en azdır.

%66,7 konsantrasyonda 24. ve 72. saatte Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Dc'nin sıfırdır.

%66,7 konsantrasyonda 48. saatte Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Theracem Dc'nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Dc'nin sıfırdır.

%100,0 konsantrasyonda 24. saatte Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$) ve Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Dc'nin en azdır.

%100,0 konsantrasyonda 72. saatte Calibra Universal Dc, Speedcem Plus Dc ve Theracem Dc arasındaki hücre sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$) ve Speedcem Plus Dc'nin hücre sayısı en fazla iken Calibra Universal Dc ve Theracem Dc'nin sıfırdır.



5. TARTIŞMA

Biyouyumluluk “bir materyalin belirli bir uygulamada uygun bir konak yanıtı varlığında işlev görme yeteneği” olarak tanımlanır (Wataha ve Hanks, 1997). Bu tanım, materyalin uygulandığı konak ve materyalin beklenen fonksiyonu arasında meydana gelen etkileşimi ifade eder. Bir materyalin biyouyumlu olarak kabul edilebilmesi için bu üç faktörün de uyumlu olması gerekir. Biyouyumluluk materyalin çevresiyle etkileşimine bağlıdır. Canlı dokuya materyal yerleştirildiğinde etrafındaki karmaşık biyolojik sistemlerle etkileşimler meydana gelir ve bu etkileşimler bir tür biyolojik yanıtla sonuçlanır. Vücudun bir materyale tepkisi dinamiktir bu yüzden biyouyumluluk statik değil dinamik ve devam eden bir süreçtir. Materyal, konakçı ve materyalin işlevi arasındaki etkileşimler sürekli dir. Bu nedenle bir materyale biyolojik tepki devam eden bir süreçtir. Biyouyumluluk tek başına materyalin bir özelliği değil aynı zamanda çevresiyle etkileşimdeki materyalin bir özelliğidir (Wataha, 2001).

Diş hekimliğinde son yıllarda estetik talebin artmasıyla estetik gereksinimleri karşılaması, mine ve dentine daha iyi bağlanma sağlaması nedeniyle rezin esaslı materyallerin kullanımı artmıştır (Michelsen ve ark., 2003). Dental materyallere, özellikle alaşımlar ve rezin esaslı materyallere karşı alerjik reaksiyonlar bildirilmiştir (Garner, 2004; Gonçalves ve ark., 2006). Materyallerin hazırlanması, uygulanması veya maniplasyonu sırasında sıklıkla materyallere maruz kalan diş hekimliği personeline istenmeyen reaksiyon riski hastalardan çok daha fazladır. Diş hekimliği uygulamalarında materyallerin riskini değerlendirmek diş hekiminin sorumluluğundadır (Wataha ve ark., 2003).

Tam seramik restorasyonlara karşı duyulan ilgi son yıllarda artış göstermiştir. Metal-seramik restorasyonlara göre üstün estetik sunan seramik inley, onley ve tam kuronlar oldukça popüler hale gelmiştir. Seramik restorasyonların diş yapısına rezin veya kompozit simanlarla bağlanması gerekir (Jensen ve ark., 1989). Güncel rezin siman sistemleri diş yapısına bağlanmak için bir bağlayıcı ajan ve bir rezin siman içerir (Stewart ve ark., 2002). Self adeziv rezin simanlar, geleneksel simanlar ve rezin esaslı simanlardaki sınırlamaların üstesinden gelmek ve simantasyon sürecini basitleştirmek amacıyla tasarlanmıştır (Burgess ve ark., 2010). Self adeziv rezin

simanlar ayrı bir bağlayıcı veya asit uygulaması gerektirmeden diş yapısına bağlanmak üzere tasarlanmış doldurucu polimer içeren hibrit materyallerdir. Self-adeziv rezin simanların ana bileşenleri; fonksiyonel asidik monomerler, geleneksel di-metakrilat monomerler, doldurucu parçacıklar ve aktivatör-başlatıcı sistemlerdir. Self-adeziv rezin simanlar iki ayrı şırınga veya çift hazneli otomiks şırınga formunda üretilmektedir. Bir taşıyıcı hazne içerisinde Bis-GMA, BisGMA üretan oligomerleri, UDMA, HEMA, GDMA, TEGDMA, TMPTMA gibi geleneksel mono-, di- ve/veya multi-metakrilat monomerleri bulunmaktadır. Diğer taşıyıcı haznede diş yüzeyinde demineralizasyonu gerçekleştiren ve bağlanmayı sağlayan 4-META ve PMGDM gibi fonksiyonel asidik monomerleri bulunur. Bu haznede fonksiyonel asidik monomerlerin yanısıra ayrıca fosforik asit grupları bulunan Fenil-P, 10-MDP, BMP ve Penta gibi her iki karboksilik asit grubuna sahip (met)akrilat monomerleri bulunmaktadır (Ferracane ve ark., 2011). Dental simanlar sabit restorasyonları hazırlanmış dentine bağlar. Siman yapısında bulunan suda çözünür bileşenler pulpa sağlığını etkileyebilir. Simanların suda çözünen bileşenleri ağız sıvılarında yayılarak pulpa ve diş eti dokularını etkilemektedir (Seelbach ve ark., 2010). Yapıştırma simanlarının toksik etkilerinin değerlendirilmesi simanlardan salınan toksik bileşenler nedeniyle kritik önem taşımaktadır. Bileşenlerin dişeti dokusu ile etkileşimi doku hasarına neden olabilmektedir ve doku hasarının derecesi rezin simanın içeriğine göre değişiklik gösterir (Pashley, 1988). Materyalin hücre canlılığı üzerindeki etkisi biyouyumluluğun açık bir belirleyicisidir. Sitotoksisite, makromolekül sentezini inhibe eden moleküler olaylar zinciridir ve hücrel proteinlerin hücrelerin yaşamı üzerindeki etkisi dikkate alındığında hücrel bozulmayı tetiklemenin neredeyse sonsuz sayıda yolu vardır. Bu nedenle sitotoksisite, tanımlanması zor bir süreçtir. Dental tedavinin bir parçası olarak tüm dental bileşikler klinik olarak kullanılmadan önce maksimum doku canlılığını korumak ve sitotoksik reaksiyonların önlenmesi amacıyla test edilmelidir (Murray ve ark., 2007). Bu çalışmada, diş hekimliği kliniklerinde yaygın olarak kullanılan üç farklı güncel self adeziv rezin simanın sitotoksik potansiyeli *in vitro* test yöntemleri kullanarak değerlendirilmiştir.

Biyouyumlu materyallere duyulan ihtiyaç toksisite testlerinin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Günümüzde biyolojik test standartları Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü, Amerikan Test ve Malzemeler Topluluğu, Avrupa Normalleştirme

Komitesi ve Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO) gibi birçok kuruluş tarafından sürdürülmektedir (Wataha, 2012). Tıbbi cihazların biyolojik olarak değerlendirilmesi başlıklı uluslararası ISO 10993 standardı, cihaz güvenliği ve dental ve tıbbi materyallere karşı oluşacak biyolojik cevabı değerlendirmede kullanılacak test yöntemleri hakkında kapsamlı rehberlik sunmaktadır. ISO 7405 ve ISO 10993 yönergeleri dental materyallerin biyolojik değerlendirmesi için standart uygulamalar önermiştir (Murray ve ark., 2007). Tıbbi ve biyolojik materyallerin biyoyumluluğunun belirlenmesi amacıyla 1984 yılında ISO 7405 (ISO 7405(E), 2008) yönergesine uygun olarak sitotoksikite testlerini kapsayan başlangıç testleri, hayvanlar üzerinde yapılan testler ve kullanım testleri olmak üzere üç adımlı test sıralaması önerilmiştir. Bir dental materyal, *in vitro* başlangıç testlerinden başlayarak *in vivo* ikincil testler ve insanlar üzerindeki prelinik ve klinik testler gibi karmaşık test yöntemine doğru verilen sırayla üç ayrı adımda test edilmelidir (Schmalz, 1998). Bu çalışmada, 3 farklı self adeziv rezin simanın sitotoksik potansiyelini değerlendirmek amacıyla güncel ve uluslararası kabul görmüş ISO protokolleri takip edildi. Çalışmamızın test yönteminin belirlenmesinde ISO'nun diş hekimliğinde kullanılan tıbbi cihazların biyoyumluluğunun prelinik değerlendirmesi ve diş hekimliği materyalleri için test yöntemlerini içeren ISO 7405 protokolü takip edildi (ISO 7405(E), 2008). Materyallerinin test için hazırlanmasında; materyal özelliklerinin belirlenmesi, materyalin test için hazırlanması, deneyde kullanılan kontroller, referans materyallerin seçimi ve gereksinimleri ile ekstraktların (özüt) hazırlanması konularını spesifik olarak ele alan ISO 10993-12 (ISO 10993-12(E), 2012) protokolü referans alındı. Ayrıca MTT testinin uygulanmasında aynı örgütün *in vitro* sitotoksikite çalışmaları için standart prosedürleri belirleyen ISO 10993-5 (ISO 10993-5(E), 2009) protokolü takip edildi.

Dental materyallerin *in vitro* toksisite testlerinde en yaygın kullanılan biyolojik sistemler hücre kültürü sistemleridir. Kültür koleksiyonlarından türetilen devamlı hücre hatları ve doku eksplantlarından elde edilen birincil hücreler hücre kültürü çalışmalarında kullanılan biyolojik sistemlerdir (Schmalz, 1994). Devamlı hücre hatları kullanıma hazır halde temin edilebilmektedir böylelikle testin tekrarlanabilirliği sağlanmaktadır (Johnson ve ark., 1985). L929 hücre hattı, birincil insan dişeti fibroblastları ile karşılaştırılabilir sonuçlar sunmaktadır. Bu nedenle L929 hücre hattı, *in vitro* dişeti toksisite çalışmaları için alternatif bir model olabilir

(Franz ve ark., 2007). ISO 10993-5 (ISO 10993-5(E), 2009) yönergesi MTT test prosedürü uygulama esaslarında devamlı L929 fibroblast hücre hattının kullanılmasını önermektedir. Bu çalışmada kullanılan devamlı L929 fare fibroblast hücre hattı, temin edilmesinin kolay olması, kolay çoğaltılabilmesi ve test tekrarına olanak sağlaması gibi avantajları nedeniyle *in vitro* sitotoksitesite çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Kusdemir ve ark., 2011; Malkoc ve ark., 2014; Morgan ve ark., 2015; Kurt ve ark., 2018).

Geçmiş yıllarda materyallerin hücre canlılığı üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (Cook ve Mitchell, 1989). Kolorimetrik MTT testi, mitokondriyal dehidrojenaz aktivitelerindeki değişikliklerin hücre canlılığı üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesini sağlar. Tetrazolyum tuzu başlangıçta sarı renklidir ve yaşayan hücrenin mitokondrisindeki süksinat dehidrojenaz enzimine seçici olarak bağlanır ve hücre içinde suda çözünmeyen mavi-mor formazana dönüştürülür. Hücrelerde oluşan formazan kristalleri daha sonra organik çözücülerde çözündürülür ve konsantrasyonu spektrofotometrik olarak belirlenir. MTT testi, canlı hücreleri tespit eder ve üretilen sinyal hücrelerin aktivasyon derecesine bağlıdır. Bu yöntem sitotoksitesite, proliferasyon veya aktivasyonunun belirlenmesi için kullanılabilir. Çok kuyucuklu hücre kültürü plakaları spektrofotometre cihazında yüksek derecede hassasiyetle okunarak tarama sonuçları elde edilir. Kolorimetrik testin en önemli avantajı hızlı ve kesin olmasıdır (Mosmann, 1983). Bu çalışmada kullanılan MTT testi, hızlı ve ucuz bir yöntem olması nedeniyle dental materyallerin *in vitro* toksitesite testlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Issa ve ark., 2004; Kusdemir ve ark., 2011; Elias ve ark., 2015; Pagano ve ark., 2019).

Diş hekimliği kliniklerinde kompozitlerin sertleştirilmesinde Quartz Tungsten Halojen (QTH), Işık Yayan Diyot (LED), Lazer ve Plazma Ark ışık cihazları kullanılmaktadır. QTH ışık ünitelerinin ışık yoğunluğu ampul ve filtre yaşlanması nedeniyle zamanla azalır, buna rağmen kliniklerde en çok kullanılan cihazlardır. Son zamanlarda, lazer, xenon ark ve LED tabanlı teknolojiler geliştirilmiştir. Lazer ve xenon ark üniteleri daha büyük ve daha karmaşık bir yapıya sahiptir ve halojen ve LED ünitelerinden daha maliyetlidir. LED'ler 10.000 saatin üzerinde bir çalışma ömrüne sahipken, halojen ampuller yaklaşık 40-100 saat arasında sınırlı bir etkin

ömre sahiptir. Çoğu kompozitin foto başlatıcısı 450-470 nm dalga boyundaki ışıkla aktive edilir. Dual kür rezinlerin bileşiminde en yaygın olarak kullanılan foto başlatıcı kamforkinon (CQ) için 470 nm tepe absorpsiyon dalga boyudur ve LED'ler yaklaşık 470 nm dalga boyu tepe noktasına sahiptir (Nitta, 2005). Bu çalışmada self adeziv rezin simanlar 1200 mW/cm² ışık yoğunluğuna sahip LED polywawe ışın cihazı (D'Alpino ve ark., 2017) kullanılarak polimerize edilmiştir.

Rezin esaslı dental materyallerde ideal fiziksel özellikler ve klinik performans ancak yeterli polimerizasyonun sağlanmasıyla elde edilebilir. Rezinlerde polimerizasyon reaksiyonu sırasında ideal olan tüm monomerlerin polimerlere dönüşmesidir. Bu dönüşüm polimerizasyonun ilk aşamalarında miktarı foto başlatıcılar ve kimyasal olarak aktive edilmiş reaksiyon bileşenleri içeren dual kür materyallerde daha yüksektir (Frassetto ve ark., 2012). Kawahara ve arkadaşlarının (Kawahara ve ark., 2004) dual kür adeziv rezin simandan 1, 3, 6, 12 ve 24 saat ve 3, 7 ve 14 günlerde monomerlerin elüsyonunu belirledikleri çalışmada, monomerlerin erken elüsyonu 1saat, 24 saat ve 3 günde kaydedilmiştir. Krishnan ve arkadaşlarının (Krishnan ve ark., 1997) görünür ışıkla sertleşen dental kompozitte seyrelticilerin etkisini 1, 7, 14, 21, 28 ve 30 günlük aralıklarla değerlendirdikleri çalışmada, görünür ışıkla sertleşen dental kompozitin çözünürlüğünün zamanla arttığını belirlemişlerdir. Lee ve arkadaşlarının (Lee ve ark., 1995) dental rezin kompozitten 7, 14 ve 30 gün boyunca monomerlerin elüsyonunu değerlendirdikleri çalışmada, elüsyonunun zamanla birlikte artış gösterdiğini ve 30 günde belirlenen monomer miktarının 7 günlük miktardan daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Kurt ve arkadaşlarının (Kurt ve ark., 2018) üç farklı self adeziv rezin simandan salınan artık monomerlerin sitotoksik, genotoksik ve apoptotik potansiyelini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada, ayrıştırılan artık monomer miktarının zamanla arttığını rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada salınan monomer miktarının zamanla artmasının self adeziv rezin simanın sitotoksik ve genotoksik etkisini arttırdığını belirlemişlerdir. Ekstraksiyon işlemi ve koşulları ISO 10993-12 (ISO 10993-12(E), 2012) protokolünde ayrıntılı olarak ele alınmasına rağmen rezin esaslı materyallerin ekstraksiyon süresiyle ilgili tam bir görüş birliği yoktur. Materyallerin özütünün elde edildiği daha önceki çalışmalarda, Kurt ve arkadaşlarının (Kurt ve ark., 2018) 24 saat, Schmid-Schwap ve arkadaşlarının (Schmid-Schwap ve ark., 2009) 0 ve 7 gün, Trumpaite ve arkadaşlarının (Trumpaite ve ark., 2018) 1 saat, Oguz ve arkadaşlarının (Oguz ve

ark., 2020) 0, 1, 2 ve 7 günlük zaman dilimlerinde preinkubasyon (ekstraksiyon) süresi uyguladıkları belirlendi. Souza ve arkadaşlarının (Souza ve ark., 2006) üç adet rezin modifiye cam iyonomer simanın sitotoksisini MTT testi ile değerlendirdikleri çalışmalarında, örnek özütlerini üç farklı zaman dilimi (24, 48 ve 72 saat) kullanarak elde etmişlerdir. Çalışma sonucunda genel olarak 24 saatlik inkübasyonda elde edilen özütler 48 ve 72 saatte elde edilen özütlerden daha az sitotoksik bulunmuş ve preinkubasyon süresi arttıkça materyalin sitotoksik potansiyelinin artabileceği belirtilmiştir. Bu çalışmada, örnekler 48 saat sürede kültür ortamı ile inkube edilerek örnek özütleri elde edildi.

Biyouyumluluk dental materyallerin en önemli gereksinimlerinden biridir. Bir materyalin biyouyumluluk değerlendirilmesinde sitotoksik testleri, *in vivo* testler veya insan testleri yapılmadan önceki temel adımdır. *In vitro* biyouyumluluk testleri canlı organizmanın dışında gerçekleştirilir ve esas olarak bir dental materyalin sitotoksik veya genotoksik potansiyelini değerlendirmek amacıyla yapılır (Hanks ve ark., 1996). Materyallerin biyolojik değerlendirilmesinde hücreler ile test materyali arasında yeterli temasın sağlanması önem taşımaktadır. Katı haldeki materyallerle hücreler arasındaki temas, sıvılaştırıcı ajan kullanılarak veya materyalden salınabilecek bileşenlerin bir çözücü ile ekstrakte edilmesiyle sağlanabilmektedir. *In vitro* sitotoksik test yöntemlerinde üç farklı hücre-materyal temas yöntemi vardır (Schmalz, 1994). Bu amaçla daha önce yapılan *in vitro* çalışmalarda doğrudan temas (Hanks ve ark., 1981), dolaylı temas (Tyas ve Martin, 1977; Wennberg ve ark., 1979) ve ekstrakt yoluyla temas (Morgan ve ark., 2015) yöntemlerinden biri kullanılmıştır. Bununla birlikte, farklı test modelleri birbirinden farklı ve hatta çelişkili bulgulara yol açabilmektedir. Ancak, ekstrakt yoluyla temas metodu diğer doğrudan temas yöntemlerine kıyasla daha güvenilir bir yöntemdir (Pagano ve ark., 2019). Bu çalışmada, ışıkla veya kendiliğinden polimerize edilen üç farklı dual kür self adeziv rezin simanın L929 hücreleri üzerindeki potansiyel sitotoksik etkisi *in vitro* koşullarda ekstrakt yoluyla temas yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Bu yöntem dental materyallerin sitotoksik değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Souza ve ark., 2006; Morgan ve ark., 2015; Sun ve ark., 2018; Oguz ve ark., 2020).

Ekstrakt test metodunda, örneklerden elde edilen stok özüt seyreltilerek farklı konsantrasyonlardaki örnek özütleri ile hücrelerin teması sağlanabilmektedir. Bu

yöntemin amacı materyalin doz bağımlı sitotoksik potansiyelinin belirlenmesidir. Sun ve arkadaşları (Sun ve ark., 2018) çalışmalarında, örneklerden elde edilen özütün %100 konsantrasyonu kültür ortamı ile seyrelterek 1/5, 1/10, 1/20, 1/40 ve 1/80 konsantrasyonlarda özütler elde etmişlerdir. Şişmanoğlu ve arkadaşları (Şişmanoğlu ve ark., 2020) çalışmalarında, örneklerden elde edilen stok ekstrakt solüsyonunu (1/1) kültür ortamı ile seyrelterek 1/2, 1/4 ve 1/8 konsantrasyonda örnek özütleri hazırlamışlardır. Kurt ve arkadaşları (Kurt ve ark., 2018) çalışmalarında, örnek özütünün %100 konsantrasyonunu kültür ortamı ile seyreltilerek 1/8, 1/4, 1/2, 1, 2, 4 ve 8 konsantrasyonda örnek özütleri elde etmişlerdir. Bu çalışmada, örnek özütünün %100 konsantrasyonu kültür ortamı ile seyreltilerek %66,7, %44,4, %29,6 ve %19,8 konsantrasyonda örnek özüt solüsyonları elde edildi.

Bu çalışmada, örneklerin doz bağımlı sitotoksik potansiyelini değerlendirmek amacıyla materyaller 5 farklı konsantrasyonda test edildi. Beş farklı konsantrasyondaki (%19,8, %29,6, %44,4, %66,7 ve %100) örneklerin 48. saat MTT testi sonuçlarına göre Calibra Universal Sc sırasıyla %50, %3, %0, %1, %0 ve Calibra Universal Dc sırasıyla %51, %27, %0, %0, %1 hücre canlılık oranları sergiledi. Ayrıca, Speedcem Plus Sc sırasıyla %63, %32, %18, %12, %3 ve Speedcem Plus Dc sırasıyla %102, %50, %23, %20, %12 canlılık oranları sergilerken Theracem Sc sırasıyla %54, %19, %14, %3, %0 ve Theracem Dc ise %43, %68, %30, %21, %18 canlılık oranları gösterdi. Test edilen örneklerden elde edilen bu doz bağımlı hücre canlılık oranı verilerine göre en yüksek canlılık oranı %19,8 konsantrasyonda elde edildi. En düşük canlılık oranı ise %100 konsantrasyonda elde edildi. Ayrıca, konsantrasyonun artmasıyla materyalin sitotoksik etkisinin arttığı gözlemlendi. Bu sonuç, dual kür self adeziv rezin simanlar ile yapılan ve doz bağımlı sonuçların elde edildiği önceki çalışmaların sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (Kurt ve ark., 2018; Sun ve ark., 2018; Pagano ve ark., 2019; Şişmanoğlu ve ark., 2020).

Biyouyumluluk çalışmalarında materyalin kendisinin veya özütünün hücreler ile teması (inkubasyon) farklı sürelerde sağlanabilmektedir. Hücre-materyal teması farklı sürelerde gerçekleştirilerek materyalin süre bağımlı sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Klein-Júnior ve arkadaşları (Klein-Júnior ve ark., 2018), üç farklı self adeziv simanın sitotoksik etkilerini MTT testiyle

değerlendirdikleri çalışmada hücreler ile örnek özütlerini 24 saat ve 7 günlük sürelerde inkube etmişlerdir. Çalışma sonunda 7 günlük inkubasyonun 24 saatlik inkubasyona göre daha fazla sitotoksositeye neden olduğu tespit edilmiştir. Tuncer ve arkadaşlarının (Tuncer ve ark., 2012) dentin adezivlerinin 3T3 fare fibroblastları üzerindeki etkilerini değerlendirdiği çalışmada, 72 saatlik inkubasyonda 24 saat inkubasyona göre daha fazla hücre harabiyeti görülmüştür. Şişmanoğlu ve arkadaşları (Şişmanoğlu ve ark., 2020) çalışmalarında, örnek özütleri ile 3T3 fare fibroblast hücrelerini 24 ve 72 saatlik zaman dilimlerinde inkube etmişlerdir. Çalışmalarında uyguladıkları üç test yönteminin tümü için 72 saatlik inkubasyonda 24 saatlik inkubasyona göre daha şiddetli sitotoksik etkiler tespit etmişlerdir. Ayrıca çalışmanın bulgularına dayanarak inkubasyon süresi arttıkça sitotoksik etkilerin önemli ölçüde arttığını belirtmişlerdir. Mahasti ve arkadaşları (Mahasti ve ark., 2011) iki rezin simanın L929 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini MTT testi ile değerlendirdikleri çalışmada, materyal özütleri ile hücreleri 1 saat, 24 saat ve 1 haftalık sürelerde inkube etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda sitotoksitenin zamanla doğru orantılı arttığını belirlemişlerdir. Koliniotou-Koubia ve arkadaşları (Koliniotou-Koubia ve ark., 2001) altı dentin bağlayıcı ajanın L929 hücre hattı üzerindeki sitotoksitesini MTT testi ile değerlendirdikleri çalışmalarında, materyaller ile hücreleri 24 ve 72 saatlik iki farklı sürede inkube etmişlerdir. Çalışmada, test edilen her materyalin 72 saatlik inkubasyon sonundaki sitotoksitesini, 24 saatlik inkubasyon sonundaki sitotoksitesinden önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. Tumscitz ve arkadaşları (Tumscitz ve ark., 2017) üç farklı rezin simanın sitotoksitesini MTT testi ile *in vitro* olarak değerlendirdikleri çalışmalarında, 3T3 hücreleri ile örnekleri 24, 48 ve 72 saatlik zaman dilimlerinde inkube etmişlerdir. Bu çalışmada, self adeziv rezin siman materyallerinin süre bağımlı sitotoksik potansiyelini değerlendirmek amacıyla Tumscitz ve arkadaşlarının (Tumscitz ve ark., 2017) çalışmasına uygun olarak örnek özütleri L929 hücreleri ile 24, 48 ve 72 saatlik periyotlarda üç farklı zaman diliminde inkube edildi.

Bu çalışmada, rezin simanlardan ışıkla veya kendiliğinden polimerize edilerek hazırlanan örneklerin süre bağımlı sitotoksik potansiyelini değerlendirmek amacıyla materyaller 3 farklı zaman periyodunda (24, 48 ve 72 saat) test edildi. %100 konsantrasyonda ve 3 farklı zaman periyodunda (24, 48 ve 72 saat)

örneklerden elde edilen MTT testi sonuçlarına göre Calibra Universal Sc sırasıyla %18, %0, %2 ve Calibra Universal Dc sırasıyla %10, %1, %0 hücre canlılık oranları sergiledi. Ayrıca, Speedcem Plus Sc sırasıyla %71, %3, %0 ve Speedcem Plus Dc sırasıyla %96, %12, %0 canlılık oranları sergilerken Theracem Sc'den %24, %0, %0 ve Theracem Dc'den %31, %18, %0 hücre canlılık oranları elde edildi. Süre bağımlı olarak elde edilen bu hücre canlılık oranı verilerine göre test edilen tüm örneklerde %29,6; %44,4; %66,7 ve %100,0 konsantrasyonlarda en yüksek canlılık oranı 24. saatte elde edilirken en düşük canlılık oranı 72. saatte elde edildi. %19,8 konsantrasyonda ise örneklerin süre bağımlı testlerinde canlı hücre oranı zamanla artış gösterdi. Bu çalışmada, inkubasyon süresinin artmasıyla simanların sitotoksik etkisinin genel olarak artış gösterdiği belirlendi. Bu sonuç, süre bağımlı olarak yapılan önceki çalışmaların sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (Koliniotou-Koubia ve ark., 2001; Mahasti ve ark., 2011; Tuncer ve ark., 2012; Klein-Júnior ve ark., 2018; Şişmanoğlu ve ark., 2020).

Genel olarak hücrelerde apoptoz ve nekroz olmak üzere iki tip hücre ölümü meydana gelmektedir (Kerr ve ark., 1972). Apoptotik ve nekrotik hücre ölümleri en önemli sitotoksikite göstergesidir. Sun ve arkadaşları (Sun ve ark., 2018) üç farklı dual kür self adeziv rezin simanın insan periodontal ligament fibroblast hücreleri üzerindeki biyolojik etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında, çalışmada kullanılan self adeziv rezin siman örneklerinin hücre büyümesini inhibe ettiği ve hücrelerde apoptoz ve nekrozu indüklediği belirlenmiştir. Aynı çalışmada, self adeziv rezin siman örneklerinin insan periodontal ligament fibroblastları için sitotoksik olduğu gösterilmiştir. "Apoptozis" organizmanın genel iyiliğini korumak için belirli bir hücre grubunu belirli bir zamanda veya belirli bir sinyale yanıt olarak ortadan kaldırmayı amaçlayan kontrollü bir fizyolojik süreci ifade eder. DNA parçalanması, hücre hacmi kaybı veya hücre küçülmesi, kromatin yoğunlaşması (piknoz), çekirdeğin parçalanması (karyoreksis) ve apoptotik gövde oluşumu apoptozun baskın fenotipik özellikleri arasında bulunur (Bortner ve Cidlowski, 2002). Apoptoz doku kinetiğinde geniş kapsamlı etkileri olan ve enerji gerektiren bir süreçtir. Apoptozda hücrenin içeriğinin salınımı gerçekleşmez, ölü hücreler makrofajlar tarafından fagosite edilerek akut inflamatuvar reaksiyondan kaçınılır (Savill ve ark., 1993). Buna karşılık "nekrozis" pasif, toksisitenin neden olduğu hücre ölümüdür. Enerji gerektirmeyen bir süreçtir ve hücrenin içeriğinin salınımını takiben inflamatuvar reaksiyon oluşabilir.

Nekrozda hücreler şişer, kromatin ve çekirdek DNaz (karyoliz) tarafından parçalanarak hücresel homeostaz bozulur (Bortner ve Cidlowski, 2002). Reaksiyona girmemiş biyoaktif çapraz bağlama ajanlarının kalıntıları, hücrelerde meydana gelen apoptoz ve nekrozun olası nedenleri arasında yer almaktadır. Rezin simanların polimerizasyonu sırasında tamamlanmamış monomer dönüşümü nedeniyle üretilen bu bileşikler potansiyel sitotoksikite kaynakları olarak kabul edilebilir (Ulubayram ve ark., 2002). Bu çalışmada, dual kür self adeziv rezin siman örnekleri hücre canlılığında önemli bir azalmaya neden olmuştur ($p<0,05$). 24. saatte ve %100 konsantrasyonda ışıkla polimerize edilen Calibra Universal %10, TheraCem %31 ve SpeedCem %96 hücre canlılık oranı göstermiştir. Bu çalışmada test edilen self adeziv rezin simanların sitotoksikite sıralaması Calibra Universal> TheraCem> SpeedCem Plus şeklinde gerçekleşmiştir. Calibra Universal ve TheraCem ISO 10993-5 (ISO 10993-5(E), 2009) tarafından belirlenen %70 canlılık oranını sağlayamamış ve toksik kabul edilmiştir. SpeedCem Plus ise %70 canlılık oranını sağladığı için toksik kabul edilmemiştir. Bu çalışmada test edilen 3 farklı self adeziv rezin simanın L929 fibroblast hücreleri üzerinde farklı oranlarda sitotoksik etkiye neden olduğu gösterilmiştir. Kimyasal olarak indüklenen bu etki apoptotik veya nekrotik yanıtı aktive eden sitotoksik maddelerin salınımından kaynaklanıyor olabilir. Bu çalışmada elde edilen deneysel veriler doğrultusunda ilk araştırma hipotezi ‘Test edilen üç farklı self adeziv rezin siman hücre canlılığını farklı seviyelerde etkileyecektir’ kabul edilmiştir.

Dual kür rezin simanlar estetik restorasyonları simante etmek amacıyla tercih edilen materyallerdir. Dual kür rezin simanların ışıkla veya ışığın kolayca erişemeyeceği alanlarda yeterli polimerizasyonunun sağlanması için ışık uygulaması olmadan yeterli derecede polimerizasyon sağlayabilecek şekilde formüle edilmesi gereklidir. Dual kür rezin simanların aktivasyon kinetikleri iki farklı mekanizma sunar. İlk mekanizma, ışık kaynağıyla indüklenen ışıkla aktivasyon mekanizmasıdır. İkinci mekanizma ise ışığın ulaşamadığı en derin girintilerde bile tam sertleşmeyi sağlayan kimyasal aktivasyon mekanizmasıdır. Bağımsız başlangıçlarına rağmen sertleşme mekanizmasının bu iki yolu sertleşme süresi boyunca doğal olarak birbiriyle örtüşen serbest radikal oluşumu ve monomer dönüşümü dinamiği başlatır. Rezin esaslı dual kür materyaller için kimyasal polimerizasyon mekanizması, ışıkla aktivasyon mekanizmasına göre nihai toplam dönüşüme ulaşmada yalnızca daha yavaş değil

aynı zamanda daha az etkilidir (Tanoue ve ark., 2003). Bir rezin siman için farklı aktivasyon protokolleri farklı derecelerde sertleşme, polimerik ağ oluşumu ve çapraz bağlantı yoğunluğu ile sonuçlanır (Neves ve ark., 2002). Dual kür simanların ışık uygulamasından sonra etkili bir şekilde polimerize olma yeteneği ve kimyasal aktivasyon bileşeninin etkinliği ile ilgili önemli problemler mevcuttur. Kimyasal polimerizasyon bileşenleri gelişmiş bir ağ yapısı ve polimer özellikleri sağlamasına rağmen kendiliğinden aktivasyon modu maksimum rezin sertleşmesi sağlamayabilir. Dual kür rezin simanlar farklı polimerizasyon kinetiğine sahiptir ve farklı aktivasyon protokolü uygulanan ürünler arasında polimerizasyon derecesi önemli ölçüde değişiklik gösterebilir. Kimyasal sertleşme bileşeninin eksikliği daha yüksek reaksiyona girmemiş çift bağ ($C=C$) miktarı, daha düşük sertlik ve daha yüksek siman çözünürlüğü ile sonuçlanabilir. Bu durum simanın ağız ortamında kimyasal stabilitesini etkileyebilir (Pereira ve ark., 2010). Polimerizasyon reaksiyonunun kapsamının büyük olması, salınabilecek artık monomer miktarının o kadar az olmasını sağlar. Işıkla polimerize edilen rezin materyallerin monomer formdan polimere dönüşüm derecesinin (DC) %55-%80 arasında olduğu bilinmektedir ve DC ile elüsyon (artık monomer) yüzdesi arasında ters orantı vardır (Rueggeberg ve Craig, 1988). Azaltılmış ışınlama süresi çözünürlüğü önemli ölçüde artırır. 30 s'den 50 s'ye kadar artan ışınlama süresi artık monomer içeriklerinde ve salınan miktarlarda önemli bir azalma ile sonuçlanmaktadır (Tanaka ve ark., 1991). Dual kür self adeziv rezin simanlar ile yapılan çalışmalarda ışıkla aktive edilen örneklerin DC değerleri, kendiliğinden aktive olan örneklerin DC değerlerinden önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (Vrochari ve ark., 2009; Moraes ve ark., 2011). Aranha ve arkadaşlarının (Aranha ve ark., 2010) farklı polimerizasyon protokolleri uygulanan deneysel kompozit rezinlerin sitotoksitesini değerlendirdikleri çalışmada, ışıkla 20 ve 40 saniye sürelerde polimerize edilen rezinler hücre metabolizmasını sırasıyla sadece %13,3 ve %13,5 oranında azaltmıştır. Buna karşın kendiliğinden polimerize olan deneysel rezinin hücre metabolizmasını %86,2 oranında azalttığını belirlemişlerdir. Ayrıca kendiliğinden polimerize olan deneysel rezinin hücre metabolizmasını yüksek oranda azaltması, sitotoksitesinin ciddi bir göstergesi olduğunu ifade etmişlerdir. Schmid-Schwap ve arkadaşları (Schmid-Schwap ve ark., 2009), kendiliğinden polimerize olan adeziv ve self adeziv siman örneklerinin ışıkla polimerize edilen örneklerden önemli ölçüde daha yüksek sitotoksositeye neden olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, Sun ve arkadaşlarının (Sun ve ark., 2018) ışıkla

veya kendiliğinden polimerizasyonla serleştirilen üç farklı dual kür self adeziv rezin simanının potansiyel sitotoksitesini değerlendirdikleri çalışmada, kendiliğinden polimerize olan örneklerdeki bağıl hücre büyüme hızı, ışıkla polimerize edilen örneklere göre daha düşük bulunmuştur. Ek olarak, kendiliğinden polimerize olan örneklerdeki apoptoz/nekroz oranının ışıkla polimerize edilen örneklere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. D'Alpino ve arkadaşlarının (D'Alpino ve ark., 2017), 3 farklı aktivasyon modunda (anında fotoaktivasyon, gecikmiş fotoaktivasyon (10 dakika kendi kendine sertleşme + ışıkla aktivasyon) ve kimyasal aktivasyon (ışık uygulaması yok) polimerize edilen 5 farklı dual kür self adeziv rezin simanın (MaxCem Elite, Bifix SE, G-Cem LinkAce, Clearfil SA luting ve RelyX U200) MDPC-23 rat odontoblast hücreleri üzerindeki potansiyel sitotoksik etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında, kimyasal olarak kendiliğinden polimerize olan Bifix SE, G-Cem LinkAce ve MaxCem Elite'in hücrelerin total ölümüne neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, G-Cem LinkAce ve MaxCem Elite kimyasal olarak aktive edildiğinde geç apoptotik/ölü hücrelerde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Ek olarak kimyasal aktivasyon ile kendiliğinden polimerize olan MaxCem Elite ise hücrelerde nekroz gelişmesine yol açmıştır. Bu çalışmada, kendiliğinden polimerize olan dual kür self adeziv rezin siman örnekleri hücre canlılığında önemli bir azalmaya neden oldu. Ayrıca test edilen tüm örneklerde doz ve inkubasyon süresi arttıkça sitotoksik etkinin arttığı gözlemlendi. Bu çalışmada, Speedcem Plus Sc, %100 konsantrasyonda ve 24. saatte %71 canlılık oranı göstererek kendiliğinden polimerizasyon modunda en az sitotoksikite gösteren self adeziv rezin siman örneği oldu. Theracem Sc %24 canlılık oranı göstermiş Calibra Universal Sc ise %18 canlılık oranı sergileyerek kendiliğinden polimerizasyon modunda en fazla sitotoksikite gösteren self adeziv rezin siman örneği oldu. Calibra Universal Sc ve TheraCem Sc örnekleri ISO tarafından belirlenen %70 canlılık oranını sağlayamadı ve toksik kabul edildi. SpeedCem Plus Sc ise %70 canlılık oranını sağladı ve toksik kabul edilmedi. Bu çalışmada, kendiliğinden polimerize olan self adeziv rezin simanların sitotoksikite sıralaması Calibra Universal Sc>TheraCem Sc>SpeedCem Plus Sc şeklinde gerçekleşti.

Calibra Universal Sc ve Theracem Sc örneklerinin %100 konsantrasyonda ve 24. saatteki hücre canlılık oranları incelendiğinde kendiliğinden polimerizasyonun hücre canlılığında oransal olarak önemli bir azalmaya neden olmadığı düşünülebilir. Bu

durum her iki polimerizasyon modunda Calibra Universal ve Theracem için %100 konsantrasyonun, toksik konsantrasyon olması ile açıklanabilir. Calibra Universal Dc'nin toksik olmayan konsantrasyonu, %70 canlılık sınırını geçerek %104 canlılık oranı gösterdiği 24. saatteki %19,8 konsantrasyondur. Bu konsantrasyonda Calibra Universal Sc ise %60 canlılık oranı göstermiştir. Elde edilen veriler ışığında bu çalışmada, kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal'in %40'e yakın bir oranda hücre canlılığında azalmaya neden olduğu belirlendi. Aynı şekilde Theracem Dc'nin toksik olmayan konsantrasyonu, 24. saatte %87 canlılık oranı gösterdiği %44,4 konsantrasyondur, bu konsantrasyonda Theracem Sc ise %50 canlılık oranı gösterdi. Elde edilen bu verilere göre, kendiliğinden polimerize olan Theracem'in %40'dan fazla bir oranda hücre canlılığında azalmaya neden olduğu belirlendi. Bu çalışmada test ettiğimiz Speedcem Plus'ın 24. saatte ve %100 konsantrasyonda toksik kabul edilmediği daha önce belirtilmişti. %100 konsantrasyonda Speedcem Plus Dc %96 canlılık oranı gösterirken Speedcem Plus Sc ise %71 canlılık oranı gösterdi. Buna göre kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus'ın %30'dan fazla bir oranda hücre canlılığında azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada, elde edilen veriler doğrultusunda kendiliğinden polimerize olan örneklerin ışıkla polimerize edilen örneklerden daha yüksek sitotoksositeye neden olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, daha önceki sitotoksosite çalışmalarının sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (Schmid-Schwap ve ark., 2009; D'Alpino ve ark., 2017; Sun ve ark., 2018). Önceki çalışmalar ve bu çalışmanın sonuçlarına göre farklı aktivasyon modlarının farklı üç boyutlu polimer ağ oluşumunu indüklediği ve materyal içinden bazıları sitotoksik yoğunluğa ulaşabilen bileşenlerin salınımına neden olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada elde edilen deneysel veriler doğrultusunda ikinci araştırma hipotezimiz 'Polimerizasyonun aktivasyon yöntemi hücre canlılığını farklı seviyelerde etkileyecektir' kabul edilmiştir.

Rezin simanların elüsyon işleminde belirleyici birçok faktör etkilidir. İlk faktör reaksiyona girmemiş monomerlerin sayısıdır; elüsyon işleminde ayrıştırılabilir türlerin miktarı doğrudan polimerizasyon reaksiyonunun kapsamı ile ilgilidir. İkincisi; çözücü kimyasının elüsyon üzerindeki etkisidir. Üçüncüsü ise; ayrıştırılabilir türlerin boyutu ve kimyasal bileşiminin elüsyon üzerindeki önemli rolüdür. Başka bir ifadeyle, daha küçük moleküller gelişmiş yüksek hareketliliğe sahiptir ve yüksek hacimli moleküllerden daha hızlı bir oranda rezin simandan

ayrışmaları beklenir (Ferracane, 1994). Düşük moleküler ağırlıklı monomerler yüksek moleküler ağırlıklı monomerlerden çok daha yüksek miktarlarda ekstrakte edilebilir (Tanaka ve ark., 1991). TEGDMA gibi düşük moleküler ağırlıklı monomerler daha yüksek hareketliliğe sahiptir ve Bis-GMA ve UDMA gibi yüksek ağırlığa sahip moleküllerden daha hızlı ayrıştırılacaktır (Moharamzadeh K ve ark., 2007). Krishnan ve arkadaşları (Krishnan ve ark., 1997), ışıqla sertleşen rezin materyalini çözücü sıvı ortamda 1, 7, 14, 21, 28 ve 30 günlük sürelerde beklettikleri çalışmalarında, rezin materyalin çözünürlüğünün zamanla arttığını belirlemişlerdir. Lee ve arkadaşları (Lee ve ark., 1995) dental rezin örneklerini 7, 14 ve 30 gün süreyle çözücü içerisinde beklettikleri çalışmalarında, rezinlerden monomer elüsyonunun zamanla arttığını ve 30 günlük elüsyondaki monomer miktarlarının 7 günlük elüsyondaki monomer miktarlarından yedi kat daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Resin simanlardan salınan monomerlerin ve organik maddelerin moleküler ağırlığı ve hidrofilikliğine bağlı kimyasal özellikleri ve salınan miktarı kalan dentin kalınlığına bağlı olarak pulpa dokusuna ulaşma yeteneğini artırır. Bu özelliklere sahip hidrofilik monomerler HEMA ve TEGDMA'nın dentin yoluyla pulpaya daha kolay yayıldığı kabul edilmektedir. Asit uygulaması sonrası dentin tübüllerinin açılmasına rağmen Bis-GMA gibi daha büyük ve hidrofobik monomerler arayüzey hibrit tabakası tarafından tutulabilirken HEMA gibi daha küçük ve hidrofilik monomerler demineralize dentine infiltre olabilmektedir (Cadenaro ve ark., 2009). Ratanasathien ve arkadaşları (Ratanasathien ve ark., 1995) adeziv sistemlerin bileşimindeki her monomerin toksisiteyi etkileyebileceğini ve çeşitli monomerler arasında üç tip etkileşim olduğunu bildirmişlerdir. Bu etkileşimler; monomerlerin birbirinin etkisini artırması (sinerjistik etki), her monomerin kendi etkisini artırması (additiv etki) ve monomerlerin birbirinin etkisini azaltması (antagonist etki) olarak tanımlanmıştır. Çalışmaya göre tüm farklı monomerik bileşikler arasında 24 saatte antagonist aktivite daha baskınken 72 saatte sinerjistik etki arttıkça antagonist aktivite azalmıştır. Monomerlerin bu şekildeki etkileşimli aktivitesi UDMA/TEGDMA, HEMA/Bis-GMA ve Bis-GMA/TEGDMA monomer kombinasyonlarında çok daha belirgin olarak gözlenmiştir. Resin monomer kombinasyonları ile hücrelerin temas süresi, resin sistemlerin toksisitesi üzerinde güçlü bir etkiye sahiptir ve daha uzun temas süresi daha yüksek sinerjik etkileşim insidansı ile sonuçlanmıştır. Ek olarak çalışmada, 5 µmol/L'den daha az konsantrasyondaki Bis-GMA ile HEMA kombinasyonunun hücreler ile 24 saatlik

inkubasyonu sonrası %8 ila %20'lik bir toksisite azalması (antagonizma) belirlenmiştir. Ancak 72 saatlik inkubasyonda, aynı konsantrasyonlarda %16 oranında toksisite artışı (sinerjik etki) gözlenmiştir. Genel olarak 24 saatlik inkubasyonda antagonizma baskın iken 72 saatlik inkubasyonda sinerjizmin baskın etkileşim haline geldiği tespit edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada, rezin bileşenlerinin hücreler ile 24 ve 72 saatlik inkubasyondan sonra monomerlerin toksisite sıralaması Bis-GMA>UDMA>TEGDMA>HEMA (en az toksik) olarak belirtilmiştir.

Bu çalışmada incelenen TheraCem ve Calibra Universal self adeziv rezin simanlarının bileşiminde üreticinin bilgilendirmesine göre Bis-GMA bulunmaktadır. Kompozit ürünlerin çoğu sert bir aromatik merkezi çekirdeğe sahip yüksek viskoziteli bir monomer olan ve genellikle TEGDMA gibi seyreltici ko-monomerlerle birleştiğinde güçlü bir polimer ağı oluşturabilen Bis-GMA gibi metakrilatlar içerir (Stansbury, 2012). Bis-GMA bir oligomerdur ve belirli sayıda monomer biriminden oluşur (Söderholm ve Mariotti, 1999). Seyreltici olarak kullanılan TEGDMA, Bis-GMA tarafından homopolimerizasyon ile elde edilen düşük dönüşüm değerlerinin üstesinden gelmek için Bis-GMA ile sinerjik olarak hareket eder. Bis-GMA daha reaktif olduğu için TEGDMA'dan önce polimerleşir ve polimerizasyonun ilk saniyelerinde reaksiyon ortamının viskozitesi artar. Böylelikle, TEGDMA'nın polimerizasyonu yüksek viskoz bir ortamda başlar ve reaksiyon daha az viskoz baz monomerlere göre daha erken gerçekleşir. Daha düşük viskoziteye sahip Bis-EMA ve UDMA monomeri içeren kompozitler, geleneksel baz monomer Bis-GMA içerenlere göre daha yüksek dönüşüm ve daha yüksek polimerizasyon oranları gösterir (Fonseca ve ark., 2017). Daha düşük dönüşüm derecesine sahip rezinlerden sulu ortama daha fazla serbest monomer salınabilmektedir. Bis-GMA, sert aromatik çekirdek ve güçlü hidrojen bağlama yeteneği sayesinde en yüksek viskozite ve en yüksek vitrifikasyon (camlaşma) geçiş sıcaklığı değerleri sergiler. Bu durum en düşük derecede karbon-karbon çift bağ (C=C) dönüşümü ile sonuçlanır (Sideridou ve Achilias, 2005). Ratanasathien ve arkadaşlarının (Ratanasathien ve ark., 1995) hücre proliferasyon çalışmasında Bis-GMA ve TEGDMA'nın öldürücü olmayan konsantrasyonları belirlenmiştir. Çalışmada, önemli ölçüde düşük konsantrasyondaki lipofilik matris monomer Bis-GMA'nın hücre büyümesini hidrofilik ko-monomer TEGDMA'dan çok daha fazla inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle rezin esaslı dental materyallerin elüsyonlarında tanımlanan küçük

miktarlardaki Bis-GMA bile biyolojik öneme sahiptir (Spahl ve ark., 1998). Bis-GMA yüksek molekül ağırlığı nedeniyle daha az hareketliliğe sahiptir bu nedenle elüsyonlarında küçük miktarlarda belirlenir ancak monomerler arasında en toksik olanıdır. Ayrıca Bis-GMA hidrolize uğrar ve metabolit olarak metakrilik asit (MAA) üretir. MAA tümör nekroz faktörünün salınımını uyararak veya hücre zarının membran geçirgenliğini etkileyen lipid seviyesini değiştirerek sitotoksiteyi tetikleyebilir (Porto ve ark., 2011). Bis-GMA ve TEGDMA'nın insan pulpa, periodontal ligament veya diş eti fibroblastlarından elde edilen birincil hücre kültürlerinde yüksek sitotoksik etkiye neden olduğu ve bu monomerlerle hücrelerin temas süresi arttıkça sitotoksik etkinin arttığı gösterilmiştir (Yoshii, 1997).

Bu çalışmada incelenen Theracem ve Calibra Universal'in bileşiminde üreticinin bilgilendirmesine göre ayrıca HEMA bulunmaktadır. HEMA, dental adezivler, rezin modifiye cam iyonomer simanları veya rezin yapıştırma simanları gibi çeşitli dental materyallerde en sık kullanılan asidik olmayan hidrofilik monofonksiyonel monomerdur. HEMA, polar ve polar olmayan edeziv bileşenlerin karışabilirliğini ve çözünürlüğünü artıran ve ayrıca sıvı yapıdaki adezivin diş sert dokuları üzerindeki ıslatma davranışını iyileştiren suda çözünür, düşük viskoziteli bir monomerdur (Moszner ve Hirt, 2012). Önceki bir çalışmaya göre, insan lenfositleri HEMA ve diğer metakrilat monomerlerine maruz kaldığında hücre canlılığında önemli bir değişiklik meydana gelmemiştir, ancak HEMA'nın etkisiyle artan reaktif oksijen ürünleri (ROS) üretimi ve çift zincirli kopmalar yoluyla oluşan oksidatif DNA hasarı nedeniyle apoptoz ve hücre döngüsü değişiklikleri gözlemlenmiştir (Szczepanska ve ark., 2012). Reaktif oksijen ürünlerinin oluşturduğu oksidatif hasar, oksidan stres olarak tanımlanmaktadır. Oksidan stres ile GSH düzeylerinin azaldığı bilinmektedir. Hücre içi havuzu detoksifiye eden GSH, sistein aracılığıyla HEMA ile eklentiler oluşturarak inflamatuvar bir reaksiyon başlatır. Artan ROS seviyeleri genellikle genotoksite ile ilişkilidir. Intraselüler ROS üretimi ile DNA bazlarında tek sarmalda veya çift sarmalda meydana gelen kırılmalar sonucu DNA hasarı meydana gelir, DNA hasarı sonucu hücre döngüsünde bir gecikme olur ve bunun sonucunda belirli sinyal molekülleri hücre döngüsünün devamı ve DNA onarımı için hücrede aktive olurlar. DNA hasarı onarılamazsa hücrede apoptotik hücre ölümü meydana gelir (Tuncer ve Demirci, 2011). Rezin esaslı materyallerin polimerizasyonu sırasında polimer ağı oluşumunu sağlamak için molekül içi ve moleküller arası reaksiyonlar

meydana gelmektedir ve polimer ağ oluşumu sırasında MAA gibi yan ürünler oluşmaktadır (He ve ark., 2008). MAA, polimerizasyon işlemi sırasında veya elüsyon işlemi sırasında bozunma yoluyla oluşabilir (Durner ve ark., 2012). HEMA'nın olası sitotoksik ve genotoksik etkileri indüklemesine rağmen bu etkiler monomerin kendisinden çok bozunma ürünlerinden kaynaklanmaktadır. HEMA hidrolizinin ana ürünü olarak MAA üretilir. Üretilen MAA ağ oluşumu sırasında daha fazla bozunmaya uğrayarak biyolojik aktivite potansiyeline sahip birkaç bozunma ara ürünü daha üretir (Szczepanska ve ark., 2012). MAA tümör nekroz faktörünün salınımını uyarak veya hücre zarının membran geçirgenliğini etkileyen lipid seviyesini değiştirerek sitotoksikiteyi tetikleyebilmektedir (Porto ve ark., 2011).

Bu çalışmada, ışıkla polimerize edilen Theracem %100 ve %66,7 konsantrasyonda hücreler üzerinde yüksek sitotoksik etki göstermiş, kendiliğinden polimerize olan Theracem ise %44,4, %66,7 ve %100 konsantrasyonda hücreler üzerinde yüksek sitotoksik etki göstermiştir. Ayrıca, Theracem Dc ve Theracem Sc'de total hücre ölümlerine kadar uzanan bir aralıkta hücre canlılığını etkileyen bu toksik etkinin zamanla birlikte artarak devam ettiği gözlenmiştir. Monomer etkileşimleri rezinin toksik olmadığı konsantrasyonlarda meydana gelmektedir (Ratanasathien ve ark., 1995). Bu çalışmada %100 ve %66,7 konsantrasyondaki Theracem Dc ve %44,4, %66,7 ve %100 konsantrasyondaki Theracem Sc toksisitesinin zamana bağlı olarak devamlı artış göstermesi siman elüsyonundaki Bis-GMA ve HEMA'nın toksik konsantrasyonda olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmada Theracem Dc'nin %44,4 ve daha düşük konsantrasyonlarda, Theracem Sc'nin ise %29,6 ve daha düşük konsantrasyonlarda toksik olmadığı konsantrasyona ulaştığı gözlenmiştir. Bu konsantrasyonlarda Theracem Dc %87 canlılık oranı gösterirken Theracem Sc %74 canlılık oranı göstermiştir. Bis-GMA'nın 5 µmol/L'den daha az konsantrasyonu ile HEMA kombinasyonunun hücrelerle 24 saatlik inkubasyonunda antagonizm (toksikite azalması) baskın iken, 72 saatlik inkubasyonunda sinerjizm (toksikite artışı) baskın bir etkileşim haline gelmiştir (Ratanasathien ve ark., 1995). Bu çalışmada, Theracem Dc'nin %29,6 ve %44,4 konsantrasyonda ve 24. saatteki ($8,02 \pm 1,65$ - $8,46 \pm 2,47$) canlı hücre sayısı 48. saate ($10,6 \pm 3,05$ - $12,32 \pm 13,21$) kadar artış gösterdi ancak 72. saate (0 ± 0 - $7,05 \pm 6,4$) canlı hücre sayısında hızlı bir düşüş gözlemlendi. Ratanasathien ve arkadaşlarının (Ratanasathien ve ark., 1995) çalışmasıyla uyumlu olarak bu çalışmada, %29,6 ve %44,4 konsantrasyonda Theracem Dc'nin

bileşimindeki toksik olmayan konsantrasyonda bulunan Bis-GMA ve HEMA'nın 48. saate kadar antagonist aktivite gösterdiği ancak 48. saatten sonra 72. saate kadar sinerjist aktivite gösterdiği düşünülebilir. Theracem Sc'nin %29,6 konsantrasyonda 24. saatteki ($7,15 \pm 2,67$) canlı hücre sayısında 48. saatte ($2,89 \pm 0,35$) azalma gözlemlendi ancak 72. saatte ($18,79 \pm 3,32$) hücre canlılığında yüksek bir artış meydana geldi. Bu durumda Ratanasathien ve arkadaşlarının (Ratanasathien ve ark., 1995) bulgularından farklı olarak Theracem Sc'nin bileşimindeki Bis-GMA ve HEMA'nın 48. saate kadar sinerjist aktivite gösterdiği ve 48. saatten sonra 72. saate kadar sinerjist aktivitenin azaldığı veya antagonist aktivitenin arttığı düşünülebilir. Sinerjizm ve antagonizm aktiviteleri aynı sistemde beraber var olabilir. Rezinlerin sitotoksitesinde birden fazla mekanizma yer alabilir ve her bir mekanizma belirli konsantrasyon ve zaman koşullarında etkilidir (Ratanasathien ve ark., 1995). Bu çalışmada, %19,8 konsantrasyondaki Theracem Dc'nin 24. saatte ($5,21 \pm 3,97$) ve 48. saatte ($6,72 \pm 4,04$) canlı hücre sayısında artış meydana geldi ve bu artışın 72. saatte ($27,56 \pm 4,63$) devam ettiği belirlendi. Böylece, Theracem'in bu çalışmada kendi içinde kaydedilen en yüksek canlı hücre sayısına ulaştığı gözlemlendi. %19,8 konsantrasyondaki Theracem Sc'nin canlı hücre sayısında 24. saatte ($6,75 \pm 0,28$), 48. saatte ($8,38 \pm 1,48$) ve 72. saatlerde ($23,06 \pm 3,25$) devam eden bir artış gözlemlendi. Ratanasathien ve arkadaşları'nın (Ratanasathien ve ark., 1995) çalışmasıyla uyumlu olarak bu çalışmada, %19,8 konsantrasyonda Theracem Dc ve Theracem Sc'nin bileşimindeki Bis-GMA ve HEMA'nın sinerjist aktivitesinin zamana bağlı olarak azaldığı veya antagonist aktivitenin zamanla artış gösterdiği düşünülebilir. Işıklı polimerize edilen Theracem'in biyolojik etkileri hakkında literatürde yalnızca Şişmanoğlu ve arkadaşlarının (Şişmanoğlu ve ark., 2020) çalışması bulunmaktadır. Şişmanoğlu ve arkadaşları (Şişmanoğlu ve ark., 2020) çalışmalarında, ışıkla polimerize edilen %100 konsantrasyondaki Theracem'in 24. saatte % 69,2 ve 72. saatte %49,3 canlılık oranı gösterdiğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada, ışıkla polimerize edilen Theracem, %100 konsantrasyonda 24. saatte %31 ve 72. saatte %0 canlılık oranı gösterdi. Bu çalışmada elde edilen bulguların daha önceki çalışmanın bulgularıyla örtüşmemesi çalışmada kullanılan hücre serilerinin farklı olmasından, kontrol materyallerinin farklı olmasından ayrıca test koşulları ve plak okuyucu cihazların farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir. Literatürde Theracem dual kür self adeziv simanın bu biyolojik etkilerini karşılaştırabileceğimiz daha önce yapılmış çok az çalışma bulunması simanın biyolojik etkilerinin belirlenmesini

zorlaştırmaktadır. Bu nedenle diş hekimliği kliniklerinde yaygın olarak kullanılan Theracem'in biyolojik etkileri ile ilgili daha fazla çalışma yapılması gereklidir.

Theracem'in bileşiminde ayrıca 10-MDP bulunmaktadır. Asidik rezin monomerleri diğer rezin monomerleri ile kopolimerizasyon yoluyla reaksiyona girebilen polimerize edilebilir bir grup ve sert diş dokularını aşındırabilen asidik fonksiyonel bir grup içerir. Bu tür monomerler adezivler ve rezin simanlar gibi birçok rezin esaslı dental materyalin ana bileşeni olarak kullanılmaktadır. 10-MDP en sık kullanılan asidik monomerdur. Mine ve dentini aşındırmak için bir dihidrojen fosfat grubu ve diğer rezin monomerler ile çapraz bağlanma için bir metakrilat grubu içerir. Ayrıca, 10-MDP'nin hidroksiapatit ile yoğun şekilde etkileşime girdiği ve diğer asidik monomerlere kıyasla kalsiyum ile hidrolitik olarak en kararlı bağı oluşturduğu bilinmektedir (Van Landuyt ve ark., 2007). Kim ve arkadaşlarının (Kim ve ark., 2015) pulpa hücrelerinde inflamatuvar yanıt ve odontoblastlardaki farklılaşma üzerinde 10-MDP'nin etkilerini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmanın sonuçlarına göre 10-MDP, konsantrasyon bağımlı olarak NO, PGE2, iNOS, COX-2, TNF-a, IL-1b, IL-6 ve IL-8 gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımına neden olmaktadır. Ek olarak 10-MDP alkalen fosfataz aktivitesini, mineralizasyon nodül oluşumunu ve dentin sialofosfoprotein, dentin matris protein-1, osterix ve Runx2 gibi odontoblastik farklılaşma belirteçlerinin mRNA ekspresyonunu düşük toksisite ile konsantrasyona bağımlı olarak azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca 10-MDP, nükleer faktör-E2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2) ve onun hedef geni olan heme oksijenaz-1 (HO-1) aktivasyonunu indüklediği bildirilmiştir. 10-MDP'nin, konsantrasyon bağımlı olarak hücresel proliferasyonu inhibe ettiği rapor edilmiştir. Proinflamatuvar mediatörlerin ve sitokinlerin ekspresyonu bakımından 10-MDP'nin benzer bir toksisite profiline sahip TEGDMA'ya kıyasla biraz daha düşük bir inflamatuvar yanıt oluştursa da konsantrasyon bağımlı olarak artan inflamatuvar yanıtlar ortaya çıkardığı bildirilmiştir. 10-MDP'nin minimal toksik konsantrasyonları ROS üretimini indüklemiş ve indüklenen ROS üretimi odontoblast hücrelerinde hücre farklılaşmasına ve inhibisyona neden olmuştur. Theracem'in bileşiminde bulunan bifonksiyonel asidik monomer 10-MDP bu olumsuz biyolojik özelliklerine rağmen, Calibra Universal bileşiminde kullanılan asidik monomer olan PENTA'ya göre daha güncel bir materyaldir ve literatürde PENTA'nın biyolojik özellikleri ile ilgili yeterli bilgi mevcut değildir. Bu nedenle 10-MDP'nin PENTA'ya göre daha biyouyumlu bir

materyal olduğu düşünölebilir. Bu bilgiler doğrultusunda Calibra Universal self adeziv rezin simanın Theracem'e göre daha fazla sitotoksik etki göstermesinin neden olarak bileşimindeki diğer farklı içeriklerin yanısıra Calibra Universal'in bileşiminde bulunan PENTA'dan kaynaklandığı düşünölebilir.

Bu çalışmada test edilen ışıkla polimerize olan Calibra Universal %29,6-%44,4-%66,7 ve %100 konsantrasyonlarda total hücre ölümüne kadar varan bir aralıkta canlı hücre sayısında azalmaya neden olmuştur. Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal tüm zaman dilimlerinde ve konsantrasyonlarda yüksek sitotoksik etki göstermiştir. Ratanasathien ve arkadaşlarına (Ratanasathien ve ark., 1995) göre monomer etkileşimleri rezinin toksik olmadığı konsantrasyonlarda meydana gelmektedir. 25 µmol/L konsantrasyonda Bis-GMA, HEMA konsantrasyonundan bağımsız olarak sinerjiye neden olmaktadır ve 1000 µmol/L konsantrasyondaki HEMA ile kombinasyonu halinde toksisiteyi %10 artırmaktadır. 250 ile 1.000 µmol/L arasındaki konsantrasyonda HEMA ve 0,5 ile 5 µmol/L arasındaki konsantrasyonda Bis-GMA kombinasyonlarında önemli sinerjizm meydana gelmektedir. 24. ve 72. saatlerde herhangi bir toksik konsantrasyona sahip HEMA ile 10 µL konsantrasyondaki Bis-GMA etkileşimi sinerjizm ile sonuçlanmaktadır. Bu verilerden yola çıkarak %29,6-%44,4-%66,7 ve %100 konsantrasyondaki Calibra Universal Dc'nin ve tüm konsantrasyonlarda Calibra Universal Sc'nin özütlerinde toksik konsantrasyonda Bis-GMA ve HEMA'nın bulunduğu düşünölebilir. Calibra Universal Dc, %19,8 konsantrasyonda %104 canlılık oranı göstermiş ve toksik olmayan konsantrasyonuna ulaşmıştır. Calibra Universal Dc'nin %19,8 konsantrasyonda ve 24. saatteki (10,08±3,12) canlı hücre sayısı 48. saatte (7,93±0,71) azalmış ancak 72. saatte (21,75±3,18) hücre canlılığında hızlı bir artış gözlenmiştir. Böylelikle Calibra Universal bu çalışmada kendi içinde gösterdiği en yüksek canlı hücre sayısına ulaşmıştır. Bu sonuçla, Calibra Universal Dc'nin %19,8 konsantrasyondaki monomer aktivitesinin %29,6 konsantrasyondaki Theracem Sc ile benzerlik gösterdiği düşünölebilir. Calibra Universal Sc'nin %19,8 konsantrasyonda ve 24. saatteki (5,87±1,23) canlı hücre sayısı, 48. saatte (7,74±2,14) artış göstermiş ve bu artış 72. saatte (10,62±3,36) devam etmiştir. Bu sonuçla %19,8 konsantrasyondaki Calibra Universal Sc'nin monomer aktivitesinin aynı konsantrasyondaki Theracem Dc ve Theracem Sc ile benzer davranış sergilediği düşünölebilir. Calibra Universal dual kür self adeziv simanın bu biyolojik etkilerini

karşılaştırabileceğimiz literatürde daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu sebeple diş hekimliği kliniklerinde yaygın olarak Calibra Universal'in biyolojik etkilerinin belirlenmesi amacıyla daha fazla çalışma yapılması gereklidir.

Bu çalışmada, Calibra Universal ve Theracem dual kür self adeziv rezin simanlarının her ikisinin de bileşimlerinde Bis-GMA ve HEMA bulunmasına rağmen Calibra Universal, Theracem' e göre her iki polimerizasyon modunda canlı hücre sayısında daha fazla azalmaya neden oldu. Üreticinin bigilendirmesine göre Calibra Universal'in bileşiminde ayrıca metakrilat monomeri olan TEGDMA bulunmaktadır. En çok kullanılan rezin monomerlerinin sitotoksisite sıralaması Bis-GMA>UDMA>TEGDMA>HEMA>MMA olarak belirlenmiştir (Lee ve ark., 2006). Bu sıralamaya göre tek başına TEGDMA'nın ortak içerik HEMA'ya göre daha sitotoksik potansiyele sahiptir. Ayrıca, Bis-GMA/TEGDMA kombinasyonu vitrifikasyon (sertleşme) başlangıcında en düşük monomerden polimere dönüşüm değeri (DC) ve daha düşük maksimum polimerizasyon oranı göstermektedir (Fonseca ve ark., 2017). Bu verilere göre, Calibra Universal'in Theracem'e göre daha fazla sitotoksisite göstermesinde başlıca etkenin bileşiminde bulundurduğu diğer farklı içeriklerin yanı sıra esas olarak TEGDMA'dan kaynaklandığı düşünülebilir.

Bu çalışmada değerlendirilen Speedcem Plus ve Calibra Universal üreticinin biligilendirmesine göre bir metakrilat monomeri olan TEGDMA içermektedir. Doymamış karboksilik asidin bir esteri olan TEGDMA monomeri dentin bonding ajanların ve rezin kompozitlerin önemli bir bileşenidir. TEGDMA, polimerize rezin kompozitlerden veya dentin bonding ajanlarından sulu ortama salınan ana bileşiktir (Geurtsen ve ark., 1998). TEGDMA'nın insan dişeti ve pulpa fibroblastlarında sitotoksisiteye neden olduğu gösterilmiş ve TEGDMA'nın neden olduğu toksisitenin fibroblastlarda GSH'ın hızlı tükenmesi ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Lefeuvre ve ark., 2005). Fibroblastlarda TEGDMA kaynaklı GSH tükenmesi daha sonra ROS üretimi ile sonuçlanmaktadır. Stanislawski ve arkadaşları (Stanislawski ve ark., 2003) çalışmalarında, TEGDMA ile temas ettirilen fibroblastlardaki GSH seviyesinin aşamalı olarak azalarak 3-4 saatte tamamen tükendiğini ve ROS üretiminin ise TEGDMA temasından 3-4 saat sonra aşamalı olarak arttığını göstermişlerdir. Mitokondri, çoğu fizyolojik sürecin, hücre hasarının ve programlanmış hücre

ölümünün kontrolünde çok önemli rol oynar (Wallace ve ark., 1997). Mitokondriyal solunum zinciri ATP üretir ve hücrede oksijen tüketiminin önemli bir yeridir. Sağlıklı hücrelerin mitokondrileri mitokondriyal iç zar boyunca matrinden zarlar arası boşluğa proton pompalayarak ve solunum zinciri boyunca elektron taşınması ile elektrokimyasal akışı korur. Proton akışı ve zarın elektrik potansiyeli protonların akışı için güç sağlar ve bu güç ATP sentezini yürütmek için kullanılır. Mitokondri aynı zamanda ROS üretiminin en önemli kaynaklarından biridir (Zhang ve ark., 2001). GSH, vücutta radikal aracılı hasarın önlenmesinde görevli düşük molekül ağırlıklı bir tiyoldür. GSH, sitozolde sentezlenen ve mitokondriye taşınan önemli bir hücresel antioksidandır. GSH sentezinin inhibisyonu veya sitozolik GSH'ın tükenmesi mitokondriyal GSH seviyelerini tüketir. GSH, ROS toksisitesine karşı en önemli hücre içi koruyuculardan biridir (Meister, 1994). ROS, mitokondriyal oksidatif metabolizma sırasında ksenobiyotiklere ve sitokinlere karşı hücresel yanıt olarak üretilir ROS başlangıçta aerobik metabolizmanın toksik yan ürünleri olarak kabul edilmiştir. Mitokondriyal solunum zinciri, hücrede ROS üretiminin önemli bir bölgesidir. ROS'un mitokondride sürekli olarak üretildiği iyi bilinmektedir. Mitokondri, GSH ve süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler dahil olmak üzere antioksidan koruma sistemlerine sahiptir. Bu nedenle mitokondriyal GSH oksidatif strese karşı savunmada önemli bir rol oynar. Bununla birlikte mitokondri GSH için tamamen sitozole bağımlıdır, sitozolik GSH'nin uzun süreli tükenmesi mitokondriyal GSH'ın tükenmesi ile sonuçlanır ve böylece mitokondriyal ROS'un detoksifikasyon sürecini kesintiye uğratar (Meister, 1995). Çeşitli antioksidanlarla yapılan çalışmalarda TEGDMA kaynaklı hücresel ölümün ana nedeninin ROS üretimi olduğu gösterilmiştir (Lefevre ve ark., 2005). TEGDMA, primer insan dişeti hücrelerinde doza ve zamana bağlı olarak apoptoza neden olmaktadır (Janke ve ark., 2003) ayrıca, TEGDMA'nın V79 çin hamster hücrelerinde hipoksantin-guanin fosforibosiltransferaz geninde mutasyona neden olduğu ve büyük DNA dizisi silinmesine yol açtığını gösterilmiştir (Schweikl ve Schmalz, 1999).

Bu çalışmada değerlendirilen Speedcem Plus ve Calibra Universal'in üreticinin bilgilendirmesine göre bileşiminde UDMA bulunmaktadır. UDMA, dental kompozitlerin sentezinde kullanılan en yaygın metakrilat rezin monomerlerden biridir ve Bis-GMA'ya alternatif olarak kullanılır. Bis-GMA gibi aromatik bazlı monomerlerle karşılaştırıldığında UDMA daha az viskozdur bu nedenle klinik

manipölasyonu daha kolaydır. Üretan bağlarının esnekliği nedeniyle daha fazla inorganik doldurucu eklenmesine izin verir ve UDMA içeren rezinlerin çekme dayanımı, eğilme dayanımı ve elastisite modülü Bis-GMA ve diğer aromatik bazlı meteryallerle hazırlanan rezinlere kıyasla daha iyidir (Polydorou ve ark., 2009). Bununla birlikte üretan bazlı polimerler aromatik bazlı polimerlerden daha fazla su emer. Sulu çözücülerin absorpsiyonları polimer matrisinin pasif ve enzimatik hidrolitik bozunmasına neden olabilir. Bu işlem sadece üretan esaslı polimerlerin mekanik özelliklerini değiştirmekle kalmamış aynı zamanda bağlanmamış monomerlerin ve bozunma yan ürünlerinin ağız ortamına salınmasını da neden olmuştur (Ferracane, 2006). Bağlanmamış monomerlerin ve bozunma yan ürünlerinin ağız ortamına salınması ve özellikle UDMA ile ilişkili bazı olumsuz biyolojik etkilerin ortaya konması UDMA'nın biyolojik güvenliği ile ilgili çalışmaların yapılmasını gerektirmiştir. Bu konuda Nassiri ve arkadaşları (Nassiri ve ark., 1994), UDMA ile inkübasyondan sonra epidermal oral karsinom hücrelerinin ve insan sünnet derisi fibroblast hücrelerinin hücre döngüsünde bozulma meydana geldiğini belirlemişlerdir. Ayrıca, UDMA'nın sıçanlarda pulpal immünokompetan hücrelerin işlevini bozduğu belirlenmiştir (Jontell ve ark., 1995). Dental materyallerden salınan UDMA'nın insan ağız hücrelerinde nekrozu indükleyebilecek toksik seviyeye ulaştığı bildirilmiştir (Reichl ve ark., 2006). Poplawski ve arkadaşlarının (Poplawski ve ark., 2010) yaptıkları çalışmanın sonucuna göre; UDMA, 0,1 ve 1,0 mM konsantrasyonlarda, konsantrasyona bağımlı olarak lenfosit hücrelerinin canlılığını %80 oranında azaltmış ve DNA hasarını indüklemiştir. Ayrıca UDMA, 1 mM konsantrasyonda lenfositlerde apoptoza neden olmuştur. Ancak, UDMA'ya maruz kalma sonrasında DNA hasarına uğrayan lenfositler DNA'larını 60 dakika içinde onarabilmişlerdir. UDMA, potansiyel olarak insan pulpasında iltihaplanma ve toksisiteye neden olabilmektedir. UDMA'nın toksisitesi, cdc2, siklinB1 ve cdc25C ekspresyonunun azalması ve p21'in yükselmesinin yanı sıra hücre döngüsü durması ve apoptozun indüklenmesi ile ilişkilidir. ROS birikimi, HO-1 ve CES enzim aktivitesi UDMA sitotoksitesine sebep olabilir (Chang ve ark., 2014). Ayrıca UDMA, insan pulpa hücrelerinde proinflamatuvar COX-2 üretimini ve arttırılmış oksidatif stresi indüklemiştir. Bu bulgular, toksisitesini azaltmak amacıyla esteraz enziminin UDMA metabolizmasında etkili olduğunu göstermiştir ve bu işlev insan diş pulpa hücrelerinde CES2 tarafından yürütülmüştür. UDMA, insan pulpa hücrelerinde proinflamatuvar COX-2 üretimini ve arttırılmış oksidatif stresi

indüklemiştir. UDMA, CHO-K1 hücrelerinde ROS birikimini indükleyerek sitotoksositeye neden olmuştur (Chang ve ark., 2010). Daha önce yapılan *in vitro* çalışmalarda da UDMA'nın hücre ölümünü indükleyebileceği gösterilmiştir (Ratanasathien ve ark., 1995; Yoshii, 1997).

Bu çalışmada test ettiğimiz ışıkla polimerize edilen Speedcem Plus ve kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus, 24. saatte tüm konsantrasyonlarda ISO tarafından belirlenen %70 canlılık sınırının üstünde canlılık oranı sergiledi. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, Speedcem Plus Dc ve Speedcem Plus Sc'nin özütlerindeki UDMA ve TEGDMA'nın toksik olmayan konsantrasyonlarda bulunduğu söylenebilir. %29,6, %44,4, %66,7 ve %100 konsantrasyonda Speedcem Plus Dc'nin 24. saatte yüksek değerlerde olan canlı hücre sayısında 48. saatte azalma meydana gelmiş ancak 72. saatte başlangıç değerlerinin altında kalan bir değerde canlı hücre sayısında artış gözlenmiştir. %19,8 konsantrasyonda Speedcem Plus Sc'nin 24. saatteki ($10,83 \pm 2,03$) canlı hücre sayısı 48. saatte ($9,74 \pm 4,06$) düşük bir azalma göstermiş ancak 72. saatte ($28,15 \pm 3,35$) canlı hücre sayısında yüksek bir artış meydana gelmiştir. Bu çalışmada, %29,6, %44,4, %66,7 ve %100 konsantrasyondaki Speedcem Plus Dc ile %19,8 konsantrasyondaki Speedcem Plus Sc'de monomer aktivitesinin aynı şekilde geliştiği düşünülmektedir. Buna göre, ilk 24 saatte yüksek olan antagonist aktivite 48. saate kadar azalma göstermiş ancak 48. saatten sonra 72. saate kadar antagonist aktivite tekrar baskın hale gelmiştir. %29,6; %44,4; %66,7 ve %100 konsantrasyondaki Speedcem Plus Sc'nin 24. saatte yüksek değerlerde olan canlı hücre sayısında 48. ve 72. saatte total hücre ölümüne kadar varan bir aralıkta büyük bir düşüş gözlenmiştir. Ratanasathien ve arkadaşlarına (Ratanasathien ve ark., 1995) göre, UDMA ve TEGDMA kombinasyonunda ilk 24 saat için antagonizma, sinerjizm ve aditivizmden daha baskındır. 72. saatte ise, özellikle UDMA ve TEGDMA kombinasyonunda antagonizma oluşumu azalmış ve sinerjizm önemli ölçüde artmıştır. Bu çalışmanın bulgularıyla uyumlu olarak %29,6, %44,4, %66,7 ve %100 konsantrasyondaki Speedcem Plus Sc'de ilk 24 saatte antagonist aktivitenin yüksek olduğu ancak 72. saate kadar antagonist aktivitenin azaldığı ve sinerjist aktivitenin önemli ölçüde arttığı düşünülebilir. Daha önce vurgulandığı gibi sinerjizm ve antagonizm aktiviteleri aynı sistemde beraber var olabilir. Rezinlerin sitotoksitesinde birden fazla mekanizma yer alabilir ve her bir mekanizma belirli konsantrasyon ve zaman koşullarında etkilidir (Ratanasathien ve ark., 1995). %19,8

konsantrasyonda Speedcem Plus Dc'nin 24. saatte ($11,77 \pm 3,66$) en yüksek değerde olan canlı hücre sayısı 48. saatte ($15,91 \pm 3,78$) artmaya devam ederek 72. saatte ($43,85 \pm 7,68$) bu çalışma içinde kaydedilen en yüksek canlı hücre sayısına ulaşmıştır. Elde edilen bu bulgulara göre, %19,8 konsantrasyonda Speedcem Plus Dc'de ilk 24 saatte yüksek olan antagonist aktivitenin zamanla artış gösterdiği veya ilk 24 saatte düşük olan sinerjist aktivitenin zamanla azaldığı düşünülebilir. Speedcem Plus dual kür self adeziv simanın bu biyolojik etkilerini karşılaştırabileceğimiz daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu sebeple diş hekimliği kliniklerinde yaygın olarak kullanılan Speedcem Plus'ın biyolojik etkilerinin belirlenmesi amacıyla daha fazla çalışma yapılması gereklidir.

Calibra Universal self adeziv rezin simanın bileşiminde ayrıca Bisfenol A etoksilat dimetakrilat (Bis-EMA) bulunmaktadır. Bis-EMA ikincil fonksiyonel (OH) grupları olmayan Bis-GMA'nın etoksillenmiş yapısal analogudur. Hidroksil gruplarının yokluğu, karışımın viskozitesinin ve moleküller arası etkileşimin azaltılmasından sorumludur. İkincil fonksiyonel (OH) grupları olmayan düşük viskoziteli ko-monomer TEGDMA ile karşılaştırıldığında Bis-EMA homopolimeri daha yüksek DC değerleri ile sinerjik bir etki gösterir (Fonseca ve ark., 2017). Bis-EMA ve UDMA monomerleri, Bis-GMA'daki kusurların giderilmesi amacıyla geliştirilmiştir. Bu monomerlerin moleküler ağırlıkları Bis-GMA'ya benzer ancak düşük viskozitelidir. Bis-EMA, hidroksil grubu içermeyen UDMA'dan daha az viskozudur. Reaktif seyrelticiler kullanılmadığında Bis-GMA ve Bis-EMA kombinasyonu kullanılabilir (Sivakumar ve ark., 2021). Sideridou ve arkadaşları (Sideridou ve ark., 2002), Bis-EMA'nın başlangıç polimerizasyon hızının Bis-GMA'dan çok daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada, Bis-EMA'nın 60 s'lik ilk ışınlama süresi boyunca büyük ölçüde reaksiyona girmediği ve çözücüde büyük miktarda polimerize olmamış Bis-EMA'nın monomer halde kaldığı belirlenmiştir.

Bu çalışmadan elde ettiğimiz verilere göre Speedcem Plus her iki polimerizasyon modunda en az sitotoksosite gösteren self adeziv rezin siman örneği olmuştur. Daha önceden bahsedildiği gibi Calibra Universal ve SpeedCem Plus'ın bileşimlerinde ortak monomer olarak UDMA ve TEGDMA bulunmaktadır. Bu monomerlerden farklı olarak Calibra Universal bileşiminde ayrıca Bis-EMA ve Bis-GMA bulunmaktadır. Vitrifikasyon reaksiyonunda UDMA/TEGDMA kombinasyonu ve Bis-

EMA/TEGDMA kombinasyonu en yüksek dönüşüm derecesi değerleri (DC) ve en yüksek maksimum polimerizasyon oranını sunarken, Bis-GMA/TEGDMA kombinasyonu en düşük dönüşüm derecesi değerleri ve en düşük bir maksimum polimerizasyon oranı göstermektedir (Fonseca ve ark., 2017). Vitrifikasyon bileşeninin eksikliği daha yüksek reaksiyona girmemiş çift bağ (C=C) miktarı, daha düşük sertlik ve daha yüksek siman çözünürlüğü ile sonuçlanabilir (Pereira ve ark., 2010). Dönüşüm derecesi değerlerinin (DC) azalması salınan monomer miktarının artmasına yol açar (Rueggeberg ve Craig, 1988) ve yüksek siman çözünürlüğü nedeniyle salınan monomer miktarının zamanla artması, self adeziv rezin simanın sitotoksikite ve genotoksikitesini artırır (Kurt ve ark., 2018). Calibra Universal self adeziv rezin simanının SpeedCem Plus'a göre daha yüksek sitotoksik etki göstermesi simanın bileşimindeki diğer içeriklerin yanı sıra farklı rezin monomer kombinasyonlarının farklı şekillerde aktivite göstermesinden kaynaklanıyor olabilir. İnsan gingival fibroblast hücrelerinde en çok kullanılan rezin monomerlerinin sitotoksikitesi şu şekilde sıralanmıştır: Bis-GMA > UDMA > TEGDMA > HEMA (Reichl ve ark., 2006). Bu toksite sıralamasına göre, Calibra Universal bileşiminde bulunan Bis-GMA'nın ortak içerik UDMA ve TEGDMA'ya göre daha sitotoksik özellikte olması Calibra Universal self adeziv rezin simanının SpeedCem Plus'a göre daha yüksek sitotoksik etki göstermesinde başka bir etken olarak kabul edilebilir. Bu çalışmada, Bis-GMA ve HEMA monomerleri içeren Theracem, bileşiminde UDMA ve TEGDMA monomerlerini bulunduran SpeedCem Plus'a göre daha yüksek sitotoksik etki göstermiştir. Theracem'in SpeedCem Plus'a göre daha yüksek sitotoksik etki göstermesi, Theracem bileşiminde bulunan Bis-GMA'nın daha önce belirtilen olumsuz biyolojik etkilerinin yanı sıra genel olarak UDMA monomer kombinasyonlarının geleneksel baz monomer Bis-GMA kombinasyonlarına göre daha yüksek dönüşüm ve daha yüksek polimerizasyon oranları göstermesinden (Fonseca ve ark., 2017) kaynaklanıyor olabilir.

Bu çalışmanın *in vitro* koşullarda yapılması çalışmanın kısıtlamaları arasındadır. Bu çalışmada iki farklı şekilde polimerize edilen üç farklı self adeziv rezin simanın L929 devamlı hücre serisi üzerindeki sitotoksik etkileri ekstrakt yoluyla temas yöntemi kullanılarak MTT testiyle değerlendirilmiştir. Farklı hücre kültürü türleri, farklı temas yöntemleri ve farklı test yöntemlerinin kullanılması bu çalışmada elde edilen sonuçlardan farklı sonuçlar elde edilmesine yol açabilir.

Birçok *in vitro* çalışmada olduğu gibi bu çalışmanın sonuçlarını doğrudan klinik sonuçlarla örtüştürmek zordur. Bu nedenle, çalışmamızda değerlendirilen simanların biyolojik özelliklerinin daha iyi belirlenebilmesi için *in vivo* çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmanın yürütüldüğü deneysel koşulların sınırları içerisinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır;

1. Test edilen tüm dual kür self adeziv rezin simanlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L929 hücreleri üzerinde önemli derecede sitotoksik etki göstermiştir. Bu sitotoksik etkinin konsantrasyona, zamana ve kullanılan polimerizasyon yöntemine göre değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Bu sebeple her bir simanın sitotoksik etkisi, konsatrasyon, zaman dilimi ve polimerizasyon yöntemi açısından ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

2. Bu çalışmada ışıkla polimerizasyon yönteminin en fazla canlılık oranı gözlenen polimerizasyon yöntemi olduğu belirlenmiştir. Işıkla polimerize edilen Speedcem Plus en yüksek canlılık oranı gösterirken bu simanı Theracem takip etmiştir. Işıkla polimerize edilen Calibra Universal örnekleri ise en düşük canlılık oranı sergilemiştir.

3. Bu çalışmada kendiliğinden polimerize olan örnekler, konsatrasyon ve zaman biriminden bağımsız olarak düşük canlılık oranlarını sergilemişlerdir. Kendiliğinden polimerize olan Speedcem Plus en yüksek canlılık oranı gösterirken bu simanı Theracem takip etmektedir. Kendiliğinden polimerize olan Calibra Universal ise en düşük canlılık oranı sergilemiştir.

4. Çalışmamızda değerlendirdiğimiz Calibra Universal her iki polimerizasyon modunda en fazla sitotoksisite gösteren self adeziv rezin siman olmuştur. Calibra Universal self adeziv rezin simanın biyolojik özelliklerinin belirlenebilmesi amacıyla farklı hücre kültürü türleri ve farklı test yöntemlerinin kullanıldığı daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

5. Çalışmamızda genel olarak ışıkla polimerize edilen örneklerin tüm konsantrasyon ve sürelerdeki canlı hücre sayısı ortalaması kendiliğinden polimerize olan örneklerden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar ışığında, dual kür self adeziv simanlar klinikte ışıkla polimerize edilerek kullanılmalıdır. Ayrıca, klinik uygulamalar sırasında polimerizasyonu artıracak ışık kaynaklarının geliştirilmesi

önem taşımaktadır. Işığın ulaşamayacağı bölgelerde kullanılmasının zorunlu olduğu durumlarda ise simanın kendiliğinden polimerizasyon özellikleri iyi bilinmelidir.

6. Bu çalışmada değerlendirilen self adeziv rezin simanların sitotoksik etkilerini karşılaştırabileğimiz literatürde yeterli çalışma bulunmaması bu simanlarla ilgili daha fazla çalışma yapılmasının gerekli olduğunu göstermektedir.

7. Bu çalışmada test edilen örneklerden elde edilen doz bağımlı hücre canlılık oranı verilerine göre konsantrasyonun artmasıyla materyalin sitotoksik etkisinin arttığı gözlenmiştir.

8. Bu çalışmada test edilen örneklerden elde edilen süre bağımlı hücre canlılık oranı verilerine göre örnek özütlerinin hücreler ile inkübasyon süresi arttıkça sitotoksik etkisinin arttığı tespit edilmiştir.

9. Bu çalışma *in vitro* koşullarda yapılmıştır. *In vivo* koşullarda canlı pulpa, dentin ve gingival kompleks yapılarının sitotoksik etkiye cevabı ve savaşıması nedeniyle bulunan sonuçların kliniğe tam olarak yansıtılamayacağı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, çalışmamızda kullanılan self adeziv rezin simanların biyolojik özellikleriyle ilgili *in vivo* çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

10. Çalışmamızda kullandığımız self adeziv rezin simanlar güncel materyallerdir ve diş hekimleri tarafında klinikte rutin olarak kullanılmaktadır. Resin monomerlerin yetersiz polimerizasyonu ortama monomer bileşenlerinin salınımına neden olmaktadır. Bu nedenle diş hekimi ve yardımcı sağlık personeli, resin materyaller ile sürekli cilt temasından korunmalı, klinikte simantasyon sırasında hastanın ağız içi yumuşak dokularını koruyacak tedbirler alınmalıdır.

KAYNAKLAR

Ahmed S, Gogal Jr R, Walsh J. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: An alternative to [3h] thymidine incorporation assay. *J Immunol Methods*. 1994; 170: 211-224.

Alanko K, Susitaival P, Jolanki R, Kanerva L. Occupational skin diseases among dental nurses. *Contact Dermatitis*. 2004; 50: 77-82.

Alex G. Is total-etch dead? Evidence suggests otherwise. *Compend Contin Educ Dent*. 2012; 33: 12-16.

Anusavice K. Informatics systems to assess and apply clinical research on dental restorative materials. *Adv Dent Res*. 2003; 17: 43-48.

Anusavice K, Shen C, Rawls H. Phillips' science of dental materials. 11th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2003, p: 443-493.

Anusavice K, Shen C, Rawls H. Phillips' science of dental materials. 3 th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2012, p: 555-581.

Aranha A, Giro E, Hebling J, Lessa F, Costa C. Effects of light-curing time on the cytotoxicity of a restorative composite resin on odontoblast-like cells. *J Appl Oral Sci*. 2010; 18: 461-466.

Arenholt-Bindslev D, Breinholt V, Preiss A, Schmalz G. Time-related bisphenol-a content and estrogenic activity in saliva samples collected in relation to placement of fissure sealants. *Clin Oral Investig*. 1999; 3: 120-125.

Baker S, Brooks S, Walker D. The release of residual monomeric methyl methacrylate from acrylic appliances in the human mouth: An assay for monomer in saliva. *J Dent Res*. 1988; 67: 1295-1299.

Baldissara P, Comin G, Martone F, Scotti R. Comparative study of the marginal microleakage of six cements in fixed provisional crowns. *J Prosthet Dent*. 1998; 80: 417-422.

Barkmeier W, Shaffer S, Gwinnett A. Effects of 15 vs 60 second enamel acid conditioning on adhesion and morphology. *Oper Dent*. 1986; 11: 111-116.

Bitter K, Aschendorff L, Neumann K, Blunck U, Sterzenbach G. Do chlorhexidine and ethanol improve bond strength and durability of adhesion of fiber posts inside the root canal? *Clin Oral Investig*. 2014; 18: 927-934.

Borg M, Kirk D, Baumgarten H, R  chel R. A colorimetric assay for the assessment of cytotoxicity of yeasts. *J Med Vet Mycol*. 1984; 22: 357-367.

Bortner C, Cidlowski J. Apoptotic volume decrease and the incredible shrinking cell. *Cell Death Differ*. 2002; 9: 1307-1311.

Bouillaguet S, Shaw L, Gonzalez L, Wataha J, Krejci I. Long-term cytotoxicity of resin-based dental restorative materials. *J Oral Rehabil.* 2002; 29: 7-13.

Bowen R. Properties of a silica-reinforced polymer for dental restorations. *J Am Dent Assoc.* 1963; 66: 57-64.

Brännström M, Nyborg H. Pulpal reaction to polycarboxylate and zinc phosphate cements used with inlays in deep cavity preparations. *J Am Dent Assoc.* 1977; 94: 308-310.

Burgess J, Ghuman T, Cakir D, Swift E. Self-adhesive resin cements. *J Esthet Restor Dent.* 2010; 22: 412-419.

Cadenaro M, Breschi L, Rueggeberg F, Agee K, Di Lenarda R. Effect of adhesive hydrophilicity and curing time on the permeability of resins bonded to water vs. Ethanol-saturated acid-etched dentin. *Dent Mater.* 2009; 25: 39-47.

Cekic I, Ergun G, Lassila L, Vallittu P. Ceramic-dentin bonding: Effect of adhesive systems and light-curing units. *J Adhes Dent.* 2007; 9: 17-23.

Chang HH, Chang MC, Lin LD, Lee JJ, Wang TM, Huang CH. The mechanisms of cytotoxicity of urethane dimethacrylate to chinese hamster ovary cells. *Biomaterials.* 2010; 31: 6917-6925.

Chang HH, Chang MC, Wang TM, Lee JJ. Urethane dimethacrylate induces cytotoxicity and regulates cyclooxygenase-2, hemeoxygenase and carboxylesterase expression in human dental pulp cells. *Acta Biomater.* 2014; 10: 722-731.

Chang J, Nguyen T, Duong J, Ladd G. Tensile bond strengths of dual-cured cements between a glass-ceramic and enamel. *J Prosthet Dent.* 1998; 79: 503-507.

Charlton D, Moore B, Swartz M. Direct surface pH determinations of setting cements. *Oper Dent.* 1991; 16: 231-238.

Chen R, Liu C, Tseng W, Jeng J, Lin C. Cytotoxicity of three dentin bonding agents on human dental pulp cells. *J Dent.* 2003; 31: 223-229.

Cho E, Kopel H, White S. Moisture susceptibility of resin-modified glass-ionomer materials. *Quintessence int.* 1995; 26: 351-358.

Christensen G. Reducing the confusion about resin cements. *Clin Rep.* 2008; 1: 1-3.

Christensen R, Christensen G. Resin reinforced glass ionomer cements, all-ceramic crown fracture. *Clin Res Assoc News.* 1996; 20: 312-317.

Cochran B. Glass ionomer dental cement: The materials and their clinical use. 1993; 2: 16-24.

Cook J, Mitchell J. Viability measurements in mammalian cell systems. *Anal Biochem.* 1989; 179: 1-7.

Craig R. Restorative dental materials. 8 th ed. St Louis: Mosby; 1989, p: 189–225.

Crispin B. Contemporary esthetic dentistry: Practice fundamentals. *Implant Dent.* 1994; 67-68.

Croll T, Berg J. Glass-ionomer cement systems. *Inside Dent.* 2010; 6: 82-84.

D'Alpino P, de Dantas Moura G, de Arruda Barbosa S, de Azevedo Marques L. Differential cytotoxic effects on odontoblastic cells induced by self-adhesive resin cements as a function of the activation protocol. *Dent Mater.* 2017; 33: 1402-1415.

da Rocha Svizero N, Silva M, Alonso R, Rodrigues F. Effects of curing protocols on fluid kinetics and hardness of resin cements. *Dent Mater J.* 2013; 32: 32-41.

Dayangac B. Kompozit rezin restorasyonlar. 3. basım. Ankara: Güneş Kitabevi; 2000, p: 1-200.

De Munck J, Vargas M, Van Landuyt K, Hikita K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Bonding of an auto-adhesive luting material to enamel and dentin. *Dent Mater.* 2004; 20: 963-971.

de Souza S, Honorato M, Lobato K, Figueiredo M. Adhesive systems: Important aspects related to their composition and clinical use. *J Appl Oral Sci.* 2010; 18: 207-214.

Deliperi S, Bardwell D, Wegley C. Restoration interface microleakage using one total-etch and three self-etch adhesives. *Oper Dent.* 2007; 32: 179-184.

Diaz-Arnold A, Vargas M, Haselton D. Current status of luting agents for fixed prosthodontics. *J Prosthet Dent.* 1999; 81: 135-141.

Donovan T, Cho G. Contemporary evaluation of dental cements. *Compend Contin Educ Dent.* 1999; 20: 197-219.

Duke E, Lindemuth J. Polymeric adhesion to dentin: Contrasting substrates. *Am J Dent.* 1990; 3: 264-270.

Durner J, Obermaier J, Draenert M, Ilie N. Correlation of the degree of conversion with the amount of elutable substances in nano-hybrid dental composites. *Dent Mater.* 2012; 28: 1146-1153.

Elias S, Santos A, Garcia F, Pereira P, Hilgert L, Fonseca Y. Cytotoxicity of universal, self-etching and etch-and-rinse adhesive systems according to the polymerization time. *Braz Dent J.* 2015; 26: 160-168.

Ellender G, Feik S, Gaviria C. The biocompatibility testing of some dental amalgams in vivo. *Aust Dent J.* 1990; 35: 497-504.

Engelmann J, Volk J, Leyhausen G, Geurtsen W. Ros formation and glutathione levels in human oral fibroblasts exposed to TEGDMA and camphorquinone. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005; 75: 272-276.

Feigal R, Yesilsoy C, Messer H, Nelson J. Differential sensitivity of normal human pulp and transformed mouse fibroblasts to cytotoxic challenge. *Arch Oral Biol.* 1985; 30: 609-613.

Ferracane J. Elution of leachable components from composites. *J Oral Rehabil.* 1994; 21: 441-452.

Ferracane J. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent Mater.* 2006; 22: 211-222.

Ferracane J, Condon J. Rate of elution of leachable components from composite. *Dent Mater.* 1990; 6: 282-287.

Ferracane J, Stansbury J, Burke F. Self-adhesive resin cements—chemistry, properties and clinical considerations. *J Oral Rehabil.* 2011; 38: 295-314.

Fields R, Lancaster M. Dual-attribute continuous monitoring of cell proliferation & cytotoxicity. *Am Biotechnol Lab.* 1993; 11: 48-50.

Fonseca A, Moreira A, de Albuquerque P, de Menezes L, Pfeifer C, Schneider L. Effect of monomer type on the cc degree of conversion, water sorption and solubility, and color stability of model dental composites. *Dent Mater.* 2017; 33: 394-401.

Forsten L. Short-and long-term fluoride release from glass ionomers and other fluoride-containing filling materials in vitro. *Eur J Oral Sci.* 1990; 98: 179-185.

Franz A, König F, Skolka A, Sperr W, Bauer P. Cytotoxicity of resin composites as a function of interface area. *Dent Mater.* 2007; 23: 1438-1446.

Frassetto A, Navarra C, Marchesi G, Turco G, Di Lenarda R. Kinetics of polymerization and contraction stress development in self-adhesive resin cements. *Dent Mater.* 2012; 28: 1032-1039.

Fujisawa S, Kadoma Y. Action of eugenol as a retarder against polymerization of methyl methacrylate by benzoyl peroxide. *Biomaterials.* 1997; 18: 701-703.

Gaido K, Leonard LS, Lovell S, Gould JC, Babai D. Evaluation of chemicals with endocrine modulating activity in a yeast-based steroid hormone receptor gene transcription assay. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1997; 143: 205-212.

Garner L. Contact dermatitis to metals. *Dermatol Ther.* 2004; 17: 321-327.

Gerth H, Dammaschke T, Züchner H, Schäfer E. Chemical analysis and bonding reaction of relyx unicem and bifix composites—a comparative study. *Dent Mater.* 2006; 22: 934-941.

Gerzina T, Hume W. Tegdma clution from resin composites through dentine in vitro. *J Dent Res.* 1993; 73: 162-174.

Geurtsen W, Lehmann F, Spahl W, Leyhausen G. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3t3 and three human primary fibroblast cultures. *J Biomed Mater Res.* 1998; 41: 474-480.

Gladwin M, Bagby M. Clinical aspects of dental materials: Theory, practice, and cases. 3th ed. Michigan: Wolters Kluwer Health/ Lippincott Williams & Wilkins; 2013, p: 124-148.

Gonçalves T, Morganti M, Campos L, Rizzato S, Menezes L. Allergy to auto-polymerized acrylic resin in an orthodontic patient. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006; 129: 431-435.

Goodacre C, Campagni W, Aquilino S. Tooth preparations for complete crowns: An art form based on scientific principles. *J Prosthet Dent.* 2001; 85: 363-376.

Gwinnett A, Matsui A. A study of enamel adhesives: The physical relationship between enamel and adhesive. *Arch Oral Biol.* 1967; 12: 1615-1646.

Hamid A, Hume W. A study of component release from resin pit and fissure sealants in vitro. *Dent Mater.* 1997; 13: 98-102.

Hanks C, Anderson M, Craig R. Cytotoxic effects of dental cements on two cell culture systems. *J Oral Pathol Med.* 1981; 10: 101-112.

Hanks C, Strawn S, Watahai J, Craig R. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *J Dent Res.* 1991; 70: 1450-1455.

Hanks C, Wataha J, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: A review. *Dent Mater.* 1996; 12: 186-193.

He H, Li L, Lee L. Photopolymerization and structure formation of methacrylic acid based hydrogels: The effect of light intensity. *Reactive and Functional Polymers.* 2008; 68: 103-113.

Hedley D, Chow S. Evaluation of methods for measuring cellular glutathione content using flow cytometry. *Cytometry A.* 1994; 15: 349-358.

Hensten-Pettersen A. Skin and mucosal reactions associated with dental materials. *Eur J Oral Sci.* 1998; 106: 707-712.

Hensten-Pettersen A. Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. *Int Endod J.* 1988; 21: 89-99.

Hill E. Dental cements for definitive luting: A review and practical clinical considerations. *Dent Clin North Am.* 2007; 51: 643-658.

Hill E, Lott J. A clinically focused discussion of luting materials. *Aust Dent J.* 2011; 56: 67-76.

Hill E, Rubel B. Vital tooth cleaning for cementation of indirect restorations. *Gen Dent.* 2009; 57: 392-396.

Hornsby P. Dimensional stability of glass-ionomer cements. *J Chem Technol Biotechnol.* 1980; 30: 595-601.

Hosada H, Katsuyama S, Ishikawa T, Fujii B. Glass ionomer dental cement-the materials and their clinical use. 1 st ed. St. Louis: Ishiyaku Euroamerica; 1993, p: 16-46.

ISO 7405(E). Preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry—test methods for dental materials. International Organization for Standardization. Genève, 2008.

ISO 10993-5(E). Biological evaluation of medical devices-part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. International Organization for Standardization. Genève, 2009.

ISO 10993-12(E). Biological evaluation of medical devices—part 12: Sample preparation and reference materials. International Organization for Standardization. Genève, 2012.

Issa Y, Watts D, Brunton P, Waters C, Duxbury A. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dent Mater.* 2004; 20: 12-20.

Janke V, Von Neuhoff N, Schlegelberger B, Leyhausen G, Geurtsen W. Tegdma causes apoptosis in primary human gingival fibroblasts. *J Dent Res.* 2003; 82: 814-818.

Jensen M, Sheth J, Tolliver D. Etched-porcelain resin-bonded full-veneer crowns: In vitro fracture resistance. *Compendium.* 1989; 10: 336-340.

John K. Biocompatibility of dental materials. *Dent Clin North Am.* 2007; 51: 747-760.

Johnson H, Northup S, Seagraves P, Atallah M, Garvin P. Biocompatibility test procedures for materials evaluation in vitro. Objective methods of toxicity assessment. *J Biomed Mater Res.* 1985; 19: 489-508.

Jontell M, Hanks C, Bratel J, Bergenholtz G. Effects of unpolymerized resin components on the function of accessory cells derived from the rat incisor pulp. *J Dent Res.* 1995; 74: 1162-1167.

Kanca J. Improving bond strength through acid etching of dentin and bonding to wet dentin surfaces. *J Am Dent Assoc.* 1992; 123: 35-43.

Kawahara T, Nomura Y, Tanaka N, Teshima W, Okazaki M, Shintani H. Leachability of plasticizer and residual monomer from commercial temporary restorative resins. *J Dent.* 2004; 32: 277-283.

Kay G, Jablonski D, Dogon I. Factors affecting the seating and fit of complete crowns: A computer simulation study. *J Prosthet Dent.* 1986; 55: 13-18.

Kazak M, Dönmez N. Geçmişten günümüze dentin bonding sistemlerindeki gelişmeler. *Bezmîâlem Science.* 2019; 7: 322-330.

Kerr J, Wyllie A, Currie A. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972; 26: 239-257.

Kim E, Park H, Lee S, Kim S. Effect of the acidic dental resin monomer 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate on odontoblastic differentiation of human dental pulp cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2015; 117: 340-349.

Klein-Júnior C, Zimmer R, Hentschke G, Machado D. Effect of heat treatment on cytotoxicity of self-adhesive resin cements: Cell viability analysis. *Eur J Dent*. 2018; 12: 281-286.

Klotz D, Beckman B, Hill S, McLachlan J, Walters M, Arnold S. Identification of environmental chemicals with estrogenic activity using a combination of in vitro assays. *Environ Health Perspect*. 1996; 104: 1084-1089.

Koliniotou-Koubia E, Dionysopoulos P, Koulaouzidou E, Kortsaris A, Papadogiannis Y. In vitro cytotoxicity of six dentin bonding agents. *J Oral Rehabil*. 2001; 28: 971-975.

Koroglu A, Ekren O, Kurtoglu C. Conventional and adhesive dental luting agents; a literature review. *J Dent Fac Ataturk Uni*. 2012; 22: 205-216.

Kostoryz E, Eick J, Glaros A, Judy B, Welshons W. Biocompatibility of hydroxylated metabolites of Bis-GMA and BFDGE. *J Dent Res*. 2003; 82: 367-371.

Krifka S, Seidenader C, Hiller K, Schmalz G, Schweikl H. Oxidative stress and cytotoxicity generated by dental composites in human pulp cells. *Clin Oral Investig*. 2012; 16: 215-224.

Krishnan V, Manjusha K, Yamuna V. Effect of diluent upon the properties of a visible light cured dental composite. *J Mater Sci Mater Med*. 1997; 8: 703-706.

Kugel G, Ferrari M. The science of bonding: From first to sixth generation. *J Am Dent Assoc*. 2000; 131: 20-25.

Kurebayashi J, Horiuchi R, Nakamura T, Iino Y, Ishida T. Effects of estrogen and endocrine therapeutic agents on the estrogen receptor, progesterone receptor and DNA synthesis in mcf-7 human breast cancer cells using the whole cell uptake method. *Nihon Naibunpi Gakkai Zasshi*. 1987; 63: 1351-1363.

Kurt A, Altintas S, Kiziltas M, Tekkeli S, Guler E. Evaluation of residual monomer release and toxicity of self-adhesive resin cements. *Dent Mater J*. 2018; 37: 40-48.

Kusdemir M, Gunal S, Ozer F, Imazato S, Izutani N. Evaluation of cytotoxic effects of six self-etching adhesives with direct and indirect contact tests. *Dent Mater J*. 2011; 30: 799-805.

Lad P, Kamath M, Tarale K, Kusugal P. Practical clinical considerations of luting cements: A review. *J Int Oral Health* 2014; 6: 116-120.

Ladha K, Verma M. Conventional and contemporary luting cements: An overview. *J Indian Prosthodont Soc*. 2010; 10: 79-88.

Lee D, Lim B, Lee Y, Ahn S, Yang H. Involvement of oxidative stress in mutagenicity and apoptosis caused by dental resin monomers in cell cultures. *Dent Mater*. 2006; 22: 1086-1092.

Lee S, Greener E, Menis D. Detection of leached moieties from dental composites in fluid simulating food and saliva. *Dent Mater*. 1995; 11: 348-353.

Lee S, Huang H, Lin C, Shih Y. Leached components from dental composites in oral simulating fluids and the resultant composite strengths. *J Oral Rehabil*. 1998; 25: 575-588.

Lefeuvre M, Amjaad W, Goldberg M, Stanislawski L. Tegdma induces mitochondrial damage and oxidative stress in human gingival fibroblasts. *Biomaterials*. 2005; 26: 5130-5137.

Leprince J, Palin W, Hadis M, Devaux J, Leloup G. Progress in dimethacrylate-based dental composite technology and curing efficiency. *Dent Mater*. 2013; 29: 139-156.

Li P, Ohtsuki C, Kokubo T, Nakanishi K, Soga N. Apatite formation induced by silica gel in a simulated body fluid. *J Am Ceram Soc*. 1992; 75: 2094-2097.

Lu H, Mehmood A, Chow A, Powers JM. Influence of polymerization mode on flexural properties of esthetic resin luting agents. *J Prosthet Dent*. 2005; 94: 549-554.

Mahasti S, Sattari M, Romoozi E, Baghban AA. Cytotoxicity comparison of harvard zinc phosphate cement versus panavia f2 and rely x plus resin cements on rat 1929 fibroblasts. *Cell J*. 2011; 13: 163.

Malkoc MA, Yalcin M, Uzun IH, Tuncdemir AR. In vitro evaluation of cytotoxic effects of luting resin cements. *Eur J Prosthodont*. 2014; 2: 71-75.

Manso AP, Carvalho RM. Dental cements for luting and bonding restorations: Self-adhesive resin cements. *Dental Clinics*. 2017; 61: 821-834.

Manso AP, Silva NR, Bonfante EA, Pegoraro TA, Dias RA, Carvalho RM. Cements and adhesives for all-ceramic restorations. *Dental Clinics*. 2011; 55: 311-332.

Margerit J, Cluzel B, Leloup J, Nurit J, Pauvert B, Terol A. Chemical characterization of in vivo aged zinc phosphate dental cements. *J Mater Sci Mater Med*. 1996; 7: 623-628.

McComb D. Adhesive luting cements: Classes, criteria, and usage. *Compend Contin Educ Dent* 1996; 17: 759-762.

McLachlan JA. Functional toxicology: A new approach to detect biologically active xenobiotics. *Environ Health Perspect*. 1993; 101: 386-387.

McLean J. Historical overview: The pioneers of enamel and dentin bonding. *J Adhes Dent*. 1999; 1: 185-187

McLean J, Wilson AD, Prosser HJ. Development and use of water hardening glass-ionomer luting cements. *J Prosthet Dent*. 1984; 52: 175-181.

Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res.* 1994; 54: 1969-1975.

Meister A. Mitochondrial changes associated with glutathione deficiency. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 1995; 1271: 35-42.

Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem.* 1983; 52: 711-760.

Meryon S, Riches D. A comparison of the in vitro cytotoxicity of four restorative materials assessed by changes in enzyme levels in two cell types. *J Biomed Mater Res.* 1982; 16: 519-528.

Michelsen VB, Lygre H, Skålevik R, Tveit AB, Solheim E. Identification of organic eluates from four polymer-based dental filling materials. *Eur J Oral Sci.* 2003; 111: 263-271.

Mjör I. Minimum requirements for new dental materials. *J Oral Rehabil.* 2007; 34: 907-912.

Mohammadi Z, Shalavi S. Clinical applications of glass ionomers in endodontics: A review. *Int Dent J.* 2012; 62: 244-250.

Moharamzadeh K, Brook I, Scutt AM, Thornhill MH, Van Noort R. Mucotoxicity of dental composite resins on a tissue-engineered human oral mucosal model. *J Dent.* 2008; 36: 331-336.

Moharamzadeh K, Brook I, Van Noort R, Scutt A, Thornhill M. Tissue-engineered oral mucosa: A review of the scientific literature. *J Dent Res.* 2007; 86: 115-124.

Moharamzadeh K, Brook IM, Van Noort R. Biocompatibility of resin-based dental materials. *Materials.* 2009; 2: 514-548.

Moharamzadeh K, Van Noort R, Brook I, Scutt A. Hplc analysis of components released from dental composites with different resin compositions using different extraction media. *J Mater Sci Mater Med.* 2007; 18: 133-137.

Mojon P, Kaltio R, Feduik D. Short-term contamination of luting cements by water and saliva. *Dent Mater.* 1996; 12: 83-87.

Moraes R, Boscato N, Jardim P, Schneider L. Dual and self-curing potential of self-adhesive resin cements as thin films. *Oper Dent.* 2011; 36: 635-642.

Morgan L, Teixeira K, Vasconcellos W, Albuquerque R, Cortés M. Correlation between the cytotoxicity of self-etching resin cements and the degree of conversion. *Indian J Dent Res.* 2015; 26: 284.

Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 1983; 65: 55-63.

Moszner N, Hirt T. New polymer-chemical developments in clinical dental polymer materials: Enamel–dentin adhesives and restorative composites. *J Polymer Sci.* 2012; 50: 4369-4402.

Murray P, Godoy C, Godoy F. How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2007; 12: 258-266.

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res* 1982; 16: 265-273.

Nakamura M, Imai K, Oshima H, Kudo T. Biocompatibility test of light-cured composites in vitro. *Dent Mater J*. 1985; 4: 231-279.

Nassiri M, Hanks C, Cameron M, Strawn S, Craig R. Application of flow cytometry to determine the cytotoxicity of urethane dimethacrylate in human cells. *J Biomed Mater Res* 1994; 28: 153-158.

Neves AD, Discacciati JAC, Oréfice RL, Jansen WC. Correlation between degree of conversion, microhardness and inorganic content in composites. *Pesqui Odontol Bras*. 2002; 16: 349-354.

Nitta K. Effect of light guide tip diameter of led-light curing unit on polymerization of light-cured composites. *Dent Mater*. 2005; 21: 217-223.

Nociari MM, Shalev A, Benias P, Russo C. A novel one-step, highly sensitive fluorometric assay to evaluate cell-mediated cytotoxicity. *J Immunol Methods*. 1998; 213: 157-167.

O'Brien W. Dental materials and their selection. 3rd ed. Chicago: Quintessence 2002, p: 133-155.

Ogimoto T, Ogawa T. Simple and sure protection of crown margins from moisture in cementation. *J Prosthet Dent*. 1997; 78: 225.

Oguz EI, Hasanreisoglu U, Uctasli S, Özcan M, Kiyan M. Effect of various polymerization protocols on the cytotoxicity of conventional and self-adhesive resin based luting cements. *Clin Oral Investig*. 2020; 24: 1161-1170.

Oilo G, Evje D. Film thickness of dental luting cements. *Dent Mater*. 1986; 2: 85-89.

Oilo G, Jorgensen KD. The influence of surface roughness on the retentive ability of two dental luting cements. *J Oral Rehabil*. 1978; 5: 377-389.

Ortengren U. On composite resin materials. Degradation, erosion and possible adverse effects in dentists. *Swed Dent J Suppl*. 2000; 1:1-61.

Outhwaite WC, McKenzie DM, Pashley DH. A versatile split-chamber device for studying dentin permeability. *J Dent Res*. 1974; 53: 1503-1511.

Pagano S, Lombardo G, Balloni S, Bodo M, Cianetti S. Cytotoxicity of universal dental adhesive systems: Assessment in vitro assays on human gingival fibroblasts. *Toxicology In Vitro*. 2019; 60: 252-260.

Pashley DH. Dentin-predentin complex and its permeability: Physiologic overview. *J Dent Res*. 1985; 64: 613-620.

Pashley DH. Consideration of dentine permeability in cytotoxicity testing. *Int Endod J*. 1988; 21: 143-154.

Pashley DH, Michelich V, Kehl T. Dentin permeability: Effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent*. 1981; 46: 531-537.

Pegoraro T, da Silva N, Carvalho R. Cements for use in esthetic dentistry. *Dent Clin North Am*. 2007; 51: 453-471.

Perdigão J. Dentin bonding—variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater*. 2010; 26: 24-37.

Perdigao J, Swift E, Walter R. Fundamental concepts of enamel and dentin adhesion. *Sci Oper Dent*. 2014; 4: 114-140.

Pereira SG, Fulgêncio R, Nunes TG, Toledano M, Osorio R, Carvalho RM. Effect of curing protocol on the polymerization of dual-cured resin cements. *Dent Mater*. 2010; 26: 710-718.

Petrich A, VanDercreek C, Kenny C. Dental luting cements. *Clin Update*. 2004; 2: 1-5.

Pfeiffer P, Rosenbauer E-U. Residual methyl methacrylate monomer, water sorption, and water solubility of hypoallergenic denture base materials. *J Prosthet Dent*. 2004; 92: 72-78.

Platt J. Resin cements: Into the 21st century. *Compend Contin Educ Dent*. 1999; 20: 1173-1180.

Polydorou O, König A, Hellwig E, Kümmerer K. Uthethane dimethacrylate: A molecule that may cause confusion in dental research. *J Biomed Mater Res*. 2009; 91: 1-4.

Polyzois G. In vitro evaluation of dental materials. *Clin Mater*. 1994; 16: 21-60.

Poplawski T, Loba K, Pawlowska E, Szczepanska J, Blasiak J. Genotoxicity of urethane dimethacrylate, a tooth restoration component. *Toxicol in Vitro*. 2010; 24: 854-862.

Porto IC, Oliveira DC, Raelle RA, Ribas KH, Montes MA, De Castro CM. Cytotoxicity of current adhesive systems: In vitro testing on cell cultures of primary murine macrophages. *Dent Mater*. 2011; 27: 221-228.

Powers J, Fan P, Raptis C. Color stability of new composite restorative materials under accelerated aging. *J Dent Res*. 1980; 59: 2071-2074.

Radovic I, Monticelli F, Goracci C, Vulicevic Z, Ferrari M. Self-adhesive resin cements: A literature review. *J Adhes Dent*. 2008; 10: 121-126.

Ratanasathien S, Wataha J, Hanks C, Dennison J. Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. *J Dent Res*. 1995; 74: 1602-1606.

Reichl F, Esters M, Simon S, Seiss M, Kehe K. Cell death effects of resin-based dental material compounds and mercurials in human gingival fibroblasts. *Arch Toxicol.* 2006; 80: 370-377.

Reichl F, Walther U, Durner J. Cytotoxicity of dental composite components and mercury compounds in lung cells. *Dent Mater.* 2001; 17: 95-101.

Robertello F, Coffey J, Lynde T, King P. Fluoride release of glass ionomer-based luting cements in vitro. *J Prosthet Dent.* 1999; 82: 172-176.

Rosenstiel S, Land M, Crispin B. Dental luting agents: A review of the current literature. *J Prosthet Dent.* 1998; 80: 280-301.

Rueggeberg F, Craig R. Correlation of parameters used to estimate monomer conversion in a light-cured composite. *J Dent Res.* 1988; 67: 932-937.

Sadoh D, Sharief M, Howard R. Occupational exposure to methyl methacrylate monomer induces generalised neuropathy in a dental technician. *Br Dent J.* 1999; 186: 380-381.

Savill J, Fadok V, Henson P, Haslett C. Phagocyte recognition of cells undergoing apoptosis. *Immunol Today.* 1993; 14: 131-136.

Schedle A, Franz A, Rausch-Fan X, Spittler A, Lucas T. Cytotoxic effects of dental composites, adhesive substances, compomers and cements. *Dent Mater.* 1998; 14: 429-440.

Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials—advantages and limitations. *J Dent.* 1994; 22: 6-11.

Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Investig.* 1998; 1: 154-162.

Schmalz G, Arenholt-Bindslev D, Hiller KA, Schweikl H. Epithelium-fibroblast co-culture for assessing mucosal irritancy of metals used in dentistry. *Eur J Oral Sci.* 1997; 105: 86-91.

Schmalz G, Schuster U, Nuetzel K, Schweikl H. An in vitro pulp chamber with three-dimensional cell cultures. *J Endod.* 1999; 25: 24-29.

Schmid-Schwap M, Franz A, König F, Bristela M, Lucas T. Cytotoxicity of four categories of dental cements. *Dent Mater.* 2009; 25: 360-368.

Schuster U, Schmalz G, Thonemann B, Mendel N, Metzl C. Cytotoxicity testing with three-dimensional cultures of transfected pulp-derived cells. *J Endod.* 2001; 27: 259-265.

Schweikl H, Schmalz G. Triethylene glycol dimethacrylate induces large deletions in the hprt gene of v79 cells. *Mutat Res.* 1999; 438: 71-78.

Scott A, Egner W, Gawkrödger D, Hatton P, Sherriff M, Van Noort R. The national survey of adverse reactions to dental materials in the uk: A preliminary study by the uk adverse reactions reporting project. *Br Dent J*. 2004; 196: 471-477.

Seelbach P, Finger W, Ferger P, Balkenhol M. Temperature rise on dentin caused by temporary crown and fixed partial denture materials: Influencing factors. *J Dent*. 2010; 38: 964-973.

Sideridou I, Achilias D. Elution study of unreacted bis-gma, tegdma, udma, and bis-ema from light-cured dental resins and resin composites using hplc. *J Biomed Mater Res*. 2005; 74: 617-626.

Sideridou I, Tserki V, Papanastasiou G. Effect of chemical structure on degree of conversion in light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials*. 2002; 23: 1819-1829.

Sidhu S, Sherriff M, Watson T. The effects of maturity and dehydration shrinkage on resin-modified glass-ionomer restorations. *J Dent Res*. 1997; 76: 1495-1501.

Simon J, Darnell L. Considerations for proper selection of dental cements. *Compend Contin Educ Dent*. 2012; 33: 28-34.

Sita Ramaraju D, Alla R, Alluri V. A review of conventional and contemporary luting agents used in dentistry. *American Journal of Materials Science and Engineering*. 2014; 2: 28-35.

Sivakumar J, Ajay R, Sudhakar V, Ravivarman C. Chemical characterization and physical properties of dental restorative composite resin with a novel multifunctional cross-linking comonomer. *J Contemp Dent Pract*. 2021; 22: 630-636.

Smith D. Dental cements. Current status and future prospects. *Dent Clin North Am*. 1983; 27: 763-792.

Smith D, Ruse N. Acidity of glass ionomer cements during setting and its relation to pulp sensitivity. *J Am Dent Assoc*. 1986; 112: 654-657.

Sofan E, Sofan A, Palaia G, Tenore G. Classification review of dental adhesive systems: From the iv generation to the universal type. *Ann Stomatol*. 2017; 8: 126-132.

Soto A, Sonnenschein C, Chung K, Fernandez M. The e-screen assay as a tool to identify estrogens: An update on estrogenic environmental pollutants. *Environ Health Perspect*. 1995; 103: 113-122.

Souza P, Aranha A, Hebling J, Giro E, de Souza Costa C. In vitro cytotoxicity and in vivo biocompatibility of contemporary resin-modified glass-ionomer cements. *Dent Mater J*. 2006; 22: 838-844.

Söderholm K, Mariotti A. Bis-gma-based resins in dentistry: Are they safe? *J Am Dent Assoc*. 1999; 130: 201-209.

Spahl W, Budzikiewicz H, Geurtsen W. Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. *J Dent*. 1998; 26: 137-145.

Stanislawski L, Lefevre M, Bourd K. Tegdma-induced toxicity in human fibroblasts is associated with early and drastic glutathione depletion with subsequent production of oxygen reactive species. *J Biomed Mater Res A*. 2003; 66: 476-482.

Stansbury J. Dimethacrylate network formation and polymer property evolution as determined by the selection of monomers and curing conditions. *Dent Mater*. 2012; 28: 13-22.

Stewart G, Jain P, Hodges J. Shear bond strength of resin cements to both ceramic and dentin. *J Prosthet Dent*. 2002; 88: 277-284.

Strutz J, White S, Yu Z. Luting cement-metal surface physicochemical interactions on film thickness. *J Prosthet Dent*. 1994; 72: 128-132.

Sun F, Liu Y, Pan Y. Cytotoxicity of self-adhesive resin cements on human periodontal ligament fibroblasts. *J Biomed Mater Res Int*. 2018; 2018: 1-10.

Sun F, Mao P, Wang C, Shi C. Cytotoxic effects of one-step self-etching dental adhesives on human periodontal ligament fibroblasts in vitro. *J Adhes Dent*. 2016; 18: 99-109.

Swift E, Perdigão J, Heymann H. Bonding to enamel and dentin: A brief history and state of art. *Quintessence int*. 1995; 26: 95-95.

Swift Jr E, Bayne S. Shear bond strength of a new one-bottle dentin adhesive. *Am J Dent*. 1997; 10: 184-188.

Szczepanska J, Poplawski T, Synowiec E, Pawlowska E. 2-hydroxylethyl methacrylate (hema), a tooth restoration component, exerts its genotoxic effects in human gingival fibroblasts through methacrylic acid, an immediate product of its degradation. *Mol Biol Rep*. 2012; 39: 1561-1574.

Şekeroğlu Z, Şekeroğlu V. Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*. 2011; 4: 221-229.

Şişmanoğlu S, Demirci M, Schweikl H. Cytotoxic effects of different self-adhesive resin cements: Cell viability and induction of apoptosis. *J Adv Prosthodont*. 2020; 12: 89-99.

Tanaka K, Taira M, Shintani H, Wakasa K, Yamaki M. Residual monomers (tegDMA and bis-GMA) of a set visible-light-cured dental composite resin when immersed in water. *J Oral Rehabil*. 1991; 18: 353-362.

Tang A, Li J, Ekstrand J, Liu Y. Cytotoxicity tests of in situ polymerized resins: Methodological comparisons and introduction of a tissue culture insert as a testing device. *J Biomed Mater Res*. 1999; 45: 214-222.

Tanoue N, Koishi Y, Atsuta M, Matsumura H. Properties of dual-curable luting composites polymerized with single and dual curing modes. *J Oral Rehabil.* 2003; 30: 1015-1021.

Tay F, Pashley D. Have dentin adhesives become too hydrophilic? *J Can Dent Assoc.* 2003; 69: 726-732.

Tay F, Sano H, Carvalho R, Pashley E, Pashley D. An ultrastructural study of the influence of acidity of self-etching primers and smear layer thickness on bonding to intact dentin. *J Adhes Dent.* 2000; 2: 127-129.

Terry D, Blatz M. Surface treatments for tooth-colored restorations: Part 2. *Dent Today.* 2011; 30: 126-128.

Theilig C, Tegtmeier Y, Leyhausen G, Geurtsen W. Effects of bisgma and tegdma on proliferation, migration, and tenascin expression of human fibroblasts and keratinocytes. *J Biomed Mater Res.* 2000; 53: 632-639.

Tjan A, Li T. Seating and retention of complete crowns with a new adhesive resin cement. *J Prosthet Dent.* 1992; 67: 478-483.

Toledano M, Osorio R, De Leonardi G, Rosales-Leal J. Influence of self-etching primer on the resin adhesion to enamel and dentin. *Am J Dent.* 2001; 14: 205-210.

Trumpaite R, Čebatariūnienė A, Tunaitis V. Live cell imaging reveals different modes of cytotoxic action of extracts derived from commonly used luting cements. *Arch Oral Biol.* 2018; 86: 108-115.

Tumscitz D, Laxe L, Pascoal A. Cytotoxicity of three light-cured resin cements on 3t3 fibroblasts. *Rev Odontol UNESP.* 2017; 46: 203-207.

Tuncer S, Demirci M. Dental materyallerde biyouyumluluk değerlendirmeleri. *J Dent Fac Ataturk Uni.* 2011; 2011: 141-149.

Tuncer S, Demirci M, Schweikl H, Erguven M. Inhibition of cell survival, viability and proliferation by dentin adhesives after direct and indirect exposure in vitro. *Clin Oral Investig.* 2012; 16: 1635-1646.

Tyas M, Martin J. A method for the in vitro toxicity testing of dental restorative materials. *J Dent Res.* 1977; 56: 1285-1290.

Ulubayram K, Aksu E, Gurhan D, Serbetci K, Hasirci N. Cytotoxicity evaluation of gelatin sponges prepared with different cross-linking agents. *J Biomed Mater Sci.* 2002; 13: 1203-1219.

Um C, Øilo G. The effect of early water contact on glass-ionomer cements. *Quintessence int.* 1992; 23: 209-214.

Van Landuyt K, Krifka S, Hiller K, Bolay C, Waha C. Evaluation of cell responses toward adhesives with different photoinitiating systems. *Dent Mater.* 2015; 31: 916-927.

Van Landuyt K, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*. 2007; 28: 3757-3785.

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: Current status and future challenges. *Oper Dent*. 2003; 28: 215-235.

Vargas M, Bergeron C, Diaz-Arnold A. Cementing all-ceramic restorations: Recommendations for success. *J Am Dent Assoc*. 2011; 142: 20-24.

Villalobos M, Olea N, Brotons J, Olea-Serrano M. The e-screen assay: A comparison of different mcf7 cell stocks. *Environ Health Perspect*. 1995; 103: 844-850.

Volk J, Engelmann J, Leyhausen G, Geurtsen W. Effects of three resin monomers on the cellular glutathione concentration of cultured human gingival fibroblasts. *Dent Mater*. 2006; 22: 499-505.

Vrochari A, Eliades G, Hellwig E, Wrbas K. Curing efficiency of four self-etching, self-adhesive resin cements. *Dent Mater*. 2009; 25: 1104-1108.

Wallace K, Eells J, Madeira V, Cortopassi G, Jones D. Mitochondria-mediated cell injury. *Toxicological Sciences*. 1997; 38: 23-37.

Wataha J. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J Prosthet Dent*. 2001; 86: 203-209.

Wataha J. Predicting clinical biological responses to dental materials. *Dent Mater*. 2012; 28: 23-40.

Wataha J, Hanks C. Biocompatibility testing—what can we anticipate? *Trans Acad Dent Mater*. 1997; 23: 109-120.

Wataha J, Lockwood P, Bouillaguet S, Noda M. In vitro biological response to core and flowable dental restorative materials. *Dent Mater*. 2003; 19: 25-31.

Wennberg A, Hasselgren G, Tronstad L. A method for toxicity screening of biomaterials using cells cultured on millipore filters. *J Biomed Mater Res*. 1979; 13: 109-120.

White S, Yu Z. Film thickness of new adhesive luting agents. *J Prosthet Dent*. 1992; 67: 782-785.

White S, Yu Z. Compressive and diametral tensile strengths of current adhesive luting agents. *J Prosthet Dent*. 1993; 69: 568-572.

White S, Yu Z, Tom J, Sangsurasak S. In vivo marginal adaptation of cast crowns luted with different cements. *J Prosthet Dent*. 1995; 74: 25-32.

Willershausen B, Schäfer D, Pistorius A, Schulze R, Mann W. Influence of resin-based restoration materials on cytotoxicity in gingival fibroblasts. *Eur J Med Res*. 1999; 4: 149-155.

Wilson A, Kent B. The glass-ionomer cement, a new translucent dental filling material. *J Appl Chem Biotechnol.* 1971; 21: 301-313.

Wingo K. A review of dental cements. *J Vet Dent.* 2018; 35: 18-27.

Wisniewska-Jarosinska M, Poplawski T, Chojnacki C. Independent and combined cytotoxicity and genotoxicity of triethylene glycol dimethacrylate and urethane dimethacrylate. *Mol Biol Rep.* 2011; 38: 4603-4611.

Yoshii E. Cytotoxic effects of acrylates and methacrylates: Relationships of monomer structures and cytotoxicity. *J Biomed Mater Res.* 1997; 37: 517-524.

Youngson C, Grey N. An in vitro comparative analysis: Scanning electron microscopy of dentin/restoration interfaces. *Dent Mater.* 1992; 8: 252-258.

Zaimoğlu A, Can G. Sabit protezler. 3. basım. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 2004, p: 239-264.

Zhang J, Nicholls-Grzemeski F, Tirmenstein M, Fariss M. Vitamin e succinate protects hepatocytes against the toxic effect of reactive oxygen species generated at mitochondrial complexes i and iii by alkylating agents. *Chem Biol Interact.* 2001; 138: 267-284.

EKLER

Ek 1. 96 Kuyucuklu Plaka-Hücre Ekim Çizelgesi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B	B	B	P	P	P	N	N	N	S	S	S
B	1A	1A	1A	1B	1B	1B	1C	1C	1C	1D	1D	1D
C	1E	1E	1E	2A	2A	2A	2B	2B	2B	2C	2C	2C
D	2D	2D	2D	2E	2E	2E	3A	3A	3A	3B	3B	3B
E	3C	3C	3C	3D	3D	3D	3E	3E	3E	4A	4A	4A
F	4B	4B	4B	4C	4C	4C	4D	4D	4D	4E	4E	4E
G	5A	5A	5A	5B	5B	5B	5C	5C	5C	5D	5D	5D
H	5E	5E	5E	6A	6A	6A	6B	6B	6B	6C	6C	6C

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B	B	B	6D	6D	6D	6E	6E	6E			
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

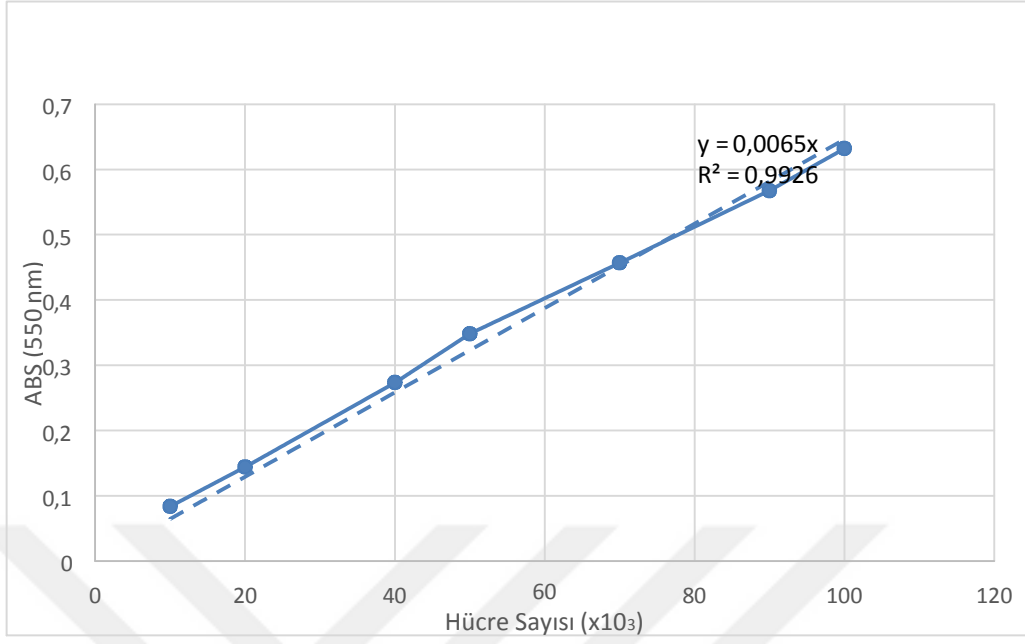
Kodlamalar:

B	Hüresiz control
P	Pozitif kontrol
N	Negatif kontrol
S	Çözelti kontrolü

Örnekler	1	Calibra Universal Sc
	2	Calibra Universal Dc
	3	Speedcem Plus Sc
	4	Speedcem Plus Dc
	5	Theracem Sc
	6	Theracem Dc

Konsantrasyonlar	A	100%
	B	66.7%
	C	44.4%
	D	29.6%
	E	19.8%

Ek 2. MTT Kalibrasyon Eğrisi



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ahmet Tolga	Uyruğu	T.C.
Soyadı	Deniz	Tel no	
Doğum tarihi		e-posta	

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Kayseri Lisesi	1989-1992
Lisans	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	1995-2000
Doktora	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2001-(Terk) 2018-2021

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl)
Diş Hekimi	Sağlık Bakanlığı	2003-(Devam ediyor)

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	ÜDS	67,5

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl)
Üç farklı dual cure self adeziv rezin simanın ışıkla veya kendiliğinden polimerizasyonun hücre canlılığı üzerine etkisinin incelenmesi	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi	2019-2021

Yayınlar ve Bildiriler:

SCI, SSCI, AHCI İndexlerine Giren Dergilerde Yayımlanan Makaleler

Yoldan EE, Türker N, Büyükkaplan UŞ, Özarslan MM, Karalı R, Deniz AT. Evaluation of the bond strengths between dental porcelain and cobalt-chromium metal frameworks manufactured with different techniques after the thermal aging process. Scanning. 2020.