T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI ORTODONTİK ADEZİV KOMPOZİTLERİN RAT SUBKUTAN DOKUSUNDA MEYDANA GETİRDİĞİ HİSTOPATOLOJİK REAKSİYONLARIN KARŞILAŞTIRILMASI

ECE KABAKCI

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ERSİN YILDIRIM

ORTODONTİ ANA BİLİM DALI
ORTODONTİ DOKTORA PROGRAMI

DOKTORA TEZİ
ARALIK/2022

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamda ve doktora eğitimim süresince mesleki deneyimlerini ve bilgi birikimini benimle paylaşan, bilgi ve tecrübesine güvenerek başvurduğum, yardım ve desteğini her zaman hissettiğim, tanımaktan ve beraber çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum değerli danışman hocam, sayın Doç. Dr. Ersin YILDIRIM'a,

Akademik ve mesleki bilgi ve deneyimini, ilgi ve desteğini esirgemeyen ana bilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Şeniz KARAÇAY'a,

Doktora öğrenciliğim boyunca akademik bilgi ve mesleki tecrübelerini paylaşan değerli hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Derya DURSUN ve fakültemizin Ortodonti Ana Bilim Dalı'nda görev yapmış değerli öğretim üyelerine,

Doktora tez çalışmamın hayvan deneyi aşamasında yardım ve desteklerinden dolayı başta Dr. Dt. Cafer ATAŞ olmak üzere Uzm. Vet. Hekim Cumaali DEMİRTAŞ, Vet. Hekim Ali Fuat KAPLAN ve Vet. Tek. Sami DAĞLAR'a,

Doktora tez çalışmamın histopatolojik değerlendirmelerini gerçekleştiren Dr. Öğr. Üyesi Esra ÇİKLER ve yüksek lisans öğrencisi İlayda Özge POLAT'a,

Doktora tez çalışmamda emeği geçen Necmi ARICI'ya,

Doktora süresince destek olan arkadaşlarıma,

Doktora tezimi, 2021/070 numaralı Doktora Tez Projesi ile destekleyen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne,

Emeklerini ve desteklerini her zaman hissettiğim değerli annem, babam ve ablama teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR iv
İÇİNDEKİLER v
TABLOLAR LİSTESİ vii
ŞEKİLLER LİSTESİ viii
ÖZET xiii
ABSTRACT xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. DİŞ HEKİMLİĞİNDE KULLANILAN KOMPOZİTLER 3
2.1.1. Dental Kompozitlerin İçeriği 3
2.1.1.1. Rezin matriks 4
2.1.1.2. Doldurucu partiküller 6
2.1.1.3. Bağlayıcı ajanlar 7
2.1.1.4. Diğer bileşenler 7
2.1.2. Dental Kompozitlerin Polimerizasyonu 8
2.1.2.1. Kimyasal polimerize kompozitler 8
2.1.2.2. Işıkla (foto) polimerize kompozitler 9
2.1.2.3. Çift polimerizasyonlu (dual cure) kompozitler 10
2.1.3. Ortodontik Adeziv Kompozitler 10
2.2. BİYOUYUMLULUK 13
2.2.1. Biyomalzemelerin Lokal ve Sistemik Etkileri 14
2.2.2. Biyouyumluluk Testleri 14
2.2.2.1. *In vitro* testler 15
2.2.2.2. Hayvan testleri 17
2.2.2.3. Kullanım testleri 18
2.2.3. Malzemelerin Yumuşak Dokularla Etkileşimi 19
2.2.3.1. Enflamasyon 20
2.2.3.2. Granülasyon dokusu oluşumu 20
2.2.3.3. Yabancı cisim reaksiyonu 21
2.2.3.4. Fibrozis 21
2.3. ORTODONTİK ADEZİV KOMPOZİTLERİN BİYOUYUMLULUĞU 21
3. GEREÇ VE YÖNTEM 25
3.1. HAYVAN DENEYİ ÖNCESİ HAZIRLIKLAR 26
3.1.1. Deneyde Kullanılacak Rat Sayısının Belirlenmesi 26
3.1.2. Deney Malzemeleri ve Tüplerin Hazırlanışı 26

3.2. HAYVAN DENEYİ 32
3.3. HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMA 38
3.3.1. Histopatolojik İnceleme Öncesi Hazırlıklar 38
3.3.1.1. Doku takibi 38
3.3.1.2. Hematoksilen ve eozin boyama 41
3.3.1.3. Masson'un trikromu boyama 42
3.3.2. Histopatolojik İnceleme ve Değerlendirme 44
3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME 44
4. BULGULAR 45
4.1. GÖZLEMSEL BULGULAR 45
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR 45
4.2.1. Transbond XT Grubu Bulguları 45
4.2.2. Transbond PCC Grubu Bulguları 47
4.2.3. Ortho Connect Grubu Bulguları 49
4.2.4. Rely A Bond Grubu Bulguları 51
4.2.5. Contec LC Grubu Bulguları 53
4.2.6. Kontrol Grubu Bulguları 55
4.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME 57
4.3.1. Kapsül Formasyonunun Değerlendirilmesi 57
4.3.2. Enflamasyonun Değerlendirilmesi 60
4.3.3. Ödemin Değerlendirilmesi 63
5. TARTIŞMA 66
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 80
KAYNAKLAR 81
EK 89

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: İmplantasyon sonrası olaylar dizisi 19

Tablo 3.1: Kullanılan ortodontik adeziv kompozitler ve içerikleri 29

Tablo 3.2: Yerleştirilen malzeme grupları ve rat üzerinde yerleştirildiği bölgeler..... 34

Tablo 3.3: Doku takibi protokolü..... 39

Tablo 3.4: Hemotoksilen ve eozin boyama protokolü 41

Tablo 3.5: Masson'un Trikromu boyama protokolü 43

Tablo 4.1: Kapsül formasyonunun gruplara ve günlere göre dağılımı ve istatistiksel analizi 58

Tablo 4.2: Enflamasyon şiddetinin gruplara ve günlere göre dağılımı ve istatistiksel analizi 61

Tablo 4.3: Ödem varlığının gruplara ve günlere göre dağılımı ve istatistiksel analizi..... 64

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Dental kompozitlerin yapısı 3

Şekil 2.2: Bis-GMA kimyasal yapısı 4

Şekil 2.3: UDMA kimyasal yapısı 4

Şekil 2.4: TEGDMA kimyasal yapısı 4

Şekil 2.5: HEMA kimyasal yapısı 5

Şekil 2.6: Bis-EMA kimyasal yapısı 5

Şekil 3.1: Deney akış süreci 26

Şekil 3.2: Histopatolojik inceleme öncesi yapılan hazırlıklar 38

Şekil 4.1: Kapsül formasyonunun günler ve gruplar arası dağılımının grafiksel gösterimi 59

Şekil 4.2: Enflamasyon şiddetinin günler ve gruplar arası dağılımının grafiksel gösterimi 62

Şekil 4.3: Ödem varlığının günlere ve gruplara göre dağılımının grafiksel gösterimi 65

RESİMLER LİSTESİ

Resim 3.1: Transbond^{TM} XT (3M Unitek, ABD) 27

Resim 3.2: Transbond^{TM} Plus Color Change (3M Unitek, ABD) 27

Resim 3.3: Ortho Connect^{TM} (GC Orthodontics, Almanya) 27

Resim 3.4: Contec lc (Dentaurum, Almanya) 28

Resim 3.5: Rely A Bond (Reliance Orthodontic Product, ABD) 28

Resim 3.6: Hazırlanan boş polietilen tüpler 30

Resim 3.7: Işıkla polimerize olan ortodontik adeziv kompozitlerin LED ışınıyla polimerizasyonu 31

Resim 3.8: Kimyasal polimerize ortodontik adeziv kompozitin polietilen tüp içine yerleştirilmesi 31

Resim 3.9: İmplantasyona hazır tüp örneği 32

Resim 3.10: Sakrifikasyon zamanlarına göre gruplanan ratlar 33

Resim 3.11: Ratların cerrahi operasyon öncesi traş edilmesi 33

Resim 3.12: Hazırlanan tüplerin yerleşim düzeni 35

Resim 3.13: Hazırlanan tüplerin subkutan implantasyonu 35

Resim 3.14: Tüplerin implantasyonu sonrası sütüre edilen kesi yerleri 36

Resim 3.15: Cerrahi operasyon sonrası ratlar 36

Resim 3.16: Rat dorsumuna implante olmuş tüpler 37

Resim 3.17: Eksize edilen doku örneği 37

Resim 3.18: Fikse edilen doku örnekleri 39

Resim 3.19: Hazırlanan parafin bloklar 40

Resim 3.20: Parafin bloklardan kesitler alınması 40

Resim 3.21: Masson'un Trikromu c solüsyonunun hazırlanması 42

Resim 3.22: Masson'un Trikromu boyama 43

Resim 4.1: Transbond XT grubu mikroskop görünümleri 46

Resim 4.2: Transbond PCC grubu mikroskop görünümleri..... 48

Resim 4.3: Ortho Connect grubu mikroskop görünümleri..... 50

Resim 4.4: Rely A Bond grubu mikroskop görünümleri 52

Resim 4.5: Contec LC grubu mikroskop görünümleri..... 54

Resim 4.6: Kontrol grubu mikroskop görünümleri..... 56

SİMGELER VE KISALTMALAR

BHT : Bütillenmiş Hidroksitolüen

Bis-EMA : Bisfenol A Etoksilat Dimetakrilat

Bis-GMA : Bisfenol A-Glisidil Metakrilat

BPA : Bisfenol A

CEMA : N,N-Siyanoetil-Metilanilin

COX : Siklooksijenaz

DMAEM : Dimetil-Aminoetil Metakrilat

EDMAB : Etil-4-Dimetilaminobenzoat

EGDMA : Etilen Glikol Dimetakrilat

H&E : Hematoksilen ve Eozin

HEMA : 2-Hidroksiletil Metakrilat

IL : İnterlökin

LDH : Laktat Dehidrojenaz

LED : Işık Yayan Diod

Lucirin TPO : Monoaçilfosfin Oksit

MTT : 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-Difenil Tetrazolyum Bromür

NBT : Nitro Blue Tetrazolyum

PEGDMA : Polietilen Glikol Dimetakrilat

PPD : 1-Fenil-1,2-Propandion

QTH : Kuvars Tungsten Halojen

TEGDMA : Trietilen Glikol Dimetakrilat

TPO : Trimetil Benzoil Difenil Fosfin Oksit

Transbond PCC : Transbond Plus Color Change

UDMA : Üretan Dimetakrilat

UV **:** Ultraviyole

WST **:** Suda Çözünür Tetrazolyum

γ-MPTS **:** γ-Metakriloksipropiltrietoksisilan

FARKLI ORTODONTİK ADEZİV KOMPOZİTLERİN RAT SUBKUTAN DOKUSUNDA MEYDANA GETİRDİĞİ HİSTOPATOLOJİK REAKSİYONLARIN KARŞILAŞTIRILMASI

ÖZET

Amaç: Ortodontide kullanılan farklı adeziv kompozitlerin çevre dokular üzerindeki etkilerinin ratlarda karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda kimyasal polimerize, ışıkla polimerize, renk değiştiren, primersiz kullanılan ve Bis-GMA–TEGDMA–HEMA içermeyen adeziv kompozitler steril polietilen tüpler içine yerleştirilerek polimerize edilmiştir. 21 adet Sprague-Dawley türü dişi rat sakrifikasyon zamanlarına göre (7, 14, 28 gün) her grupta 7 rat olacak şekilde randomize olarak gruplara ayrılmıştır. Cerrahi işlem öncesi, ratlar anestezi altına alınarak ratların dorsal bölgesi traş edilmiş, aseptik şartlarda altı adet insizyon oluşturulmuştur (2 anterior, 2 median, 2 posterior). Test materyalleri eşit sayıya bölünerek her biri subkutan diseksiyon yapılarak hazırlanmış altı farklı alana implante edilmiş, kesi yerleri suturlarla kapatılmıştır. Deney sonunda sakrifiye edilen ratlardan implante tüp ve çevre dokuyu içeren eksizyonel biyopsiler alınarak enflamasyon, ödem ve kapsül formasyonu histolojik olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Tüm gruplarda şiddetti incelenen zamana ve adeziv kompozite göre değişen enflamasyon ve ödem gözlenmiştir. Contec LC ve Kontrol grubunda 7. gün, 14. gün ve 28. gün enflamasyon ve ödem dağılımları istatistiksel olarak anlamlıdır (enflamasyon için sırasıyla p=0,001 ve p=0,045; ödem için sırasıyla p=0,04 ve p=0,012). Ortho Connect grubunun 7. gününde, Rely A Bond grubunun 14. gününde kapsül formasyonu Grade 0 dağılımları diğer günlerden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (sırasıyla p=0,01 ve p=0,001).

Sonuç: İncelenen ortodontik adezivler dokuda reaksiyona neden olmuştur. 28. günde enflamasyon ve ödem şiddeti tüm gruplarda azalmış, kapsül formasyonu oluşmuştur. 28. günde Contec LC ve Kontrol gruplarında hafif doku reaksiyonu görülmüştür, iki grubun bulguları birbiri ile uyuşmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Biyouyumluluk, Işıkla Polimerize Adeziv, Kimyasal Polimerize Adeziv, Ortodontik Adeziv Kompozit, Rat

COMPARISON OF HISTOPATHOLOGICAL REACTIONS CAUSED BY DIFFERENT ORTHODONTIC ADHESIVE COMPOSITES IN RAT SUBCUTANEOUS TISSUE

ABSTRACT

Aim: Comparative evaluation of the effects of different orthodontic adhesive composites on surrounding tissues in rats.

Materials and Methods: In our study, a chemically cured, light cured, color-change, primer integrated adhesive and Bis-GMA–TEGDMA–HEMA-free adhesive composites were placed into sterile polyethylene tubes and polymerized. Sprague-Dawley type female rats were randomly divided into groups according to their sacrification times (7, 14, 28 days), with 7 rats in each group. Before the surgical procedure, the rats were anesthetized and the dorsal regions of their bodies were shaved and six incisions were made under aseptic conditions (2 anterior, 2 median, 2 posterior). Test materials were divided into equal numbers, each were implanted in six different subcutaneously dissected areas and the incisions were closed with sutures. At the end of the experiment times, excisional biopsies including the implanted tube and surrounding tissue were collected from the sacrificed rats to evaluate inflammation, edema and capsule formation histologically.

Results: In all examined groups, inflammation and edema was observed with different severity depending on the time interval and type of adhesive. In Contec LC and control groups, the distribution of the inflammation and edema based on different grades of severity on days 7, 14 and 28 were statistically significant ($p=0.001$ and $p=0.045$ for inflammation, $p=0.04$ and $p=0.045$ for edema, respectively). In Ortho Connect day 7 and Rely A Bond day 14 groups, Grade 0 distribution was significantly higher than the other days ($p=0.01$ and $p=0.001$, respectively).

Conclusion: Tested orthodontic adhesives caused tissue reaction. On day 28, the severity of inflammation and edema decreased in all groups, and capsule formation occurred. On day 28, both Contec LC and control groups showed mild tissue reaction which indicates the similar results between the two groups.

Key Words: Biocompatibility, Chemically Polymerized Adhesive, Light Polymerized Adhesive, Orthodontic Adhesive Composite, Rat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çeneler ve dişler arasındaki fonksiyonel bozuklukların ve düzensizliklerin tedavisi, ağız ve yüz estetiğinin iyileştirilmesi amacıyla yapılan ortodontik tedaviler, günümüzde teknolojinin gelişmesi ve insanların ağız ve diş sağlığına ve estetiğine verdikleri önemin artmasıyla her yaştan bireye uygulanabilir hale gelmiştir. Ortodontik tedavi, dişlere ve destek yapılara kalıcı bir zarar vermeden dişleri alveol kemiği boyunca hareket ettirmek için uygun kuvvetlerin uygulanmasına dayanmaktadır (1). Bu kuvvet uygulaması ekstraoral ve intraoral çeşitli yollarla yapılmakla birlikte kompozit rezinlerden yapılmış adeziv materyaller günümüzde ortodonti pratiğinde, sabit braket sistemleri, kuvvet aktarım elemanları veya sabit pekiştirme aygıtları gibi uygulamalarda rutin olarak kullanılmaktadır. Ortodontik kompozit adezivler sadece sabit ortodontik mekaniklerde değil, uygulanabilirliği gün geçtikçe artan şeffaf plak tedavilerinde de ataşmanların hazırlanmasında kullanılmakta olup ortodonti pratiğindeki yerini korumaya devam etmektedir (2).

İdeal bir ortodontik adeziv, iyi kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip olmalı, uygulanması kolay olmalı, aynı zamanda çevre dokuları tahriş etmemeli ve yan etkisi olmamalıdır (3). Teknolojik gelişmelerle birlikte ortodontide kullanılan adezivlerin içeriklerinde, polimerizasyon mekanizmalarında, fiziksel ve kimyasal özelliklerinde de farklılıklar meydana gelmiştir (4). Bu gelişmeler, bağlanma kuvvetini artırmaya, hasta başında geçen işlem süresini azaltmaya, yapıştırma için gereken işlemlerin sayısını azaltmaya ve adeziv kalıntılarını azaltmaya odaklanmıştır (5,6).

Ortodontik kompozitler periodonsiyum ve alveolar yapıya yakın yerleştirildiği için biyouyumlulukları önem taşımaktadır (1). Ortodontik kompozit malzemeler biyolojik olarak aktif bileşenler içermektedir (7,8). Bu bileşenlerin, suda çözülebilen bileşenlerinin tükürük ve ağız boşluğunda ilerleyerek veya komşu dokularla doğrudan etkileşime girerek diş eti ve periodontal ligament gibi yumuşak dokuların sağlığını etkileyebileceği çeşitli yollar vardır (1). Bu nedenle ortodontik kompozitlerden çıkan toksik elementler, mukoza, gingival dokular ve alveolar kreti gibi bitişik dokularda bir enflamatuvar reaksiyona veya nekroza yol açabilmektedir (7,8). Ortodontik tedavi gören hastalarda diş eti iltihabı görüldüğünde, diş üzerinde kalan yapıştırıcılar da etiyolojik

faktör olabilmektedir. Ortodontistler, her zaman diş eti iltihabına hastanın kötü ağız hijyeninin sorumlu olduğunu düşünmemeli, dişlerde kalan ortodontik adeziv kompozite dikkat etmelidir. Ortodontistlerin diş eti dokusunun ortodontik adeziv kompozitler ile temasından kaçınmaları ve braket, ataşman gibi mekanikler uygulandıktan sonra adeziv kompozitlerin kalıntılarının temizlenmesine dikkat etmeleri gerekir (3). Aynı zamanda kullanılan malzemelerin biyouyumluluğu, kronik olarak maruz kalınması sebebiyle hekim ve klinik ekibinin sağlığı açısından da önemlidir.

Ortodontide kullanılan malzeme ve materyallerin biyouyumluluğu ile ilgili çalışmaların literatürde fazla bulunmaması materyal güvenilirliği ile ilgili sorun oluşturmaktadır. Ancak literatürde ortodontik adezivlerle yapılan çalışmalarda daha çok materyalin bağlanma kuvveti, kopma direnci gibi adezivlerin mekanik özelliklerini değerlendiren çalışmalar bulunmaktadır (5,9,10). Literatürdeki ortodontik adeziv kompozitlerle ilgili biyouyumluluk çalışmaları ise genellikle *in vitro* kültür ortamında hazırlanmış olup biyouyumlulukla ilgili hayvan çalışmaları ise sınırlı sayıdadır (3,8,11-13).

Biyouyumluluğun in vivo analizi için literatürde sıklıkla cerrahi prosedüre ve implante edilen yabancı cisme karşı oluşan enflamatuvar yanıtın değerlendirilmesine dayalı yöntemler kullanılmaktadır. Rat subkutan dokularında oluşan doku reaksiyonunun aynı materyalin insan diş eti dokusunda oluşturacağı reaksiyona benzerliği nedeniyle biyouyumluluğunun *in vivo* değerlendirilmesinde subutan doku implantasyon tekniği önem taşımaktadır (12,14).

Çalışmamızın amacı, ortodontide kullanılan farklı adeziv kompozitlerin organizma ve çevre dokular üzerindeki etkilerinin ve biyouyumluluklarının ratlarda karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesidir. Çalışmamızda kimyasal polimerize olan, ışıkla polimerize olan, renk değiştiren, primersiz kullanılan ve bisfenol A-glisidil metakrilat (Bis-GMA) - trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA) - 2-hidroksiletil metakrilat (HEMA) içermeyen farklı ortodontik adeziv kompozitlerin *in vivo* ortamda rat subkutan dokuda meydana getirdikleri doku reaksiyonları histopatolojik olarak değerlendirilmiştir.

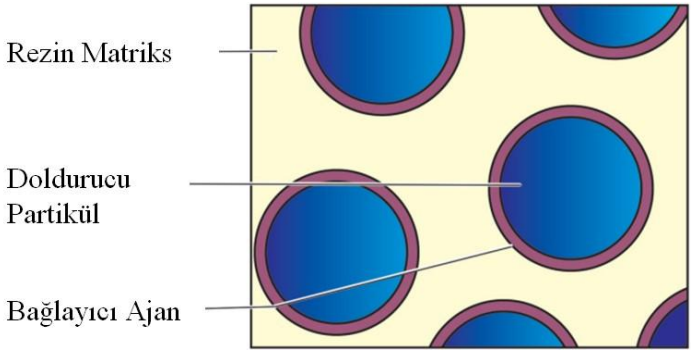
2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİŞ HEKİMLİĞİNDE KULLANILAN KOMPOZİTLER

Buonocore'un (15) 1955'te sunduğu mine yüzeyini asitle pürüzlendirme tekniği, diş hekimliği uygulamalarında birçok gelişmeye öncülük etmiştir. Kompozit malzeme literatürde, birbirinden farklı yapı ve özelliğe sahip, en az iki farklı bileşen malzeme ya da fazdan oluşan bir bileşim malzemesi olarak tanımlanmaktadır (16-18). Asitle pürüzlendirme tekniği ile çeşitli rezinlerin mine yüzeylerine yapıştırılması, ortodontik braketlerin de doğrudan mine yüzeyine yapıştırılmasını sağlamıştır (19,20).

2.1.1. Dental Kompozitlerin İçeriği

Dental kompozitler rezin matriks, doldurucu partiküller ve doldurucu partikülleri matrikse bağlayan bağlayıcı ajanlar olmak üzere başlıca üç ana bileşenden (Şekil 2.1) oluşmaktadır (21-25).

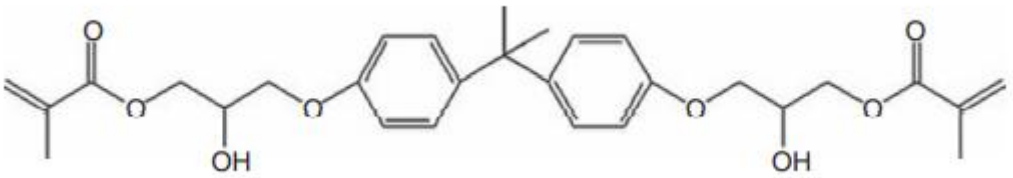


Şekil 2.1: Dental kompozitlerin yapısı (23)

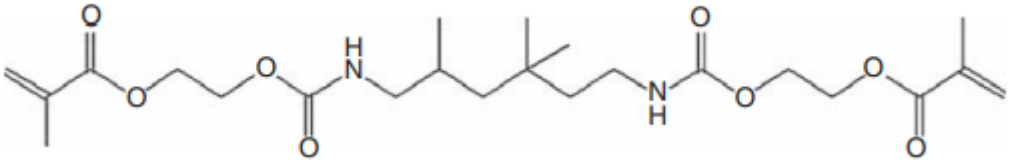
Kompozitler ayrıca aktivatör başlatıcı sistemini içeren polimerizasyon sistemi, pigmentler, inhibitörler, ultraviyole (UV) emiciler dahil olmak üzere çok sayıda başka bileşen de içermektedir (21-23).

2.1.1.1. Rezin matriks: Dental kompozit matriksi, aromatik veya alifatik dimetakrilat monomerlerinin ilave polimerizasyonla çapraz bağlanarak oluşturduğu organik polimer bir yapıdan oluşmaktadır (16,18,23,26). Matriks, güçlü, sert ve dayanıklı bir yapı oluşturmak üzere polimerize olan ve diş yapısına bağlanan fazdır (22,26). Bu matriks, doldurucuların dağıldığı sürekli bir faz oluşturmaktadır (22). Bununla birlikte organik matriks**,** dental kompozitin en zayıf ve aşınmaya en az dirençli fazıdır (26).

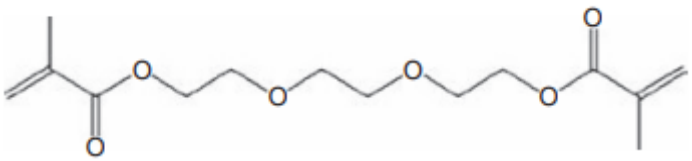
Dental kompozitlerin rezin matriksi yaygın olarak Bis-GMA (Şekil 2.2), üretan dimetakrilat (UDMA) (Şekil 2.3), TEGDMA (Şekil 2.4), HEMA (Şekil 2.5), bisfenol A etoksilat dimetakrilat (Bis-EMA) (Şekil 2.6) gibi monomerlerden oluşmaktadır (16,17,20,23).



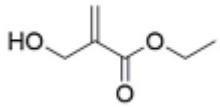
Şekil 2.2: Bis-GMA kimyasal yapısı (16)



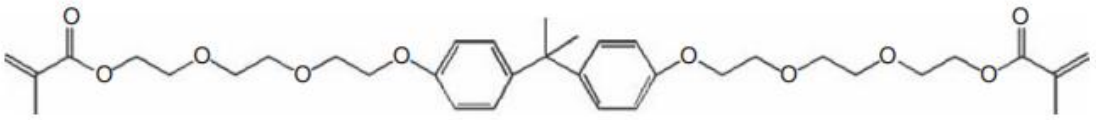
Şekil 2.3: UDMA kimyasal yapısı (16)



Şekil 2.4: TEGDMA kimyasal yapısı (16)



Şekil 2.5: HEMA kimyasal yapısı (27)



Şekil 2.6: Bis-EMA kimyasal yapısı (16)

Kompozitlerin çoğu matriksinde Bis-GMA ya da UDMA veya bu iki monomerin karışımını içermektedir (16,22,25). Bu monomerler, moleküler zincirlerinin sonunda serbest radikaller tarafından başlatılan ilave polimerizasyona katılarak çapraz bağları oluşturan çift karbon bağlarını taşımaktadır (16-18).

Bisfenol A-glisidil metakrilat, 1960'ların başında bisfenol-A (BPA) ve glisidilmetakrilatın reaksiyon ürünü olarak geliştirilmiştir (17,21,23,28). Geliştiricisinin isminden dolayı Bowen rezini olarak da bilinen (24) Bis-GMA, yüksek viskoziteye sahiptir ve bu nedenle kullanılan seyrelticilerin yüksek su emilimine neden olduğu belirtilmektedir. Ayrıca Bis-GMA polimerizasyonunun hava inhibisyonuyla engellendiği, sıcaklık değişimlerine karşı Bis-GMA'nın boyutsal stabilitesinin olmadığı da ifade edilmiştir (23). UDMA monomerleri, alifatik veya aromatik olabilmektedir (17). Bis-GMA ve UDMA polimerizasyon büzülmesini azaltan büyük moleküler hacimlere sahiptir ancak oldukça viskozdürler (18,21,22,28). Bu viskoz matrikse doldurucu partiküllerin eklenmesi ile klinik kullanıma uygun olmayan aşırı sertlikte bir kompozit oluşacaktır (24). Bu sebeple kompozitin viskozitesini azaltmak ve vizkozite kontrolü sağlamak için TEGDMA, Bis-EMA, etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) gibi düşük moleküler ağırlıklı, yüksek derecede akışkan monomerler değişen oranlarda eklenmektedir (16-18,22-24,28). Seyreltici göreviyle kullanılan bu monomerler çapraz bağlanmaya izin vererek matriksin çözücülere karşı direncini arttırmasına rağmen bu monomerlerin matrikste oranının artması, polimerizasyon büzülmesini ve marjinal boşluklarda sızıntıyı arttırmaktadır (22,23). Viskozite kontrolü için kompozitlerde

sıklıkla TEGDMA kullanılmakta (24) olsa da yüksek polimerizasyon büzülmesi ve TEGDMA'nın hidrofilik olması nedeniyle kompozitte neme karşı duyarlılık olması TEGDMA'nın dezavantajlarındandır (23). HEMA'nın viskoziteyi azalttığı ve dentine bağlanma kuvvetini arttırdığı belirtilmektedir (29). HEMA hidrofilik özellik taşıdığından, malzemenin de hidrofilik özelliğini arttırmaktadır. Ancak yüksek su emiliminin malzemenin mekanik özelliklerinin azalmasına ve polimer matrisininin bozunmasına neden olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca HEMA hidrofilik ve hidrofobik monomerlerin karışabilmesine katkıda bulunmaktadır (27).

2.1.1.2. Doldurucu partiküller: Kompozit matriks içinde büyük bölümler halinde dağılmış, boyut, şekil, bileşim açısından farklılık gösteren bir veya daha fazla inorganik doldurucu partiküller bulunmaktadır (21,30). Bu doldurucu partiküller, sertlik ve basınç dayanımı gibi mekanik özellikleri iyileştirerek klinik performansın güçlendirilmesi ve arttırılmasını sağlarlar (18,22,24,30). İşlenebilirlik ve viskozite kontrolü (18), polimerizasyon büzülmesinin azaltılması (18,22,30), metakrilat monomerlerin sahip olduğu yüksek termal genleşme ve büzülme katsayılarının doldurucu partiküller yoluyla doğal dişlere yakın seviyeye azaltılması (18,22,24), su absorbsiyonunun azaltılarak aşınma ve renk değişikliklerinin önlenmesi (18), radyoopasite sağlanması (18,24,30) doldurucu partiküllerin kompozitlere sağladığı faydalardandır.

Doldurucu maddenin türü, partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımı, konsantrasyonu kompozitin özelliklerine etki etmektedir (17). Doldurucu miktarının arttırılması, elastisite modülü, kırılma ve aşınma direncini arttırmakta, polimerizasyon büzülmesini azaltmaktadır. Bununla birlikte, küçük doldurucu partikülleri olan kompozitler daha yüksek aşınma direncine sahip, cilalanmaları kolay ve pürüzsüzdür (18,21,24).

Doldurucu partikül olarak kuvars, kolloidal silika, borosilikat, lityum alüminyum silikat, iterbiyum triflorür, baryum, stronsiyum, zirkonyum ve çinko içeren camlar veya seramikler dental kompozitlerde kullanılmaktadır (17,18,22,23,25). İlk önce kuvars, doldurucu partikül olarak kullanılmaya başlanmıştır (24,26). Ancak kuvars kimyasal olarak kararlı ve dayanıklı olmasının yanında karşıt dişlerde aşınmaya neden olabilecek sertliktedir (18,22-24,26). Amorf silika kuvars ile aynı bileşime ve kırılma indisine sahip olup kuvarstan daha az serttir (18,22). Cam ve kuvars dolduruculaların

kırılma indeksleri, doğal dişlere yakın optik özellik ve yarı saydamlık sağlamaktadır (18,26). Kolloidal silikalar geniş yüzey alanına sahip mikro doldurucu maddeler olarak bilinmektedir (23,25). Ayrıca iterbiyum triflorür ve baryum-alüminyum florosilikat cam gibi doldurucu maddelerini içeren bazı mevcut kompozitler florür salma özelliğine sahiptir. Ba, Sr, Zn veya iterbiyum atomları içeren doldurucular radyoopak özelliktedir (23).

2.1.1.3. Bağlayıcı ajanlar: Bir kompozitin fiziksel ve mekanik dayanıklılığının artması için doldurucu partiküller ile rezin matriksin birbirine kimyasal olarak güçlü bir şekilde bağlanması gerekmektedir. Bu sebeple kompozit içeriğine bağlayıcı ajanlar eklenir (18,23,24). Hidroksil grubu ile kompozitte bulunan inorganik doldurucu partiküle bağlanan, çift karbon bağı ile kompozitin organik matriksine bağlanan, iki farklı uç grubuna sahip bu bağlayıcılar silanlardır (21,24,25). Dental kompozitlerde en yaygın olarak kullanılan bağlayıcı ajan γ-metakriloksipropeltrietoksisilan (γ-MPTS)'dır (18,24).

Silan kullanımı, doldurucu partikülleri rezin matriksine bağlayarak ve rezin matriksine daha fazla doldurucu eklenmesini sağlayarak kompozitin aşınma direncini arttırmaktadır (21,23). Bununla birlikte kompozitteki stres ve gerilimler, bağlayıcı ajanlarla zayıf matriks fazından daha güçlü doldurucu fazına aktarılır (23,26). Ayrıca suyun doldurucu partikül - rezin matriks ara yüzüne nüfuz etmesini önleyerek sızıntıyı inhibe etmek de bağlayıcı ajanların işlevlerindendir (18,23).

2.1.1.4. Diğer bileşenler: Diş yapısının doğal görünümüne uyum sağlamak için dental kompozitlere pigmentler eklenmektedir (16,22,23,25,28). Bunun için sıklıkla kullanılan pigment demir oksitleridir (16,28). Demir oksit, ağız ortamında uzun ömürlü ve iyi bir renk sağlar (28). Yüksek oranda pigmentli renkler de inorganik pigmentlerle hazırlabilmektedir (25). Ayrıca optik değiştiriciler kullanılarak da yarı saydamlık ve opaklık gibi özellikler ayarlanmaktadır (22).

Oksidasyondan kaynaklanan renk değişikliklerini azaltmak, renk stabilitesini sağlamak için, 2-hidroksi-4-metoksibenzofenon gibi UV emiciler de dental kompozitlerin yapısına eklenebilmektedir (16,18,22).

Kompozitlerin kendiliğinden veya istenmeyen polimerizasyonunu engellemek ya da azaltabilmek için içeriğine bütillenmiş hidroksitolüen (BHT) ve hidrokinon gibi

inhibitörler eklenmektedir. Böylece erken polimerizasyon önlenerek yeterli çalışma süresini sağlanmakta ve depolama süresi uzatılarak uzun bir raf ömrü elde edilmektedir (18,22-24). Serbest radikaller inhibitörlerle, serbest monomerlere göre daha hızlı reaksiyona girmektedir. Bu sebeple ancak tüm inhibitör tüketildikten sonra monomerdeki zincir yayılımı başlayabilmektedir (22).

Rezin matriksi ayrıca kürlenmeyi sağlamak için aktivatör/başlatıcı sistemleri içerir (24). Başlatıcı (aktivatör) - hızlandırıcı sistemin rolü, sistemi polimerize etmek ve ilave polimerizasyon mekanizmasıyla sertleştirilmiş kütlede çapraz bağları oluşturmaktır (16,22). Kompozitlerde, aktivasyon üzerine serbest radikaller üretilir. Reaksiyon, dimetil-aminoetil metakrilat (DMAEM), etil-4-dimetilaminobenzoat (EDMAB) ve N,N-siyanoetil-metilanilin (CEMA) gibi aromatik ya da alifatik bir organik aminin mevcudiyeti ile hızlandırılır (16,18).

2.1.2. Dental Kompozitlerin Polimerizasyonu

Kompozit materyaller için polimerizasyon reaksiyonunun başlaması kimyasal aktivasyon, ışık aktivasyonu veya hem kimyasal hem de ışık aktivasyonu (*dual cure)* ile tetiklenebilir (16,18).

2.1.2.1. Kimyasal polimerize kompozitler: İlk kompozit rezinler kimyasal olarak polimerize edilmiştir. Bunlar kimyasal sertleşen, otomatik sertleşen veya kendi kendine sertleşen kompozit rezinler olarak da adlandırılmaktadır (21).

Kimyasal aktivasyonla polymerize kompozitler için birçok farklı dağıtım yöntemi mevcuttur. En popüler olanı çift pat (macun) sistemi olmakla birlikte toz/likit, pat/likit, peroksit ile karıştırılmış kapsül şeklinde de bulunmaktadır (17). Ayrıca karıştırılmayan (*no-mix*) adezivler de mevcuttur (20).

Kendiliğinden sertleşen sistemlerde polimerizasyon, bir organik peroksit başlatıcı ve bir organik amin hızlandırıcı ile gerçekleştirilir (17,24,26,28,31). Oda sıcaklığında, aktivatör görevi üstlenen organik bir amin (N,N-dimetil-p-toluidin) içeren pat ile organik bir peroksit (benzoil peroksit) içeren patın karıştırmasıyla serbest radikallerin oluşumu için reaksiyon başlar ve ilave polimerizasyon gerçekleşir (16,18,22,28). Karıştırılmayan (*no mix*) adezivlerde ise primer likiti ile kompozit hafif basınç altında bir araya getirildiğinde sertleşme gerçekleşmektedir (20).

İki pat karıştırıldığında karıştırma sırasında hava kabarcıkları oluşması sistemle ilgili önemli bir sorundur. Hava kabarcıkları gibi herhangi bir gözenek, polimerizasyonu sınırlayarak yapının zayıflamasına neden olur**.** Ayrıca aktivasyon başladığında açığa çıkan serbest radikallere oksijenin ilgisinin monomerden fazla olması sebebiyle yüzey tabakasının polimerizasyonu engellenir (18,20,22,26). Karıştırmalı sistemlerde bileşenlerin homojen şekilde karıstırılma zorluğu homojen olmayan polimerizasyona ve bunun neden olacağı fiziksel ve yapısal olumsuzluklara yol açar (18). Bu malzemelerde karıştırmadan sonra malzemeyi yerleştirmek ve şekillendirmek için sınırlı bir çalışma süresi bulunmaktadır (18,21,26).

Kimyasal olarak polimerize rezinlerin avantajları ise ekipman gerektirmemesi, değişen oranlarda manipülasyon kolaylığı (çalışma/sertleşme süresi) olması, manipülasyonunun tehlikeli olmaması, uzun raf ömrü ve polimerizasyon sırasında düşük marjinal strese neden olan düşük çapraz bağlantı oluşum oranıdır (18).

2.1.2.2. Işıkla (foto) polimerize kompozitler: Işıkla sertleşen kompozitler 1970'lerde piyasaya sunulmuştur. Işıkla sertleşen kompozitlerde, bir fotobaşlatıcı etkinleştirildiğinde sertleştirme işlemi başlamaktadır (20,24). İlk kullanan sistemlerde, polimerizasyon için UV ışık kullanılmaktaydı (18,22-24). Ancak UV ışığın yumuşak doku yanıklarına neden olabilme ve göze zarar verebilme gibi bazı riskleri bulunmaktadır (24). Daha sonra UV ile aktive olan kompozitlerin yerini, görünür mavi ışıkla aktive olan kompozitler almıştır (18). Bu sistemde kompozit yoğun bir mavi ışığa maruz bırakılarak polimerize edilmektedir (25). Bu amaçla lazer, kuvars tungsten halojen (QTH), plazma ark, ışık yayan diyot (LED) sistemleri gibi uygun dalga boyunda ışık üreten, mavi ışık kaynağı cihazlar kullanılmaktadır (17).

Görünür ışıkla aktive olan malzemeler için başlatıcı sistem, ışığı absorbe eden bir diketon ile hızlandırıcı bir amin karışımından oluşur (17,25). Işık absorbsiyonu sonucu gerçekleşen aktivasyonla serbest radikaller oluşur ve polimerizasyon süreci başlar (23). Çoğu kompozitte ışığı absorbe edici diketon olarak kamforokinon (bornanedione, 1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dione), kullanılmaktadır. Amin hızlandırıcı olarak ise DMAEM görev alır (23). Kamforokinon görünür ışık spektrumunun mavi bölgesinde (~460-480 nm dalga boyunda) absorbsiyon aralığına sahiptir (20,23,24). Kamforokinon polimerize olmamış haldeki kompozite hafif sarı bir ton verir (16,18). Konforokinon dışında diğer fotobaşlatıcılar, PPD (1-fenil-1,2-

propandion), Lucirin TPO (monoaçilfosfin oksit) ve Irgacure 819 (bisaçilfosfin oksit)'dur. Bu fotobaşlatıcılar kamforokinondan daha az sarıdır. Fosfin oksitlerin, amin kullanımına gerek olmaması, gelişmiş biyouyumluluk ve renk kararlılığı gibi etkileri bildirilmiştir. Ancak, fosfin oksitlerde derinlerde yetersiz polimerizasyon görülebilmektedir (18).

Işıkla sertleşen sistemler, kimyasal olarak sertleşen sistemlere göre oksijen inhibisyonuna duyarlı değildir (22) ve genellikle daha yüksek bağ kuvvetlerine sahiptir (32). Ayrıca ışıkla sertleşen materyaller hekimin uygulama zamanını yönetmesine olanak sağlar (20-22,32). Hekim, gömülü bir dişin cerrahi olarak açılıp gömülü dişe ataşman yerleştirilmesi gibi kan ve tükürük kontaminasyon riskinin fazla olduğu bir durumda hızlı ve kısa sürede çalışmayı tercih edebileceği gibi braket pozisyonunu ayarlamak için ise daha uzun bir süreyi tercih edebilir (20). Bu avantajlar nedeniyle, görünür ışıkla aktive olan kompozitler, kimyasal olarak aktive olan malzemelerden daha yaygın olarak kullanılmaktadır (22).

2.1.2.3. Çift polimerizasyonlu (dual cure) kompozitler: Hem kimyasal polimerize hem de ışıkla polimerize teknolojilerini kullanan çift polimerizasyonlu kompozit rezin malzemelerinde, sertleşme reaksiyonu, görünür ışık ile başlar ancak reaksiyon, ışık olmadığı zaman da devam etmektedir (21). Bu sistemin en büyük avantajı, fotopolimerizasyon yetersiz olsa dahi polimerizasyonun baştan sona tamamlanabilecek olmasıdır. En büyük dezavantaj ise karıştırma gereksiniminin neden olduğu gözeneklilik ve oksijen inhibisyonudur. Ayrıca ışıkla polimerize kompozitlere göre daha az renk stabilitesi olduğu belirtilmektedir (22).

2.1.3. Ortodontik Adeziv Kompozitler

Ortodontik tedavilerde braketlerin mine yüzeyine yapışma işlemini iyileştirmek için ortodontik yapıştırıcılar (adezivler) olarak da adlandırılan farklı ortodontik kompozitler geliştirilmiştir (10). Her bir diş üzerine paslanmaz çelik bantların uygulandığı, 1970'lerden önce uygulanan sabit ortodontik tedavi yöntemi, hasta için hem ağrılı hem de konforsuz olmasının yanı sıra; uzun süreli tedaviler sırasında bantların altında mine ve dentin çürüğü riskini de artırmaktaydı (6,33). Diş hekimliği alanındaki gelişmelerle birlikte ortodontide bantlar yerine braketlerin kullanımı, estetiği ve hijyeni iyileştirmiş, tedavi sonunda bantlardan kaynaklanan boşluk oluşumu ve bu

boşlukların kapatılma ihtiyacını ortadan kaldırmıştır (6,19). Ayrıca bantların yerleştirilmesi uzun zaman alırken, braketlerin doğrudan mine yüzeyine yapıştırılması hasta başı işlem süresini kısaltmıştır (6,32,33).

Ortodontik adeziv kompozitler günümüzde sabit ortodontik tedavilerde bukkal / lingual braket sistemleri ve çeşitli ataşmanların yapıştırılmasında, sabit pekiştirme apareylerinin uygulanmasında rutin olarak kullanılmaktadır (19). Bununla birlikte ortodontik kompozitler, şeffaf plaklarla yapılan ortodontik tedavilerde tutuculuk ve kuvvet oluşturan ataşmanların hazırlanmasında da kullanılmaktadır (2). Tedavi yöntemlerinin gelişip çeşitlenmesi ortodontik kompozitlerin kullanım alanının artmasını sağlamıştır.

Diş hekimliğinde kullanılan malzemelerin geliştirilerek diş hekimlerinin daha iyi sonuçlar elde etmelerine yardımcı olabilecek yeni materyallerin üretilmesi, ortodontik adezivlerin de gelişmiş mekanik, fiziksel, optik ve biyolojik özellikler sergilemelerini sağlamıştır. Bu gelişmelerle, tedavi sırasında ve sabit ataşmanların çıkarılması (*debonding*) işleminden sonra diş minesinin sağlığının korunması, ataşmanların bağlanma kuvvetinin arttırılması, ataşmanların diş yüzeyine yapıştırılması için gereken işlem süresinin ve sayısının azaltılması, mine yüzeyindeki adeziv kalıntılarının azaltılması ve düşük polimerizasyon büzülmesinin sağlanması hedeflenmektedir (6,33,34).

Günümüzde, ortodonti alanında ışıkla sertleşen, kimyasal olarak sertleşen (iki macunlu ya da sıvı-macun adezivler) ve renk değiştiren, primer ile entegre edilmiş, HEMA-TEGDMA gibi monomer içermeyen, nanopartikül eklenmiş gibi farklı tipte yapıştırıcı malzemeler de bulunmaktadır (4,10,35-38).

Nanoteknolojinin gelişmesiyle birlikte, 100 nm'nin altında partikül boyutlarına sahip titanyumdioksit, zirkonyum oksit, çinko oksit, gümüş gibi nanopartikülleri içeren ortodontik adezivler üretilmiştir. Eklenen bu nanopartiküllerin, adezivin antibakteriyel, bağlanma kuvveti, aşınma direnci gibi mekanik ve biyolojik özellikleri ile estetik özelliklerini geliştirdiği belirtilmektedir (9,39-48).

Birçok ortodontik adezivin estetiği sağlamak amacıyla renk bakımından mineye benzer olması, adeziv malzeme ile mine arasında renk kontrastı olmaması nedeniyle yapıştırma işlemi sırasında, braket kenarlarındaki fazla ortodontik adeziv kompozit fark edilmeden mine yüzeyinde kalabilmektedir (6,49). Bu nedenle, adeziv kompozit ve

minenin farklılaşmasını geliştirmek için renk değiştiren ışıkla sertleşen kompozitler üretilmiştir (6,33,35,49,50). 1986 yılında iki macundan oluşan, polimerleştiğinde rengi sarıdan diş rengine değişen Crypsis piyasaya sürülmüştür (35). Bu adezivlerin belirgin bir renk ve kontrast sağlanması ortodontistin braket yerleştirme sırasında adeziv - diş ara yüzünün tam olarak tanımlayabilmesine, böylece fazla kompoziti braket tabanının etrafında görmesine ve polimerleşmeden önce çıkarmasına izin vermektedir. Bununla birlikte braketlerin diş yüzeyinden çıkarılması (*debonding*) işlemi sırasında diş minesinin kolaylıkla tespit edilmesinin mine üzerinde adeziv kalıntısı bırakılmasını engellediği ve işlem sırasında oluşabilecek mine hasarı ya da mine kaybı riskini de azalttığı bildirilmektedir (6,33,35,49,50).

Buonocore (15) tarafından 1955'te bildirilen asitle pürüzlendirme tekniğine dayalı olan geleneksel dental kompozit adeziv sistemler asit, primer solüsyon ve bir adeziv rezinin sıralı olarak uygulanmasını içermektedir. Bu uygulamada, mine yüzeyinin temizlenip asit ile minenin pürüzlendirilmesi, asitin yüzeyden uzaklaştırılarak yüzeyin yıkanıp kurutulması, asitlenmiş mine yüzeyinin primer ile örtülmesi ve ortodontik adeziv kompozitin braket tabanına yerleştirilerek braketin diş yüzeyine konumlandırılması adımları takip edilmektedir (5,10,51). Ortodonti alanında kullanılan materyallerin gelişimi ile adezyon işlemindeki aşamaların sayısını azaltan veya bu aşamaların kombinasyonunu içeren kendinden asitli (*self-etch*) sistemler, primer ile entegre adeziv kompozitler (primersiz kullanılan adeziv kompozitler) gibi yeni adeziv sistemler de klinik kullanıma sunulmuştur (5,10).

Primer ile entegre edilen ortodontik adezivler, adeziv kompozite primer solüsyonunun dahil edilmesi ile geleneksel adeziv sistemlerdeki mine yüzeyini asitle pürüzlendirdikten sonra primer uygulanmasını adımını ortadan kaldırmaktadır (5). Braketi yerleştirmek için gereken süre uzadıkça, braketlerin mine yüzeyi ile bağlantıları için gereken nem kontrolünün sağlanması zorlaşabilmektedir (20). Bu nedenle diş yüzeyine primer uygulanmadan kullanılan, primer ile entegre edilmiş ortodontik adeziv kompozitlerin, uygulama sırasında teknik hassasiyeti azalttığı belirtilmektedir (10).

Bunların yanı sıra siloran bazlı yapıştırıcılar gibi HEMA ve TEGDMA içermeyen, Bis-GMA–HEMA–TEGDMA içermeyen ortodontik adezivler de bulunmaktadır (38,52).

2.2. BİYOUYUMLULUK

Biyouyumluluk, belirli bir uygulama amacıyla organizmada kullanılan bir malzemenin uygun bir biyolojik tepki ortaya çıkarma yeteneği olarak tanımlanır (16,30,53). Bir biyomateryal insan vücudunun dokuları ve sıvıları ile temas edecek şekilde yerleştirildiğinde, materyal ve biyolojik çevre arasında her zaman bir tür etkileşim vardır (24). Biyouyumluluk, malzemenin çevresiyle etkileşime girme özelliğidir (16,24). Uygulanan canlıda, materyalin kendisinde veya materyalin uygulanma şeklinde değişiklik meydana gelirse biyolojik yanıt da değişecektir (16).

Herhangi bir biyomalzemenin geliştirilmesinde, malzemenin özellikleri, işlevsel yönleri, sağlamlığı, tasarımı ve estetiği ile birlikte biyouyumluluğu göz önünde bulundurulmalıdır (16,22). Vücut ve materyal arasındaki birçok etkileşimin gelişmesi zaman almaktadır. Uzun süreler hem malzemenin vücudu hem de vücudun malzemeyi birçok şekilde etkilemesi için yeterli zamanı sağlar. Bu nedenle bir materyalin vücutta bulunma süresi biyolojik tepki için önemlidir (30). Malzemelerin vücutta daha karmaşık işlevleri daha uzun süreler boyunca yerine getirmesi beklenildiğinde, uygun biyolojik yanıtlar daha da önem kazanmaktadır. Bu nedenle biyouyumluluk değerlendirmeleri üreticiler, uygulayıcılar, bilim insanları ve hastalar için önemlidir (16).

Malzeme - doku ara yüzündeki etkileşimlerin malzemenin biyouyumluluğunda rol oynadığı savunulmaktadır (30). Bunlar: malzeme bileşenlerinin kimyasal yapısı, malzeme bileşenlerinin fiziksel doğası, malzemenin konumu ve malzemeye komşu doku türleri, malzemenin vücutta kalma süresi, malzemenin yüzey özellikleri, malzemeden ayrışan maddelerin miktarı ve doğası, malzeme üzerindeki stresdir (22,30).

Bazı araştırmalar, dental malzemelerde alerji gibi dental materyallere karşı istenmeyen reaksiyonların olabileceğini belirtmektedir (3,8,14,54-56). Hem hastalar dental materyallerin taşıyıcısı olarak hem de diş hekimi ve yardımcı personel günlük uygulama sırasında birçok materyale dokunup bu materyalleri kullanarak istenmeyen etkileşimlere ve potansiyel risklere maruz kalmaktadır. Bu nedenle, diş hekimlerinin ağız boşluğunda kullanılacak malzemelerin bileşimini ve kimyasını ve bu malzemelerin biyolojik ortamla nasıl etkileşime girebileceğini bilmesi önemlidir (24).

2.2.1. Biyomalzemelerin Lokal ve Sistemik Etkileri

Vücutta bir dokuya komşu olarak yerleştirilen herhangi bir biyomateryal, lokal veya sistemik biyolojik etkilere neden olabilmektedir. Bu etkiler, malzemeden salınan maddeler ve bu maddelere verilen biyolojik tepkiler tarafından kontrol edilmektedir. Bu etkilerin şekli, şiddeti ve yeri, salınan maddelerin dağılma yeteneği, maddelerin konsantrasyonları ve maddelere maruz kalma süreleri ile ilişkili bulunmuştur. Dental materyallerden salınan maddeler yutma ve emilim; malzemenin buharının solunması, diş apeksinden sızıntı ve oral mukoza yoluyla absorbe olarak vücutta istenmeyen sistemik etkilere yol açabilmektedir. Sistemik cevap, maddenin konsantrasyonu, maruz kalma süresi, maddenin atılım hızı ve maruziyetin meydana geldiği organ veya bölgeye bağlıdır (22).

Dental materyallere yönelik istenmeyen etkiler enflamasyon, alerjik ve anafilaktoid reaksiyonlar, kontakt dermatit, kimyasal yanık, pulpa hasarı, termal yaralanma, oral likenoid reaksiyonlar, ürtiker, parestezi, mutajenik reaksiyonlar ve toksik reaksiyonlar gibi etkileri içermektedir (4,5). Bu biyolojik reaksiyonlar lokalize ya da daha uzak bölgelerde gerçekleşebilmektedir (24). Diş tedavisinin çok faktörlü doğası ve hastaların şikayetlerinin veya semptomlarının tanımlarının öznel doğası nedeniyle bu etkilerin spesifik nedenlerini teşhis etmek zordur (22).

2.2.2. Biyouyumluluk Testleri

Herhangi bir biyomateryal canlı dokuya yerleştirildiğinde, etrafındaki karmaşık biyolojik sistemlerle etkileşimler meydana gelir ve bu etkileşimler bir tür biyolojik tepki ile sonuçlanır (30).

Biyouyumluluk testlerinin birincil amacı, malzemelerle tedavi edilecek diş hastalarını ve bu malzemeleri kullanacak ofis personeli ve laboratuvar teknisyenlerini korumaktır. Hiçbir dental biyomalzeme, potansiyel yan etki riskinden tamamen muaf olmadığından, biyouyumluluğun testi risk değerlendirmesi ile ilgilidir (22).

Materyallerin biyouyumluluğunu analiz etmek için çeşitli testler kullanılır ve bunlar *in vitro* testler, hayvan testleri ve kullanım testleri olarak sınıflandırılmaktadır (16,22).

Yeni bir malzemenin testi sırasında öncelikle birincil testler yapılır ve bu testleri geçen malzemeler daha sonra ikincil testlere geçer. Birincil testler genellikle *in vitro*dur.

Sitotoksisite, mutajenite, hücre metabolizması ve fonksiyonu ile ilgili testleri içerir. İkincil testler genellikle hayvanlarda bağışıklık tepkisi, deri tahrişi, kronik toksisite veya implantasyon sonrası tepki gibi sonuçları gözlemlemek için yapılır. İkincil testleri geçen malzemeler de kullanım testlerine tabi tutulur (22).

2.2.2.1. *In vitro* testler: *In vitro* biyouyumluluk testleri, materyalin organizma dışındaki bir hücre, enzim veya başka bir izole biyolojik sistem ile doğrudan veya bir bariyer vasıtası ile dolaylı olarak temasta kalacak şekilde hücre kültürü kaplarına ya da test tüplerine yerleştirilmesi ile uygulanmaktadır (16,22). *In vivo* kullanım sırasında hücreler ve materyaller arasında genellikle doğrudan temas olmaması nedeniyle, *in vivo* koşulların agar ya da milipore filtre kullanılarak oluşturulmaya çalışıldığı *in vitro* bariyer testleri geliştirilmiştir (16).

In vitro testler için iki tip hücre kullanılmaktadır. Birincil hücreler, doğrudan bir hayvandan alınan ve kültüre ekilen hücrelerdir. Bu hücreler kültürde sınırlı bir süre boyunca büyür ve bu nedenle genellikle hücreler birçok özelliğini *in vivo* olarak korumaktadır. Sürekli büyüyen hücreler veya hücre çizgileri, kültürde süresiz olarak çok ya da az büyümelerine izin vermek için önceden dönüştürülmüş hücrelerdir. Bu hücreler tüm *in vivo* özellikleri korumazlar. Birincil hücre kültürleri, malzemelerin sitotoksisitesini ölçmek için sürekli hücre çizgilerinden daha uygun bulunmaktadır. Bununla birlikte sürekli hücre çizgilerinin genetik ve metabolik stabilitesi, standartlaştırma tahlil yöntemleri için önemli bulunmaktadır (16).

In vitro testler, genellikle hayvan veya kullanım testlerinden daha düşük maliyetlidir ve görece hızlıdır. Standardize edilebilirler. Ayrıca, *in vitro* testler, güvenilir veriler ve tekrarlanabilir ölçümler sağlamak için elverişlidirler. Materyalin *in vivo* kullanımıyla sınırlı ilişkileri, *in vitro* testlerin önemli dezavantajlarındandır. Diğer önemli dezavantajı, *in vitro* ortamda enflamatuvar ve diğer doku koruyucu mekanizmaların bulunmaması nedeniyle *in vitro* testler, bir organizmanın enflamatuvar, dolaşım ve bağışıklık sistemleri arasında var olan karmaşık etkileşimleri simüle etme yeteneğinden yoksundur (16,22). Bütün bunların yanında, bir materyalin genel biyouyumluluğu ile ilgili kesin bir yargıya sadece *in vitro* testlerle ulaşılamayacağı belirtilmektedir (16).

Biyouyumluluk için en önemli kriterlerden biri, malzemenin hücreler için toksik olmamasıdır. Materyal, hücre sayısını veya büyümesini, hücre zarlarının bütünlüğünü,

hücrelerin aktivitesini, genetik bütünlüğü veya genetik materyali etkilememelidir (31). Bu amaçla *in vitro* testler, hücre büyümesini, hücresel işlevi ve metabolizmayı, sitotoksisiteyi, hücrenin genetik materyali üzerindeki etkileri ölçmek için kullanılabilmektedir (16,22).

Sitotoksisite testleri, bir materyalin neden olduğu hücre ölümünü, o materyale maruz kalmadan önceki ve sonraki hücre sayısını veya büyümesini ölçerek değerlendirmekedir. Sitotoksisite için yaygın olarak kullanılan bir enzimatik test, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür (MTT) testidir (16). Bu test, mitokondriyal bir enzim olan süksinat dehidrojenazın aktivitesine bağlı olarak hücrenin metabolik fonksiyonunu ölçer (28). Sitotoksisite değerlendirmesinde nitroblue tetrazolyum (NBT), 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanilid tuz (XTT) ve suda çözünür tetrazolyum (WST) testleri kullanılan diğer kolorimetrik testlerdendir. Ayrıca hücre çoğalmasını nicel olarak ölçmek için, hücrelerin sürekli olarak izlenmesine izin veren floresan bir belirteç olan alamar mavisi testi kullanılmaktadır (16).

Hücre zarının geçirgenliğindeki değişiklik hücre ölümüne eşdeğer olarak kabul edilmektedir. Membran geçirgenlik testleri, floresan diasetat ve etidyum bromür karışımı bir boyanın hücre zarından kolaylıkla geçebilmesiyle sitotoksisiteyi ölçmek için kullanılmaktadır (16,28). Sağlıklı, sağlam bir hücrede floresan diasetat hücreler tarafından alınır ve uygun dalga boyunda ışıkla yeşil bir floresan verir. Ancak etidyum bromür, sağlam zarı olan bir hücreye giremez. Bununla birlikte, hücre zarı hasar görürse, etidyum bromür hücreye girer ve burada nükleik asitlere, özellikle DNA'ya güçlü bir şekilde bağlanarak turuncudan kırmızıya floresans açığa çıkaran kompleksler olusturur (28). Ayrıca, sitoplazmik bir enzim olan laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesinin belirlenmesi membran bütünlüğü ile ilişkilidir. Hücreler, toksik etkilere maruz kalarak hasarlandığında ya da öldüğünde plazma membran bütünlükleri bozularak LDH enzimi hücrelerden sızar. LDH enzim aktivitesi ölçülerek hücre hasarı değerlendirilebilir (57). Ancak her hücre tipi için LDH aktivitesi ölçümü güvenilir olmamaktadır. Örneğin, fibroblastların endojen LDH seviyeleri düşük olduğu için fibroblastlarla LDH testinin kullanımının uygun olmadığı bildirilmiştir (58).

Mutajenez testleri, bir biyomateryalin hücrenin genetik materyali üzerindeki doğrudan veya dolaylı etkisini değerlendirmektedir (28,31). Genotoksik mutajenler,

çeşitli mutasyon türleri yoluyla hücre DNA'sını doğrudan değiştirmektedir. Mutasyonlar, genotoksik kimyasalların doğal halleriyle veya kimyasalların aktivasyonu, biyotransformasyonu sonucu oluşabilmektedir. Ames testi, en yaygın olarak kullanılan kısa süreli mutajenez testidir ve tamamen doğrulanmış olarak kabul edilen tek testtir (28).

DNA sentezi ölçümü, hemoliz tahlili, bağışıklık fonksiyonunu veya diğer doku reaksiyonlarını ölçmek için lenfositler ve makrofajlar tarafından sitokin üretimi, lenfosit proliferasyonu ve kemotaksisi veya T-hücresi ölçümü hücre aktivitesini ve proliferasyonunu değerlendirmede kullanılan diğer *in vitro* testlerdir (28,31).

2.2.2.2. Hayvan testleri: Hayvan testleri, bir materyalin kobay, hamster, fare, sıçan, tavşan, domuz, koyun, babun, maymun, köpek, kedi, gelincik gibi bir organizmaya yerleştirilmesini içermektedir (16,22,31). Hayvan testlerinde bir hayvandan alınan hücreler veya dokular yerine bozulmamış bir hayvanın kullanılması, materyal ile eksiksiz bir biyolojik sistem arasındaki karmaşık etkileşimlerin gerçekleşmesine izin vermektedir ve bu bakımından *in vitro* testlerden farklıdır (16,22). Bu nedenle, hayvan testlerindeki biyolojik tepkiler, *in vitro* testlerden daha kapsamlı ve daha ilişkili olabilmektedir (16).

Bozulmamış bir biyolojik sistemin bir malzemeye yanıt vermesine veya onunla etkileşime girmesine izin verme yetenekleri, hayvan testlerinin başlıca avantajıdır (22). Yorumlanmaları ve kontrol edilmelerinin zor olması, yüksek maliyetli olmaları, ölçülebilir bir yanıt elde etmek için gerekebilecek sürenin uzunluğu hayvan testlerinin dezavantajlarındandır. Bunlarla birlikte, test hayvanlarına muamele ile ilgili etik kaygılar da bulunmaktadır (16,22). Ayrıca, insan tepkilerini simüle etmede hayvan testlerinin uygunluğu genellikle sorgulanmaktadır (22).

Biyouyumluluğu değerlendirmek için çeşitli hayvan testleri kullanılmıştır. Müköz membran iritasyon testleri, deri hassasiyeti testleri, implantasyon testleri bunlardan bazılarıdır. Hayvanlarda yapılan enflamatuvar yanıt testleri, yalnızca materyal gelişimi sırasında değil, aynı zamanda materyal piyasaya çıktıktan bir süre sonra materyalle ilgili bir sorun tespit edildiğinde de yararlı olabilmektedir (16).

Mukoza zarı tahriş testi, bir malzemenin mukoza zarında veya abraze deride enflamasyona neden olup olmadığını belirlemektedir (16,31). Deri örneği genellikle hamster veya tavşanların ağız dokusundan alınmaktadır (31).

Deri hassasiyeti testinde, deri aşırı duyarlılık reaksiyonlarının gelişimini test etmek için maddeler intradermal olarak enjekte edilmektedir. Aşırı duyarlılık daha sonra test maddesini içeren yapışkan yamalar aracılığıyla da test edilir (16,31). Test deneklerinde enflamasyonun sıklığı ve şiddeti, materyalin alerjenik duyarlılığının bir ölçüsüdür (31).

İmplantasyon testleri, doku veya kemiğe temas edecek ve bir materyalin kronik enflamasyona veya tümör büyümesine neden olma potansiyelini değerlendirmek için kullanılmaktadır (16,31). İmplantasyon bölgesinin konumu materyalin kullanımına göre belirlenir ve bağ dokusu, kemik veya kas içerebilir (16). Numuneler, plastik tüpler içinde kullanım amacına uygun yerlere implante edilerek daha sonra histolojik, histokimyasal ve/veya immünohistokimyasal yöntemlerle yanıt analiz edilmektedir. Kısa süreli testler 1 ile 11 hafta, uzun süreli testler ise 1 ile 2 yıl sürmektedir (31).

2.2.2.3. Kullanım testleri: Kullanım testleri, hayvanlarda veya insanlarda, materyalin amaçlanan klinik kullanımına benzer klinik olarak ilgili bir ortama yerleştirilmesini gerektirmektedir (16,22). Bu nedenle diğer hayvan testlerinden farklıdırlar (16).

Belirli bir hayvan türünün boyutu veya anatomisi nedeniyle, kullanım testi için hayvan seçimi, diğer hayvan testlerine göre daha sınırlı olup hayvanlarda kullanım testlerinde genellikle köpekler, mini domuzlar veya maymunlar gibi insanlarla benzer ağız anatomisine sahip, daha büyük hayvanlar kullanılmaktadır (16,22).

Klinik araştırmalar ve gözlemlerin yanı sıra, esas olarak primatlar veya köpekler gibi daha büyük hayvanlar üzerinde yapılan hayvan çalışmaları, bir biyomateryalin hasta veya diş hekimliği personeli için potansiyel zararlılığını araştırmak için kullanılmaktadır (30). Bir testin zaman, konum, ortam ve yerleştirme tekniği dahil olmak üzere materyalin klinik kullanımını taklit etmedeki aslına uygunluğu, testin biyouyumluluğu tahmin etmedeki faydası ile doğru orantılıdır (16). Bu nedenle bir materyalin hastalardaki uygulanma şeklinin mümkün olan en iyi simülasyonu için hayvan kullanım testlerinin yeterli olduğu görüşü de savunulmaktadır (30).

Kullanım testlerinin tasarım karmaşıklığı, deneysel olarak kontrol etme zorluğu ve yorumlama zorlukları gibi çeşitli dezavantajları vardır. Yüksek maliyetlidir. Ayrıca test sırasında katılımcılara zarar verilebilir (16,22). İnsan kullanım testleri, hayvan ve *in vitro* testler için oluşmayan yasal gizlilik ve etik sorunları içermektedir (22). Genellikle bu testlerin istatistiksel analizi daha karmaşık olarak yorumlanmıştır (16).

Diş hekimliğinde diş pulpası, periodonsiyum ve dişeti veya mukozal dokular kullanım testlerinin ana hedefleridir (16). Diş pulpası tahriş testleri, kemikte diş implantları, mukoza ve dişeti kullanım testleri uygulanan kullanım testlerindendir (16,22).

Diş eti ve mukozanın, bu dokulara doğrudan teması olan materyallere karşı oluşturduğu doku yanıtı, ilgili materyalin subgingival uzantılı kavite preparasyonlarına yerleştirilmesiyle değerlendirilmektedir. Malzemenin, diş eti dokuları üzerindeki genellikle 7. ve 30. günlerdeki etkisi gözlemlenerek yanıtlar, epitel ve komşu bağ dokusundaki mononükleer enflamatuvar hücrelerin (lenfositler ve nötrofiller) sayısına bakılarak hafif, orta veya şiddetli olarak sınıflandırılmaktadır (16,22).

2.2.3. Malzemelerin Yumuşak Dokularla Etkileşimi

Organizmada yumuşak dokuda herhangi bir hasar meydana geldiğinde iyileşme birtakım olayların sıralı organizasyonuyla gerçekleşmektedir. Bu olay sıralaması Tablo 2.1'de gösterilmiştir. Biyolojik bakış açısıyla, bir biyomateryalin vücut içine yerleştirilmesi de dokuya hasar vermek anlamını taşımaktadır. Ancak mevcut biyomateryal, iyileşme sürecinde bir takım modifikasyonlara neden olabilmektedir (28).

Tablo 2.1: İmplantasyon sonrası olaylar dizisi (28)

Doku Hasarı
Akut Enflamasyon
Kronik Enflamasyon
Granulasyon Dokusu Formasyonu
Yabancı Cisim Reaksiyonu
Fibrozis

2.2.3.1. Enflamasyon: Vaskülarize bir dokuda travma (aşırı güç, yırtılma ve aşınma), alerji veya toksisite gibi herhangi bir nedenle hasar meydana geldiğinde (22), enflamasyon başlar (59). İlk kez Aulus Cornelius Celsus (60) tarafından belirtilen kızarıklık (*rubor*), ısı artışı (*calor*), şişlik (*tumor*), ağrı (*dolor*), fonksiyon kaybı (disfonksiyon) enflamasyonun ana bulgularını oluşturmaktadır.

Enflamasyon, hasarlı bölgeyi sınırlandırarak hasara neden olan süreci dengeleyerek iyileşmeyi sağlayan bir dizi olayı başlatır (61). Bu, konağın bağışıklık sisteminin aktivasyonunu da içerir (22). Hasarlı doku, komşu parankimal hücrelerin rejenerasyonu ile veya fibrozis adı verilen skar dokusu ile ya da bunların birleşimi ile onarılabilmektedir. Eğer doku hasarı, bir malzemenin implantasyonu için yapılan cerrahi işlem ile oluşmuş ise biyomateryalin şekli, biçimi, yüzey kimyası gibi özelliklerinin de enflamatuvar yanıtın yoğunluğu ve süresi üzerinde etkisi vardır (61).

Doku hasarından hemen sonra kan akışı ve damar geçirgenliği değişerek (60) pıhtılaşma gibi hücresel olayları başlatacak olan protein ve kan hücrelerinden zengin bir sıvının (eksuda) komşu kan damarlarından salınmasını (62) sağlamaktadır. Akut enflamasyon olarak adlandırılan enflamasyonun bu ilk aşaması, doku hasarının ciddiyetine göre birkaç dakikadan birkaç güne kadar uzayan kısa süreli bir olaydır (59). Bölgede baskın olan hücreler aşamalı olarak değişmektedir (63). Hasardan sonra salınan kemotaktik faktörler, bölgeye öncelikle nötrofillerin ulaşmasını sağlar. Nötrofiller, 24-48 saat gibi kısa ömürlüdürler. Daha sonra monositler bölgeye ulaşır. Hasar bölgesinde monositler, birkaç ay yaşayabilecek ve fagositoz özelliği de olan makrofajlara farklılaşmaktadır. Farklılaşmamış monositlerin hasar bölgesine göçü, hasarın büyüklüğüne bağlı olarak bir süre daha devam edebilmektedir (28).

Enflamatuvar uyaranlar devam ederse, akut enflamasyon kronik enflamasyona dönüşür. Kronik enflamasyon meydana geldiğinde immün reaksiyonlarla ilişkili lenfosit ve plazma hücresi gibi mononükleer hücreler baskındır (64). Ayrıca makrofajlar da sayıca fazladır ve kemostatik faktörler, sitokinler, araşidonik çeşitli enzim ve metabolitler gibi kimyasalları salgılayabilmektedir (65).

2.2.3.2. Granülasyon dokusu oluşumu: Granülasyon dokusu, iyileşen yaraların yüzeyinde implantasyondan birkaç gün sonra gelişen, çok sayıda küçük kan damarı, makrofaj ve fibroblast içeren, yumuşak, pembe bir dokudur. Ana işlevi,

vücudun orjinal bölgesini yeniden yapılandırmaktır. İçindeki fibroblastlar başta tip III olmak üzere kollajen ve proteoglikan üretir (28).

2.2.3.3. Yabancı cisim reaksiyonu: Bir yabancı cisim reaksiyonu, yabancı cisim dev hücrelerini ve granülasyon dokusunun bileşenleri olan makrofajları, fibroblastları ve kılcal damarları içermektedir. Bir yabancı cisim reaksiyonunun ayrıntıları implante edilen malzemenin şekline ve yüzeyine bağlıdır (66). Düz, pürüzsüz yüzeyler bir veya iki hücre kalınlığında bir makrofaj tabakasını içeren bir yabancı cisim reaksiyonuna neden olur. Karakteristik olarak bir implant, yabancı cisim reaksiyonu etrafında gelişen ve hem onu hem de implantı izole eden fibröz kapsül ile çevrelenir (28).

2.2.3.4. Fibrozis: Fibröz kapsül oluşumu genellikle iyileşmenin son aşamasıdır (67). Sinir hücreleri, iskelet veya kalp kası hücreleri, lenf ve kan sistemlerinde bulunan kararsız hücreler gibi çoğalamayan, kalıcı hücrelerde komşu parankimal hücrelerin bağ dokusuyla yer değiştirmesi sonucu fibröz kapsül oluşmaktadır (28).

2.3. ORTODONTİK ADEZİV KOMPOZİTLERİN BİYOUYUMLULUĞU

Ortodontik adeziv kompozitlerin biyouyumluluğunun değerlendirilmesi hem hasta sağlığı hem de hekim ve yardımcı personelin sağlığı için önemlidir (13,68,69). Ortodontik adeziv kompozitler braket ve ataşmanların yerleşimi nedeniyle periodontal dokular ve alveolar kemiğe yakın konumlandırılmaktadır. Bu nedenle de ortodontik adeziv kompozitlerden salınan maddeler, mukoza, diş eti ve alveolar kemik gibi komşu dokularda enflamasyon, iltihap, nekroz gibi reaksiyonlara neden olabilmektedir (8,13,56). Ortodontik tedavi görmekte olan ağız hijyeni iyi hastaların klinik muayene ve sondalama derinliği değerlendirildiğinde, brakete ve kompozite yakın diş etinde orta ile şiddetli derecede enflamasyon veya alerjik reaksiyonlar görüldüğü belirtilmiştir (8). Ayrıca ortodontik biyomalzemelere karşı yan etki görülme olasılığının, malzemeyi uygularken ya da dokudan uzaklaştırırken ortodontist ve yardımcı personelin malzemeye sürekli kronik maruziyeti sebebiyle sağlık personellerinde hastalara göre daha yüksek olduğu da ifade edilmektedir (68,69).

Çoğu malzeme için ürünler polimerizasyon öncesinde potansiyel olarak daha zararlıdır. Polimerizasyon ile çapraz bağ oluşumunun, potansiyel olarak zararlı

bileşenlerin bağlanmasına yardımcı olarak serbest monomerlerin salınmasını engellediği bildirilmiştir (17). Bununla birlikte, ortodontik adeziv kompozitlerin tamamen polimerizasyonunun sağlanamadığı (70), organik matriksteki metakrilik gruplarının yaklaşık %15-50'sinin polimerizasyon sırasında serbest monomer olarak kaldığı belirtilmiştir (71).

Bir materyalin biyouyumluluğu hasta, materyalin işlevi ve yerleştirme koşulları ile ilişkilendirilmekte (72) olup bunun yanında materyallerin yumuşak dokuları etkilemesi, materyallerin komşu dokularla doğrudan etkileşimiyle ya da materyal içindeki suda çözülebilen bileşenlerin tükürük ve ağız boşluğuna salınmasıyla meydana gelmektedir (73). Tamamlanmamış polimerizasyon ve ağız boşluğunda ortodontik adeziv kompozitlerin mekanik aşınmaya uğraması, termal ve pH değişiklikleri, esterazlar gibi tükürük enzimleri ve bakteriyel enzimlerin yol açtığı enzimatik bozunmalar nedeniyle ortodontik adeziv kompozitlerden bileşenler salınabilmektedir (72,74,75). Ayrıca ortodontik kompozitlerden madde salınımının, kompozitin tipine ve sertleştirme etkinliğine bağlı olduğu ifade edilmektedir (23).

Birçok çalışmada kompozitlerden salınan maddelerin sitotoksik olabileceği gösterilmiştir (16,23,24,76,77). Sitotoksitenin kompozitin polimerizasyon (sertleşme) çeşidi ve zamanla değiştiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (78). Bunun yanında salınan bu maddelerin aşırı duyarlılığa, alerjilere neden olabileceği belirtilmiştir (76). Eliades ve arkadaşları (79), ortodontik braketlere uygulanan yapıştırıcılardan Bis-GMA ve TEGDMA'nın salındığını göstermiştir (79). Geurtsen ve ark. (77), dental kompozitlerden salınan bileşenlerin insan gingival fibroblastları ve periodontal ligament hücreleri üzerinde sitotoksik olduğunu bildirmiştir (77). Goldberg (76), dental rezinlerin içinde bulunan TEGDMA ve HEMA monomerlerinin diş eti hücreleri için sitotoksik olduğunu ve alerjen özellik göstererek gözlemlenen alerjilerden bu monomerlerin sorumlu olabileceğini belirtmiştir (76). Bununla birlikte HEMA hidrofilik özelliği arttırarak hidrofobik monomerlerin hücrelere difüzyonu kolaylaştırılabilmektedir (80-82). HEMA ve TEGDMA ile ilgili hayvan çalışmalarından elde edilen verilerde yutulan HEMA ve TEGDMA'nın organizma tarafından neredeyse tamamen absorbe edildiği ifade edilmiştir (83,84). Yapılan araştırmalarda ortodontik adeziv kompozitlerden BPA salınımı olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (7,75,85-87).

İlk kez Olea ve arkadaşları tarafından 1996 yılında dental biyomateryallerden BPA salındığı gösterilmiştir (88). Bis-GMA'nın bir öncüsü olan BPA'nın, östrojen reseptörleri için afiniteye sahip olarak östrojene duyarlı organlarda ve hücrelerde değişiklikleri uyaran bir ksenoöstrojen olduğu belirtilmektedir (22,24). BPA'nın kadınlarda erken ergenlik ve meme kanseri, hipotalamus ve hipofiz bezlerindeki östrojen reseptörlerinde gecikmiş ve sürekli hiperprolaktinemik değişiklikler, erkeklerde feminizasyon, sperm sayısında azalma, testis kanseri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (22,89-91). Bunların yanında, Bouskine ve arkadaşları (92), BPA'nın hücreler arası iletişimi etkileyerek dokuların olgunlaşmasını ve farklılaşmasını bozabileceğini bildirmiştir. BPA'nın östrojenik etkisi olmasına rağmen, dental kompozitlerin östrojenik etkilerini gösteren *in vitro* veya *in vivo* fazla kanıt bulunamamıştır (16,22,23). Ancak insan diş eti dokularında östrojen reseptörlerinin tanımlanması ve diş etinin seks hormonları için bir hedef organ olabileceği de dikkat çekicidir (20).

Ortodontik adeziv kompozitlerin malzemeyi kullanan diş hekimliği personelinde ve hastalarda oral mukoza ile temas sonucu alerjik reaksiyonlara neden olabileceği bilinmektedir (22,23,54). Metakrilat içindeki HEMA'nın, kontak dermatis gibi alerjik reaksiyonlara sebep olduğu gösterilmiştir (54). Ayrıca HEMA'nın DNA hasarına neden olduğu da belirtilmiştir (93).

Ortodontik tedavinin tamamlanması ile braketlerin çıkarılması ve döner aletlerle adeziv tabakanın aşındırılarak mine yüzeyinden temizlenmesi gerekmektedir. Döner aletlerle üretilen aerosol, frez aşınmasından kaynaklanan partiküller, polimer matris ve kompozit bozunma ürünlerini içerir. Bu aerosolün solunum yoluyla akciğer alveolüne ulaşma tehlikesi bulunur. Bis-GMA içeren kompozitlerin aşındırılmasının östrojenik etkiye sahip olan BPA oluşumunu tetikleyebileceği ve aerosolün BPA içereceği de varsayılmaktadır (20).

Diş hekimliğinde kullanılan malzemelerinin biyouyumluluğunu, malzemenin yüzey özellikleri ve çevre ile etkileşimi de etkilemektedir. Bazı malzemelerin gram negatif bakterilerin plağa tutunmasını arttırarak diş eti ve periodontal problemlerin oluşumuna zemin hazırladığı (72) ve ortodontik yapıştırıcıların diş eti iltihabına neden olabileceği ifade edilmektedir (3). Yapılan çalışmalarda TEGDMA, EGDMA gibi serbest monomerlerin diş çürüğü ile ilişkili bakterilerin çoğalmasını teşvik ettiği de

gösterilmiştir (76,94). Braket ve ataşmanları çevreleyen minenin demineralizasyonunun önlenmesi, minenin ve periodontal dokuların sağlığının idamesi, ideal bir ortodontik yapıştırıcı için önem taşımaktadır (95).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 25.12.2020 tarihli 07 sayılı toplantıda 04 nolu karar ile etik açıdan uygun bulunarak etik kurul onayı alınmıştır. İlgili etik kurul kararı EK'de sunulmuştur.

Çalışmada kullanılan ortodontik adeziv kompozitler (kimyasal polimerize ortodontik adeziv kompozit, ışıkla polimerize ortodontik adeziv kompozit, renk değiştiren ışıkla polimerize ortodontik adeziv kompozit, primersiz kullanılan ışıkla polimerize ortodontik adeziv kompozit ve Bis-GMA–TEGDMA–HEMA içermeyen ortodontik adeziv kompozit), histoloji laboratuvar sarf malzemeleri ve kullanılan deney hayvanları (21 adet dişi rat) ile bu hayvanların bakımı Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen 2021/070 numaralı proje ile sağlanmıştır.

Çalışmanın hayvan deneyleri Sağlık Bilimleri Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Deney süresince kullanılan tüm hayvanların (21 adet dişi rat) bakımı ve beslenmesi Sağlık Bilimleri Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Deney süresince Avrupa Konseyi'nin ve yerel etik kurulun belirlediği deney hayvanları kullanım standartlarına uyulmuştur.

Çalışmanın histopatolojik değerlendirmeleri ve histolopatolojik incelemeler öncesi laboratuvar hazırlıkları ise Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Tıp Fakültesi Histoloji Ana Bilim Dalı bünyesinde gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmamız temel olarak kompozit adezivlerin polietilen tüplere yerleştirilip polimerizasyonunun sağlanması, hazırlanan materyallerin deney hayvanlarına cerrahi olarak implantasyonu ile hayvan deneyi süreci ve histopatolojik hazırlık ve inceleme aşamalarından oluşmaktadır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Deney akış süreci

3.1. HAYVAN DENEYİ ÖNCESİ HAZIRLIKLAR

3.1.1. Deneyde Kullanılacak Rat Sayısının Belirlenmesi

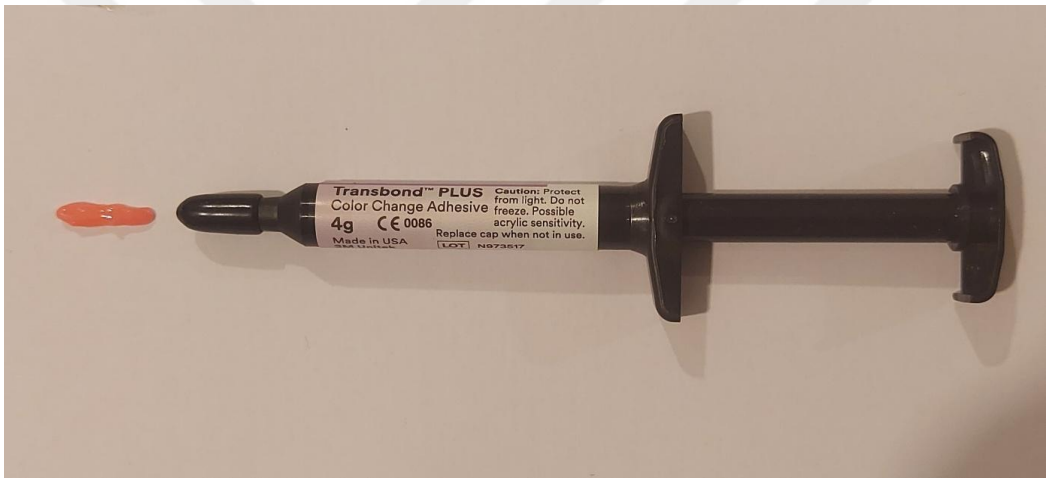
Deneyde kullanılacak ratların sayısı, literatürdeki benzer metoda sahip araştırmalar (14,96-99) ve G*Power programı (Software sürüm 3.1.9.2) kullanılarak yapılan güç analiziyle belirlenmiştir. Gruplar deneyde kullanılacak ratların sakrifikasyon sürelerine göre belirlenerek buna göre her grupta 7 rat olacak şekilde toplam 21 ratın çalışmaya dahil edilmesine karar verilmiştir.

3.1.2. Deney Malzemeleri ve Tüplerin Hazırlanışı

Çalışmamızda ışıkla polimerize (Resim 3.1), renk değiştiren ışıkla polimerize (Resim 3.2), primersiz kullanılan ışıkla polimerize (Resim 3.3), Bis-GMA–TEGDMA–HEMA içermeyen ışıkla polimerize (Resim 3.4) ve kimyasal polimerize (Resim 3.5) olan farklı ortodontik adeziv kompozitlerin biyouyumlulukları *in vivo* olarak rat subkutan dokuda karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.



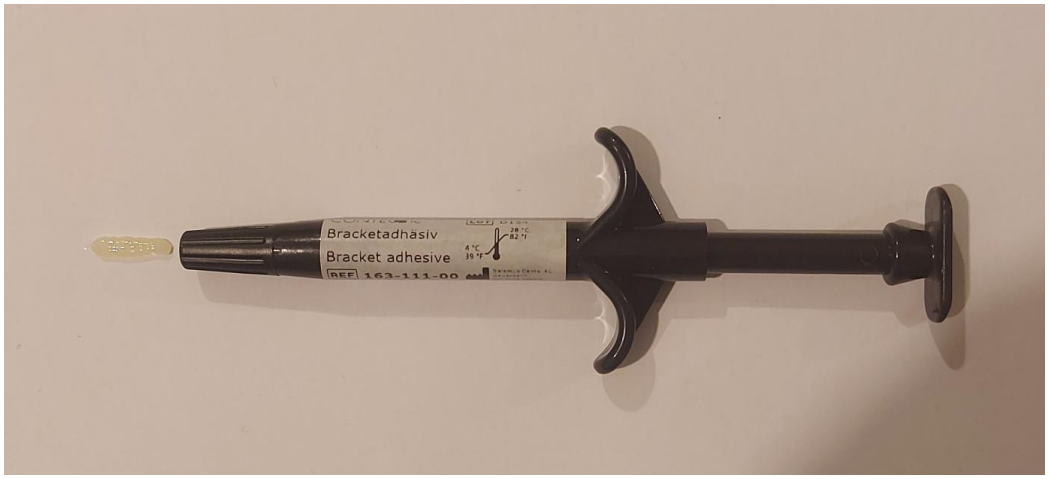
Resim 3.1: Transbond™ XT (3M Unitek, ABD)



Resim 3.2: Transbond™ Plus Color Change (3M Unitek, ABD)



Resim 3.3: Ortho Connect™ (GC Orthodontics, Almanya)



Resim 3.4: Contec lc (Dentaurum, Almanya)



Resim 3.5: Rely A Bond (Reliance Orthodontic Product, ABD)

Çalışmada kullanılan ortodontik adeziv kompozitler ve ürün içerikleri Tablo 3.1'de gösterilmektedir.

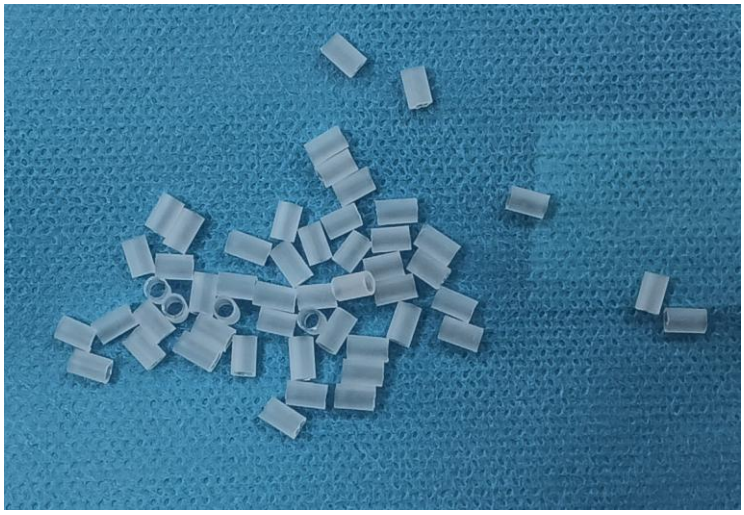
Tablo 3.1: Kullanılan ortodontik adeziv kompozitler ve içerikleri (38,100-105)

Ortodontik Kompozit Adeziv	**Ürün Adı**	**Üretici Firma**	**Kullanılan Ürünün İçeriği**
Işıkla Polimerize Ortodontik Kompozit Adeziv	Transbond™ XT	3M™ Unitek™	silanla işlenmiş kuvars Bis-GMA BPA dimetakrilat silanla işlenmiş silika difeniliyodonyum heksaflorofosfat trifenilantimon
Renk Değiştiren Işıkla Polimerize Ortodontik Adeziv Kompozit	Transbond™ Plus Color Change	3M™ Unitek™	silanla işlenmiş cam silanla işlenmiş kuvars 1,2,3-Propanetrikarboksilik asit, 2-hidroksi-, 2-izosiyanatoetil metakrilat ile reaksiyon ürünleri Polietilen Glikol Dimetakrilat (PEGDMA) Bis-GMA silanla işlenmiş silika difeniliyodonyum heksaflorofosfat
Primersiz Kullanılan Işıkla Polimerize Ortodontik Adeziv Kompozit	Ortho Connect™	GC Orthodontics	4,4'-izopropilidendifenol, etoksillenmiş ve 2-metilprop-2-enoik asidin esterifikasyon ürünleri UDMA metakriloiloksidesil dihidrojen fosfat 6-tert-bütil-2,4-ksilenol difenil (2,4,6-trimetilbenzoil) fosfin oksit

Tablo 3.1 (devam)

BİSGMA– TEGDMA– HEMA İçermeyen Işıkla Polimerize Ortodontik Adeziv Kompozit	Contec lc	Dentaurum	baryum cam silan Bis-EMA füme silika katalizörler inhibitörler katkı maddeleri
Kimyasal Polimerize Ortodontik Adeziv Kompozit	Rely A Bond	Reliance Orthodontic Products	kaynaşmış silika Bis-GMA dibenzoil peroksit asetik asit TEGDMA

Çalışmamızda implante ediecek deney tüplerinin hazırlanması steril cerrahi örtüler ve steril aletler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Steril polietilen tüpler daha önce otoklavda sterile edilmiş cetvel ve kumpasla ölçülüp 15 numaralı bistüri (Medisin, Çin) ve makasla 5 mmlik uzunluklara ayrılmıştır. Böylece kompozit adezivlerin yerleştirileceği her biri 5 mm uzunluk, 3.33 mm çapa sahip eş büyüklükteki tüpler hazırlanmıştır (Resim 3.6).



Resim 3.6: Hazırlanan boş polietilen tüpler

Işıkla polimerize olan kompozit adezivler (Transbond™ XT, Transbond™ Plus Color Change, Ortho Connect™, Contec lc) eş büyüklükteki steril polietilen tüpler içerisine enjekte edilerek yerleştirilmiştir. Üretici firmaların önerdiği kullanım talimatına uygun olarak her bir tüp, LED ışın cihazıyla (3M ESPE Elipar™ S10, 3M, ABD) 20 saniye ışınlanarak ışıkla polimerize olan adeziv kompozitlerin polimerizasyonu sağlanmıştır (Resim 3.7). Kimyasal polimerize adeziv (Rely A Bond) primeri ile birlikte steril el aletleri kullanılarak tüpler içersine yerleştirilip kondanse edilmiştir (Resim 3.8).



Resim 3.7: Işıkla polimerize olan ortodontik adeziv kompozitlerin LED ışınıyla polimerizasyonu



Resim 3.8: Kimyasal polimerize ortodontik adeziv kompozitin polietilen tüp içine yerleştirilmesi

Ortodontik adeziv kompozitler tüpler içine yerleştirilirken tüplerin içinde boşluk kalmamasına, kompozitlerin tüp içinde kondanse olmasına dikkat edilmiştir. Test edilen her kompozit grubu tüpe yerleştirildikten sonra, kullanılan steril eldivenler değiştirilmiştir. Eş büyüklükteki steril polietilen tüpler içine doldurulan farklı kompozit adezivlerin polimerizasyonları sonrasında tüpler, subkutan doku implantasyonu için hazır hale gelmiştir (Resim 3.9).



Resim 3.9: İmplantasyona hazır tüp örneği

3.2. HAYVAN DENEYİ

Çalışmamız toplam 21 adet Sprague-Dawley ırkı 250-300 g ağırlığında 17-20 haftalık dişi ratlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanları Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda 12 saatlik gece - 12 saatlik gündüz döngüsünde, 21±3°C ortam sıcaklığında ve %65-70 nem koşullarında havalandırılmış ortamda tutulmuştur. Ratlar, standart pelet yemle beslenmiş, besin ve su erişimi serbest bırakılmıştır.

Ratlar sakrifikasyon zamanlarına göre her grupta 7'şer rat olacak şekilde randomize olarak üç gruba ayrılmıştır. Sakrifikasyon zamanları 7. gün, 14. gün, 28. gün olarak belirlenmiştir. Sakrifikasyon zamanlarına göre gruplanan hayvanlar, eş büyüklükteki üç ayrı kafese yerleştirilmiştir (Resim 3.10). Çalışma başlamadan önce, deney hayvanlarının araştırmacıya alışmaları ve hayvanlarda meydana gelebilecek stresi azaltmak için, ratlar üç gün boyunca her gün ziyaret edilmiştir.



Resim 3.10: Sakrifikasyon zamanlarına göre gruplanan ratlar

Cerrahi işlem öncesinde deney hayvanlarının anestezisi 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Xylazinbio %2, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) ve 90 mg/kg ketamin (Vetaketam, Vet-Agro, Polonya) karışımının intraperitonal enjeksiyonu ile sağlanmıştır. Anestezi derinliği, ratların ayak parmaklarının sıkılmasına karşı verdikleri yanıtlarla kontrol edilmiştir.

Anestezi uygulanan ratların operasyon bölgesi (sırtları), tıraş makinesi ile traş edilmiş (Resim 3.11), ciltleri antiseptik solüsyonla temizlenmiştir.

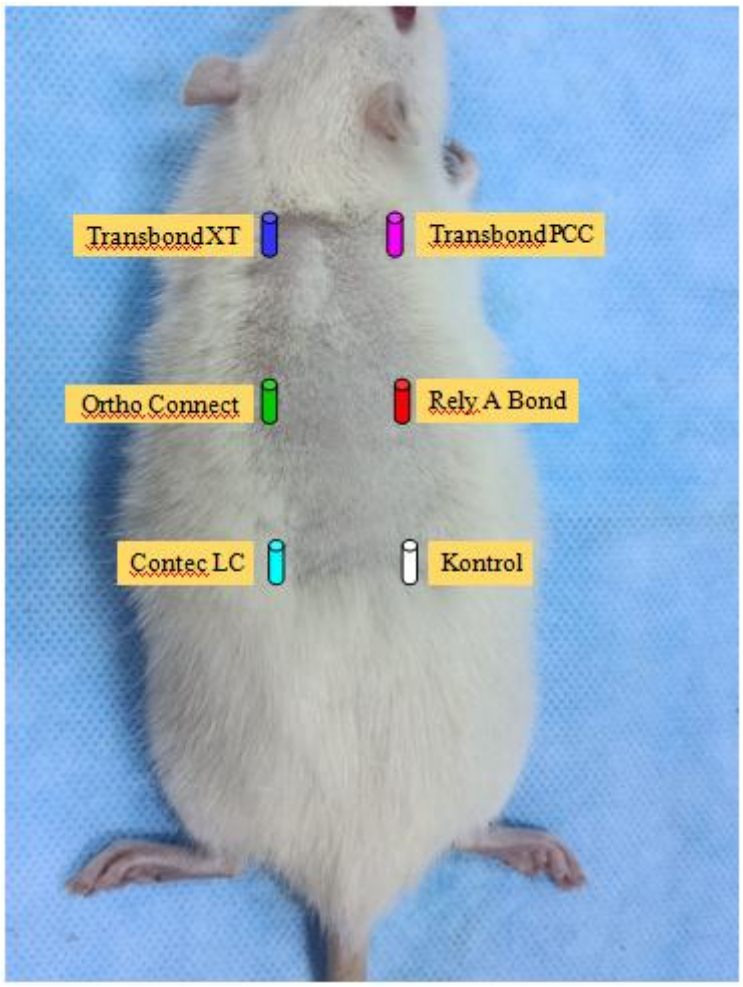


Resim 3.11: Ratların cerrahi operasyon öncesi traş edilmesi

Malzemelerin yerleşiminin her ratta aynı düzende, aynı şekilde olması için her bir rattaki kesi yerleri ve yerleştirilen malzemeler Tablo 3.2'de ve Resim 3.12'de sunulan şekilde gruplandırılmıştır. Aseptik şartlarda, her ratın dorsal bölgesinde sagital orta hatta göre simetrik olacak şekilde, 15 numaralı steril cerrahi bistüri (Medisin, Çin) ile 6 adet insizyon oluşturulmuştur (2 anterior, 2 median, 2 posterior). İmplante edilen maddelerin etkileşimini en aza indirebilmek için insizyonlar arasında 2 cm olmasına dikkat edilmiştir. İnsize edilen alanlar künt uçlu cerrahi makasla diseke edilerek subkutan dokuda cepler oluşturulmuştur. Polietilen tüpler içine yerleştirilmiş olan test materyalleri ve boş polietilen tüp her bir rattın dorsal bölgesine, subkutan diseksiyon yapılarak hazırlanmış altı farklı alana yerleştirilmiştir (Resim 3.13).

Tablo 3.2: Yerleştirilen malzeme grupları ve rat üzerinde yerleştirildiği bölgeler

Yerleşim Bölgesi	**Grup**	**Yerleştirilen Malzeme**
Sol anterior dorsal bölge	**Transbond XT Grubu**	Işıkla polimerize adeziv kompozit, Transbond™ XT
Sağ anterior dorsal bölge	**Transbond PCC Grubu**	Renk değiştiren ışıkla polimerize adeziv kompozit, Transbond™ Plus Color Change
Sol median dorsal bölge	**Ortho Connect Grubu**	Primersiz kullanılan ışıkla polimerize adeziv kompozit, Ortho Connect
Sağ median dorsal bölge	**Rely A Bond Grubu**	Kimyasal polimerize adeziv kompozit, Rely A Bond
Sol posterior dorsal bölge	**Contec LC Grubu**	Bis-GMA–TEGDMA–HEMA içermeyen ışıkla polimerize adeziv kompozit, Contec lc
Sağ posterior dorsal bölge	**Kontrol Grubu**	Boş polietilen tüp



Resim 3.12: Hazırlanan tüplerin yerleşim düzeni



Resim 3.13: Hazırlanan tüplerin subkutan implantasyonu

Yerleştirilen tüplerin hazırlanan cepler içerisine yerleşimi ve stabilitesi kontrol edilmiştir. Daha sonra kesi yerleri 3.0 ipek dikiş ipliği (Eurosuture, Çin) ile sütüre edilmiştir (Resim 3.14). Sütüre edilen yerlere polivinilpirolidon-iyot (Baticonol, Dermosept, Türkiye) uygulanarak antisepsi sağlanmıştır. Kanibalizmi engellemek amacıyla polivinilpirolidon-iyot solüsyonu traşlanan bölgenin tamamına sürülmüştür. Operasyon süresince travmatik çalışılmamasına dikkat edilmiştir. Operasyon sonrası ratlar, daha önceden hazırlanan kafeslerine yerleştirilerek anesteziden uyanma ve derlenme süreçleri takip edilmiştir (Resim 3.15). Ratlar deney süresince düzenli olarak ziyaret edilmiştir.



Resim 3.14: Tüplerin implantasyonu sonrası sütüre edilen kesi yerleri



Resim 3.15: Cerrahi operasyon sonrası ratlar

İmplantasyon sonrası 7. gün, 14. gün ve 28. günde sakrifikasyon zamanı olan gruba ait 7 rat ketamin ve ksilazin hidroklorür karışımının intraperitonal enjeksiyonu ile anestezi altına alınmıştır. Materyallerin yerleştirildiği ratların dorsal kısımları traş makinesi ile traş edilmiştir. Anestezi altındaki ratlara servikal dislokasyon uygulanarak ratlar sakrifiye edilmiştir.

Sakrifiye edilen ratların sırt bölgesi palpe edilerek subkutan alana implante edilen tüplerin yeri saptanmıştır. Yerleştirilmiş tüpler, çevre dokular ile (Resim 3.16) birlikte eksize edilmiştir. Makas ve traş bıçağı ile eksize edilen dokudaki uzamış tüyler uzaklaştırılmıştır.



Resim 3.16: Rat dorsumuna implante olmuş tüpler

Eksize edilen doku örnekleri (Resim 3.17) , incelenen her bir ortodontik adeziv kompozit için ayrı olarak hazırlanan % 10'luk formalin içine konulmuştur.

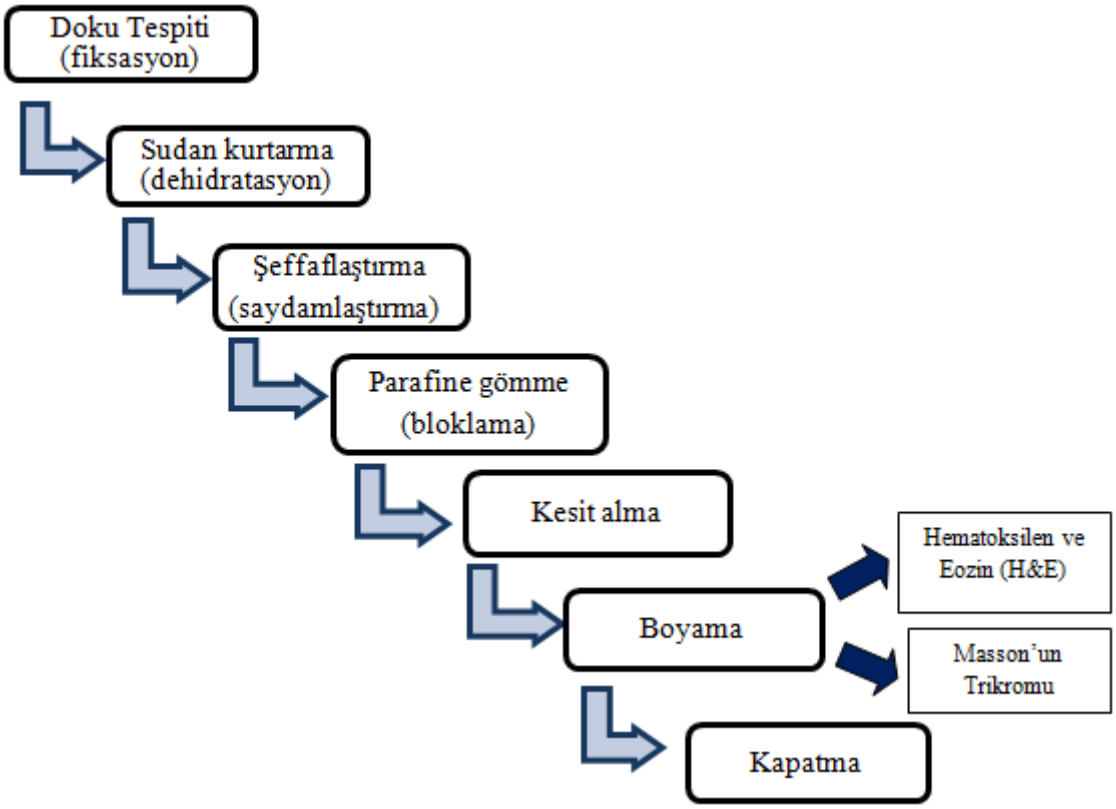


Resim 3.17: Eksize edilen doku örneği

3.3. HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMA

3.3.1. Histopatolojik İnceleme Öncesi Hazırlıklar

Dokuların biyopsisi sonrası, dokuların histopatolojik olarak değerlendirilmesi için sırasıyla doku tespiti (fiksasyon), sudan kurtarma (dehidratasyon), şeffaflaştırma (saydamlaştırma), parafine gömme (bloklama), kesit alma, boyama (Hematoksilen ve Eozin (H&E) ve Masson'un Trikromu) ve kapatma işlemleri uygulanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: Histopatolojik inceleme öncesi yapılan hazırlıklar

3.3.1.1. Doku takibi: Histolojik değerlendirme için alınan doku örnekleri %10'luk nötral tamponlu formalin içerisinde 24 saat bekletilerek fikse edilmiştir (Resim 3.18).



Resim 3.18: Fikse edilen doku örnekleri

Fiksasyon aşamasını takiben dokular önce doku takip kasetleri içerisinde 8 saat boyunca akarsu altında yıkanmıştır. Dehidratasyon aşamasında sırasıyla %70, %80, %96 ve %100 oranında yükselen etil alkol serilerinden geçirilen dokular, daha sonra ksilende saydamlaştırma işlemine tabi tutulmuştur (Tablo 3.3).

Tablo 3.3: Doku takibi protokolü

Akarsu yıkama	8 saat
%70 Alkol	1 gece
%80 Alkol	1 saat
%96 Alkol	1 saat
%100 Alkol	1 saat
%100 Alkol	1 saat
Ksilen-I	30 dk.
Ksilen-II	30 dk.
57°C Parafin	1 saat
Oda ısısı parafin	1 gece
57°C Parafin	1 saat
57°C Parafin	1 saat

Takip aşaması tamamlanan dokular, gömme küvetlerinde parafin ile bloklanmıştır (Resim 3.19). Histolojik boyamalar için hazırlanan parafin bloklardan mikrotom cihazı (Microm Hm325, Thermo Scientific, Almanya) ile lam üzerine 4-5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır (Resim 3.20). Görüntüler ışık mikroskobunda (Zeiss Primo Star, Birleşik Krallık) incelenerek fotoğraflanmıştır.



Resim 3.19: Hazırlanan parafin bloklar



Resim 3.20: Parafin bloklardan kesitler alınması

3.3.1.2. Hematoksilen ve eozin boyama: Kesitler ksilende deparafinize edildikten sonra sırasıyla %100, %96, %80 ve %70 oranında azalan alkol serilerinden geçirilerek rehidratasyon işlemi yapılmıştır. Daha sonra kesitler distile su ile yıkanmıştır. Genel doku morfolojisinin incelenmesi için H&E boyaması yapılmıştır. Bunun için kesitler hematoksilen ile 3 dakika boyandıktan sonra musluk suyu altında mordanlama yapılmıştır. Daha sonra kesitler 5 dk. eozin boyasında bekletilmiş ve distile su ile yıkanmıştır. Boyama işlemi tamamlanan kesitler dehidrate edilmek üzere sırasıyla %70, %80, %96 ve %100 oranında yükselen alkol serilerinde bekletilmiştir. Kesitler, ksilende saydamlaştırıldıktan sonra entellan kullanılarak lamelle kapatılmıştır (Tablo 3.4).

Tablo 3.4: Hemotoksilen ve eozin boyama protokolü

Ksilen-I	15 dk.	Parafin uzaklaştırma
Ksilen-II	15 dk.	Parafin uzaklaştırma
%96 Alkol	5 dk.	Hidrasyon
%80 Alkol	5 dk.	Hidrasyon
%70 Alkol	5 dk.	Hidrasyon
Hematoksilen	3 dk.	Boyama (mor)
Çeşme suyu altında yıkama	1 dk.	Yıkama
Eozin	5 dk.	Boyama (pembe)
Distile su	10 dip	Yıkama
%70 Alkol	10 dip	Dehidrasyon
%80 Alkol	10 dip	Dehidrasyon
%96 Alkol	10 dip	Dehidrasyon
%100 Alkol	1 dk.	Dehidrasyon
Ksilen	15 dk.	Şeffaflaştırma

3.3.1.3. Masson'un trikromu boyama: Kesitler ksilende deparafinize edildikten sonra azalan alkol serilerinden geçirilerek boyamaya hazır hale getirilmiştir. Masson'un Trikromu için kit (HDF Tıbbi Ürünler Masson'un Trikromu kit, Lot no: 20042016.291) kullanılmıştır. Bu boya kitinin içeriği:

A. Weigert'in demirli hematoksileni solüsyonu

B. Ferrik klorid solüsyonu

C. A ve B solüsyonlarından eşit miktarda karıştırılarak hazırlanır

D. Biebrich Scarlet-Asit Fuksin solüsyonu

E. Fosfomolibdik-Fosfotungstik asit solüsyonu

F. Anilin Mavisi solüsyonu

A ve B solüsyonlarından eşit miktarda karıştırılarak Weigert'in demirli hemotoksileni (C solüsyonu) hazırlanmıştır (Resim 3.21). Kesitlere hazırlanan C solüsyonu damlatılıp 10 dk. bekletildikten sonra 3 dk. boyunca çeşme suyu altında yıkanmıştır. Yıkanan kesitlere D (Biebrich Scarlet-Asit Fuksin) solüsyonu damlatılarak 10 dk. beklenildikten sonra distile su ile yıkanması sağlanmıştır. Daha sonra E (Fosfomolibdik- Fosfotungstik) solüsyonu damlatılan kesitler 15 dk. bekledikten sonra yıkanmadan üzerindeki reaktif dökülerek F (Anilin Mavisi) solüsyonu damlatılmış ve boyanması için 10 dk. beklenilmiştir. Boyama işlemi **(**Resim 3.22) tamamlanan kesitler iki kez 2'şer dk. süre ile %95'lik etil alkolden geçirilmiştir. Kesitler, ksilende saydamlaştırıldıktan sonra entellan kullanılarak lamelle kapatılmıştır (Tablo 3.5).



Resim 3.21: Masson'un Trikromu c solüsyonunun hazırlanması



Resim 3.22: Masson'un Trikromu boyama

Tablo 3.5: Masson'un Trikromu boyama protokolü

Ksilen-I	15 dk.
Ksilen-II	15 dk.
%96 Alkol	5 dk.
%80 Alkol	5 dk.
%70 Alkol	5 dk.
C solüsyonu	10 dk.
Çeşme suyu	3 dk.
D solüsyonu	10 dk.
Distile su	-
E solüsyonu	15 dk.
F solüsyonu	10 dk.
Distile su	-
%95 Alkol	2 dk.
%95 Alkol	2 dk.
Ksilen	15 dk.

3.3.2. Histopatolojik İnceleme ve Değerlendirme

Doku fiksasyonu sonrasında H&E ve Masson'un Trikromu ile boyanan 4-5 μmlik doku kesitleri, ışık mikroskopu altında 200 büyütme kullanılarak incelenerek fotoğrafları alınmıştır. Tüplerin implante olduğu dokuya temas eden açık uçlarındaki doku reaksiyonları incelenip değerlendirilmiştir. Subkutan doku implantasyonu kullanılarak yapılan literatürdeki çalışma örneklerindeki (106-108) ölçütler ve skorlar kullanılarak kapsül formasyonu, enflamasyon ve ödem yarı kantitatif analiz ile değerlendirilmiştir.

Kapsül varlığı durumu Grade 0: kapsül yok, Grade 1: kapsül var olarak değerlendirilmiştir. Enflamasyon Grade 0: enflamasyon yok ya da birkaç enflamatuvar hücre varlığı, Grade 1: 25'ten daha az enflamatuvar hücre varlığı ile hafif enflamasyon durumu, Grade 2: 25-125 enflamatuvar hücrenin yer aldığı orta enflamasyon varlığı, Grade 3: 125'ten fazla enflamatuvar hücrenin yer aldığı şiddetli (yoğun) enflamasyon durumu olarak değerlendirilmiştir. Ödem varlığı ise, Grade 0: yok, Grade 1: az, Grade 2: orta, Grade 3: çok olarak değerlendirilmiştir.

3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Bu çalışmada istatistiksel analizler NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 Statistical Software (Utah, USA) paket programı ile yapılmıştır.

Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (sıklık ve yüzde dağılımları) yanı sıra nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare testi kullanılmıştır. Sonuçlar, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. GÖZLEMSEL BULGULAR

Çalışmamızda her sakrifikasyon grubunda 7'şer hayvan olmak üzere toplam 21 adet rat kullanılmıştır. 28 gün sonra sakrifiye edilecek gruptan 1 adet rat, post operatif birinci günde kafesinde ölü bulunmuştur. Veteriner hekim, ratın kanibalizm nedeniyle ex olmuş olabileceğini ifade etmiştir. Çalışmamız 20 adet rat ile tamamlanmıştır.

İmplantasyondan 14 gün sonra sakrifiye edilen gruptan bir ratta, Kontrol grubuna ait bir adet boş tüp subkutan dokuda ve daha derin dokularda bulunamamış, tüpe ait herhangi bir ize rastlanmamış, tüp kaybolmuştur.

Sakrifikasyon sonrasında eksize edilen dokuların subkutan yüzeyinde sakrifikasyon zamanına ve malzemeye göre değişkenlik gösteren hiperemi, peteşi gibi alanların varlığı makroskopik olarak gözlenmiştir.

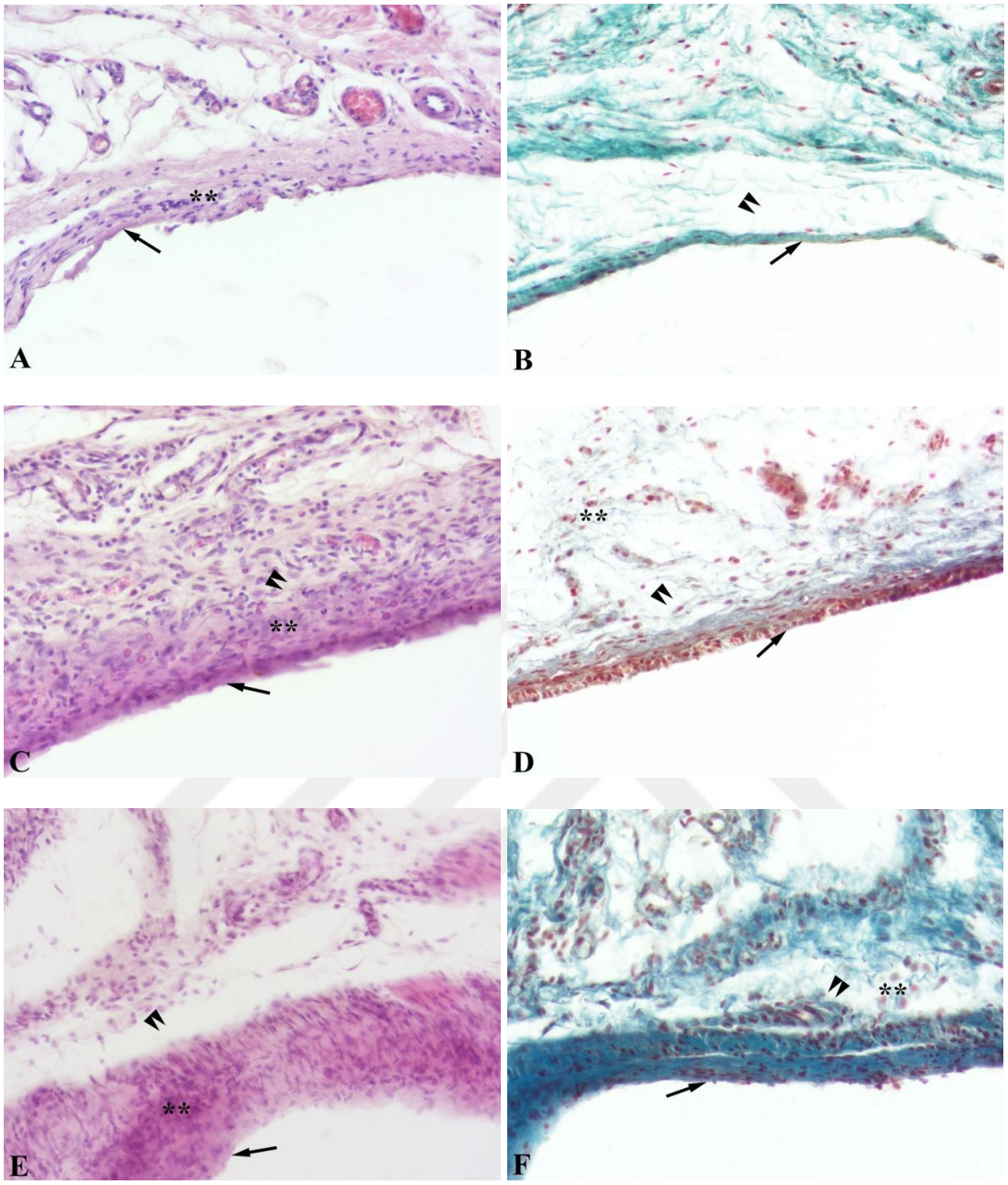
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

4.2.1. Transbond XT Grubu Bulguları

İmplantasyondan sonra 7. günde Transbond XT grubunda enflamasyon ve ödem yoğun görülmüştür. Yoğun ödem ve enflamasyona rağmen kapsül oluşumu gerçekleşmiştir (Resim 4.1 A ve B). 7 günlük ışıkla sertleşen diğer gruplara kıyasla ödemin en yoğun görüldüğü grup bu olmuştur.

İmplantasyondan sonra 14. günde Transbond XT grubunda enflamasyon ve ödemin hala yoğun olduğu tespit edilmiştir (Resim 4.1 C ve D).

İmplantasyondan sonra 28. günde Transbond XT grubunda ise enflamasyon ve ödem azalmasına rağmen halen yoğun olarak görülmüştür (Resim 4.1 E ve F).



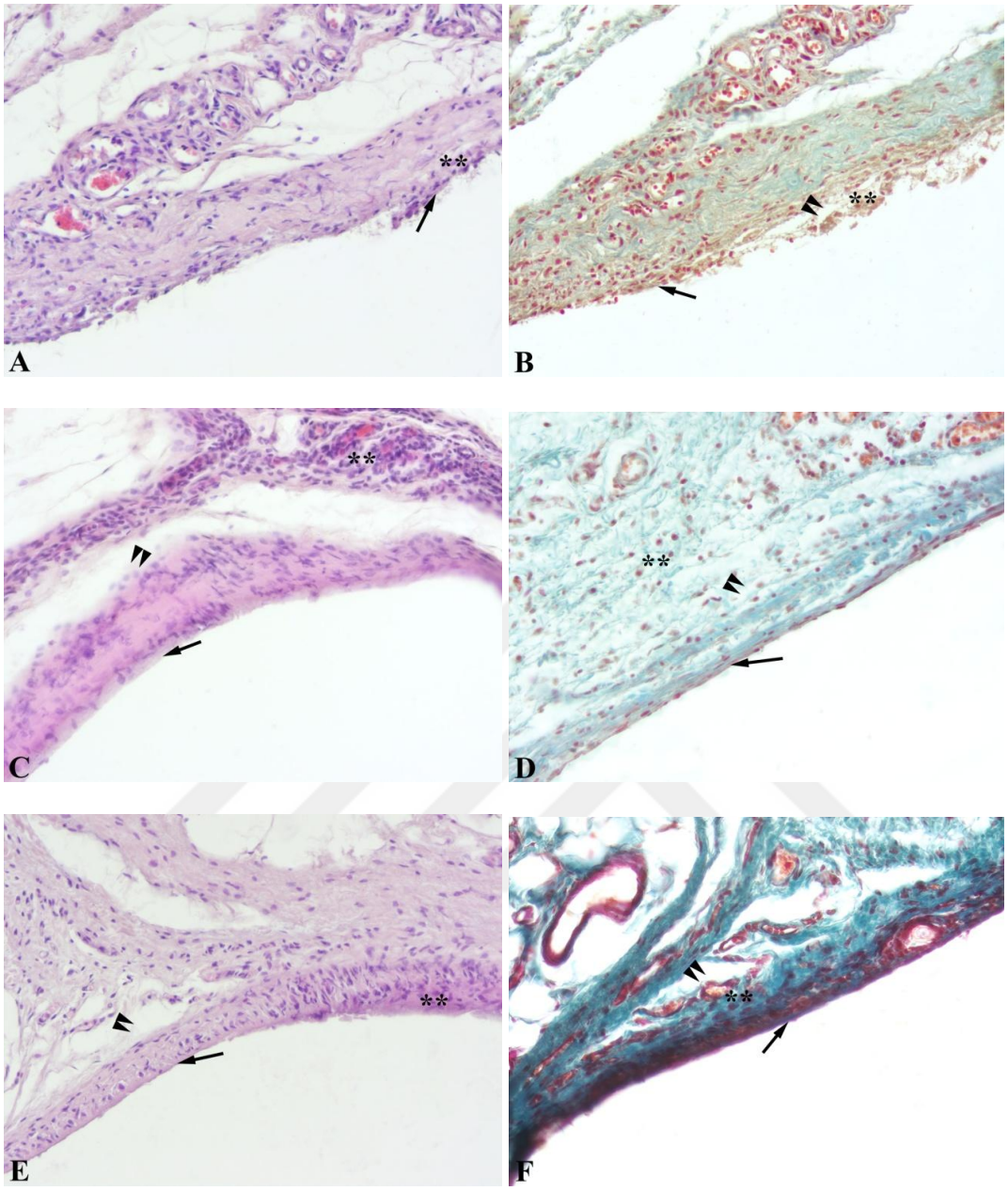
Resim 4.1: Transbond XT grubu mikroskop görünümleri

A,B Transbond XT grubu - 7. gün: Devamlı ve düzgün sınırlara sahip kapsül oluşumu, yoğun ödem ve enflamasyon görülmekte. C, D Transbond XT grubu - 14. gün: Devamlı ve düzgün sınırlara sahip kapsül oluşumu, ödem ve yoğunluğu devam eden enflamasyon görülmekte. E,F Transbond XT grubu - 28. gün: Devamlı ve düzgün sınırlara sahip kapsül oluşumu, azalmış ödem ve yoğunluğu azalmış enflamasyon görülmekte. (ok: kapsül, çift ok başı: ödem, çift yıldız: enflamasyon alanı) X200 mikroskop büyütmesi, H&E (A,C,E) ve Masson'un trikrom (B,D,F) boyaması.

4.2.2. Transbond PCC Grubu Bulguları

İmplantasyondan sonra 7. günde Transbond PCC grubunda enflamasyon ve ödemin bazı deneklerde az, bazı deneklerde orta ve bazılarında yoğun olduğu enflamasyon ve ödem açısından heterojenlik görülmüştür. Tüm deneklerde kapsül formasyonu mevcuttur ve enflamasyon ve ödem grup ortalaması olarak orta dereceli kabul edilebilir (Resim 4.2 A ve B).

İmplantasyondan sonra 14. günde (Resim 4.2 C ve D) ve 28. günde (Resim 4.2 E ve F) Transbond PCC'de enflamasyon ve ödemin tüm denekler için azaldığı görülmüştür.



Resim 4.2: Transbond PCC grubu mikroskop görünümleri

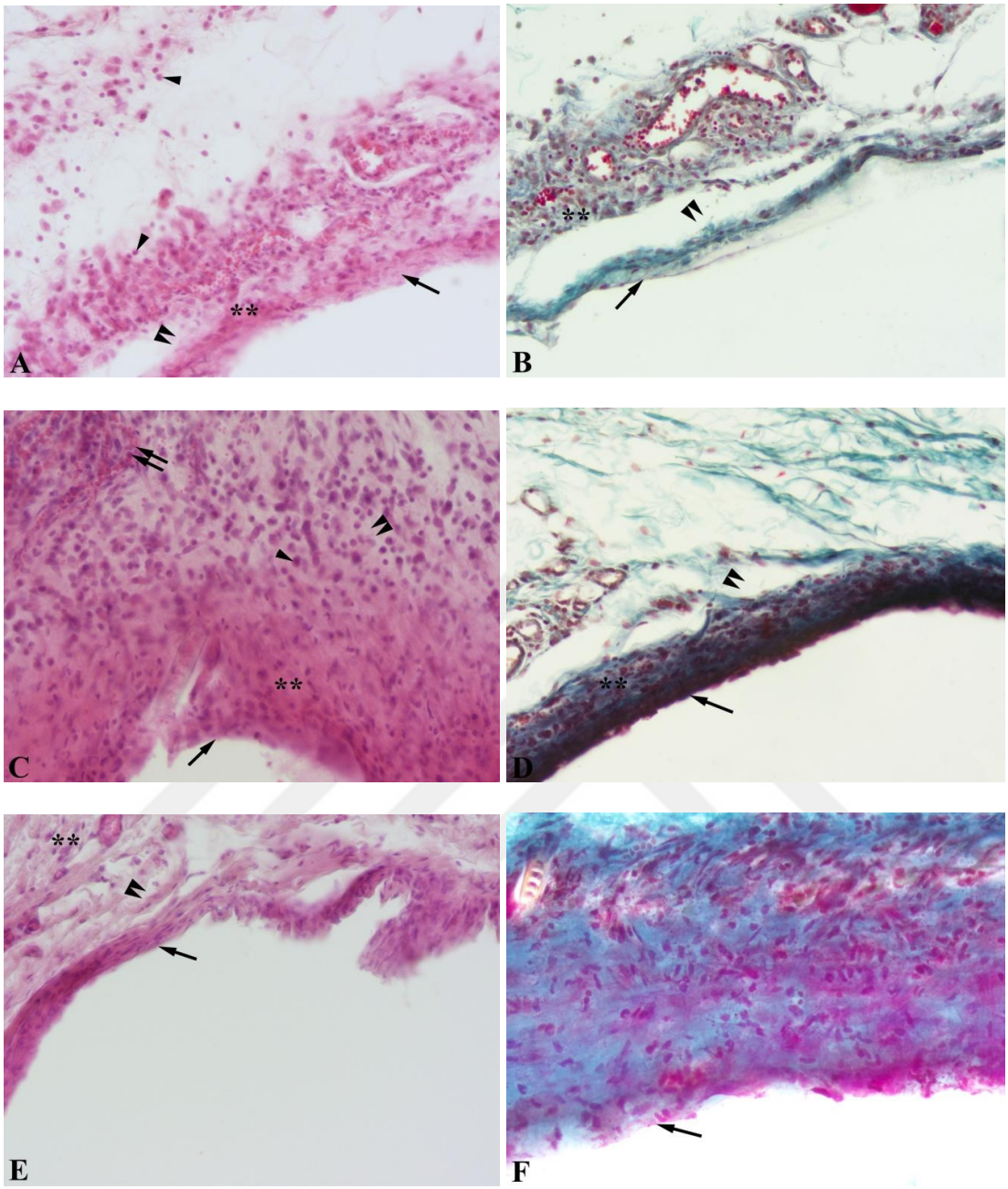
A,B Transbond PCC grubu - 7. gün: Kapsül oluşumu, orta derecede ödem ve enflamasyon görülmekte. C, D Transbond PCC grubu - 14. gün: Devamlı ve düzgün kapsül oluşumu, ödem ve enflamasyon görülmekte. E,F Transbond PCC grubu - 28. gün: Devamlı ve düzgün kapsül oluşumu, az miktarda ödem ve enflamasyon görülmekte. (ok: kapsül, çift ok başı: ödem, çift yıldız: enflamasyon alanı) X200 mikroskop büyütmesi, H&E (A,C,E) ve Masson'un trikrom (B,D,F) boyaması.

4.2.3. Ortho Connect Grubu Bulguları

İmplantasyondan sonra 7. günde Ortho Connect grubunda ödem ve enflamasyonun genel olarak çok yoğun olduğu ve kapsül formasyonunun yetersiz olduğu görülmüştür (Resim 4.3 A ve B). Bu gruptaki enflamasyon ve ödemin Kontrol ve Contec LC gruplarının 7. gününe göre daha yoğun olduğu da tespit edilmiştir. Ayrıca ödem ve enflamasyonun yoğun olduğu deneklerde bağ dokuda kanama odaklarına da rastlanmıştır.

İmplantasyondan sonra 14. günde Ortho Connect grubunda (Resim 4.3 C ve D) ödem 7. güne göre azalmakla birlikte enflamasyonun yine de yoğun seviyede olduğu tespit edilmiştir. Artmış enflamasyon ve ödeme rağmen kapsül formasyonunun gerçekleştiği görülmüş ancak yer yer kanama odaklarının varlığını sürdürdüğü tespit edilmiştir.

İmplantasyondan sonra 28. günde Ortho Connect grubunda (Resim 4.3 E ve F) 7. ve 14. günlere göre enflamasyon ve ödemin azaldığı, kapsül formasyonunun olduğu görülmüştür.



Resim 4.3: Ortho Connect grubu mikroskop görünümleri

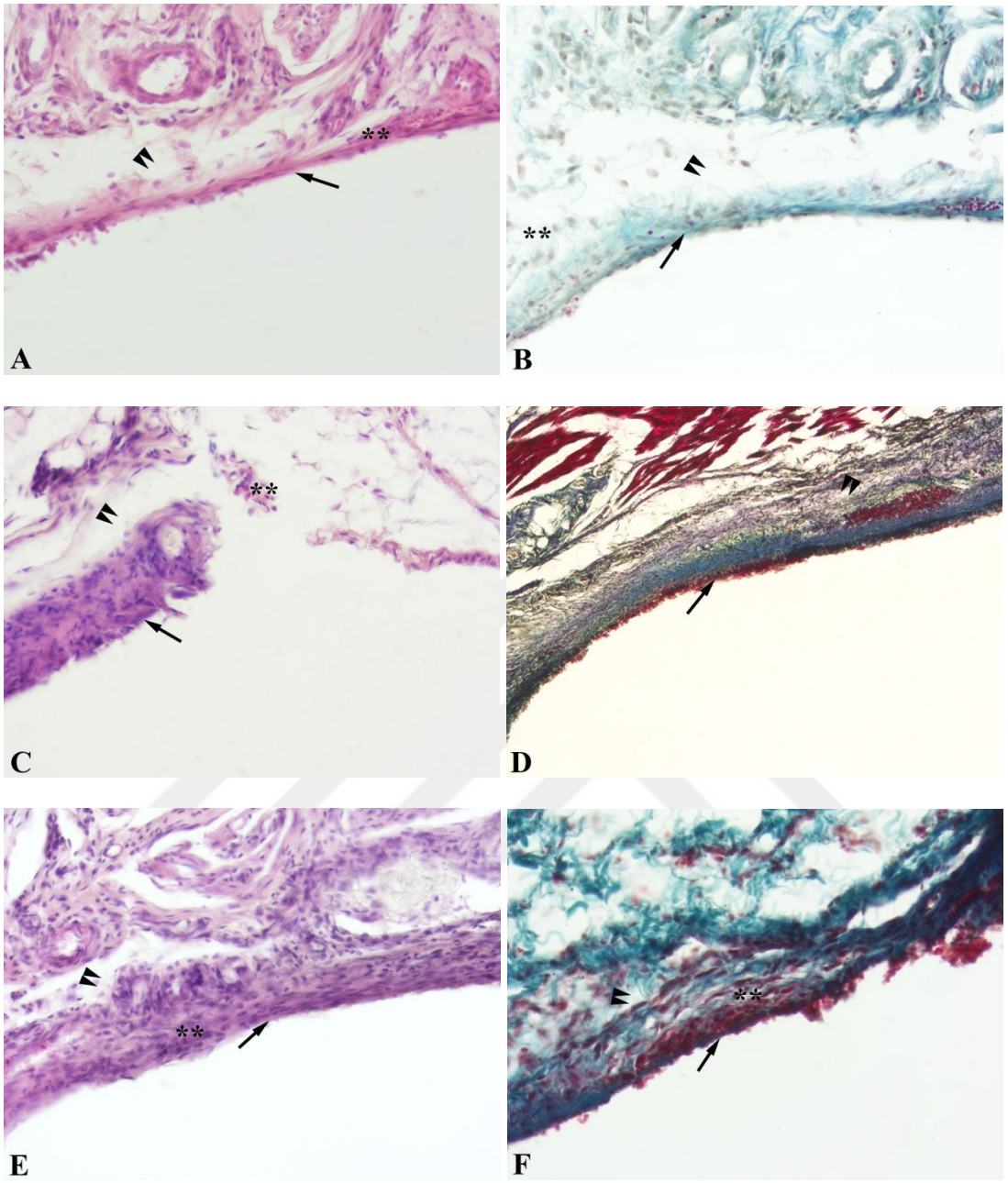
A,B Ortho Connect grubu - 7. gün: Yer yer parçalanmış, yetersiz kapsül oluşumu; yoğun ödem ve enflamasyon ile birlikte yaygın enflamatuvar hücreler görülmekte. C, D Ortho Connect grubu - 14. gün: İnce bir kapsül oluşumu, ödem ve yoğun enflamasyon ile birlikte yaygın enflamatuvar hücreler görülmekte. E,F Ortho Connect grubu - 28. gün: Çoğu yerde devamlılık gösteren kapsül oluşumu, azalmış ödem ve enflamasyon görülmekte. (ok: kapsül, çift ok başı: ödem, çift yıldız: enflamasyon alanı, ok başı: enflamatuvar hücreler, çift ok: kanama odakları) X200 mikroskop büyütmesi, H&E (A,C,E) ve Masson'un trikrom (B,D,F) boyaması.

4.2.4. Rely A Bond Grubu Bulguları

İmplantasyondan sonra 7. günde Rely A Bond grubunda enflamasyon ve ödemin orta ve yoğun olduğu saptanmıştır. İnce bir kapsül formasyonu olduğu görülmüştür. Enflamatuvar hücrelerin ve ödemin kapsüle uzak mesafelere yayıldığı görülmüştür (Resim 4.4 A ve B).

İmplantasyondan sonra 14. günde Rely A Bond grubunda genel olarak doku bütünlüğünün kaybedilmesine bağlı olarak preparatların parçalandığı görülmüştür. Yer yer dokudan ayrılmış halde fibröz kapsül parçaları ile dağınık ve yaygın enflamatuvar hücrelere rastlanmıştır (Resim 4.4 C ve D).

İmplantasyondan sonra 28. günde Rely A Bond grubunda (Resim 4.4 E ve F) 7 günlük Rely A Bond grubuna göre enflamasyon ve ödem azalmış olsa dahi doku bütünlüğünün kaybedildiği görülmüştür. Kapsül çevresindeki kollajen lif yapısında değişiklikler ve ağır bağ doku hasarı olarak görülmektedir. Bu hasar kriterleri, kapsülün olmasını beklediğimiz alanın çevresindeki kollajenlerin büzülerek demetlerin aralarının açılması, subkutan yağ dokusunda aşırı büyüme gibi morfolojik değişiklikler, yoğun enflamasyon ve yüksek oranda ödemdir.



Resim 4.4: Rely A Bond grubu mikroskop görünümleri

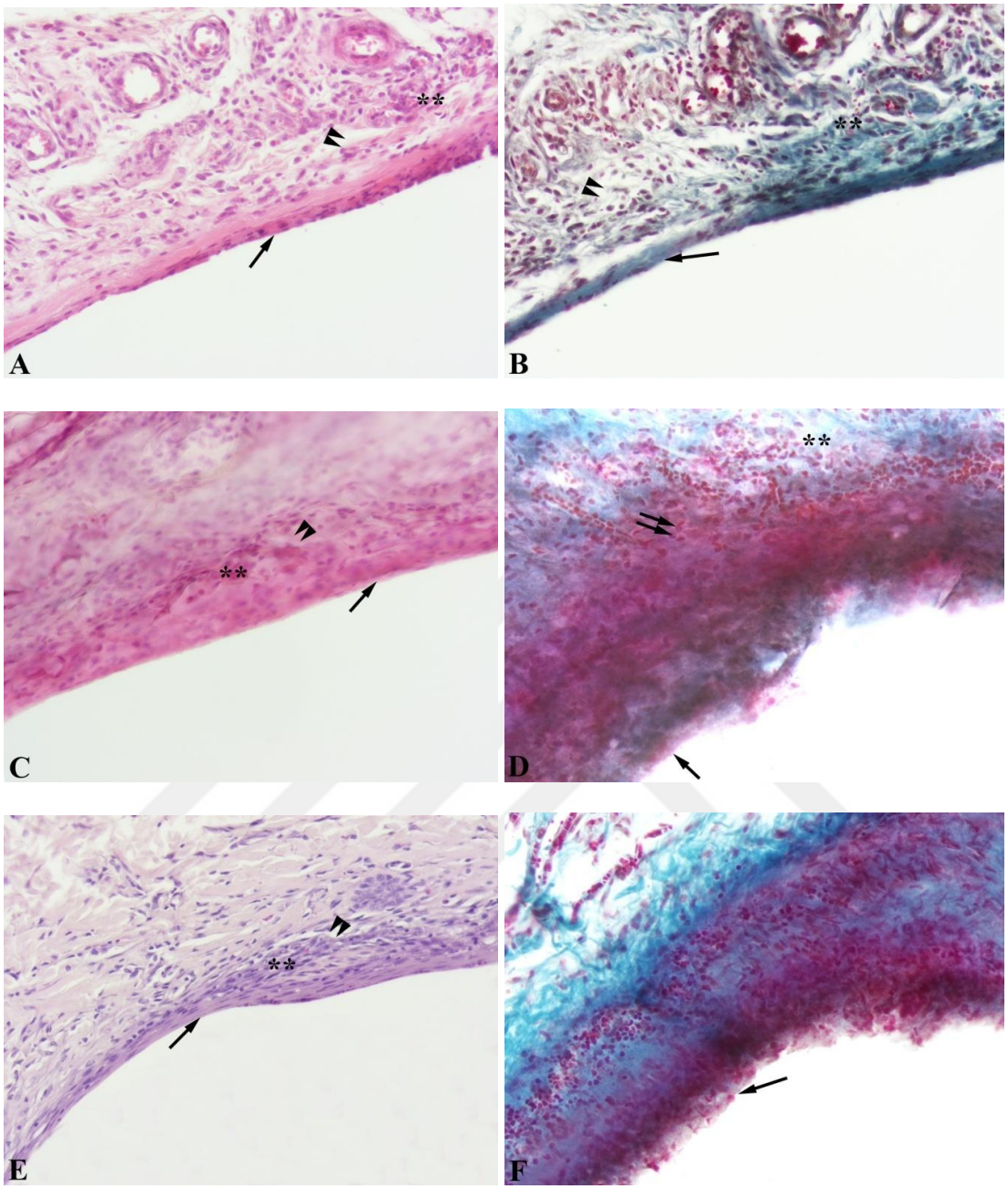
A,B Rely A Bond grubu - 7. gün: Düzgün sınırlara sahip, ince bir kapsül oluşumu, yoğun ödem ve enflamasyon görülmekte. C, D Rely A Bond grubu - 14. gün: Kapsül oluşumu yetersiz, yer yer devamlılık göstermekte; yoğun ödem ve enflamasyon görülmekte. E,F Rely A Bond grubu - 28. gün: Yeterli kapsül oluşumu ile orta derecede ödem ve enflamasyon görülmekte. (ok: kapsül, çift ok başı: ödem, çift yıldız: enflamasyon alanı) X200 mikroskop büyütmesi, H&E (A,C,E) ve Masson'un trikrom (B,D,F) boyaması.

4.2.5. Contec LC Grubu Bulguları

İmplantasyondan sonra 7. günde Contec LC grubunda (Resim 4.5 A ve B) Kontrol grubuna oranla daha yoğun ödem ve enflamasyon görülmüş, fibröz kapsülün daha ince ve çevresinin hala yoğun hücreli olduğu, tamamen fibröz bir hal almadığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu grupta kapsül yakınlarındaki bağ dokuda, damar dışına çıkmış eritrositler olduğu görülmüştür.

İmplantasyondan sonra 14. günde Contec LC grubunda (Resim 4.5 C ve D) yoğun ödem ve enflamasyonun azalarak orta derecede seyretmesine paralel olarak kapsül formasyonu düzgün ve kesintisiz hale gelmiş ve 7 günlük grupta görülen kanama odaklarına rastlanmamıştır.

İmplantasyondan sonra 28. günde Contec LC grubunda (Resim 4.5 E ve F) ise enflamasyon ve ödemin tamamen ortadan kalkmış ya da çok az olduğu görülmüş, kapsül formasyonunun düzgün ve kesintisiz olduğu tespit edilmiştir.



Resim 4.5: Contec LC grubu mikroskop görünümleri

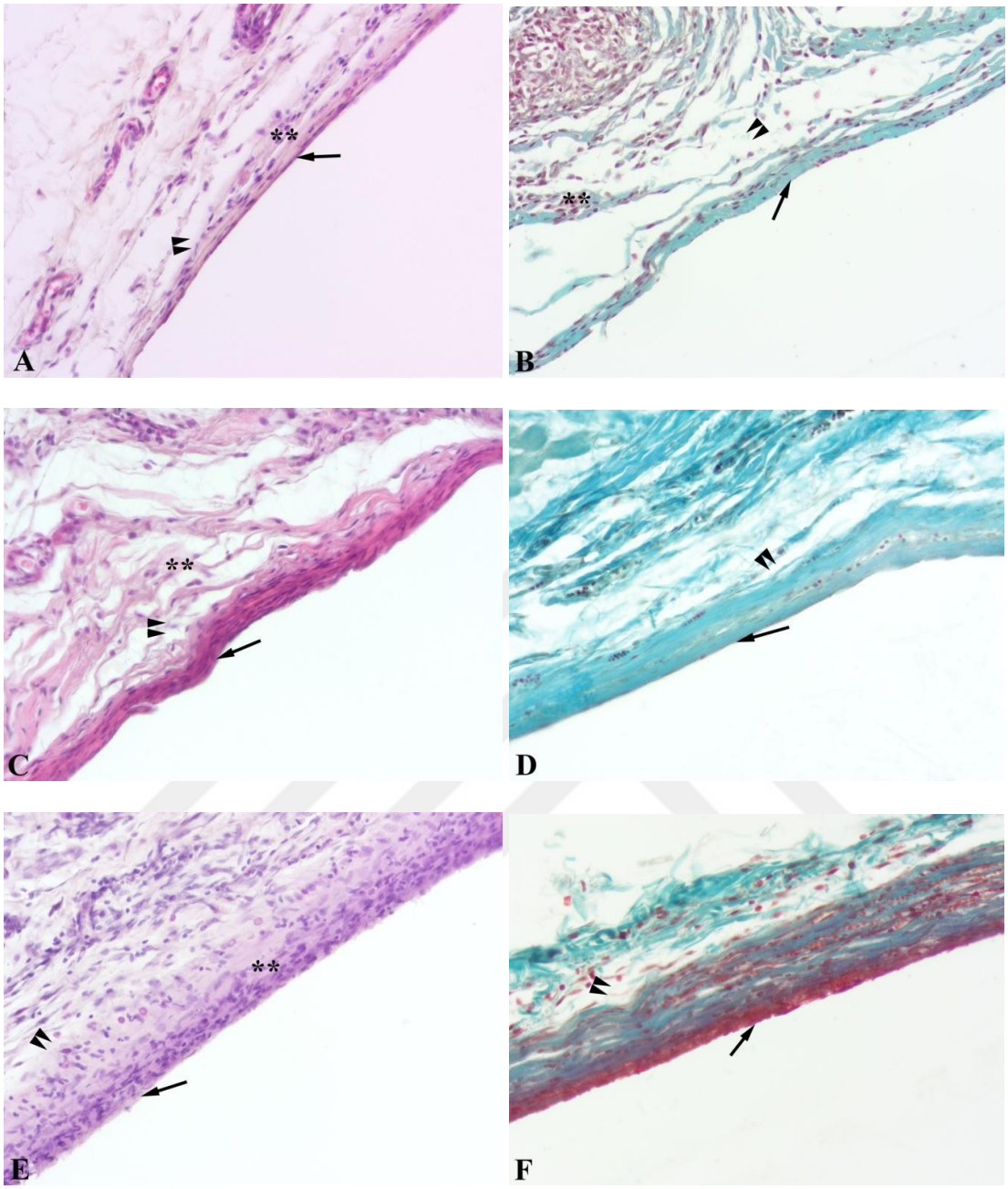
A,B Contec LC grubu - 7. gün: Devamlı ve düzgün sınırlara sahip kapsül oluşumu, orta derecede ödem ve enflamasyon görülmekte. C, D Contec LC grubu - 14. gün: Devamlı ve düzgün sınırlara sahip kapsül oluşumu, orta derecede ödem ve yoğun enflamasyon ile birlikte yer yer kanama alanları görülmekte. E,F Contec LC grubu - 28. gün: Devamlı ve düzgün sınırlara sahip kapsül oluşumu, azalmış ödem ve enflamasyon görülmekte. (ok: kapsül, çift ok başı: ödem, çift yıldız: enflamasyon alanı, çift ok: kanama odakları) X200 mikroskop büyütmesi, H&E (A,C,E) ve Masson'un trikrom (B,D,F) boyaması.

4.2.6. Kontrol Grubu Bulguları

İmplantasyondan sonra 7. günde deney grupları kendi içerisinde kıyaslandığında Kontrol gruplarında genel olarak kapsül formasyonunun olduğu ancak orta derecede enflamasyon görülen deneklerde enflamasyonun olduğu deneklere oranla kapsülün kesintili ve daha az fibröz özellik gösterdiği görülmüştür (Resim 4.6 A ve B).

İmplantasyondan sonra 14. günde Kontrol grubunda (Resim 4.6 C ve D) 7 günlük ile benzer olarak enflamatuvar hücrelerin yoğun olduğu alanlarda kapsülün kesintiye uğradığı ancak 7 günlük gruba kıyasla enflamasyonun hafiften orta dereceye doğru arttığı ve kapsül formasyonunun 7 günlük gruba göre daha yoğun olduğu görülmüştür.

İmplantasyondan sonra 28. günde Kontrol grubunda enflamasyon ve ödem yok denecek kadar azalmış ve fibröz kapsül formasyonunun en düzgün ve kesintisiz görüldüğü Kontrol grubu 28 günlük grup olmuştur (Resim 4.6 E ve F).



Resim 4.6: Kontrol grubu mikroskop görünümleri

A,B Kontrol grubu - 7. gün: Devamlı ve düzgün sınırlara sahip kapsül oluşumu ve az miktarda ödem ve enflamasyon görülmekte. C, D Kontrol grubu - 14. gün: Devamlı ve düzgün sınırlara sahip kapsül oluşumu ve az miktarda ödem ve enflamasyon görülmekte. E,F Kontrol grubu - 28. gün: Devamlı ve düzgün sınırlara sahip kapsül oluşumu ve az miktarda ödem ve enflamasyon görülmekte. (ok: kapsül, çift ok başı: ödem, çift yıldız: enflamasyon alanı) X200 mikroskop büyütmesi, H&E (A,C,E) ve Masson'un trikrom (B,D,F) boyaması.

4.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

4.3.1. Kapsül Formasyonunun Değerlendirilmesi

Tüm grupların 7. gün kapsül formasyonu dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,001). Ortho Connect grubunda kapsül formasyonunda Grade 0 varlığı diğer gruplardan yüksek bulunmuştur.

Tüm gruplarının 14. gün kapsül formasyonu dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,001). Rely A Bond grubunda kapsül formasyonunda Grade 0 varlığı diğer gruplardan yüksek bulunmuştur.

Tüm gruplarının 28. gün kapsül formasyonu Grade 1 görülmüştür.

Transbond XT, Transbond PCC, Contec LC, Kontrol gruplarında 7. gün, 14. gün ve 28. gün kapsül formasyonu dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Bu gruplarda kapsül formasyonu dağılımları Grade 1 bulunmuştur.

Ortho Connect grubunda 7. günde kapsül formasyonu Grade 0 dağılımları 14. ve 28. günlerdeki kapsül formasyonu dağılımlarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,01).

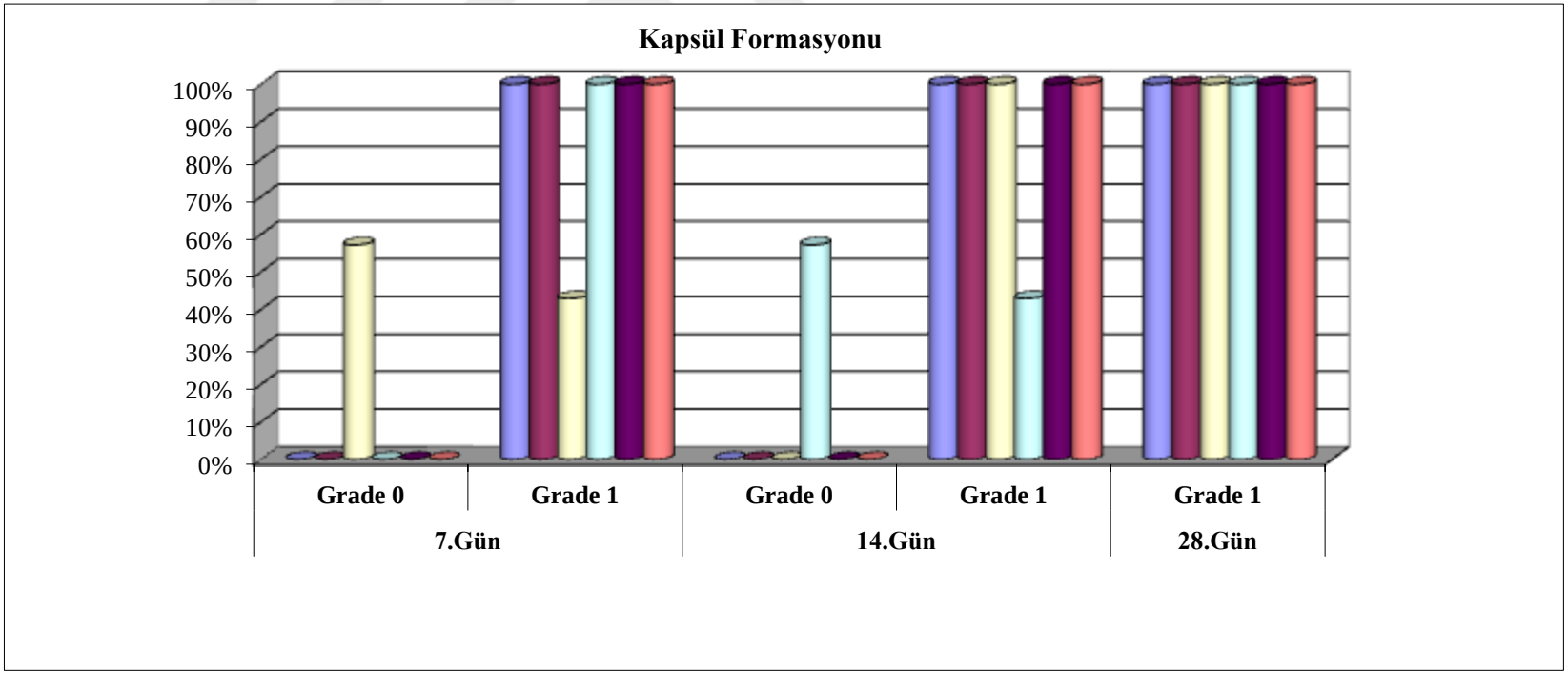
Rely A Bond grubunda 14. günde kapsül formasyonu Grade 0 dağılımları 7. gün ve 28. günlerdeki kapsül formasyonu dağılımlarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,001).

Kapsül formasyonunun gruplara ve günlere göre dağılımı ve istatistiksel analizi Tablo 4.1 ve Şekil 4.1'de gösterilmektedir.

Tablo 4.1: Kapsül formasyonunun gruplara ve günlere göre dağılımı ve istatistiksel analizi

Kapsül Formasyonu		Transbond XT		Transbond PCC		Ortho Connect		Rely A Bond		Contec LC		Kontrol		p
7. gün	**Grade 0**	0	0,00%	0	0,00%	4	57,14%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	
	Grade 1	7	100,00%	7	100,00%	3	42,86%	7	100,00%	7	100,00%	7	100,00%	**0,001**
14. gün	**Grade 0**	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	4	57,14%	0	0,00%	0	0,00%	
	Grade 1	7	100,00%	7	100,00%	7	100,00%	3	42,86%	7	100,00%	6	100,00%	**0,001**
28. gün	**Grade 1**	6	100,00%	6	100,00%	6	100,00%	6	100,00%	6	100,00%	6	100,00%	-
	p		-		-		**0,01**		**0,001**		-		-	

+Ki Kare testi



Şekil 4.1: Kapsül formasyonunun günler ve gruplar arası dağılımının grafiksel gösterimi

4.3.2. Enflamasyonun Değerlendirilmesi

Tüm gruplarının 7. gün enflamasyon dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,002). 7. günde Ortho Connect grubunda Grade 0 varlığı diğer gruplardan yüksek, Kontrol grubunda Grade 3 varlığı diğer gruplardan düşük bulunmuştur.

Tüm grupların 14. gün enflamasyon dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,0001). Transbond PCC ve Kontrol gruplarının Grade 3 varlığı diğer gruplardan düşük bulunmuştur.

Tüm grupların 28. gün enflamasyon dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,009). Transbond XT, Ortho Connect ve Rely A Bond gruplarının Grade 2 ve Grade 3 varlığı diğer gruplardan yüksek bulunmuştur. Contec LC ve Kontrol gruplarında Grade 0 varlığının ise diğer gruplardan yüksek olduğu görülmüştür.

Transbond XT (p=0,373), Transbond PCC (p=0,168), Ortho Connect (p=0,058) ve Rely A Bond (p=0,104) gruplarının 7. gün, 14. gün ve 28. gün enflamasyon dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Contec LC grubunda 7. gün, 14. gün ve 28. gün enflamasyon dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,001). 7.gün enflamasyon Grade 3 varlığı 14.gün ve 28.gün dağılımlarından, 14. günde de enflamasyon Grade 2 varlığı 7. gün ve 28. gün dağılımlarından yüksek bulunmuştur.

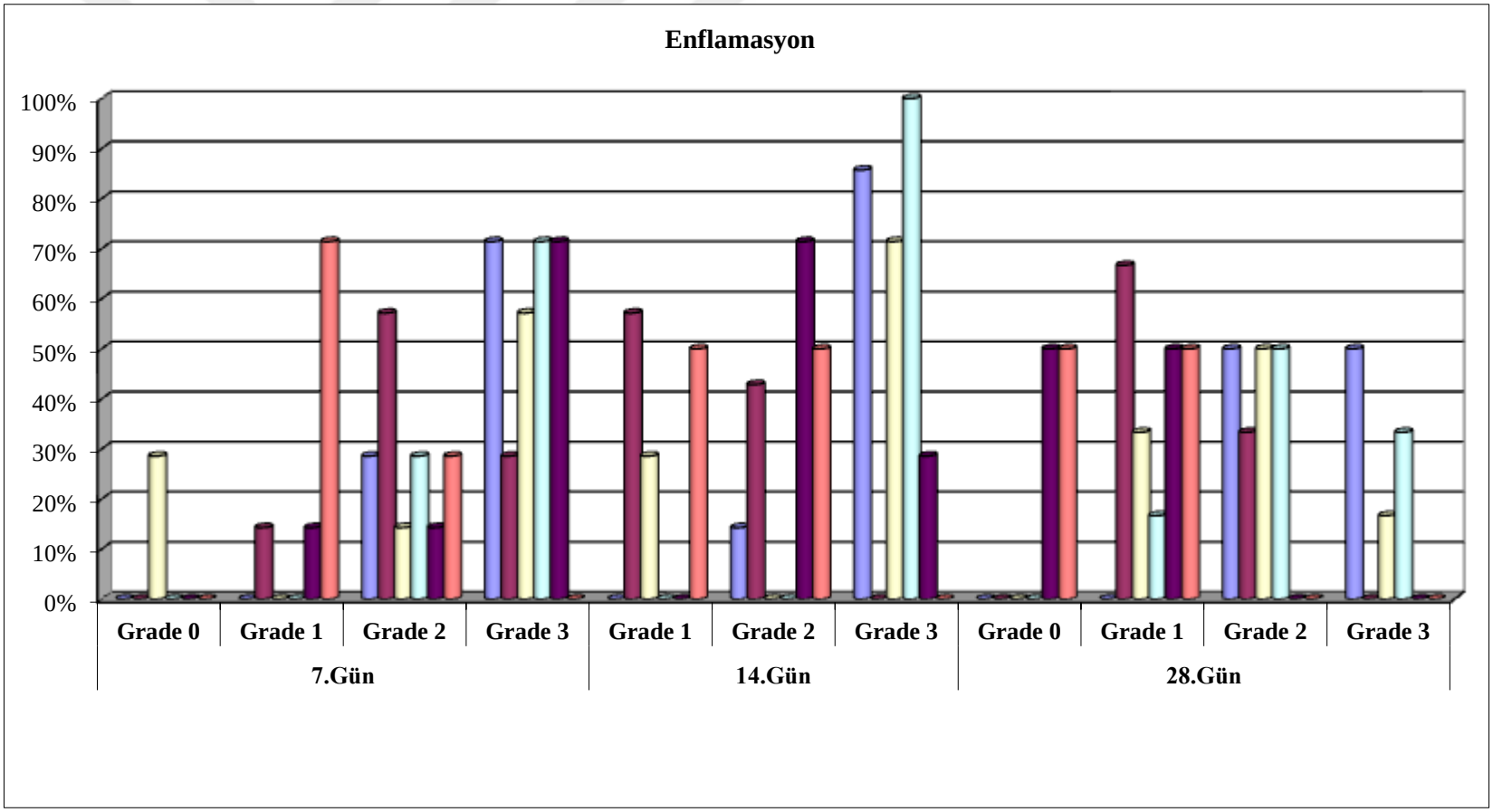
Kontrol grubunda 7. gün, 14. gün ve 28. gün enflamasyon dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,045). 28. gün enflamasyon Grade 0 varlığı 7. gün ve 14. gün dağılımlarından yüksek bulunmuştur.

Enflamasyon şiddetinin gruplara ve günlere göre dağılımı ve istatistiksel analizi Tablo 4.2 ve Şekil 4.2'de sunulmuştur.

Tablo 4.2: Enflamasyon şiddetinin gruplara ve günlere göre dağılımı ve istatistiksel analizi

Enflamasyon		Transbond XT		Transbond PCC		Ortho Connect		Rely A Bond		Contec LC		Kontrol		p
	Grade 0	0	0,00%	0	0,00%	2	28,57%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	
	Grade 1	0	0,00%	1	14,29%	0	0,00%	0	0,00%	1	14,29%	5	71,43%	
	Grade 2	2	28,57%	4	57,14%	1	14,29%	2	28,57%	1	14,29%	2	28,57%	
7. gün	**Grade 3**	5	71,43%	2	28,57%	4	57,14%	5	71,43%	5	71,43%	0	0,00%	**0,002**
	Grade 1	0	0,00%	4	57,14%	2	28,57%	0	0,00%	0	0,00%	3	50,00%	
	Grade 2	1	14,29%	3	42,86%	0	0,00%	0	0,00%	5	71,43%	3	50,00%	
14. gün	**Grade 3**	6	85,71%	0	0,00%	5	71,43%	7	100,00%	2	28,57%	0	0,00%	**0,0001**
	Grade 0	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	3	50,00%	3	50,00%	
	Grade 1	0	0,00%	4	66,67%	2	33,33%	1	16,67%	3	50,00%	3	50,00%	
	Grade 2	3	50,00%	2	33,33%	3	50,00%	3	50,00%	0	0,00%	0	0,00%	
28. gün	**Grade 3**	3	50,00%	0	0,00%	1	16,67%	2	33,33%	0	0,00%	0	0,00%	**0,009**
	p	0,373		0,168		0,058		0,104		**0,001**		**0,045**		

+Ki Kare testi



Şekil 4.2: Enflamasyon şiddetinin günler ve gruplar arası dağılımının grafiksel gösterimi

4.3.3. Ödemin Değerlendirilmesi

Tüm grupların 7. gün ödem dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,0001). Kontrol grubunda Grade 3 varlığı diğer gruplardan düşük bulunmuştur.

Tüm grupların 14. gün ödem dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,001). Transbond XT, Ortho Connect, Contec LC ve Rely A Bond gruplarının Grade 2 ve Grade 3 varlığı Transbond PCC ve Kontrol gruplarından yüksek bulunmuştur.

Tüm grupların 28. gün ödem dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,003). Transbond XT, Ortho Connect ve Rely A Bond gruplarının Grade 2 ve Grade 3 varlığı Transbond PCC, Contec LC ve Kontrol gruplarından yüksek bulunmuştur.

Transbond XT (p=0,373), Transbond PCC (p=0,505), Ortho Connect (p=0,382), Rely A Bond (p=0,104) gruplarının 7. gün, 14. gün ve 28. gün ödem dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Contec LC grubunda 7. gün, 14. gün ve 28. gün ödem dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,04). 7. gün ödem Grade 3 varlığı 14. gün ve 28. gün dağılımlarından yüksek bulunmuştur.

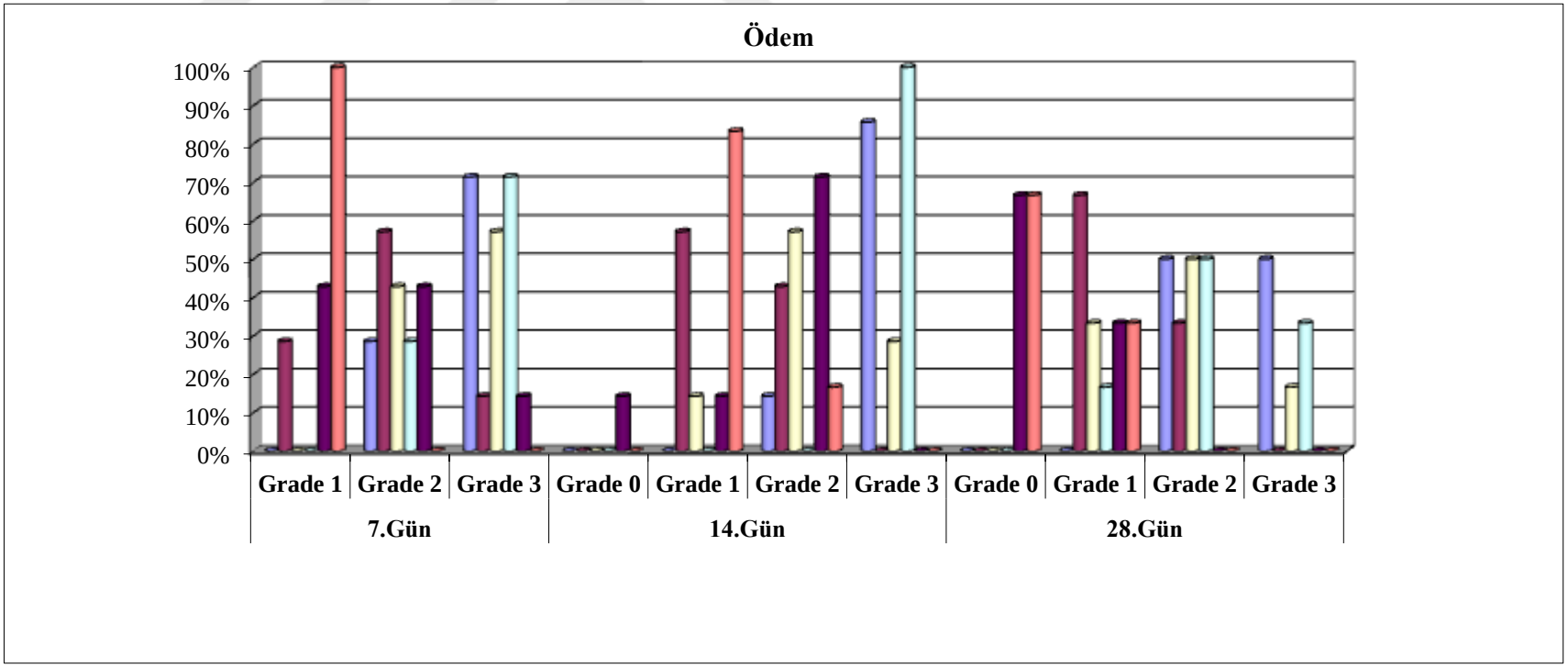
Kontrol grubunda 7. gün, 14. gün ve 28. gün ödem dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,012). 28. gün ödem Grade 0 varlığı 7. gün ve 14. gün dağılımlarından yüksek bulunmuştur.

Ödem varlığının sakrifikasyon zamanlarına ve gruplara göre dağılımını ve istatistiksel analizi Tablo 4.3 ve Şekil 4.3'de sunulmuştur.

Tablo 4.3: Ödem varlığının gruplara ve günlere göre dağılımı ve istatistiksel analizi

Ödem		Transbond XT		Transbond PCC		Ortho Connect		Rely A Bond		Contec LC		Kontrol		p
7. gün	**Grade 1**	0	0,00%	2	28,57%	0	0,00%	0	0,00%	3	42,86%	7	100,00%	
	Grade 2	2	28,57%	4	57,14%	3	42,86%	2	28,57%	3	42,86%	0	0,00%	
	Grade 3	5	71,43%	1	14,29%	4	57,14%	5	71,43%	1	14,29%	0	0,00%	**0,0001**
14. gün	**Grade 0**	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	1	14,29%	0	0,00%	
	Grade 1	0	0,00%	4	57,14%	1	14,29%	0	0,00%	1	14,29%	5	83,33%	
	Grade 2	1	14,29%	3	42,86%	4	57,14%	0	0,00%	5	71,43%	1	16,67%	
	Grade 3	6	85,71%	0	0,00%	2	28,57%	7	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	**0,0001**
28. gün	**Grade 0**	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	4	66,67%	4	66,67%	
	Grade 1	0	0,00%	4	66,67%	2	33,33%	1	16,67%	2	33,33%	2	33,33%	
	Grade 2	3	50,00%	2	33,33%	3	50,00%	3	50,00%	0	0,00%	0	0,00%	
	Grade 3	3	50,00%	0	0,00%	1	16,67%	2	33,33%	0	0,00%	0	0,00%	**0,003**
	p	0,373		0,505		0,382		0,104		**0,04**		**0,012**		

+Ki Kare testi



Şekil 4.3: Ödem varlığının günlere ve gruplara göre dağılımının grafiksel gösterimi

5. TARTIŞMA

Dental materyallerin canlı dokularla uyumluluğu, canlı dokuları tahriş etme ve hasara uğratma potansiyelinin bilinmesi materyallerin hastalar, hekimler ve yardımcı personel için risk oluşturmaması için önemlidir (13,109,110). Ortodontik adeziv kompozitlerden sızan maddelerin biyouyumluluğu ile ilgili endişeler vardır (8,13). Ancak ortodontik adeziv kompozitlerin biyouyumluluğu ile ilgili çalışmaların literatürde fazla bulunmaması materyal güvenilirliği tartışmaya açmaktadır. Literatürdeki biyouyumluluk çalışmaları genellikle in vitro kültür ortamında hazırlanmış olup biyouyumlulukla ilgili hayvan çalışmaları ise çok sınırlı sayıdadır (3,8,11-13,42,73,78,111).

Literatürde hücre ve dokuların dental materyallerin varlığına karşı verdikleri tepkileri değerlendirmek için in vitro testler, hayvan testleri ve kullanım testlerini içeren çeşitli yöntemler sunulmuştur (13,110,112). Bununla birlikte değerlendirme sonuçlarının test edilen malzeme ile birlikte kullanılan test yöntemine de bağlı olduğu bildirilmiştir (13).

Hücre veya doku kültürleri üzerinde in vitro yapılan sitotoksisite ve genotoksisite testleri ile deney hayvanlarında subkutan dokuya veya kemiğe implantasyon yöntemleri biyouyumluluğun değerlendirilmesinde kullanılan yaygın yöntemlerdendir (112-114).

In vitro hücre kültürü yöntemleri, uygulaması hızlı ve kolay, tekrarlanabilir testler olmasına rağmen in vitro durumun in vivo durumlara uygunluğu ve organizmayla ilişkilendirilmesi tartışma konusudur. Bunun nedeni kullanılan maddeye ilk hücresel cevabın bağışıklık sistemi tarafından verildiği canlı organizmasının karmaşık düzenine göre in vitro düzeneklerin aşırı basitleştirilmiş olmasından kaynaklanmaktadır (58,72). Hayvan testlerinde ise fare, sıçan, koyun, domuz, köpek, maymun gibi bir memeli organizması kullanılarak organizma ile materyal arasında birçok karmaşık etkileşimin gerçekleşmesine izin vermesi nedeniyle biyolojik yanıtın in vitro testlerde elde edilenden daha kapsamlı olduğu ifade edilmektedir. Ancak deney hayvanları ile ilgili etik kaygılar da bulunmaktadır (115).

Çalışmamızın amacı, ortodontide kullanılan farklı adeziv kompozitlerin organizma ve çevre dokular üzerindeki etkilerinin ve biyouyumluluklarının ratlarda karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesidir. Çalışmamızda ışıkla polimerize (Transbond XT grubu), renk değiştiren ışıkla polimerize (Transbond PCC grubu), primersiz kullanılan ışıkla polimerize (Ortho Connect grubu), kimyasal polimerize (Rely A Bond grubu) ve Bis-GMA- TEGDMA- HEMA içermeyen ışıkla polimerize (Contect LC grubu) ortodontik adeziv kompozitlerin in vivo olarak rat subkutan dokuda meydana getirdikleri doku reaksiyonları histolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamız, ortodontik tedavide kullanılan farklı içerik ve özellikteki adeziv kompozitler kullanılarak yapılan in vivo bir hayvan çalışması olduğundan ortodontik literatüre önemli bir katkısının olacağını düşünmekteyiz.

Biyouyumluluğun in vivo olarak değerlendirilmesi amacıyla en sık kullanılan yöntem enflamasyona dayanmaktadır (12,116). İmplantasyon testleri, test edilecek materyali vaskülarize dokularla temas ettirerek gerçekleşen farklı reaksiyonlarla, tüm organizmanın savunma reaksiyonu hakkında bilgi verir. Böylece enflamatuvar yanıt ve doku onarımı histolojik olarak tespit edilebilmektedir. Hedef organın metabolik davranışına yakın olan biyolojik sistemin kullanımı hastalara hücre kültürü deneylerinden daha yakındır (12,117).

İmplantasyon testleri için değerlendirilecek materyaller, deney hayvanının deri altına, kas içine veya kemiğine yerleştirilir (117). İlk kez Torneck tarafından uygulanıp sunulan subkutan dokuya implantasyon yöntemi, ilaçlara ve dental malzemelere karşı tepkileri ortaya çıkarmak, biyolojik ve lokal etkileri değerlendirmek, ilaç ve malzemeleri taramak, biyouyumluluğu test etmek için kabul edilen, basit, ucuz ve hızlı bir yöntemdir (112,116,118,119). Subkutan implantasyon testleri uygun deney hayvanı tesisi ve histoloji laboratuvarları varlığında gerçekleştirilmesi ucuz testlerdir (120). Ancak cerrahi operasyonundan kaynaklanan doku reaksiyonu, materyal yerleştirilirken dokunun yırtılması veya hasarlanması, materyal-doku ara yüzü kaybı, materyalinin komşu dokuya kaçabilmesi subkutan doku implantasyonunda meydana gelecek sorunlardan bazılarıdır (121,122).

İmplante edilen materyallere karşı oluşan toksik ve enflamatuar reaksiyonlar, tüm bağ dokularında gözlenen spesifik reaksiyonlardır (112,113,123,124). Ortodontik kompozitler periodonsiyum ve alveolar yapıya yakın yerleştirildiği için

biyouyumlulukları önem taşımaktadır. Ortodontik adezivlerin biyouyumluluğunun sıçanlarda subkutan implantlar aracılığıyla değerlendirilmesi, aynı malzeme ağız içinde uygulandığında diş etinde beklenen doku yanıtı, sıçanlardaki doku yanıtına benzer olduğu için büyük değer taşımaktadır (14).

Subkutan doku implantasyonu kullanılarak yapılan çalışmalarda deney hayvanları olarak sıçanlar, hamsterlar, tavşanlar kullanılmıştır (11,12,116). Diş hekimliği alanında subkutan implantasyon yöntemiyle yapılan çalışmalarda sıklıkla ratlar kullanılmıştır (12,14,98,99,110,112,116). Çalışmamız literatürde subkutan implantasyon tekniği kullanılarak yapılan çalışmalarda kullanılmış olan Sprague Dawley ırkı ratlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir (98,125). Ratların bilimsel sınıflandırmada memeliler sınıfında ve omurgalı hayvanlar olması ancak filogenetik olarak en düşük sınıflamada olması deney hayvanı olarak kullanılma sebeplerin başında gelmektedir. Araştırmak istediğimiz doku reaksiyonlarını simüle etmek için uygun bir fizyolojik model oluşturması, üretiminin ve temininin kolay olması, boyutları ve anatomileri nedeniyle manipulasyon ve müdahalenin kolay olması, küçük alanda barınma kolaylığı ve düşük bakım bütçesinin olması, post operatif enfeksiyonlara karşı dirençli olmaları çalışmamızda ratları tercih etme nedenlerimizdendir. Bunun yanında ratlar, derilerinin esnekliği ve alttaki yapılara güçlü bir şekilde yapışmaması nedeniyle, gevşek derili hayvanlar olarak tanımlanmaktadır ve farelere göre daha geniş bir cilt alanına sahiplerdir (126,127). Çalışmamızda her bir hayvana altı adet tüp yerleştirilmesi planlandığı için tüplerin subkutan alanda doğru bir şekilde implantasyonu ve yerleşmesi, cerrahi operasyon sırasında dokuda yırtılma gerilme gibi komplikasyonlarla karşılaşılmaması için ratların cildinin farelere göre daha uygun olduğu düşünülerek ratlar kullanılmıştır. Ayrıca çalışmamızda incelediğimiz ortodontik kompozitlerin ayrı hayvan grupları şeklinde planlanmaması, aynı deney hayvanına altı farklı materyalin uygulanması ile çalışmanın hayvan etiğine uygun olarak mümkün olan en az sayıda rat kullanılarak ve sakrifiye edilerek gerçekleşmesi sağlanmıştır.

Literatürde subkutan implantasyon testi kullanılarak yapılan çalışmalarda test edilen materyallerin doğrudan deri altı bağ dokusuna implante edildiği çalışmalar (126) olduğu gibi, materyallerin polietilen (12,98,116), teflon (122,128) gibi farklı malzemelerden tüpler içerisine yerleştirilerek implante edildiği çalışmalar da bulunmaktadır. İmplantasyon testlerinde, değerlendirilecek malzeme, toksik olmadığı

kabul edilen, zararsız bir kontrol materyali ile karşılaştırılmalıdır (129). Çalışmamızda polietilen tüpler içerisine yerleştirdiğimiz ortodontik adeziv kompozitler, subkutan dokuya implante edilmiştir. Böylece malzeme ve dokular arasında temas standart hale getirilmiş ve malzemenin sabitlenmesini sağlanmıştır (98,106,125,130). Ayrıca tüp içerisinde test edilen malzemenin parçalanması önlenerek malzemenin çevre dokulara difüzyonu daha kontrollü hale gelmektedir (106,110,119,128). Polietilen tüplerin dokuları irrite etmemesi subkutan implantasyon yönteminde kullanılması için de avantaj sağlamaktadır (98,110,116,131,132). Çalışmamızda boş polietilen tüp, inert bir malzeme olması ve yüzeyi ile temas halinde fibröz kapsül oluşumuna izin vermesi, kalıcı bir enflamasyona ve iltihaba neden olmaması nedeniyle kontrol görevi görmüştür (110,116). Bununla birlikte boş tüpün implantasyonu, aynı hayvanda olabilecek bireysel farklılığı da ortadan kaldırmıştır (131). Ayrıca içerisine ortodontik adeziv kompozit yerleştirilen polietilen tüplerin yan yüzeyleri açık uçlarına göre kontrol olarak da kullanılmıştır (133).

Literatürde implante edilen materyalin boyutu ve şeklinin histopatolojik doku reaksiyonları üzerinde etkili olduğu bildirilmekte olup çalışmalarda çeşitli uzunluk ve çapta tüplerin kullanıldığı görülmüştür (12,98,116,125,128,129,134,135). Çalışmamızda her bir hayvana altı adet tüp yerleştirileceği ve meydana gelecek doku reaksiyonlarının birbirinden etkilenmemesi için insizyonlar arası minimum 2 cm mesafe olacağı düşünülerek, tüplerin uzunluğu 5 mm olarak belirlenmiştir. Ortodontik adeziv kompozitler ağız ortamında da polimerize edilmiş halde uzun süre kaldığı için çalışmamızda polietilen tüplere yerleştirilen kompozitler polimerizasyon tekniklerine göre (ışıkla ya da kimyasal) polimerize edilmiştir.

Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü ve Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO) diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyolojik değerlendirme yöntemlerini belirtmişlerdir (98,112,136,137). Buna göre, implantasyon metodoyla kısa ve uzun vadeli biyouyumlulukların değerlendirilmesi için üç farklı zaman aralığında değerlendirilme yapılması önerilmektedir (136). Çalışmamızda implantasyondan 7, 14 ve 28 gün sonra ratlar sakrifiye edilerek değerlendirmeler yapılmıştır (124).

Çalışmamızdaki bulgulara göre, tüm grupların gruplar arası 7., 14., 28. gün ödem ve enflamasyon değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Kapsül formasyonunda ise gruplar arasında 7. ve 14. günlerde istatistiksel olarak

anlamlı farklılıklar mevcuttur. Tüm gruplarda 7. ve 14. günlerdeki enflamasyon ve ödemin 28. güne göre daha şiddetli olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda numunelere karşı ilk zamanlarda gözlemlenen reaksiyonda, test edilen adezivlerle birlikte cerrahi operasyonun, operasyondan kaynaklanan travmanın da etkisinin olduğunu düşünmekteyiz (14,99). Bulgularımız, gözlem periyodu 14 gün veya daha az olduğunda operatif travmanın biyolojik yanıtta önemli rol oynadığını bildiren literatürdeki önceki çalışmalarla (120) da uyumlu bulunmaktadır.

İmplantasyondan sonra 7. günde ışıkla sertleşen gruplar arasında enflamasyon ve ödemin en yoğun görüldüğü grup Transbond XT grubu olmakla birlikte tüm gruplar arasında da 7. günde enflamasyon ve ödemin en yoğun görüldüğü grup Rely A Bond grubu ve Transbond XT grubu olmuştur.

Transbond XT grubunda ödemin ve enflamasyonun şiddetinin en yoğun olduğu zaman 14. gündür. 28. günde ödem ve enflamasyon şiddetinde azalma olmasına rağmen şiddetli enflamasyon ve ödemin devam ettiği örnekler mevcuttur. İncelenen gruplar içinde 28. günde enflamasyonun ve ödemin şiddetinin en yoğun olduğu grup Transbond XT olarak gözlenmiştir. Buna göre genel olarak Transbond XT grubunun tüm zamanlarında diğer ışıkla sertleşen gruplara göre enflamasyon ve ödemin fazla olduğu görülmüştür.

Transbond PCC grubunda ödemin ve enflamasyonun şiddetinin en yoğun olduğu zaman 7. gündür. Enflamasyon ve ödem şiddeti 7. günden sonra azalmaya başlamış, 14. ve 28. günlerde şiddetli enflamasyon ve şiddetli ödem gözlenmemiş olup orta ve hafif şiddette enflamasyon ve ödem görülmüştür. Bulgularımıza göre Transbond PCC uzun süreli kullanımı yara iyileşme sürecine paralel olarak enflamasyon ve ödemin azalması ve kapsül formasyonunun tamamlanması açısından uygun görülmüştür.

Ortho Connect, primersiz kullanılan ışıkla sertleşen bir ortodontik adeziv kompozittir (5,10). Ortho Connect grubunda ödemin şiddetinin en yoğun olduğu zaman 7. gün ve enflamasyon şiddetinin en yoğun olduğu zaman 14. gün olmuştur. Kapsül formasyonunun günlere göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar mevcuttur. 7. günde kapsül formasyonunun olmadığı örnekler mevcut olmasına rağmen 14. günde tüm örneklerde kapsül formasyonu görülmüştür. Bu bize Ortho Connect adeziv kompozitin doku tamirini geciktirici etkisi olduğunu düşündürmektedir. 28. günde enflamasyon ve ödem şiddetinde azalma olmasına rağmen hala şiddetli

enflamasyon ve ödem görülen örnekler mevcuttur. Bununla birlikte incelenen tüm zamanlarda oluşmuş kapsül yapısının ince olduğu görülmüştür. Ortho Connect grubunda görülen yoğun ödem ve enflamasyon doku bütünlüğünü de olumsuz etkilemiş histolojik kesitlerin alınmasını zorlaştırarak preparasyon aşamasında parçalanmasına neden olmuştur. Bu durum materyalin yara iyileşme sürecini yavaşlattığını düşündürmektedir.

Rely A Bond çalışmamızda kullandığımız kimyasal polimerize olan tek adeziv kompozittir. İmplantasyon sonrası 7. günde Transbond XT grubu ile birlikte enflamasyon ve ödemin en yoğun görüldüğü grubun Rely A Bond grubu olmuştur. 7. günden sonra şiddetli enflamasyon ve şiddetli ödem artarak devam etmiş ve ödem ve enflamasyonun şiddetinin en yoğun olduğu zaman 14. gün olmuştur. Aynı zamanda test edilen gruplar arasında 14. günde en şiddetli enflamasyon ve en şiddetli ödemin görüldüğü grup Rely A Bond daha sonra ise Transbond XT grubu olmuştur. Rely A Bond grubunda 7. günde tüm örneklerde genellikle ince bir kapsül formasyonu olmasına rağmen 14. günde kapsül formasyonunun olmadığı örnekler görülmüştür. Kapsül formasyonu dağılımında günler arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. 14. günde, 7. günde de görülen yoğun enflamasyon ve ödeme bağlı doku harabiyeti dokunun bütünlüğünü kaybetmesi şeklinde ortaya çıkmıştır. 28. günde 7. ve 14. güne göre enflamasyon ve ödem azalmış ancak çevre dokunun yapısında ve kollajen dokuda bozulma görülmüştür. Bu bulgulara göre Rely A Bond'un uzun süreli kullanımının ağır ve yaygın doku hasarına yol açtığı söylenebilir. Özellikle kapsüle uzak yerleşimli olmasına rağmen subkutan yağ dokusu aşırı derecede bozulmuş görülmüştür. Literatürde TEGDMA'nın mikrozomal peroksidasyona neden olup lipozomlar üzerinde membranların lipit çift tabakasını çözücü etkisinin olduğu gösterilmiştir (80). Bu nedenle çalışmamızda Rely A Bond grubunda gözlemlenen yağ dokudaki aşırı harabiyetten, Rely A Bond içeriğindeki TEGDMA'nın sorumlu olabileceğini düşünmekteyiz.

Contec LC grubunda ödemin ve enflamasyonun şiddetinin en yoğun olduğu zaman 7. gün olarak gözlenmiştir. Bu grupta enflamasyon ve ödem şiddeti 7. günden sonra ilerleyen zamanlarda azalmıştır. Bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Contec LC grubunda 14. ve 28. günlerde reaksiyonların azalmasıyla birlikte kapsül formasyonu da düzgün ve kesintisiz hale gelmiştir. 7 günlük Contec LC

grubunda görülüp 14 ve 28. günlerde görülmeyen damar dışına çıkmış eritrositler, bağ dokuda kanama odakları olduğunu göstermektedir. Kanama, deneklerin yara iyileşmesinin erken döneminde fiziksel olarak tüpü kaşıyarak çevre dokuya zarar vermelerinden kaynaklanıyor olabilir. Bu kanamanın özellikle bu grupta görülmesi, materyalin arka ayağa yakın yerleştirilmiş olmasından kaynaklı, deney hayvanı tarafından kolay erişilebilir olmasından olabileceğini düşündürmektedir. Bu grupta 28. günde enflamasyon ve ödem şiddetindeki azalma, orta dereceli ve şiddetli enflamasyon ve ödemin görülmemesiyle sonuçlanmış, örneklerde hafif ya da yok denecek kadar az enflamasyon ve ödem gözlenmiştir. Aynı zamanda 28. gün Contec LC grubu sonuçları 28. gün Kontrol grubu sonuçları ile de örtüşmektedir. Test edilen materyallere karşı doku yanıtları, materyalin biyolojik olarak toksisite göstermeyen ve biyouyumlu kabul edilebilmesi için kontroldeki yanıtlara benzer olmalıdır (98). Buna göre Contec LC grubunun doku uyumunun iyi olduğu düşünülmektedir. Contec LC ortodontik adeziv kompozitin kullanıldığı hastalarda uzun dönemde görülebilecek enflamasyon ve ödemin kompozit adezive olan hassasiyetten ziyade hastanın kötü ağız hijyeni ya da kompozitle birlikte kullanılmış olan primer gibi diğer malzemelerle ilişkili olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (3,14,52,55).

Çalışmamızda, Kontrol gruplarından alınan boş tüpler, subkutan implantasyon tekniği ile yapılmış önceki çalışmaların sonuçlarına benzer şekilde subkutan dokuda hafif bir reaksiyona neden olmuştur (116,132,134,138). Kontrol grubunda vücuda yerleştirilen biyouyumlu polietilen tüpün steril ve inert olması (99) nedeniyle dokunun verdiği yanıtın yapılan cerrahi işlemden, tüpün mekanik irritasyonundan ya da deneklerin tüpün yerleştirildiği bölgeyi kaşıyarak immün reaksiyonu tetiklemesinden kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Kontrol grubunda 7. günde orta derecede enflamasyona sahip deneklerde görülen kapsülün kesintili ve daha az fibröz özellik göstermesi enflamasyonun kapsül oluşumunu olumsuz etkilediğini düşündürmüştür. Kontrol grubunda 14. gün ait bir adet tüpün deney hayvanında, subkutan dokuda bulunamasına yara iyileşmesinin erken döneminde ratın kaşıma hareketinin neden olmuş olabileceğini düşünmekteyiz. Tüpün ratın sırtında arka ayağa yakın yerleştirilmiş olması sebebiyle, yara iyileşmesinin erken döneminde dikilen yara yüzeyi henüz tam olarak kaynaşmamış iken ratın yara bölgesine erişip kaşıma sırasında tüpü yerinden uzaklaştırmış olabileceğini düşünülmektedir.

Kontrol grubunda ödemin ve enflamasyonun şiddetinin en yoğun olduğu zaman 14. gün olmasına rağmen bu grupta şiddetli enflamasyon ve şiddetli ödem incelenen tüm zamanlarda hiçbir örnekte gözlenmemiştir. 28. günde enflamasyon ve ödemde azalmış ve hafif ya da yok denilecek kadar az şiddette enflamasyon ve ödem görülmüştür. Bu grupta 7., 14., 28. günler arası enflamasyon ve ödemdeki farklılık istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. 28 günlük grupta yara iyileşme sürecine paralel olarak enflamasyon ve ödemin gerilemesiyle en sağlıklı doku ve kapsül görüntüsü elde edilmiştir. Bulgularımıza göre fibröz kapsül formasyonu enflamasyon ve ödem varlığı ile ters orantılı gerçekleşmektedir.

Huang ve ark. (3) rezin bazlı (Transbond XT) ve rezin hibrit cam iyonomer bazlı (Multi-Cure Glass Ionomer Cement) adezivlerin insan diş eti fibroblastları ile temasının hücre canlılığına ve enflamasyona etkisini in vitro ortamda araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda, Transbond XT'nin siklooksijenaz (COX) - 2 mRNA ekspresyon seviyesi, Multi-Cure Glass Ionomer Cement'in COX-2 mRNA ekspresyonundan daha yüksek bulunmuş olmasına rağmen her iki adezivin de COX-2 mRNA ve COX-2 protein ekspresyonunu arttırdığını ve insan diş eti fibroblast canlılığını azalttığını bulmuşlar ve ortodontik adezivlerin oral hijyeni iyi hastalarda gingival enflamasyondan sorumlu olabileceğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda in vivo ortamda ortodontik adeziv kompozitlerin neden olduğu doku reaksiyonları histopatolojik olarak değerlendirilerek, bu çalışmayla benze şekilde enflamasyona neden oldukları gösterilmiştir.

Ortodontik adezivlerlin biyouyumluluğu ile ilgili literatürdeki az sayıda hayvan çalışmalarından biri olan çalışmada Davidson ve ark. (11) farklı adezivlerin (Endur, Right Onl, One Step, System 1, Instabond, Concise) cilt, oral mukoza ve diş etinde doku tepkilerini hayvanlar (otuz dokuz hamster ve bir adet köpek) üzerinde değerlendirmişlerdir. Deri ve gingiva üzerine temas ettirilmiş herhangi bir adezive karşı bir reaksiyonun histolojik olarak tespit edilmediğini ancak oral mukoza testinde bir adezivin likitine (Right On likiti) karşı şiddetli reaksiyon ve nekroz gözlendiğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise incelediğimiz tüm ortodontik adeziv kompozitlerde histolojik dokularda şiddeti incelenen güne ve adezive göre değişen reaksiyon gözlemlenmiştir.

Enflamatuvar sürecin yoğunluğunun, materyalin sitotoksik karakteri ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (12). Literatürde, ortodontik adeziv kompozitlerin

sitotoksitelerinin değerlendirildiği çalışmalar mevcuttur (1,3,8,13,37,42,73,78,111,139-145). Bazı çalışmalarda ortodontik adeziv kompozitlerin gingival fibroblastlar üzerinde sitotoksik etkisi bulunduğu gösterilmektedir (3,8,37,42,73,78,111,145). Bu nedenle ortodontik adeziv kompozitlerin diş eti veya diğer ağız mukozası ile temasının engellenmesi önem taşımaktadır.

Tang ve ark. (37) oksijen inhibisyon tabakasının insan oral fibroblastlarına sitotoksik etkisini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada ışıkla sertleşen (Lightbond, Transbond XT), kimyasal sertleşen iki macunlu (Phase II, Concise) ve kimyasal sertleşen sıvı - macun (System 1+, Rely A Bond, Unit) adezivleri MTT testi ile 1.,3.,6. günlerde değerlendirmiştir. Kimyasal olarak sertleşen sıvı - macun adezivleri, ışıkla sertleşen ve kimyasal olarak sertleşen iki macunlu adezivlere göre daha sitotoksik bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da Rely A Bond grubunda 14. günde ve Transbond XT grubu ile birlikte 7. günde diğer gruplardan daha fazla enflamasyon ve ödem görülmüştür.

Transbond XT, mekanik ve fiziksel özellikleri, klinik performansı nedeniyle ortodonti alanında altın standart adeziv sistemleriden biri olarak algılanmakta ve yaygın olarak kullanılmaktadır (1,146). Bu nedenle, sitotoksik özellikleri de içeren pek çok çalışmada da kullanılmıştır (1,13,42,73,139,140,142,143,145). Malkoç ve ark. (13) Heliosit Orthodontic, Transbond XT, Bisco Ortho, Light Bond ve Quick Cure'den oluşan ortodontik kompozitlerin hücre mitokondri aktivitesini MTT testi ile değerlendirmişlerdir. Buna göre Transbond XT hariç, test edilen adeziv kompozitlerin hücresel değişikliklere neden olmadığı veya çok az etkilediği ancak Transbond XT grubunun ise sitotoksisite gösterdiğini bildirmişlerdir. Heravi ve ark. (42) Transbond XT ve titanyumdioksit nanopartikülleri eklenen Transbond XT adezivlerin insan diş eti fibroblastları ve L929 hücre hatları üzerindeki sitotoksisitesini araştırmışlardır. Titanyumdioksit nano partikülleri içeren Transbond XT adezivin, Transbond XT'den daha iyi biyouyumluluğa sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun yanında yaşlanmanın, hücre canlılığı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu böylece her iki yapıştırıcının sitotoksisitesinin, ilerleyen inkübasyon süreleri ile azalarak toksik olmadığı belirtilmişlerdir. Nimcharoensuk ve ark. (1) laboratuvar ortamında üretilen Bis-GMA, TEGDMA içeren ışıkla sertleşen deneysel bir ortodontik adezivin sitotoksisitesini, Transbond XT ile in vitro karşılaştırmış, deneysel yapıştırıcının hücre

canlılığının ölçülen tüm zaman aralıklarında Transbond XT'den daha yüksek olduğunu ve her iki adezivin sitotoksisitesinin, ilerleyen zamanla azaldığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da test ettiğimiz ışıkla sertleşen ortodontik adheziv kompozitler arasında incelenen tüm zamanlarda en şiddetli enflamasyon ve ödem Transbond XT grubunda tespit edilmiştir. Aynı zamanda çalışmamızda 7. ve 28. günlerde tüm gruplar içinde en şiddetli ödem ve enflamasyonun görüldüğü grup Transbond XT grubu olmuştur.

Kompozit rezinlerin matriksinde yer alan monomerlerin sitotoksik, genotoksik, apoptotik, enflamatuvar, alerjik reaksiyonlarda rol oynadığı bildirilmektedir (76,77,147-160). Ayrıca polimerize olmuş rezinlerin yapısında önemli miktarda polimerize olmamış, serbest halde monomer bulunduğu tespit edilmiştir (70,76). Serbest monomer salınımının ortodontik adeziv kompozitlere karşı sitotoksik reaksiyonların ana nedeni olup monomer salınımının az olmasının toksisiteyi azalttığı belirtilmektedir (141,144). Sitotoksite ile monomer dönüşüm derecesi arasında direk bağlantı olduğu, bu nedenle ilerleyen inkübasyon veya gözlem dönemlerinde ortodontik adeziv kompozitlerinin sitotoksikliğinde azalma bildiren çalışmalar mevcuttur (12,42,78,140,141).

Santos ve ark. (12) Transbond Plus Color Change, Eagle Bond, Quick Cure ortodontik adeziv kompozitlerinin monomer dönüşüm derecesinin biyouyumluluk üzerine etkisini 7., 15., 30. günlerde rat subkutan dokuda in vivo değerlendirmişlerdir. Adezivlerin monomer dönüşüm derecesi ile biyouyumlulukların birbiri ile ilişkili olduğunu ve en yüksek dönüşüm derecesine sahip Transbond Plus Color Change'in, aynı zamanda en iyi iyileşmeyi gösterdiğini bildirmişlerdir. İncelenen tüm zaman aralıklarında tüm gruplarda kademeli olarak azalan ancak istatistiksel olarak anlamlılık göstermeyen hafif enflamasyon, ödem, granulasyon dokusu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda Transbond PCC grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ilerleyen zamanlarda azalan enflamasyon ve ödem ile iyileşme göstergesi olan kapsül formasyonunun incelenen tüm zamanlarda gözlenmesi Santos ve ark.'nın (12) çalışmasıyla uyumluluk göstermektedir.

Çalışmamızda Rely A Bond grubunda 7. günde enflamatuvar hücrelerin ve ödemin kapsüle uzak mesafelerde de izlenilmiş olması bize kompozit adezivden monomer salınımının hızlı olduğunu düşündürmektedir.

Uomo ve ark. (144) ortodontik adezivlerin (Transbond XT, Eagle Spectrum, Greengloo'dur) polimerizasyonundan önce ve sonra hücre canlılığı üzerindeki etkisini

ve monomer salınımını araştırdıkları çalışmada test edilen tüm materyallerin sitotoksik etki göstererek hücre canlılığında zamanla azalmaya neden olduğunu, bununla birlikte polimerize olmamış örneklerin polimerize olanlardan daha fazla sitotoksik olduğunu göstermişlerdir. Ortodontik rezinlerin sitotoksik etkisini belirlemede rezin matrisinin kimyasal bileşimin ortodontik rezinlerden sızan monomer miktarından daha çok etkili olduğunu ve salınan monomerin miktarının azalmasıyla toksisitenin azaldığını öne sürmüşlerdir.

Ratanasathien ve ark. (160) fare fibroblastları üzerinde Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, HEMA monomerlerinin toksitesini inceledikleri çalışmada monomerlerin toksisite sıralamasını Bis-GMA>UDMA>TEGDMA>HEMA olarak bulmuşlardır. Ayrıca bu monomerlerden birden fazla çeşidi içeren malzemelerin potansiyel toksisitesini monomerlerin toksisitelerinin sinerjist etki göstermeleri nedeniyle, ayrı ayrı incelenen her bir monomerin toksisitesinden daha yüksek olduğu belirtmişlerdir. Literatürde çoğu çalışmada, temel monomerlerin sitotoksisite sıralaması Ratanasathien ve ark. (160) ile aynı bulunmuştur (148,153,156).

Geurtsen ve ark. (77) dental rezin kompozitlerinde bulunan 35 monomer ve katkı maddesinin sitotoksik etkilerini insan fibroblastları üzerinde incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmaya göre, monomer grubu içinde en toksik maddelerin UDMA, Bis-GMA, BAP dimetakrilat, DEGDMA, TEGDMA olduğunu ve neredeyse her kompozitin içeriğinde, ciddi veya hafif sitotoksik etkilere neden olan maddelerin bulunduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda kullandığımız ortodontik adeziv kompozitlerin üretici firmalar tarafından bildirilmiş içeriklerine göre Transbond XT Bis-GMA ve BAP dimetrakrilat, Transbond PCC Bis-GMA ve PEGDMA, Ortho Connect UDMA, Rely A Bond Bis-GMA ve TEGDMA, Contec LC BisEMA içermektedir (38,100-105). Bulgularımıza göre incelenen zamanlarda gruplar arasında en şiddetli enflamatuvar reaksiyonların görüldüğü Transbond XT ve Rely A Bond grupları Bis-GMA içermektedir. Ortho Connect grubu incelenen tüm zamanlarda şiddetli reaksiyonların görüldüğü diğer bir gruptur ve UDMA içermektedir. 7. günden sonra şiddetli enflamasyonun görülmediği Transbond PCC grubunda Bis-GMA bulunmasına rağmen üretici firma tarafından bu miktarın %2'den az olduğu belirtilmiştir. Ancak bu oran Transbond XT'de % 10 - 20, Rely A Bond'da ise % 10 - 30 olarak bildirilmiştir. 28. günde kontrol grubuyla birlikte

hafif ya da çok az enflamasyonun görüldüğü grup olan Contec LC ise Bis-EMA içermektedir. Buna göre bulgularımız Ratanasathien ve ark.'nın (160) sitotoksisite sıralamasıyla örtüşmektedir. Ayrıca Bis-GMA toksisitesi ile birlikte Transbond XT ve Rely A Bond grupları sırasıyla içerdikleri BAP dimetakrilat ve TEGDMA nedeniyle de toksitelerini arttırmış olabilirler (160).

Olea ve ark. tarafından rezin bazlı kompozitlerden salındığı tespit edilen (88) BPA, gıda ambalajları, su şişeleri, gözlük camları, deterjanlar, arabalar ve dental kompozitler gibi çeşitli ürünlerin üretiminde yaygın olarak kullanılan sentetik bir kimyasal maddedir (7,75,86). Dental rezinlerin matriksindeki Bis-GMA formülasyonu için başlıca bileşen olarak kullanılmaktadır (85). Ortodontik tedavi gören hastaların çoğu çocuklar ve ergenlerden oluşmakta olup BPA gibi endokrin özelliğe sahip kimyasallara maruz kalmalarının sağlık sorunlarına neden olabileceği belirtilmiştir (75).

Moreira ve ark. (75) Transbond XT dahil beş farklı ortodontik adezivin BPA salınımını in vitro değerlendirdikleri bir çalışmada test ettikleri tüm adezivlerde BPA salınımının bulunduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada Transbond XT kullanılarak braketlenen hastaların tükürük ve idrarındaki BPA seviyelerini de in vivo değerlendirerek braketlemeden sonra tükürük ve idrarda BPA seviyesinin arttığını tespit etmişlerdir (75). Ancak Bationo ve ark. (86) içlerinde Transbond XT'nin de bulunduğu farklı ortodontik adeziv kompozitlerden salınan monomerleri belirlemek için yaptıkları araştırmada test edilen adezivlerden salınan ancak üretici firma tarafından bildirilmemiş bileşenler olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre Bationo ve ark. (86) Transbond XT'nin TEGDMA içerdiğini ancak üretici firmanın bunu rapor etmediğini tespit etmişlerdir.

Eliades ve ark. (89) kimyasal sertleşen Rely A Bond ve ışıkla sertleşen Reliance ortodontik adezivin BPA salınımını farklı zaman aralıklarında ölçmüş ve her iki adezivde de incelenen tüm zaman aralıklarında BPA saptanmadığını bildirmişlerdir. Gioka ve ark. (111) da Reliance ve Rely A Bond adezivlerinde fibroblast kültüründeki hücrelerin canlılığını ve çoğalmasını ayrıca monomer salınımı değerlendirmişlerdir. Adezivlerin sitotoksik etki göstermemesine rağmen her iki adezivde de DNA sentezinde orta düzeyde bir azalma görülüp adezivlerin sitostatik etki gösterdiği bildirilmiştir. Bununla birlikte adezivlerde ölçülebilir miktarlarda Bis-GMA salınımı görülmemiş olup TEGDMA salınımı bulunmuştur. Benzer şekilde Görükmez ve ark. (87) Bis-GMA

içeren ışıkla sertleşen ve kimyasal sertleşen adeziv sistemlerde Bis-GMA salınımını hastalar üzerinde değerlendirmiştir. Test ettikleri tüm adezivlerde ortodontik braketleme sonrası ilk dakikalarda Bis-GMA salınımı olduğunu ve incelenen dört adeziv içinde salınan Bis-GMA miktarını en fazla Transbond grubunda, en az ise Rely A Bond grubunda bulduklarını rapor etmişlerdir (87). Bu sonuçlara göre, çalışmamızda Transbond XT grubunda meydana gelen doku reaksiyonunda Bis-GMA salınımının etkili olduğunu ancak Rely A Bond grubunda Bis-GMA salınımınından daha çok TEGDMA salınımının etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Alizadehgharib ve ark. (152) yaptıkları çalışmada TEGDMA'nın yalnız ya da Bis-GMA ile birlikte kullanımın nötrofillerin proenflamatuvar özellikteki interlökin (IL) 8 salınımını artırdığını bunun da uzayan enflamasyon süresine neden olduğunu bulmuştur. Çalışmamızda kullandığımız Rely A Bond'un içeriğinde Bis-GMA ve TEGDMA bulunması ve bu grupta 28. günde devam eden şiddetli enflamasyon Alizadehgharib ve ark.'nın (152) bulgularıyla örtüşmektedir.

Moharamzadeh ve ark. (150) doku mühendisliği ile elde ettikleri insan oral mukoza modelinde TEGDMA bazlı dental kompozitlerin epitelyal ve sitotoksik hasara neden olduğunu, gingivitis ve periodontal hastalıklarla ve enflamatuvar olaylarla ilişkili IL 1β seviyesini arttırdığını ifade etmiştir. Çalışmamızda TEGDMA içeren Rely A Bond grubundaki şiddetli enflamasyon ve bu grupta implante edilen tüplerin çevre dokularında meydana gelen şiddetli tahribat bu çalışmanın bulguları ile uyuşmaktadır.

Primerlerin kullanımı, potansiyel monomer kaynağı olabilmektedir (37). Literatürde primerlerin sitotoksisitesin gösteren çalışmalar da mevcuttur (14,52,55). Çalışmamızda Rely A Bond kimyasal sertleşen adeziv olması nedeniyle aktivasyonu için primer likiti ile birlikte uygulanarak hazırlanmıştır. Bu da Rely A Bond'un kompoziti ile primerinin toksisitesinin aditif ya da sinerjist etki göstermiş olma olasılığını veya likit primerin içinde bulunan monomerlerin etkisini de düşündürmektedir (160,161). Huang ve ark. (73) Transbond XT'nin de dahil olduğu farklı adezivlerin sitotoksisitesini inceledikleri çalışmada gingival fibroblastlarda Transbond XT kompozitin hücre inhibisyon dozunun, Transbond XT kompozit ve primeri birlikte incelendikleri grubun hücre inhibisyon dozundan daha yüksek olduğunu rapor etmiştir. Bu da Transbond XT için kompozitin primeriyle kombine halinin sadece Transbond XT kompozitin sitotoksitesinden daha fazla olduğunu göstermektedir.

Benzer bir durum çalışmamızdaki Ortho Connect grubu için de geçerli olabilir. Literatürde primerle entegre adeziv olarak da anılan, primerin kompozit içinde bulunduğu belirtilen Ortho Connect içeriği nedeniyle daha şiddetli reaksiyona sebep vermiş olabilir (5). Ayrıca çalışmamızda incelenen adeziv kompozitler içinde tüm zamanlarda sadece Rely A Bond ve Ortho Connect grubunda kapsül formasyonunun oluşmadığı örneklerin bulunması da düşündüğümüz primerle ilişkili olası etkenin diğer bir göstergesi olabilir.

Silveira ve ark. (131) bir materyalin neden olduğu enflamatuvar reaksiyon zamanla azalırsa, materyalin biyouyumlu olarak kabul edileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda 28. gün sonunda 7. güne göre tüm gruplarda enflamasyonda azalma mevcuttur. Ancak şiddetli doku reaksiyonunun halen devam ettiği örnekler de bulunmaktadır. 28. günde şiddetli doku reaksiyonun görülmediği gruplar Transbond PCC, Contec LC ve Kontrol grubudur. Contec LC ve Kontrol grubunda sadece hafif ve çok az şiddette enflamasyon görülmüştür.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre, kullanılan ortodontik adeziv kompozitlerin farklılaşması canlı dokuların verdiği doku reaksiyonunu ve şiddetini etkilemektedir.
- Kontrol grubunda incelenen tüm zamanlarda şiddetli enflamasyon ve ödem gözlenmemiştir.
- Çalışmamızda 28. gün sonunda 7. güne göre tüm gruplarda enflamasyon ve ödemde azalma mevcuttur. Ancak bazı gruplarda şiddetli ödem ve enflamasyonun devam ettiği örnekler bulunmaktadır.
- Ortho Contect ve Rely A Bond gruplarında medya gelen şiddetli doku reaksiyonları kapsül formasyonunun ve çevre dokuların etkilenmesine neden olmuştur.
- İmplantasyondan sonra 28. günde şiddetli doku reaksiyonun görülmediği gruplar Transbond PCC, Contec LC ve Kontrol grubudur.
- İmplantasyondan sonra 28. günde Contec LC ve Kontrol grubunda sadece hafif ve neredeyse yok denecek kadar az şiddette enflamasyon ve ödem görülmüştür.
- Bis-GMA, TEGDMA, UDMA içermeyen ya da düşük konsantrasyonda içeren ortodontik adezivler daha az doku reaksiyonuna neden olmuş ve daha düzgün, belirgin bir kapsül yapısı sağlamıştır.
- Fibröz kapsül formasyonun enflamasyon ve ödem varlığı ile ters orantılı gerçekleşmektedir.
- Ortodontik adeziv kompozitlerin seçiminde ortodontistler, çevre dokularda en az reaksiyona neden olan bileşenlere sahip kompozitleri tercih etmelidirler.

KAYNAKLAR

1. Nimcharoensuk, K., Anuwongnukroh, N., Dechkunakorn, S., Sattabanasuk, V., Sunintaboon, P., Wichai, W. (2019). Cytotoxicity of an experimental light-cured orthodontic adhesive. *Solid State Phenomena*, 294, 65-70.
2. D'Antò, V., Muraglie, S., Castellano, B., Candida, E., Sfondrini, M. F., Scribante, A., Grippaudo, C. (2019). Influence of dental composite viscosity in attachment reproduction: An experimental in vitro study. *Materials*, 12(23):4001,1-13.
3. Huang, T. H., Liao, P. H., Han, Y. L., Shinn, J. D., Yen, M., Kao, C. T. (2008). Orthodontic adhesives induce human gingival fibroblast toxicity and inflammation. *Angle Orthodontist*, 78, 510-516.
4. Ajlouni, R., Bishara, S. E., Soliman, M. M., Oonsombat, C., Laffoon, J. F., Warren, J. (2005). The use of Ormocer as an alternative material for bonding orthodontic brackets. *Angle Orthodontist*, 75, 106-108.
5. Shapinko, Y., Eleftheriadi, I., Brosh, T., Adler-Abramovich, L., Davidovitch, M., Sella-Tunis, T., Sarig, R., Shpack, N. (2018). Evaluation of an orthodontic adhesive with combined primer and composite. *Open Journal of Stomatology*, 08, 205-216.
6. Ekhlassi, S., English, J. D., Ontiveros, J. C., Powers, J. M., Bussa, H. I., Frey, G. N., Colville, C. D., Ellis, R. K. (2011). Bond strength comparison of color-change adhesives for orthodontic bonding using a self-etching primer. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*, 3, 39-44.
7. Małkiewicz, K., Turło, J., Marciniuk-Kluska, A., Grzech-Leśniak, K., Gąsior, M., Kluska, M. (2015). Release of bisphenol A and its derivatives from orthodontic adhesive systems available on the European market as a potential health risk factor. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 22, 172-177.
8. Ersöz, M., Malkoç, S., Küçük, E. B., Bozkurt, B. S., Hakki, S. S. (2016). Biocompatibility evaluation of orthodontic composite by real-time cell analysis. *Human and Experimental Toxicology*, 35, 833-838.
9. Zielinski, V., Reimann, S., Jäger, A., Bourauel, C. (2014). Comparison of shear bond strength of plastic and ceramic brackets. *Journal of Orofacial Orthopedics*, 75 (5), 345-357.
10. Bayar Bilen, H., Çokakoğlu, S. (2020). Effects of one-step orthodontic adhesive on microleakage and bracket bond strength: An in vitro comparative study. *International Orthodontics*, 18, 366-373.
11. Davidson, W. M., Sheinis, E. M., Shepherd, S. R. (1982). Tissue reaction to orthodontic adhesives. *American Journal of Orthodontics*, 82, 502-507.
12. Santos, R. L., Sampaio, G. A. M., de Carvalho, F. G., Pithon, M. M., Guênes, G. M. T., Alves, P. M. (2014). Influence of degree of conversion on the biocompatibility of different composites in vivo. *Journal of Adhesive Dentistry*, 16, 15-20.
13. Malkoc, S., Corekci, B., Ulker, H. E., Yalçin, M., Şengün, A. (2010). Cytotoxic effects of orthodontic composites. *Angle Orthodontist*, 80, 759-764.
14. Santos, R. L., Pithon M. M., Fernandes A. B. N. , Cabral M. G. , Ruellas A. C. (2010). Biocompatibility of orthodontic adhesives in rat subcutaneous tissue. *Journal of Applied Oral Science*, 18, 503-508.
15. Buonocore M. G. (1955). A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *Journal of Dental Research*, 34, 849-853.
16. Sakaguchi R., Ferracane J., Powers J. (2019). *Craig's Restorative Dental Materials*. St. Louis MO, USA.: Elsevier Inc.
17. McCabe J. F., Walls A. W. G. (2008). *Applied Dental Materials.* Oxford,UK.: Blackwell Publishing Ltd.
18. Rezaie H. R., Rizi H. B., Rezaei Khamseh M. M., Öchsner. A. (2020). *A Review On Dental Materials.* Switzerland: Springer.
19. Newmann G. V. (1965). Epoxy adhesives for orthodontic attachments. *American Journal of Orthodontics*, 51, 901-912.
20. Graber L. W., Vanarsdall R.L., Vig K. W. L., Huang G. J. (2017). *Orthodontic Current Principles And Techniques*. St. Louis MO., USA.: Elsevier.
21. Ritter A. V., Boushell L. W., R. W. (2019). *Sturdevant's Art And Science Of Operative Dentistry.* St. Louis MO., USA.: Elsevier.

22. Anusavice K. J., Shen C., Rawls H. R. (2013). *Phillips' Science Of Dental Materials.* St. Louis MO., USA.: Elsevier.
23. Manappallil J. J. (2010). *Basic Dental Materials*. New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd.
24. Noort, R. V. (2013). *Introduction To Dental Materials.* USA.: Mosby Elsevier.
25. Powers J. M., Wataha J. C. (2017). *Dental Materials Foundations And Applications.* St. Louis MO., USA.: Elsevier.
26. Gladwin M., Bagby M. (2012). *Clinical Aspects of Dental Materials Theory, Practice, and Cases.* PA., USA: Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins.
27. Tauscher, S., Angermann, J., Catel, Y., Moszner, N. (2017). Evaluation of alternative monomers to HEMA for dental applications. *Dental Materials*, 33, 857-865.
28. Nicholson, J. W. (2020). *The Chemistry Of Medical And Dental Materials.* Cambridge, UK.: Royal Society of Chemistry.
29. Nakabayashi, N., Takarada, K. (1992). Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dental Materials*, 8, 125-130.
30. Shelton R. (2017). *Biocompatibility Of Dental Biomaterials*. Duxford, UK.: Woodhead Publishing Elsevier.
31. O'brien J., W., (2008). *Dental Materials And Their Selection.* IL., USA.: Quintessence Publishing Co, Inc.
32. Proffit W. R., Fields H. W., Larson B.E., D. M. S. (2019). *Contemporary Orthodontics*. PA., USA.: Elsevier.
33. Türkkahraman, H., Adanir, N., Gungor, A. Y., Alkis, H. (2010). In vitro evaluation of shear bond strengths of colour change adhesives. *European Journal of Orthodontics*, 32, 571-574.
34. Soyland, R., Currier, G. F., Kadioglu, O., Li, J., Esteban Florez, F. L., Rueggeberg, F. A., Khajotia, S. S. (2020). Pairing orthodontic adhesive resins and light-curing units for optimal degree of conversion. *Journal of the World Federation of Orthodontists*, 9, 68-74.
35. Naqvi, Z. A., Shaikh, S., Pasha, Z. (2019). Evaluation of bond failure rate of orthodontic brackets bonded with green gloo-two way color changes adhesive: A clinical study. *Ethiopian journal of health sciences*, 29, 187-194.
36. Schubert, A., Ziegler, C., Bernhard, A., Bürgers, R., Miosge, N. (2019). Cytotoxic effects to mouse and human gingival fibroblasts of a nanohybrid ormocer versus dimethacrylate-based composites. *Clinical Oral Investigations*, 23, 133-139.
37. Tang, A. T., Liu, Y., Björkman, L., Ekstrand, J. (1999). In vitro cytotoxicity of orthodontic bonding resins on human oral fibroblasts. *American Journal Of Orthodontics And Dentofacial Orthopedics*, 116, 132-138.
38. DENTAURUM: Contec lc bracket adhesive. (İnternette) Erişim 14.11.2020, https://www.dentaurum.de/files/989-500-12.pdf
39. Sodagar, A., Akhavan, A., Hashemi, E., Arab, S., Pourhajibagher, M., Sodagar, K., Kharrazifard, M. J., Bahador, A. (2016). Evaluation of the antibacterial activity of a conventional orthodontic composite containing silver/hydroxyapatite nanoparticles. *Progress In Orthodontics*, 17(1):40,1-7.
40. Degrazia, F. W., Leitune, V. C. B., Garcia, I. M., Arthur, R. A., Samuel, S. M. W., Collares, F. M. (2016). Effect of silver nanoparticles on the physicochemical and antimicrobial properties of an orthodontic adhesive. *Journal Of Applied Oral Science*, 24, 404-410.
41. Felemban, N. H., Ebrahim, M. I. (2017). The influence of adding modified zirconium oxide-titanium dioxide nano-particles on mechanical properties of orthodontic adhesive: An in vitro study. *Bio Med Central Oral Health*, 17, 1-8.
42. Heravi, F., Ramezani, M., Poosti, M., Hosseini, M., Shajiei, A., Ahrari, F. (2013). In vitro cytotoxicity assessment of an orthodontic composite containing titanium-dioxide nano-particles. *Journal Of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 7, 192-198.
43. Pourhajibagher, M., Sodagar, A., Bahador, A. (2020). An in vitro evaluation of the effects of nanoparticles on shear bond strength and antimicrobial properties of orthodontic adhesives: A systematic review and meta-analysis study. *International Orthodontics*, 18, 203-213.
44. Behnaz, M., Dalaie, K., Mirmohammadsadeghi, H., Salehi, H., Rakhshan, V., Aslani, F. (2018). Shear bond strength and adhesive remnant index of orthodontic brackets bonded to enamel using adhesive systems mixed with TiO_2 nanoparticles. *Dental Press Journal Of Orthodontics*, 23, 43.e1-43.e7.
45. Poosti, M., Ramazanzadeh, B., Zebarjad, M., Javadzadeh, P., Naderinasab, M., Shakeri, M. T. (2013). Shear bond strength and antibacterial effects of orthodontic composite containing TiO_2

nanoparticles. *European Journal of Orthodontics*, 35, 676-679.
46. Sodagar, A., Akhoundi, M. S. A., Bahador, A., Jalali, Y. F., Behzadi, Z., Elhaminejad, F., Mirhashemi, A. H. (2017). Effect of TiO_2 nanoparticles incorporation on antibacterial properties and shear bond strength of dental composite used in orthodontics. *Dental Press Journal of Orthodontics*, 22, 67-74.
47. Reddy, A. K., Kambalyal, P. B., Patil, S. R., Vankhre, M., Khan, M. Y., Kumar, T. R. (2016). Comparative evaluation and influence on shear bond strength of incorporating silver, zinc oxide, and titanium dioxide nanoparticles in orthodontic adhesive. *Journal of Orthodontic Science*, 5, 127-131.
48. Choi, J. Y., Chung, C. J., Oh, K. T., Choi, Y. J., Kim, K. H. K. (2009). Photocatalytic antibacterial effect of TiO_2 film of TiAg on streptococcus mutans. *Angle Orthodontist*, 79, 528-532.
49. Bayani, S., Ghassemi, A., Manafi, S., Delavarian, M. (2015). Shear bond strength of orthodontic color-change adhesives with different light-curing times. *Dental Research Journal*, 12, 265-270.
50. Delavarian, M., Rahimi, F., Mohammadi, R., Imani, M. (2019). Shear bond strength of ceramic and metal brackets bonded to enamel using color-change adhesive. *Dental Research Journal*, 16, 233-238.
51. Mirjanić, V., Čupić, S., Veselinović, V. (2011). Contec lc light-curing adhesive in orthodontics. *Contemporary Materials*, 2, 69-75.
52. Taubmann, A., Willershausen, I., Walter, C., Al-Maawi, S., Kaina, B., Gölz, L. (2021). Genotoxic and cytotoxic potential of methacrylate-based orthodontic adhesives. *Clinical Oral Investigations*, 25, 2569-2581.
53. David Williams (2014). *Essential Biomaterials Science*. Cambridge, UK.: Cambridge University Press.
54. Peterson, M. R., Wong, P. H., Dickson, S. D., Coop, C. A. (2017). Allergic stomatitis from orthodontic adhesives. *Military Medicine*, 182, e1883-e1885.
55. Vannet B. M. R. A. V., Hanssens, J. L. (2007). Cytotoxicity of two bonding adhesives assessed by three-dimensional cell culture. *Angle Orthodontist*, 77, 716-722.
56. Malkoc, S., Corekci, B., Botsali, H. E., Yalçin, M., Sengun, A. (2010). Cytotoxic effects of resin-modified orthodontic band adhesives : Are they safe? *Angle Orthodontist*, 80, 890-895.
57. Tokur, O., Aksoy, A. (2017). In vitro sitotoksisite testleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6, 112-118.
58. Zucco, F., De Angelis, I., Stammati, A. (1998). Cellular models for in vitro toxicity testing. İçinde Clynes M., *Animal Cell Culture Techniques*. Berlin: Springer; 395-422.
59. Eming, S. A., Krieg, T., Davidson, J. M. (2007). Inflammation in wound repair: Molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127, 514-525.
60. Medzhitov, R. (2010). Inflammation 2010: New adventures of an old flame. *Cell*, 140, 771-776.
61. Anderson, J. M. (2001). Biological responses to materials. *Annual Review of Materials Science*, 31, 81-110.
62. Leick, M., Azcutia, V., Newton, G., Luscinskas, F. W. (2014). Leukocyte recruitment in inflammation: Basic concepts and new mechanistic insights based on new models and microscopic imaging technologies. *Cell and Tissue Research*, 355, 647-656.
63. Mosser, D. M., Edwards, J. P. (2008). Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature Reviews Immunology*, 8, 958-969.
64. Franz, S., Rammelt, S., Scharnweber, D., Simon, J. C. (2011). Immune responses to implants - A review of the implications for the design of immunomodulatory biomaterials. *Biomaterials*, 32, 6692-6709.
65. Mariani, E., Lisignoli, G., Borzì, R. M., Pulsatelli, L. (2019). Biomaterials: Foreign bodies or tuners for the immune response? *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3):636,1-42.
66. Anderson, J. M., Rodriguez, A., Chang, D. T. (2008). Foreign body reaction to biomaterials. *Seminars in Immunology*, 20, 86-100.
67. Bernas, T., Dobrucki, J. (2002). Mitochondrial and nonmitochondrial reduction of MTT: Interaction of MTT with TMRE, JC-1, and NAO mitochondrial fluorescent probes. *Cytometry*, 47, 236-242.
68. Geurtsen, W. (1998). Substances released from dental resin composites and glass ionomer cements. 687-695.
69. Wataha, J. C. (2001). Principles of Biocompatibility. İçinde Brantley W. A., *Orthodontic Materials : Scientific And Clinical Aspect*. Germany: Thieme; 271-286.
70. Thompson, L. R., Miller, E. G., Bowles, W. H. (1982). Materials science: Leaching of

unpolymerized materials from orthodontic bonding resin. *Journal of Dental Research*, 61, 989-992.
71. Ferracane J. L. (1994). Elution of leachable components from composites. *Journal of Oral Rehabilitation*, 21, 441-452.
72. Bakir Ş., Bakir E. P., Süsgün Yıldırım Z. (2017). Biocompatibility of dental adhesives. *Advances in Dentistry & Oral Health*, 4(4):555643,1-6.
73. Huang, T. H., Tsai, C. Y., Chen, S. L., Kao, C. T. (2002). An evaluation of the cytotoxic effects of orthodontic bonding adhesives upon a primary human oral gingival fibroblast culture and a permanent, human oral cancer-cell line. *Journal of Biomedical Materials Research*, 63, 814-821.
74. Van Landuyt, K. L., Nawrot, T., Geebelen, B., De Munck, J., Snauwaert, J., Yoshihara, K., Scheers, H., Godderis, L., Hoet, P., Van Meerbeek, B. (2011). How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dental Materials*, 27, 723-747.
75. Moreira, M. R., Matos, L. G., de Souza, I. D., Brigante, T. A. V., Queiroz, M. E. C., Romano, F. L., Nelson-Filho, P., Matsumoto, M. A. N. (2017). Bisphenol A release from orthodontic adhesives measured in vitro and in vivo with gas chromatography. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 151, 477-483.
76. Goldberg, M. (2008). In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: A review. *Clinical Oral Investigations*, 12, 1-8.
77. Geurtsen, W., Lehmann, F., Spahl, W., Leyhausen, G. (1998). Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. *Journal of Biomedical Materials Research*, 41, 474-480.
78. Ahrari, F., Tavakkol Afshari, J., Poosti, M., Brook, A. (2010). Cytotoxicity of orthodontic bonding adhesive resins on human oral fibroblasts. *European Journal of Orthodontics*, 32, 688-692.
79. Eliades, T., Eliades, G., Brantley, W. A., Johnston, W. M. (1995). Residual monomer leaching from chemically cured and visible light-cured orthodontic adhesives. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 108, 316-321.
80. Fujisawa, S., Kadoma, Y., Komoda, Y. (1988). 1H and 13C NMR Studies of the Interaction of Eugenol, Phenol, and Triethyleneglycol Dimethacrylate with Phospholipid Liposomes as a Model System for Odontoblast Membranes. *Journal of Dental Research*, 67, 1438-1441.
81. Hanks, C. T., Wataha, J. C., Sun, Z. (1996). In vitro models of biocompatibility: A review. *Dental Materials*, 12, 186-193.
82. Souza, P. P. C., Aranha, A. M. F., Hebling, J., Giro, E. M. A., Costa, C. A. d. S. (2006). In vitro cytotoxicity and in vivo biocompatibility of contemporary resin-modified glass-ionomer cements. *Dental Materials*, 22, 838-844.
83. Reichl, F. X., Durner, J., Kunzelmann, K. H., Hickel, R., Spahl, W., Hume, W. R., Moes, G. W. H., Kehe, K., Walther, U., Forth, W. (2001). Biological clearance of TEGDMA in guinea pigs. *Archives of Toxicology*, 75, 22-27.
84. Reichl, F. X., Durner, J., Manhart, J., Spahl, W., Gempel, K., Kehe, K., Liebl, B., Walther, U. I., Hume, W. R., Hickel, R. (2002). Biological clearance of HEMA in guinea pigs. *Biomaterials*, 23, 2135-2141.
85. Purushothaman, D., Kailasam, V., Chitharanjan, A. B. (2015). Bisphenol A release from orthodontic adhesives and its correlation with the degree of conversion. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 147, 29-36.
86. Bationo, R., Jordana, F., Boileau, M. J., Colat-Parros, J. (2016). Release of monomers from orthodontic adhesives. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 150, 491-498.
87. Erhan, G. (2017). Farklı Adezivlerin Kullanıldığı Ortodontik Bonding Sonrası Açığa Çıkan Bis-GMA'nın İn-Vivo Şartlarda Değerlendirilmesi. Bezmialem Vakıf Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ortodonti Doktora Tezi.
88. Olea, N., Pulgar, I. R., Perez, P., Olea-Serrano, F., Rivas, A., Novillo-Fertrell A., Pedraza V. Soto, A. M., Sonnenschein, C. (1996). Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. *Environmental Health Perspective*s, 104, 298-305.
89. Eliades, T., Hiskia, A., Eliades, G., Athanasiou, A. E. (2007). Assessment of bisphenol-A release from orthodontic adhesives. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 131, 72-75.
90. Timms, B. G., Howdeshell, K. L., Barton, L., Bradley, S., Richter, C. A., Vom Saal, F. S. (2005). Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt development of the fetal mouse prostate and urethra. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of*

America, 102, 7014-7019.
91. Sasco, A. J. (2001). Epidemiology of breast cancer: An environmental disease? *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica* 109, 321-332.
92. Bouskine, A., Nebout, M., Brücker-Davis, F., Banahmed, M., Fenichel, P. (2009). Low doses of bisphenol A promote human seminoma cell proliferation by activating PKA and PKG via a membrane G-protein-coupled estrogen receptor. *Environmental Health Perspectives*, 117, 1053-1058.
93. Szczepanska, J., Poplawski, T., Synowiec, E., Pawlowska, E., Chojnacki, C. J., Chojnacki, J., Blasiak, J. (2012). 2-Hydroxylethyl methacrylate (HEMA), a tooth restoration component, exerts its genotoxic effects in human gingival fibroblasts trough methacrylic acid, an immediate product of its degradation. *Molecular Biology Reports*, 39, 1561-1574.
94. Hansel, C., Leyhausen, G., Mai, U. E. H., Geurtsen, W. (1998). Effects of various resin composite (co)monomers and extracts on two caries-associated micro-organisms in vitro. *Journal of Dental Research*, 77, 60-67.
95. Supradeep Kumar, K., Hanumantha Rao, C., Baburam Reddy, K. V., Chidambaram, S., Girish, H. C., Murgod, S. (2013). Flowable composite an alternative orthodontic bonding adhesive: An in vitro study. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 14, 883-886.
96. Gredes, T., Kunert-Keil, C., Dominiak, M., Gedrange, T., Wróbel-Kwiatkowska, M., Szopa, J. (2010). The influence of biocomposites containing genetically modified flax fibers on gene expression in rat skeletal muscle. *Biomedizinische Technik*, 55, 323-329.
97. Metin Gürsoy G. (2015). Nano Gümüş Partikülleri ile Kaplanan Ortodontik Braketlerde Antibakteriyel Özelliklerin, İyon Salınımlarının Ve Biyouyumluluğun İn Vivo Ve İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ortodonti Doktora Tezi.
98. Karabulut, B., Dönmez, N., Göret, C. C., Ataş, C., Kuzu, Ö. (2020). Reactions of subcutaneous connective tissue to mineral trioxide aggregate, Biodentine®, and a newly developed BioACTIVE base/liner. *Scanning*, 2020:6570159.
99. Santos, J. M., Pereira, S., Sequeira, D. B., Messias, A. L., Martins, J. B., Cunha, H., Palma, P. J., Santos, A. C. (2019). Biocompatibility of a bioceramic silicone-based sealer in subcutaneous tissue. *Journal of Oral Science*, 61, 171-177.
100. 3M UNITEK: 3M™ Unitek™ Transbond™ XT light cure adhesive kit safety data sheet. (İnternette) 2020. Erişim 30.11.2020, https://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=SSSSSuUn_zu8l00x4YtB5YtUPv70k17zHvu9lxtD7SSSSSS--%22
101. RELIANCE: Rely A Bond adhesive paste safety data sheet. (İnternette) 2018. Erişim 12.12.2020, https://5405168.app.netsuite.com/c.5405168/Reliance%20-%20SDS/Rely%20A%20Bond%20SDS.pdf
102. 3M UNITEK: 3M™ Unitek™ Transbond™ Plus Color Change adhesive safety data sheet. (İnternette) 2020. Erişim 24.11.2020, https://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=SSSSSuUn_zu8l00x482U5x_9Ov70k17zHvu9lxtD7SSSSSS--
103. RELIANCE: Rely A Bond paste safety data sheet. (İnternette) 2021. Erişim 15.09.2022, https://5405168.app.netsuite.com/c.5405168/Reliance%20-%20SDS/Rely%20A%20Bond%20SDS.pdf
104. DENTAURUM: Contec lc bracket adhesive safety data sheet. (İnternette) 2018. Erişim 14.11.2020, https://www.dentaurum.de/files/163-111-20.pdf
105. GC: Ortho Connect safety data sheet. (İnternette) 2019. Erişim 27.11.2020, https://www.gc.dental/ortho/sites/ortho-europe.gc.dental/files/products/downloads/gcorthoconnect/sds/SDS_OrthoConnect_gb.pdf
106. Copelli, F. A., Lima, A. A. S. de, Santos, C. C. de O., Carneiro, E., Cavenago, B. C. (2021). Biological response to lyophilized demineralized dentin matrix implanted in the subcutaneous tissues of rats. *Saudi Dental Journal*, 33, 441-447.
107. Nelson Filho, P., Bezerra Silva, L. A., Leonardo, M. R., Sabbag Utrilla, L., Figueiredo, F. (1999). Connective tissue responses to calcium hydroxide-based root canal medicaments. *International Endodontic Journal*, 32, 303-311.
108. Bramante, C. M., Kato, M. M., de Assis, G. F., Duarte, M. A. H., Bernardineli, N., de Moraes, I. G., Garcia, R. B., Ordinola-Zapata, R., Bramante, A. S. (2013). Biocompatibility and setting time of CPM-MTA and white Portland cement clinker with or without calcium sulfate. *Journal of Applied Oral Science*, 21, 32-36.
109. Cunha, S. A., Rached, F. J. A., Alfredo, E., León, J. E., Perez, D. E. da C. (2011).

Biocompatibility of sealers used in apical surgery: A histological study in rat subcutaneous tissue. *Brazilian Dental Journal*, 22, 299-305.
110. Mori, G. G., da Silva Rodrigues, S., Shibayama, S. T., Pomini, M., do Amaral, C. O. F. (2014). Biocompatibility of a calcium hydroxide-propolis experimental paste in rat subcutaneous tissue. *Brazilian Dental Journal*, 25, 104-108.
111. Gioka, C., Bourauel, C., Hiskia, A., Kletsas, D., Eliades, T., Eliades, G. (2005). Light-cured or chemically cured orthodontic adhesive resins? A selection based on the degree of cure, monomer leaching, and cytotoxicity. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 127, 413-419.
112. Feiz, A., Zavareh, F. A., Razavi, S. M., Badrian, H., Dolatyar, S., Vajihi, M. (2012). Reaction of rat subcutaneous connective tissue to resin composites polymerized with different light curing units and different lightening methods. *International Journal Of Dentistry.*2012:156352,1-6.
113. Ozbas, H., Yaltirik, M., Bilgic, B., Issever, H. (2003). Reactions of connective tissue to compomers, composite and amalgam root-end filling materials. *International Endodontic Journal*, 36, 281-287.
114. Hauman, C. H. J., Love, R. M. (2003). Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: A review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *International Endodontic Journal*, 36, 75-85.
115. Wataha, J. C. (2001). Principles of biocompatibility for dental practitioners. *The Journal Of Prosthetic Dentistry*, 86, 203-209.
116. Tornect, C. D. (1966). Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants Part I. *Oral Surgery, Oral Medicine And Oral Pathology,* 21(3):379-87.
117. Gottfried Schmalz, Arenholt-Bindslev D. (2009). *Biocompatibility of Dental Materials.* Berlin, Germany: Springer
118. Modaresi, B. J. A Yavari S. A., Dianat S. O., Shahrabi S. (2005). A comparison of tissue reaction to MTA and an experimental root-end restorative material in rats. *Australian Endodontic Journal*. 31, 69-72.
119. Bhat, K. S., Walvekar, S. (1975). Response of subcutaneous connective tissue to materials and drugs: a simplified technique. *Journal Of Endodontics*, 1, 202-204.
120. Marion, L., Haugen, E., Mjör, I. A. (1980). Methodological assessments of subcutaneous implantation techniques. *Journal OF Biomedical Materials Research*, 14, 343-357.
121. Saito, C. T. M. H., Bernabé, P. F. E., Okamoto, T., Murata, S. S., Hamata, M. M., Sundefeld, M. L. M. M. (2008). Evaluation of tissue response to periodontal dressings: Histological study in tooth sockets of rats. *Journal Of Applied Oral Science*, 16, 219-225.
122. Economides, N., Kotsaki-Kovatsi, V. P., Poulopoulos, A., Kolokuris, I., Rozos, G., Shore, R. (1995). Experimental study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. *Journal Of Endodontics*, 21, 122-127.
123. Guttuso, J. (1963). Histopathologic study of rat connective tissue responses to endodontic materials. *Journal Of Endodontia*, 16, 713-727.
124. Abou Elreash, A., Hamama, H., Abdo, W., Wu, Q., Zaen El-Din, A., Xiaoli, X. (2019). Biocompatibility of new bioactive resin composite versus calcium silicate cements: An animal study. *Bio Med Central Oral Health*, 19(1), 194; 1-10.
125. Shahi, S., Rahimi, S., Yavari, H. R., Mokhtari, H., Roshangar, L., Abasi, M. M., Sattari, S., Abdolrahimi, M. (2010). Effect of mineral trioxide aggregates and portland cements on inflammatory cells. *Journal Of Endodontics*, 36, 899-903.
126. Dorsett-Martin, W. A., Wysocki, A. B. (2004). Rat models of skin wound healing. *Wound Repair Regeneration*. 12(6):591-599.
127. Chow, P. K. H., Ng, R. T. H., Ogden, B. E. (2008). *Using Animal Models In Biomedical Research*. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.
128. Olsson, B., Sliwkowski, A., Langeland, K. (1981). Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. *Journal Of Endodontics*, 7, 355-369.
129. Mori, G. G., De Moraes, I. G., Nunes, D. C., Castilho, L. R., Poi, W. R., Capaldi, M. L. P. M. (2009). Biocompatibility evaluation of alendronate paste in rat's subcutaneous tissue. *Dental Traumatology*, 25, 209-212.
130. Cintra, L. T. A., Bernabé, P. F. E., de Moraes, I. G., Gomes-Filho, J. E., Okamoto, T., Consolaro, A., Pinheiro, T. N. (2010). Evaluation of subcutaneous and alveolar implantation surgical sites in the study of the biological properties of root-end filling endodontic materials. *Journal Of Applied Oral Science*, 18, 75-82.
131. Silveira, C. M. M., Pinto, S. C. S., Zedebski, R. de A. M., Santos, F. A., Pilatti, G. L. (2011).

Biocompatibility of four root canal sealers: A histopathological evaluation in rat subcutaneous connective tissue. *Brazilian Dental Journal*, 22, 21-27.
132. Gomes-Filho, J. E., Watanabe, S., Lodi, C. S., Cintra, L. T. A., Nery, M. J., Filho, J. A. O., Dezan, E., Bernabé, P. F. E. (2012). Rat tissue reaction to MTA FILLAPEX®. *Dental Traumatology*, 28, 452-456.
133. Valera, M. C., Leonardo, M. R., Consolaro, A., Matuda, F. da S. (2004). Biological compatibility of some types of endodontic calcium hydroxide and glass ionomer cements. *Journal of Applied Oral Science*, 12, 294-300.
134. Tornect, C. D. (1967) Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants Part II. *Oral Surgery, Oral Medicine And Oral Pathology*, 24(5):674-83.
135. Mori, G. G., de Moraes, I. G., Nunes, D. C., Castilho, L. R., Poi, W. R. (2009). Biocompatibility of acetazolamide pastes in the subcutaneous tissue of rats. *Brazilian Dental Journal*, 20, 17-21.
136. Council on Dental Materials and Devices Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. *The Journal Of The American Dental Association*, 84, 382-387.
137. Murray, P. E., Godoy, C. G., Godoy, F. G. (2007). How is the biocompatibilty of dental biomaterials evaluated ? *Medicina Oral Patologia Oral Y Cirugia Bucal*, 12, E258-E266
138. Vosoughhosseini, S., Lotfi, M., Shahi, S., Baloo, H., Mesgariabbasi, M., Saghiri, M. A., Zand, V., Rahimi, S., Ranjkesh, B. (2008). Influence of white versus gray mineral trioxide aggregate on inflammatory cells. *Journal Of Endodontics*, 34, 715-717.
139. Toy, E., Yuksel, S., Ozturk, F., Karatas, O. H., Yalcin, M. (2014). Evaluation of the genotoxicity and cytotoxicity in the buccal epithelial cells of patients undergoing orthodontic treatment with three light-cured bonding composites by using micronucleus testing. *Korean Journal Of Orthodontics*, 44, 128-135.
140. Jonke, E., Franz, A., Freudenthaler, J., König, F., Bantleon, H. P., Schedle, A. (2008). Cytotoxicity and shear bond strength of four orthodontic adhesive systems. *European Journal Of Orthodontics*, 30, 495-502.
141. Pithon, M. M., Dos Santos, R. L., Martins, F. O., Romanos, M. T. V., De Souza Araújo, M. T. (2010). Evaluation of cytotoxicity and degree of conversion of orthodontic adhesives over different time periods. *Materials Research*, 13, 165-169.
142. Pudpong, N., Anuwongnukroh, N., Dechkunakorn, S., Wichai, W., Tua-ngam, P. (2018). Cytotoxicity of three light-cured orthodontic adhesives. *Key Engineering Materials*, 777, 582-586.
143. Jagdish, N., Padmanabhan, S., Chitharanjan, A. B., Revathi, R., Palani, G., Sambasivam, M., Sheriff, K., Saravanamuralih, K. (2009). Cytotoxicity and degree of conversion of orthodontic adhesives. *Angle Orthodontist*, 79, 1133-1138.
144. Uomo, R., Spagnuolo, G., Nocca, G., Galeotti, A., Michelotti, A., Valletta, R., D'Antò, V. (2017). Biocompatibility of Orthodontic Resins: *In vitro* Evaluation Of Monomer Leaching And Cytotoxic Effects. *Current Research In Dentistry*, 8, 8-14.
145. Bationo, R., Rouamba, A., Diarra, A., Beugré-Kouassi, M. L. A., Beugré, J. B., Jordana, F. (2020). Cytotoxicity evaluation of dental and orthodontic light-cured composite resins. *Clinical And Experimental Dental Research*,7,40-48.
146. Yılmaz, B., Bakkal, M., Zengin Kurt, B. (2020). Structural and mechanical analysis of three orthodontic adhesive composites cured with different light units. *Journal Of Applied Biomaterials And Functional Materials*, 18,1-8.
147. Kleinsasser, N. H., Wallner, B. C., Harréus, U. A., Kleinjung, T., Folwaczny, M., Hickel, R., Kehe, K., Reichl, F. X. (2004). Genotoxicity and cytotoxicity of dental materials in human lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (comet) assay. *Journal Of Dentistry*, 32, 229-234.
148. Yoshii, E. (1997). Cytotoxic effects of acrylates and methacrylates: Relationships of monomer structures and cytotoxicity. *Journal Of Biomedical Materials Research*, 37, 517-524.
149. Walters, N. J., Xia, W., Salih, V., Ashley, P. F., Young, A. M. (2016). Poly(propylene glycol) and urethane dimethacrylates improve conversion of dental composites and reveal complexity of cytocompatibility testing. *Dental Materials*, 32, 264-277.
150. Moharamzadeh, K., Brook, I. M., Scutt, A. M., Thornhill, M. H., Van Noort, R. (2008). Mucotoxicity of dental composite resins on a tissue-engineered human oral mucosal model. *Journal Of Dentistry*, 36, 331-336.
151. Mohsen, N. M., Craig, R. G., Hanks, C. T. (1998). Cytotoxicity of urethane dimethacrylate composites before and after aging and leaching. *Journal Of Biomedical Materials Research*, 39, 252-260.

152. Alizadehgharib, S., Östberg, A. K., Dahlstrand Rudin, A., Dahlgren, U., Christenson, K. (2020). The effects of the dental methacrylates TEGDMA, Bis-GMA, and UDMA on neutrophils in vitro. *Clinical and Experimental Dental Research*, 6, 439-447.
153. Reichl, F. X., Esters, M., Simon, S., Seiss, M., Kehe, K., Kleinsasser, N., Folwaczny, M., Glas, J., Hickel, R. (2006). Cell death effects of resin-based dental material compounds and mercurials in human gingival fibroblasts. *Archives Of Toxicology*, 80, 370-377.
154. Moharamzadeh, K., Van Noort, R., Brook, I. M., Scutt, A. M. (2007). Cytotoxicity of resin monomers on human gingival fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *Dental Materials*, 23, 40-44.
155. Poplawski, T., Loba, K., Pawlowska, E., Szczepanska, J., Blasiak, J. (2010). Genotoxicity of urethane dimethacrylate, a tooth restoration component. *Toxicology In Vitro*, 24, 854-862.
156. Urcan, E., Haertel, U., Styllou, M., Hickel, R., Scherthan, H., Reichl, F. X. (2010). Real-time xcelligence impedance analysis of the cytotoxicity of dental composite components on human gingival fibroblasts. *Dental Materials*, 26, 51-58.
157. Nassiri, M. R., Hanks, C. T., Cameron, M. J., Strawn, S. E., Craig, R. G. (1995). Application of flow cytometry to determine the cytotoxicity of urethane dimethacrylate in human cells. *Journal Of Biomedical Material Research*, 28,153-158.
158. Chang, H. H., Chang, M. C., Wang, H. H., Huang, G. F., Lee, Y. L., Wang, Y. L., Chan, C. P., Yeung, S. Y., Tseng, S. K., Jeng, J. H. (2014). Urethane dimethacrylate induces cytotoxicity and regulates cyclooxygenase-2, hemeoxygenase and carboxylesterase expression in human dental pulp cells. *Acta Biomaterialia*, 10, 722-731.
159. Chang, H. H., Chang, M. C., Lin, L. D., Lee, J. J., Wang, T. M., Huang, C. H., Yang, T. T., Lin, H. J., Jeng, J. H. (2010). The mechanisms of cytotoxicity of urethane dimethacrylate to Chinese hamster ovary cells. *Biomaterials*, 31, 6917-6925.
160. Ratanasathien, S., Wataha, J. C., Hanks, C. T., Dennison, J. B. (1995). Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. *Journal of Dental Research*, 74, 1602-1606.
161. RELIANCE: Rely A Bond Primer with and without fluoride safety data sheet. (İnternette) 2018. Erişim 12.12.2020, https://www.relianceorthodontics.com/Reliance%20-%20SDS/Rely%20A%20Bond%20Primer%20SDS.pdf

EK

Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 31.12.2020-E.45968

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 25.12.2020
Toplantı Sayısı : 07
Karar Sayısı : 04

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Bilimler Bölümü Ortodonti Anabilim Dalı öğretim üyesi **Dr. Öğr. Üyesi Ersin YILDIRIM**'ın yürütücüsü olduğu **"Farklı Ortodontik Adeziv Kompozitlerin Rat Subkutan Dokusunda Meydana Getirdiği Histopatolojik Reaksiyonların Karşılaştırılması"** başlıklı bilimsel çalışma önerisi 25.12.2020 tarihli 07 sayılı toplantıda Etik Kurulumuz tarafından görüşülmüş olup, etik açıdan **uygun** olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Aslı Gibidir
e-imzalıdır
Prof. Dr. Ülkan KILIÇ
HADYEK Başkanı

Evrakı Doğrulamak İçin : http://ebys.sbu.edu.tr/enVision/Validate_Doc.aspx?V=BE6E4NJY5

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzanlamıştır.