T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORTODONTİDE KULLANILAN PRİMERLİ VE PRİMERSİZ ADEZİV REZİNLERİN BİYOUYUMLULUKLARININ İN VİTRO OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI

FULYA ÇAĞLA DOĞAN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ŞENİZ KARAÇAY

ORTODONTİ ANA BİLİM DALI
ORTODONTİ DOKTORA PROGRAMI

DOKTORA TEZİ
EYLÜL/2022

“Anneme, babama ve kardeşime ithaf ediyorum”

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bana her konuda yardımcı olan ve tecrübelerini paylaşan değerli danışman hocam Prof. Dr. Şeniz Karaçay'a, tezimin çalışması süresince, çalışmamın planlanmasında ve gerçekleştirilmesinde, bilgilerini esirgemeyen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Gamze Yeşilay'a,

Doktora tezimin laboratuvar çalışma kısımlarında kimyasal analizlerin yapılmasında ve değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mahfuz Elmastaş'a ve Arş. Gör. Duygu Mısırlı'ya,

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini paylaşan Doç. Dr. Ersin Yıldırım ve Dr. Öğr. Üyesi Derya Dursun hocalarıma,

Doktora eğitimim boyunca hep yanımda olan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen canım aileme, bir arada çalışmaktan mutluluk duyduğum, geçirdiğim her an çok kıymetli olan, eğitimim ve tez çalışmam sırasında destekleri olan doktora öğrencisi arkadaşlarıma, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

İTHAF iv
TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
TABLOLAR LİSTESİ ix
ŞEKİLLER LİSTESİ x
SİMGELER VE KISALTMALAR xii
ÖZET xiii
ABSTRACT xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. ADEZİV SİSTEMLER 4
2.2. DENTAL ADEZİV SİSTEM KOMPONENTLERİ 5
2.2.1. Organik Matriks 6
2.2.1.1. Bisfenol A glikol dimetakrilat (BisGMA): 6
2.2.1.2. Trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA): 7
2.2.1.3. Hidroksietil metakrilat (HEMA): 7
2.2.1.4. Üretan dimetakrilat (UDMA): 7
2.2.2. İnorganik Doldurucular 8
2.2.3. Bağlayıcı Ajanlar 8
2.2.4. Başlatıcı-Hızlandırıcı Sistem 9
2.3. ARTIK MONOMER 10
2.4. ARTIK MONOMER MİKTARINI ÖLÇME YÖNTEMLERİ 11
2.4.1. Kromatografi 11
2.4.2. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) 12
2.5. BİYOUYUMLULUK 13
2.6. DİŞ HEKİMLİĞİNDE BİYOUYUMLULUK 13
2.6.1. Hasta Güvenliği 14
2.6.2. Diş Hekimliği Personelinin Güvenliği 14
2.6.3. Mevzuata Uygunluk Sorunları 15
2.6.4. Yasal Sorumluluklar 16
2.7. BİYOUYUMLULUK TESTLERİ 16
2.7.1. In Vitro Testler 16

2.7.2. Hayvan Testleri 16
2.7.3. Kullanım Testleri 17
2.8. İLİŞKİLİ BİYOUYUMLULUK TESTLERİ 17
2.9. FARKLI BİYOUYUMLULUK TESTLERİNİN BİRLİKTE KULLANIMI 18
2.9.1. Hücre Kültürü Testleri 20
2.10. HÜCRE YAPISINDAKİ DEĞİŞİMLER 21
2.10.1. Morfolojik Analizlerin Katkısı 22
2.10.1.1. Işık mikroskobu. 22
2.10.1.2. TUNEL tekniği. 23
2.10.1.3. Floresan mikroskobu. 23
2.10.1.4. Anneksin-V yöntemi. 23
2.10.1.5. Elektron mikroskobu 23
2.10.1.6. Taramalı elektron mikroskobu (SEM): 24
2.11. POLİMERİZASYON VE IŞIK 24
2.11.1. Polimerizasyon 24
2.11.1.1. Radikallerin oluşturulması. 25
2.11.1.2. Polimerizasyon işleminin başlaması. 25
2.11.1.3. Zincir yayılımı. 26
2.11.1.4. Sonlandırma. 26
2.11.2. Dental Işıkla Kürleme 26
2.11.2.1. Ultraviyole kürleme. 26
2.11.2.2. Görünür ışıkla kürleme. 26
2.11.2.3. Dental görünür ışık fotobaşlatıcıları. 27
2.12. GÖRÜNÜR POLİMERİZASYON LAMBALARI 27
2.12.1. Kuvars-Tungsten-Halojen Işıklar (QTH) 27
2.12.2. Plazma Ark Kürleme Birimleri 29
2.12.3. LED Üniteleri 29
3. GEREÇ VE YÖNTEM 31
3.1. ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI 31
3.2. HÜCRE KÜLTÜRÜNÜN HAZIRLANMASI 34
3.3. HÜCRELERİN ADEZİV MATERYALLERLE İNKÜBASYONU 36
3.4. RESAZURİN HÜCRE CANLILIK TESTİ 37
3.5. HÜCRE ÖLÜMÜNÜN BELİRLENMESİ 38
3.6. HPLC İLE KANTİTATİF TAYİN 39
3.7. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME 40

4. BULGULAR 41
4.1. IŞIK KAYNAĞI VE POLİMERİZASYON SÜRESİNİN FİBROBLAST HÜCRE CANLILIK DÜZEYİNE ETKİLERİ 41
4.2. IŞIK KAYNAĞI VE POLİMERİZASYON SÜRESİNİN HÜCRE APOPTOZUNA ETKİLERİ 52
4.3. IŞIK KAYNAĞI VE POLİMERİZASYON SÜRESİNİN ARTIK MONOMER MİKTARINA ETKİLERİ 55
5. TARTIŞMA 71
5.1. GEREÇ VE YÖNTEMİN TARTIŞILMASI 71
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 83
KAYNAKLAR 84
EK 93

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan materyaller ve içerikleri 31

Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan materyallerin gruplara göre ayrılması 33

Tablo 3.3: Çalışmada kullanılan örneklerin kullanılan ışık cihazı ve ışınlama süresine göre dağılımı 34

Tablo 3.4: HPLC pompa program 40

Tablo 4.1: Farklı ışık cihazları ile farklı sürelerde polimerize edilen materyallerin, fibroblast hücre canlılık düzeylerine etkilerinin "Tek Yönlü Varyans Analizi" ile karşılaştırılması..... 41

Tablo 4.2: Çalışmada kullanılan materyallerin farklı ışık cihazları ile farklı sürelerde polimerizasyonunun 1., 3. ve 7. günlerde fibroblast hücre canlılık düzeylerine etkilerinin "Eşleştirilmiş Tek Yönlü Varyans Analizi" ile karşılaştırılması 42

Tablo 4.3: Çalışmada kullanılan materyallerin farklı ışık cihazları ile farklı sürelerde polimerizasyonunun fibroblast hücre canlılık düzeylerine etkilerinin günlere göre "Newman Keuls Çoklu Karşılaştırma" testi ile karşılaştırılması 43

Tablo 4.4: Çalışmada kullanılan materyallerin polimerizasyonu için kullanılan ışık cihazlarının, fibroblast hücre canlılık düzeylerine etkilerinin "Bağımsız t" testi ile karşılaştırılması 46

Tablo 4.5: Çalışmada kullanılan materyallerin polimerizasyon sürelerinin, fibroblast hücre canlılık düzeylerine etkilerinin "Bağımsız t" testi ile karşılaştırılması 48

Tablo 4.6: Pozitif ve negatif kontrol gruplarının 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeylerinin "Eşlendirilmiş Tek Yönlü Varyans Analizi" ve "Bağımsız t testi" ile karşılaştırılması 50

Tablo 4.7: Pozitif kontrol grubuna ait fibroblast hücrelerinin canlılık düzeylerinin günlere göre Newman Keuls Çoklu Karşılaştırması 50

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Spesifik olmayan toksisite, spesifik toksisite ve klinik deneylerin piramit şeması 18

Şekil 2.2: Primer, sekonder ve kullanım testlerinin piramit şeması 19

Şekil 3.1: Hücre kültürünün hazırlanma aşamaları ve kullanılan cihazlar 36

Şekil 3.2: Adeziv materyallerin deneyler için hazırlanması 37

Şekil 3.3: Hücre canlılık ölçümü için kuyucukların hazırlanması 38

Şekil 3.4: Multimodlu plaka okuyucuda ölçüm alınması. 38

Şekil 3.5: Annexin-V kiti 39

Şekil 3.6: Floresan Mikroskop 39

Şekil 4.1: Çalışmada kullanılan grupların her iki ışık kaynağıyla polimerizasyonu sonucunda hücre canlılık düzeyleri 50

Şekil 4.2: Pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait 1., 3. ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri 51

Şekil 4.3: Biofix grubuna ait hücrelerin görüntüsü 52

Şekil 4.4: Transbond XT+Primer grubuna ait hücrelerin görüntüsü 53

Şekil 4.5: Transbond XT grubuna ait hücrelerin görüntüsü 53

Şekil 4.6: Primer grubuna ait hücrelerin görüntüsü 54

Şekil 4.7: Negatif kontrol grubuna ait hücre görüntüleri 54

Şekil 4.8: Pozitif kontrol grubuna ait hücre görüntüleri 55

Şekil 4.9: Transbond XT+Primer grubunda 1. gün açığa çıkan BisGMA miktarları 56

Şekil 4.10: Biofix grubunda 1. gün açığa çıkan BisGMA miktarları 57

Şekil 4.11: Transbond XT grubunda 1. gün açığa çıkan BisGMA miktarları 58

Şekil 4.12: Primer grubunda 1. gün açığa çıkan BisGMA miktarları 59

Şekil 4.13: Çalışmamızda Primer ve Transbond XT örneklerinin bir arada kullanıldığı gruptaki 3. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları 60

Şekil 4.14: Çalışmamızda Biofix örneklerinin kullanıldığı gruptaki 3. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları 61

Şekil 4.15: Çalışmamızda Transbond XT örneklerinin kullanıldığı gruptaki 3. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları 62

Şekil 4.16: Çalışmamızda Primer örneklerinin kullanıldığı gruptaki 3. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları 63

Şekil 4.17: Çalışmamızda Primer ve Transbond XT örneklerinin bir arada kullanıldığı gruptaki 7. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları 64

Şekil 4.18: Çalışmamızda Biofix örneklerinin kullanıldığı gruptaki 7. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları 65

Şekil 4.19: Çalışmamızda Transbond XT örneklerinin kullanıldığı gruptaki 7. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları 66

Şekil 4.20: Çalışmamızda Primer örneklerinin kullanıldığı gruptaki 7. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları 67

Şekil 4.21: Işık cihazı ve polimerizasyon süresine göre 1., 3. ve 7. günlerde açığa çıkan artık monomer miktarlarını gösteren grafik 69

Şekil 4.22: Işık cihazı ve polimerizasyon süresine göre 1.,3. ve 7. günlerde açığa çıkan artık monomer miktarları 70

SİMGELER VE KISALTMALAR

BisGMA : Bisfenol A Glisidil Metakrilat

BPA : Bisfenol A

CİS : Cam İyonomer Siman

CQ : Komforkinon

DA : Dental Adeziv

DMPT : N, N-Dimetil-P-Toluidin

EM : Elektron Mikroskobu

FBS : Fetal Bovin Serum

GFBC : Gingival Fibroblast Hücresi

HEMA : Hidroksietil Metakrilat

HPLC : Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

LED : Light Emited Diode

MC : Mitotik Zar

PAC : Plazma Ark Kürleme

PBS : Fosfat Tamponlu Tuz

PLA : Polilaktik Asit

PMMA : Polimetil Metakrilat

PPD : 1-Fenil-1 2 Proanedion

SEM : Taramalı Elektron Mikroskobu

TEG : Trietilen Glikol

TEGDMA : Trietilen Glikol Dimetakrilat

TEM : Transmisyon Elektron Mikroskobu

TUNEL : Terminal Deoksinükleotidil Transferaz Aracılı DUTP Çentik Uç Etiketleme

UDMA : Ürethan Dimetakrilat

UV : Ultraviyole

ORTODONTİDE KULLANILAN PRİMERLİ VE PRİMERSİZ ADEZİV REZİNLERİN BiYOUYUMLULUKLARININ İN VİTRO OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI

ÖZET

Amaç: Ortodontide kullanılan primerli ve primersiz adeziv rezinlerin farklı ışık cihazları ile farklı sürelerde polimerizasyonu sonucunda açığa çıkan artık monomer miktarını ve fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini incelemek.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda Tranbond XT, Biofix, Transbond XT+Primer ve sadece Primer kullanılmış, artık monomer miktarları ve fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Tüm örnekler 3M Elipar S10 ve VALO Ortho Cordless LED cihazlarıyla 20 sn ve 40 sn polimerize edilmiş, Bisfenol A Glisidil Metakrilat monomerinin salınımı ve 1., 3. ve 7. günlerde fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir.

Bulgular: En fazla artık monomer Biofix grubunda gözlenirken, en az Transbond XT grubunda ve Primer grubunda gözlemlenmiştir. Fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri değerlendirildiğinde, Transbond XT+Primer grubunun Valo ışık kaynağı ile 20 sn polimerizasyonu sitotoksik etki göstermezken, 40 sn polimerizasyonu 7. günde sitotoksik bulunmuştur ($p<0,05$). Bu grupta 3M ışık cihazı daha iyi sonuç vermiş, 40 sn polimerizasyonda fibroblast hücre sayılarında 3. ve 7. günde artış olmuştur. Biofix ve Transbond XT gruplarında 3M ışık cihazı ile 20 sn polimerizasyon 7. günde sitotoksik etki gösterirken ($p<0,05$), 40 sn polimerizasyonu sitotoksik bulunmamıştır. Biofix grubunun Valo ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonunda 7. günde sitotoksik etki görülmüştür ($p<0,05$). Transbond XT grubunda Valo ışık kaynağı ile 40 sn polimerizasyon 7. günde sitotoksik bulunurken ($p<0,05$), Primer grubunda 3M ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyon sitotoksik bulunmuştur ($p<0,05$).

Sonuç: Kullanılan ışık kaynağı ve polimerizasyon süresi fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri ve salınan artık monomer miktarını değiştirmiştir. Polimerizasyon sürelerini belirlerken kullanılan LED ışık cihazlarının gücünün göz önünde bulundurulması fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkiyi azaltmada etkili olabilir.

Anahtar Kelimeler: Artık Monomer, Hücre Kültürü, Ortodontik Adeziv, Polimerizasyon, Sitotoksisite

IN VITRO COMPARISON OF BIOCOMPATIBILITY OF PRIMER AND NON-PRIMER ADHESIVE RESINS USED IN ORTHODONTICS

ABSTRACT

Aim: To examine the amount of residual monomer released as a result of polymerization of primered and unprimed adhesive resins used in orthodontics with different light devices at different times and their cytotoxic effects on fibroblast cells.

Materials and Methods: In our study, Tranbond XT, Biofix, Transbond XT+Primer and only Primer were used, residual monomer amounts and their cytotoxic effects on fibroblast cells were evaluated. All samples were polymerized for 20 seconds and 40 seconds with 3M Elipar S10 and VALO Ortho Cordless LED devices, and the release of Bisphenol A Glycidyl Methacrylate monomer and its cytotoxic effects on fibroblasts on the 1st, 3rd and 7th days were evaluated.

Results: The most residual monomer was observed in the Biofix group, while the least was observed in the Transbond XT group and the Primer group. When the cytotoxic effects on fibroblast cells were evaluated, 20 sec polymerization of Transbond XT+Primer group with Valo light source did not show any cytotoxic effect, while 40 sec polymerization was found to be cytotoxic on the 7th day ($p<0.05$). In this group, the 3M light device gave better results, and there was an increase in the number of fibroblast cells on the 3rd and 7th days in 40 sec polymerization. In Biofix and Transbond XT groups while 20 sec polymerization with 3M light device showed cytotoxic effect on the 7th day ($p<0.05$), 40 sec polymerization was not cytotoxic. Cytotoxic effect was observed on the 7th day in the 20 sec and 40 sec polymerization of the Biofix group with Valo light source ($p<0.05$). In the Transbond XT group, 40 sec polymerization with Valo light source was found to be cytotoxic on the 7th day ($p<0.05$), while 20 sec and 40 sec polymerization with 3M light source in the Primer group was cytotoxic ($p<0.05$).

Conclusion: The light source and polymerization time used changed the cytotoxic effects on fibroblast cells and the amount of residual monomer released. Considering the power of the LED light devices used when determining the polymerization times may be effective in reducing the cytotoxic effect on fibroblast cells.

Key Words: Cell Culture, Cytotoxicity, Orthodontic Adhesive, Polymerization, Residual Monomer

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Toplumsal bilinç düzeyi geliştikçe insanların sağlıklarına verdikleri önem de artmaktadır. Bu durum insanın genel sağlık kaygısına ve dolaylı yoldan diş sağlığına da yansımaktadır. Diş sağlığının önem kazanması ve insanların estetik beklentileri diş hekimliğini de geliştirmektedir. Bu durum diş hekimliğinin bütün uzmanlık alanlarına yansımaktadır. Gelişen teknolojiyle birlikte ortodontik malzemelerin çeşitliliği de artmış ve alternatif birçok sistem geliştirilmiştir. Bu sistemlerin kullanımında hastaların güvenli tedavisini sağlamak için dental materyallerin biyouyumluğunu ve olası sitotoksisitesini tanımlamak hasta sağlığı açısından çok önemlidir.

Ortodontide kullanılan çeşitli adeziv sistemleri mevcuttur. Adeziv sistemlerin kullanıldığı bonding aşaması klinik olarak farklı prosedürlere sahiptir. Bunlar etch-rinse (asitleme ve durulama), self-etch (kendinden asitli), self adeziv sistemler olarak ayrılırlar. Son yıllarda hastaların koltukta geçirdiği zamanı azaltmak ve hekimin kullanımını kolaylaştırmak, bonding aşamasını hızlandırmak ve braketlerin yapıştırılması sırasında tükürük kontaminasyonunu azaltmak amacıyla, primer kullanılmadan uygulanan kompozit rezinler üretilmiştir. Primersiz kompozitlerle, braketin bağlanma dayanıklılığı konusunda çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen, yaptığımız literatür araştırmasında bu materyalin biyouyumluluğunu ve sitotoksisitesini tespit etmek için yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Oysa bu materyallerin fibroblast hücreleri üzerine olası sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi hastaların dişeti sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Tez çalışmamızın amacı; ortodontide kullanılan primerli ve primersiz adeziv rezinlerin biyouyumluluklarını in vitro olarak karşılaştırmaktır. Sitotoksisiteye neden olan etkenleri bulabilmek amacıyla primerli ve primersiz adezivler farklı cihazlarla, farklı dalga boyunda ve farklı sürelerde polimerize edilerek ışık kaynağının ve polimerizasyon süresinin, sitotoksisite ve hücre ölümü üzerine etkileri incelenmiştir. Adeziv sistemler yapılarında monomerler barındırmaktadırlar. Yetersiz polimerizasyon ve ışık süresi gibi sebeplerden dolayı monomerler tamamen polimere dönüşmeyip artık monomer olarak kalmaktadır. Artık monomer kalması materyalin sitotoksisitesini arttırmakta ve bu durum biyouyumluluk sorununa yol açmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda kullanılan ortodontik primer ve adezivlerin biyouyumluluğunu

tespit etmek için yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) testleri kullanılarak, bu materyaller tarafından salınan atık monomer miktarı tespit edilmiş, ayrıca Annexin-V boyası kullanılarak hücre ölümü değerlendirilmiştir.

Literatürde restoratif rezinlerin biyouyum veya sitotoksisitesinin araştırıldığı birçok çalışma olmasına rağmen ortodontik adezivlerde sitotoksisitenin değerlendirildiği araştırma sayıca yetersizdir. Klinikte uzun süredir kullanılıyor olmasına rağmen primersiz ortodontik adezivlerin fibroblast hücreleri üzerindeki etkisinin daha önce hiç araştırılmamış olması literatürde büyük bir boşluğa sebep olmaktadır. Çalışmamızda primerli konvensiyonel ortodontik adeziv rezin ile primersiz ortodontik adeziv rezin fibroblast hücre kültürü ortamında biyouyumluluk açısından karşılaştırılmış ve sitotoksisiteyi etkileyen faktörler tespit edilmeye çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Diş hekimliği sürekli gelişen bir alandır ve dental uygulamaları daha fonksiyonel duruma getirebilmek için farklı özelliklere sahip yeni restoratif materyaller geliştirilmektedir. Gelişen teknolojiye rağmen biyouyumlu, antimikrobiyal ve mekanik özellikleri yeterli olan biyomateryal gereksinimi devam etmektedir. Diş hekimliğinde kullanılan materyaller diş dokularını koruyarak, uygulandığı bölgede dokular üzerinde toksik etki göstermemeli, bakteri penetrasyonunu engelleyecek şekilde diş dokusuna hermetik bağlanma sağlayabilmelidir (1–3).

Adeziv sistemler hem ortodonti alanında hem de restoratif amaçla yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Adeziv sistemler üzerinde yapılan bilimsel çalışmalar yaygın olarak restoratif diş hekimliği alanında yapılmıştır. Oral dokularla temas eden adezivler bu dokularda alerjik, toksik, mutajenik, karsinojenik ve inflamatuar reaksiyonlara neden olabilmektedirler (4). Adeziv rezinlerin dezavantajlarından olan yetersiz polimerizasyon; rezinin mekanik özelliklerini negatif yönde etkileyeceği gibi uygulama sonrasında pulpada ve oral kavitede temas ettiği yumuşak dokularda sitotoksisiteye neden olabilecek serbest rezin monomerlerin salınmasına yol açmaktadır. Bu nedenle biyouyumluluk, restoratif materyallerde ön planda tutulması gereken bir faktördür (5). Yapılan çalışmalarda, biyouyumluluk sorununa ilişkin olarak diş hekimliği personelinde sıklıkla el dermatozlarına rastlandığı ve ortodonti alanında çalışan personelde bu lezyonların daha sık görüldüğü bildirilmiştir (6–8).

Ortodonti alanında kullanılan adeziv rezinler bonding aşamasında braketlerin, tüplerin ve diğer sabit ataçmanların, debonding aşamasında ise sabit pekiştirme apareylerinin mine yüzeyine yapıştırılması için sıklıkla kullanılmaktadır. Bonding aşaması genellikle sabit ortodontik tedavilerin hasta başında geçirilen en uzun kısmıdır. Bonding aşaması konvasyonel olarak; minenin asitle pürüzlendirilmesi, primer uygulanması ve adeziv rezin ile sabit ortotodontik ataçmanın mine yüzeyine yapıştırlması aşama olarak sıralanır. Dişlere braket ya da diğer sabit ortodontik ataçmanların yapıştırılması işlemi sırasında uygulanan primer yıllardır tartışma konusu olmuştur. Pürüzlendirilmiş mine yüzeyine primer uygulama basamağının şart olmadığını ifade eden araştırmalar 1970'lere dayanmaktadır. Araştırmacılar, kompozit rezinlerin yüzeyinde, pürüzlendirilmiş minedeki porları dolduracak kadar doldurulmamış rezin bulunduğunu

ve ilave bir doldurulmamış rezin kullanımına gerek olmadığını bildirmişlerdir (9). Bonding aşamasında primer uygulanmadığında; hekimin hasta başında geçirdiği zamanın azalmasının yanı sıra, braketleme işlemi sırasında oluşabilecek tükürük kontaminasyonu sebebiyle braketin diş ile olan yapışma kalitesinin bozulmasına bağlı olarak braket tutuculuğunun azalması gibi ortaya çıkabilecek potansiyel hatalar azaltılabilir. Ayrıca kullanılan ürünlerin sayısı azalacağından, ekonomik bir kazanç da sağlanacaktır (10,11). Bunlara ek olarak primer ajanların içinde bulunan akrilatların önemli kontakt alerjenler oldukları düşünüldüğünde, primer uygulama basamağını kaldırmak, sıvı rezin ve polimerize olmamış komponentleri de ortadan kaldıracağı için dermatozların görülme sıklığını düşürme konusunda etkili olabilir (12).

Monomerler yeterli oranda polimerize olmadığında artık monomer sayısı artmaktadır ve bu durum sitotoksisiteye neden olmaktadır. Diş hekimliğinde kullanılan rezin esaslı materyallerin polimerizasyonu genellikle serbest radikal polimerleşmesiyle gerçekleşmektedir (13). Son yıllarda üretici firmalar çalışmalarını, rezin materyallerdeki monomerlerin polimerlere dönüşümlerini maksimum düzeye çıkarabilecek ve böylece artık monomer kalmasını engelleyerek, sitotoksisiteyi minimuma indirgeyebilecek farklı ışık kaynakları üzerinde yoğunlaştırmışlardır (14). Bu anlamda geleneksel halojen teknolojisi ile çalışan ışık cihazlarının en büyük alternatifi solid State Light Emited Diode (LED) ışık cihazları olmuştur. LED ışık cihazlarının en önemli avantajlarından birisi, dalga boylarının ortalama 470 nm olmasıdır. Bu dalga boyunun kompozit ve kompomer materyallerinin içinde bulunduğu ileri sürülen kamforokinon fotobaşlatıcı için ideal olduğu ve bu noktada neredeyse tüm kamforokinonun aktive olarak kendilerine bağlı radikallerin serbestleşmesini sağladığı, böylece polimerizasyonun maksimum olduğu savunulmaktadır (15).

Genel olarak restoratif diş hekimliği alanında adeziv sistemlerin avantajları, dezavantajları ve sitotoksik etkileri üzerinde sıklıkla çalışmalar yapılmış olmasına rağmen ortodonti alanında daha nadir araştırmalar yapıldığı görülmektedir. Ortodonti alanında primersiz adeziv materyallerin kullanımı yaygınlaşmaktadır.

2.1. ADEZİV SİSTEMLER

Adeziv rezin, birbiri içinde tamamıyla çözünmeyen farklı özellik ve yapıdaki iki veya daha fazla maddenin birleşmiş halidir. Birleşimin içeriğinde bulunan maddeler tek başına taşımadıkları özelliklere adezivin içeriğinde sahip hale gelirler (16). Rezin esaslı

materyaller, organik bir matriks içerisine belirli oranlarda ilave edilen inorganik doldurucular ve dolduruculuların organik matrikse bağlanmasını sağlayan bağlayıcı (silan) kısımdan oluşur (17). Mine ve dentin dokusuna adezyon ile bağlanan adeziv rezinler, ilk olarak 1962 yılında Dr. Ray Bowen tarafından tanıtılmıştır. Bowen, epoksi rezinlerin yapısında bulunan epoksi gruplarının yerine metakrilat gruplarını ekleyerek BisGMA monomerini oluşturmuş ve bu monomer içerisine inorganik grupları da ilave ederek ilk rezin esaslı adezivleri geliştirmiştir (18,19). Diş hekimliğinde ilk kullanımları toz-likit karışımı şeklinde olan adeziv rezinler daha sonra iki pat şeklinde kullanılmıştır. Ancak iki pat karıştırılırken oluşabilecek hava kabarcıkları adeziv rezinin direncini düşüreceği için ayrıca çalışma süresinin kısa olması ve tek seferde uygulama zorluğu olması, iki pat sistemini dezavantajlı duruma düşürmüştür. Bu nedenle günümüzde tek pat sistemleri ve dalga boyu ortalama 460 nm olan görünür ışıkla polimerize edilen adeziv rezin materyalleri kullanılmaktadır (20). Adeziv rezin sistemlerinin diş dokusuna bağlanabilmeleri, kalan diş yapısını desteklemeleri, düşük ısı iletkenlikleri, yapısının gelişen teknoloji ile sürekli yenilenmesi gibi avantajları vardır (21,22). Ancak adeziv rezinin uygulanması sırasında adeziv sistemlerin kullanımının teknik hassasiyet gerektirmesi maliyetli olmasına neden olmaktadır (23). Rezin esaslı adezivler, ön/arka bölgedeki süt ve daimi dişlerin restorasyonunda restoratif ve koruma amaçlı, koruyucu rezin restorasyonların uygun olduğu pit ve fissür çürüklerinin restorasyonunda, ortodonti tedavilerinde sabit ataçmanları yapıştırma amacıyla kullanılmaktadır (24). Ancak, tükürük izolasyonunun sağlanamadığı dişlerde, geniş ve çok yüzeyli restorasyon ihtiyacı olan azı dişlerinde ve ağız hijyeni kötü olan yüksek çürük riskli hastalarda kullanımları uygun değildir.

Restoratif işlemlerde klinik başarıyı direkt etkileyen faktörlerin başında bağlayıcı ajanlar gelmektedir. Adeziv sistemler klinik kullanımda iyi bir bağlantı ve sızdırmazlık sağlamalı ve pulpa dokusuna ve biyolojik yapılara zarar vermemelidir. Adezivin bu etkisi uygulandığı mine ve dentinin yapı ve içeriğine, pulpadaki basınca, smear tabakasına, polimerizasyon için kullanılan ışık cihazının çeşidine, ortamın nemine ve polimerizasyonun süresine göre değişebilmektedir (25).

2.2. DENTAL ADEZİV SİSTEM KOMPONENTLERİ

Adeziv sistemlerin yapısında yer alan rezin monomerler, polimerizasyon sonrası ana yapı olarak görev yapan polimer içerikli matriks yapısıyla kompozit ve diğer rezin

sistemlere benzerdir. Bu nedenle monomerler adeziv sistemlerin önemli yapılarındandır (26). Adeziv sistemlerin içeriğini organik matriks, reaksiyon başlatıcılar, inhibitörler, inorganik doldurucular ve bağlayıcı ajanlar oluşturur.

2.2.1. Organik Matriks

Günümüzde cam iyonomer simanlar (CİS), silikatlar, rezin bazlı kompozitler vb. gibi farklı dental materyaller geliştirilmiştir. Bu dental restoratif malzemeler arasında iyi estetik özelliklerin yanı sıra ağızdaki yüksek basınç kuvvetlerine dayanma yeteneklerinden dolayı reçine bazlı kompozit materyaller yaygın olarak restoratif dental alanda kullanılmaktadır (27). BisGMA, Trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA), ürethan dimetakrilat (UDMA), Hidroksietil metakrilat (HEMA) gibi monomerler geliştirilmiştir ve dental materyallerde daha iyi estetik, mekanik ve aşınma özellikleri elde etmek için bu reçine monomerlerinde farklı partikül boyutlarına sahip çeşitli dolgular geliştirilmiştir (27).

2.2.1.1. Bisfenol A glikol dimetakrilat (BisGMA): BisGMA, Bisfenol A (BPA) ve glisidil metakrilattan oluşur (28). BPA, iki hidroksifenil grubuna sahip bisfenol ve difenil-metan türevi grubuna ait renksiz katı, kristalli, organik ve sentetik bir bileşiktir (29). Suda çok az çözünmektedir ancak organik çözücülerdeki çözünme oranı yüksektir. 1957'den beri ticari olarak epoksi reçine ve polikarbonatların sentezi için kullanılmaktadır. 1950'de plastik üretiminde yaygın olarak kullanılan berrak sert reçine polikarbonatı üretmek için BPA fosgen (karbonil klorür) ile birleştirilmiştir (30).BisGMA (2, 2-bis [4- (2-hidroksi-3-metakrililoksipropoksi)] -fenil propan) veya bisfenol A-Glisidil metakrilat (Moleküler Ağırlık: 512), metakrilik asit ve bisfenol a diglisidil eterinin bir reaksiyon ürünüdür. Bisfenol A diglisidil eter, epoksi reçinelerin bileşeni olarak kullanılan renksiz, katı bir organik bileşiktir. Erime sıcaklığı oda sıcaklığının biraz üzerindedir. BisGMA, çok yüksek viskozitesinden ve düşük hareketliliğinden sorumlu olan sert bir merkezi fenil halkası çekirdeğine ve iki asılı hidroksil grubuna sahiptir. Hidroksil grupları, yüksek su emme kapasitesini ve etkileşim nedeniyle güçlü hidrojen bağı olarak fenil halkanın merkezi çekirdeğini arttırır (31,32). Reçine bazlı dental materyaller alanında en yaygın olarak kullanılan monomerdir (33). BisGMA'nın daha yüksek viskozitesi, işleme sorunlarını ortaya çıkarır ve monomerin daha düşük derecede dönüşümünden sorumludur (34). BisGMA kullanmanın, metil metakrilat gibi diğer küçük boyutlu dental monomerlere göre avantajları, daha az büzülmesi ve daha yüksek modül

içermesidir. Aynı zamanda daha düşük uçuculuğa sahiptir ve dokulara yayılımı nedeniyle toksisitesi azaltılmıştır (35). BisGMA'nın yüksek viskozitesinin dezavantajını azaltmak amacıyla daha esnek dimetakrilat monomerleri yani TEGDMA kullanılarak inceltilmelidir (36). Hidroksil grupları arasındaki güçlü hidrojen bağları nedeniyle BisGMA monomeri, polimer morfolojik heterojenitesine sahip olsa bile orta düzeyde darbe mukavemeti gösterir (37). Büzülme değeri %5,2 olarak bildirilmektedir (38). BisGMA, diğer monomerlerle karşılaştırıldığında daha yüksek kırılma indisine sahip olduğu için dental kompozitlerde kullanımı yaygındır.

2.2.1.2. Trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA): Yüksek sıcaklıkta gümüş oksit (AgO2) katalizörü varlığında etilenin oksidasyonu, hidrasyondan sonra reaksiyon ürünü olarak trietilen glikol (TEG) veren etilen oksidi oluşturur. Metakrilik asit, TEG ile reaksiyona girdiğinde, TEGDMA olarak bilinen bir dimetakrilat oluşturur. Bu reaksiyonda metakrilat grupları, TEGDMA'yı oluşturan TEG'nin her bir ucuna bağlanır. Düşük viskozitesi nedeniyle dental kompozitlerde sıklıkla seyreltici olarak kullanılır. TEGDMA'nın zincirleri arasındaki polar bağ etkileşiminin zayıf, omurga yapısının ise esnek olması düşük viskoziteye neden olur. TEGDMA, BisGMA'ya benzer terminallerde iki işlevsel metakrilat grubuna sahip uzun bir moleküldür. Bununla birlikte, iki metakrilat grubu arasında doğrusal bir zincir olması nedeniyle BisGMA'ya kıyasla daha düşük viskoziteye sahiptir. Bu nedenle BisGMA için bir seyreltici olarak kullanılır, kompozit reçinenin işlenme işlemini kolaylaştırmak amacıyla içeriğine yüksek dolgu ilavesi yapılmıştır (36). Reçine matrisine TEGDMA eklemenin; yüksek su emme kapasitesi, azaltılmış mekanik özellikler ve düşük renk kararlılığı gibi dezavantajları bulunmaktadır. Polimerizasyon sırasında BisGMA ve TEGDMA, bu dolgu partiküllerinin içine ilave edilen birleştirme ajanı aracılığıyla inorganik dolgu partikülleri ile oldukça stabil akrilik bağlar oluşturur. İyi mekanik ve kimyasal özelliklere sahip üç boyutlu bir bağ oluşur.

2.2.1.3. Hidroksietil metakrilat (HEMA): Metakrilik asitten, etilen glikolün trans esterifikasyon reaksiyonu yoluyla veya etilen oksit ve metakrilik asidin reaksiyonuyla sentezlenebilir (39). Hidrofilik özellikleri ile karakterize, çoğu adeziv sistemin önemli bir bileşeni olan düşük moleküler ağırlıklı bir monomerdir.

2.2.1.4. Üretan dimetakrilat (UDMA): Foster ve Walter tarafından 1974 yılında geliştirilmiştir (40). Hidroksialkil metakrilatlardan ve disosiyanatlardan sentezlenmiştir. Monomer zincirinde bir fenol halkasının olmaması nedeniyle

BisGMA'ya kıyasla daha yüksek esneklik ve doygunluğa sahiptir. BisGMA'dan 100 kat daha düşük viskoziteye sahip olması nedeniyle birçok dental kompozit reçine materyalinde BisGMA yerine kısmen veya tamamen UDMA monomeri tercih edilmektedir (40) .UDMA'nın viskozitesi TEGDMA'dan daha yüksek, BisGMA'dan çok daha düşüktür (41). UDMA, metakrilatlar arasında alifatik bir aralayıcı grup içerir, ancak sert yarı-konjuge çift bağlar içeren ve aynı zamanda hidrojen bağları oluşturan üretan gruplarının varlığı nedeniyle nispeten yüksek bir cam geçiş sıcaklığı sergiler(35). UDMA bazlı reçineler, BisGMA bazlı reçinelere kıyasla daha yüksek polimerizasyon oranına ve dönüşüm derecesine sahiptir (42).

2.2.2. İnorganik Doldurucular

Kompozit materyalin mekanik ve fiziksel özelliklerini geliştirmek amacıyla doldurucular kullanılmıştır. İnorganik doldurucuların avantajları termal genleşmenin olumsuz etkilerini baskılaması ve polimerizasyon büzülmesinin önüne geçmesidir. Kullanım alanlarına göre kompozit materyallerin oranı belirlenerek, uygulanabilirlik ve estetik özellikler değiştirilebilir (43). Kompozite radyoopaklık sağlamak için çinko, baryum, stronsiyum, alüminyum veya zirkonyum kullanılmaktadır (44).

2.2.3. Bağlayıcı Ajanlar

İnorganik nanopartiküller topak şekilde olabilir ve dental kompozit içinde homojen olmayan bir şekilde dağılabilirler. Dolgu partikülünün homojen dağılımını sağlamak ve reçine fazı ile optimum uyumluluğu elde etmek için dolgu partiküllerinin çeşitli yüzey modifikasyon teknikleri önerilmiştir. Ultraviyole lazer ve duman oksidasyonu yoluyla fiziksel yüzey modifikasyonu elde edilebilse de bu teknikler diş hekimliğinde kullanılan materyallerde çok popüler değildir. Kimyasal modifikasyonlar, inorganik dolgu partikülleri ile silan bağlama ajanı ve içeriğe eklenen polimerik zincir gibi küçük moleküller arasındaki kimyasal reaksiyon yoluyla, partiküller üzerinde mevcut olan hidroksil gruplarına kovalent bağlanma yoluyla dolgu partikülünün yüzeyini değiştirir. Dental kompozitin dayanıklılığı arayüz özelliklerini iyileştirerek önemli ölçüde geliştirilebilir. Arayüz kalitesi; dönüşüm derecesinin, dolgu maddesi partiküllerinin dispersiyonunun, dolgu maddesi yükleme miktarının ve dental kompozitin mekanik özelliklerinin iyileştirilmesinde çok önemli bir rol oynar (45). Zirkonat, titanat ve silanlar

gibi birleştirme ajanları arasında zirkonat oldukça reaktiftir ve bu nedenle reaktif hidroksil grubu içermeyen yüzeyler için kullanılır.

2.2.4. Başlatıcı-Hızlandırıcı Sistem

Uçlarında bir metakrilat grubu bulunan doğrusal moleküller, reçine esaslı dental kompozitlerde en yaygın olarak kullanılan monomerlerdir. Zincir büyümesi polimerizasyonu, monomerlerin polimerizasyon yoluyla polimerlere dönüştürülmesinden, yani başlatma, yayılma ve sonlandırma gibi üç aşamadan sorumludur. Metakrilat bazlı kompozitlerin çoğunda foto başlatıcılar tarafından serbest radikaller oluşur. Polimerizasyon işlemi, monomer molekülünün üretilen radikal ve metakrilat grubu arasında foto başlatma sırasında oluşan serbest radikaller tarafından başlatılır. Metakrilatlanmış radikal ve alken grubu bir elektronu dönüştürür. Alken grubunun kalan elektronunun monomerin zıt terminaline ulaşmasıyla, tüm molekül bir radikal haline gelerek başka bir monomerle reaksiyona girer ve iki radikal birbiriyle reaksiyona girdiğinde sona eren zincir reaksiyonu ile sonuçlanır. Dental kompozitlerin birden fazla dimetakrilat monomerine sahip olması basit polimerizasyonunyanı sıra daha iyi mekanik ve aşınma direnci özelliğine sahip yüksek oranda çapraz bağlanmış polimerlerle sonuçlanır (29).

Diş reçineleri, ilk olarak 1975 yılında foto polimerizasyon ile kürlenmiştir. Foto polimerizasyon işlemi, foto başlatıcı ve bir elektron donörü veya üçüncül amin içeren foto başlatma sistemi sayesinde başlar. Görünür ışık spektrumlarında 360-510 nm'lik geniş absorbans aralığı ve 468 nm'de pik absorbansı nedeniyle kamforkinonun (CQ) foto başlatıcı olarak kullanılması tercih edilir. 474 nm'ye batokromik kayma (en yüksek emilim dalga boyunun uzatılması), CQ, TEGDMA gibi monomerler içinde çözüldüğünde meydana gelir. Mavi ışık yayan diyotların (LED), dalga boyu aralığı 400-500 nm aralığındadır ve yaygın olarak kullanılırlar. CQ kullanmanın en büyük dezavantajı, polimerizasyon sırasında LED'ler tarafından beyazlatılabilen sarı rengidir (29).Yapılan bir çalışmada, membran bütünlüğünü ve geçirgenliğini etkileyen yapısal lipidlerin metabolizmasını değiştirebileceğini göstermektedir (46). Soluk sarı bir sıvı 1-fenil-1, 2 propanedion (PPD), hem tip I hem de tip II reaksiyonları kullanarak serbest radikaller oluşturan bir -diketondur. Işık soğurma aralığı 300-400 nm, tepe noktası 410 nm'dir. CQ'nun iki karbonil radikalinden farklı olarak, serbest PPD radikalleri yeniden birleşmemiş ve CQ'ya kıyasla uzun süreli etkisine neden olmuştur. 1:1 ve 1:4 oranında

CQ ve PPD birleştirildiğinde kür derinliğinde önemli iyileşme bildirilmiştir (47). Mekanik özelliklerde ve dönüşüm derecesindeki iyileşmeyi görmek amacıyla, CQ ile PPD kullanılmıştır (48). PPD'nin soğurma aralığı geleneksel LED'lerinkine benzer olduğundan, foto polimerizasyon işlemi için CQ ile birlikte kullanılabilir (48).

Aminler, radikalleri başlatarak proton ve elektron transferi yoluyla polimerizasyonu hızlandırmak için ortak reaksiyon başlatıcılar veya hızlandırıcılar olarak kullanılır. En sık kullanılan ortak başlatıcılardan biri N, N-dimetil-p-toluidindir (DMPT), ancak nispeten düşük moleküler kütlesi nedeniyle toksik olduğu bildirilmektedir (49). Etil-4- (dimetilamino) benzoat (4-EDMAB) hidrojen vermesi nedeniyle ortak başlatıcı olarak kullanılmış ancak aromatik olması nedeniyle sitotoksik olduğu ve monomerlerle polimerize edilemediği bildirilmiştir (50). 2-(N,N-dimetilamino) etil metakrilat (DMAEMA), monomerlerle birlikte polimerize olmasına yardımcı olan metakrilat grubuna sahip olması nedeniyle, sızmama ve daha iyi biyouyumluluğa sahip olma avantajlarına sahiptir.

2.3. ARTIK MONOMER

Rezin esaslı materyallerde oluşan karbon çift bağlarının (C=C) karbon tek bağlarına (C-C) dönüşmesine "polimerizasyon derecesi" adı verilmektedir. Çapraz bağlı polimer ağının oluşumu aşamasında jel yapı meydana gelir ve bu durumda moleküler mobilitenin azalmasından ötürü polimerizasyon hızı da büyük oranda düşmektedir ve bütün çift bağlar reaksiyona girmeden önce reaksiyon durmaktadır. Bu nedenle monomerlerin veya oligomerlerin serbest radikal polimerizasyonu bütün çift bağların reaksiyona girmesiyle sonuçlanmaz. Polimerizasyon derecesi, polimerin fiziksel ve mekanik özellikleri bakımından önemlidir (51,52). Tam polimerizasyonun sağlanmasındaki zorluk, kompozit ve restoratif adezivlerde kullanılan monomerlerin yapısına bağlı olarak farklılık oluşturur ve bu durum hidrofilik yapıdaki monomerlerin polimerizasyon derecesini düşürmektedir (53–55). Düşük polimerizasyonun sonucunda; artık monomer miktarı artar, düşük mekanik özellikler, yüksek geçirgenlik oranı, nanosızıntı, su absorbsiyonu, diş dokusu bağlantısında zayıflık ve biyouyumluluk problemleri oluşur (55–57).

Ağız içinde dışarı salınan artık monomerler hastalarda çeşitli reaksiyonlara neden olurlar. Oluşan reaksiyonlar; materyalin içeriğine, bozulma ürünlerine, bu maddelerin emilimine, yayılımına, biyotransformasyonuna, atılımına ve hangi dokuyu etkilediğine

bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (58–60). Materyalin kimyasal bileşenleri, içerisinde kullanılan çözücü miktarı ve konsantrasyonu, ışıkla aktive olan başlatıcıların yoğunluğu, ışık yoğunluğu ve uygulama süresi, ortamın ısısı ve ortamdaki oksijenin varlığı kalan artık monomer miktarını etkilemektedir (61–64).

2.4. ARTIK MONOMER MİKTARINI ÖLÇME YÖNTEMLERİ

Günümüzde artık monomer miktarını ölçmek için farklı teknikler kullanılmaktadır. Bu teknikler (65–68);

1. Ayırıcı termal analiz (Diferansiyel scanning kalorimetri) (DSC)
2. Katı faz nükleer manyetik rezonans (NMR)
3. Multiple internal refleksiyon spekroskopi (MIR)
4. UV spektrofotometre
5. Fourier transform-infrared spektroskopi (FTIR)
6. Kromatografiler
   - Gaz kromatografisi (GC)
   - Elektrospray iyonizasyon/kütle spektrometrisi
   - Micellar elektrokinetik kromatografi
   - Yüksek basınçlı likit kromatografisi (HPLC)
   - Likit kromatografi/kütle spektrometridir (LC-MS)

2.4.1. Kromatografi

Kromatografi, karışımdaki moleküllerin yüzeye veya katıya uygulandığı ve akışkan durağan fazın (kararlı faz) hareketli bir faz yardımıyla hareket ederken birbirinden ayrılması ilkesine dayanır. Bu ayırma işlemi üzerinde etkili faktörler, adsorpsiyon (sıvı-katı), bölme (sıvı-katı) ve moleküler ağırlıkları arasındaki afinite veya farklılıklar ile ilgili moleküler özellikleri içerir (69,70). Bu farklılıklar nedeniyle karışımın bazı bileşenleri sabit fazda daha uzun süre kalarak kromatografi sisteminde yavaş hareket ederken diğerleri hızla hareketli faza geçerek sistemi daha hızlı terk ederler (71). Bu yaklaşıma dayanarak, kromatografi tekniğinin temelini üç bileşen oluşturur;

1. Sabit faz: Bu faz her zaman bir "katı" fazdan veya "katı bir destek yüzeyine adsorbe edilmiş bir sıvı katmanından" oluşur.
2. Mobil aşama: Bu aşama her zaman "sıvı" veya "gazlı bileşen" den oluşur.
3. Ayrılmış moleküller

Bir nicel analiz yöntemi olarak kullanılan kromatografinin uygulanmasındaki amaç, uygun bir zaman aralığında tatmin edici bir ayırma elde etmektir. Bunun için çeşitli kromatografi yöntemleri geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları kolon kromatografisi, ince tabaka kromatografisi (TLC), kağıt kromatografisi, gaz kromatografisi, iyon değişim kromatografisi, jel geçirgen kromatografi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve afinite kromatografisini içerir (72).

Karışımın içerdiği sabit faz, hareketli faz ve maddeler arasındaki etkileşim türü, moleküllerin birbirinden ayrılmasında etkili olan temel bileşendir. Bölmeye dayalı kromatografi yöntemleri, küçük moleküllerin amino asitler, karbonhidratlar ve yağ asitleri olarak ayrılması ve tanımlanmasında çok etkilidir. Bununla birlikte, afinite kromatografileri (yani iyon değişim kromatografisi), makromoleküllerin nükleik asitler ve proteinler olarak ayrılmasında daha etkilidir. Kağıt kromatografi, proteinlerin ayrıştırılmasında ve protein sentezi ile ilgili çalışmalarda, gazlı sıvı kromatografisi alkol, eter, lipid ve amino gruplarının ayrılması ve enzimatik etkileşimlerin gözlemlenmesinde, moleküler elek kromatografisi özellikle proteinlerin moleküler ağırlıklarının belirlenmesinde, agaroz jel kromatografisi, RNA, DNA partikülleri ve virüslerin saflaştırılması için kullanılır (73).

2.4.2. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Bu kromatografi tekniği ile kısa sürede yapısal ve fonksiyonel analizlerin yapılması ve birçok molekülün saflaştırması mümkündür. Bu teknik amino asitlerin ayrılması ve tanımlanmasında mükemmel sonuçlar verir. Karbonhidratlar, lipidler, nükleik asitler, proteinler, steroidler ve diğer biyolojik olarak aktif moleküller, HPLC'nin mobil fazında, 10-400 atmosfer basıncı altında yüksek (0,1-5 cm/sn) bir akış hızı ile kolonlardan geçer. Bu teknikte küçük partiküllerin kullanılması ve yüksek basınç uygulanması HPLC'nin ayırma gücünü arttırır ve analiz kısa sürede tamamlanır. HPLC cihazının temel bileşenleri solvent deposu, yüksek basınçlı pompa, ticari olarak hazırlanmış kolon, detektör ve kaydedicidir. Bilgisayarlı bir sistem yardımı ile ayırma süresi kontrol edilir ve malzeme tahakkuk ettirilir (72). Günümüzde HPLC cihazı, ilaç-bilim, gıda, çevre ve endüstriyel ürün sektöründe, örnekler içerisindeki inorganik ve organik çözünen maddeleri ayırmak ve tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır (74).

2.5. BİYOUYUMLULUK

Biyouyumluluk yaygın olarak "bir malzemenin belirli bir uygulama alanında uyumlu bir biyolojik tepki ortaya çıkarma yeteneğidir." Detaylı incelenirse, bu tanım bir konakçı, bir malzeme ve malzemenin beklenen bir işlevi arasındaki etkileşimi ifade eder. Malzemenin biyouyumlu kabul edilebilmesi için 3 faktörün de uyumlu olması gerekir. Biyomalzemeler biyolojik olarak inert değildir. Uygulayıcılar, "inert" materyallerin olmadığını anlamalıdır. Bir materyal canlı dokuya yerleştirildiğinde, etrafındaki karmaşık biyolojik sistemlerle etkileşimler meydana gelir ve bu etkileşimler bir tür biyolojik tepki ile sonuçlanır. Etkileşimler malzemeye, konakçıya, malzemeye yerleştirilen kuvvetlere ve koşullara bağlıdır. Ne olursa olsun, malzeme konak hücreyi etkiler ve konak hücre malzemeyi etkiler. Günümüzde çoğu bilim insanı, vücutta hiçbir maddenin gerçekten inert olmadığı konusunda hemfikirdir (75).

2.6. DİŞ HEKİMLİĞİNDE BİYOUYUMLULUK

Dişler ve oral yumuşak dokular gibi biyolojik dokularla doğrudan veya dolaylı olarak yakın temas halinde olan malzemeler olan dental yapıştırıcılar için biyouyumluluk en kritik gerekliliklerden birisidir (76). Sırasıyla HEMA ve TEGDMA gibi yapıştırıcı ve restoratif reçinelerin bileşenlerinin dentin tübüllerinden yayılabildiği ve pulpa hücreleri için toksik kabul edilen konsantrasyonlarda pulpa dokusuna ulaşabildiği gösterilmiştir. Aslında, dental adezivlerin eksik polimerizasyonu, artık monomer oluşumuna neden olur (77). Dönüşüm derecesi, diş yapıştırıcılarının polimerizasyon reaksiyonu sırasında reçine monomerlerinin karbon çift bağlarının, karbon tekli bağlarına dönüştürülme derecesidir. Işıkla sertleşen polimerizasyonda bu işlem, monomerlerin ve dolgu maddelerinin türleri ve oranlarının yanı sıra, ışık kaynağı, yapışkan tabakanın viskozitesi ve kalınlığı, sıcaklık, hava inhibisyonu, çözücülerin varlığı, konsantrasyonları, foto başlatıcıların, yardımcı başlatıcıların, stabilizatörlerin ve inhibitörlerin karışımları gibi çeşitli parametrelerden etkilenir (78).

Reçine monomerlerinin salınmasının, dentin yapıştırıcılarının yan etkilerinin olası nedenlerinden biri olduğu öne sürülmüştür (79). Yapılan bir çalışmada, geleneksel yapıştırıcıların kendinden asitli (self-etch) olanlara kıyasla daha yüksek bir dönüşüm derecesine sahip olduğu tespit edilmiş ve bu durum monomerlerin salınımı ve yapıştırıcıların sitotoksisitesiyle ilişkilendirilmiştir (78). Dental adezivlerin sitotoksisitesinin, sadece oral mukozada iltihaplanma veya nekroza değil, aynı zamanda

alerjik reaksiyonlara da neden olabileceği, dentin veya gingival doku ile temas meydana geldiğinde ise ölümcül olabileceği bildirilmiştir (80,81). Bu nedenle, dental yapıştırıcıların sitotoksisitelerinin in vitro olarak değerlendirilmesi, materyallerin güvenilirliğinin ve klinik olarak kullanıma uygunluğunun tespiti açısından son derece önemlidir.

Diş hekimlerinin biyouyumluluk ile ilgili potansiyel endişeleri; hasta güvenliği, diş hekimliği personelinin güvenliği, mevzuata uygunluk sorunları ve yasal sorumluluk olmak üzere 4 alanda kategorize edilebilir.

2.6.1. Hasta Güvenliği

Herhangi bir diş hekiminin önceliklerinden biri hastaya zarar vermekten kaçınmaktır. Çalışmalar, dental malzemelere karşı zararlı reaksiyonların yaygın olmamakla birlikte, alaşımlar, reçineler ve simanlar dahil olmak üzere birçok malzeme türü için ortaya çıkabileceğini göstermiştir. Bu zararlı etkiler yerel ve sistematik olarak meydana gelmiş olup, tüm dental malzeme sınıflarını içermektedir (82–84).

Son yıllarda diş hekimliğinde karşılaşılan biyouyumluluk ve hasta güvenliği sorunu, hastaların dental biyomalzemelere karşı aşırı duyarlılık geliştirmiş olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu endişenin temelinde, diş hekimliğinde sıklıkla nikel veya metakrilatlar gibi malzemelerin kullanılması bulunmaktadır. Genel popülasyonda nikel alerjisi görülme sıklığı %10-%20 arasında değişmekte olup, kadınlarda erkeklerden çok daha yaygın olarak görüldüğü bildirilmiştir (85). Hastaların reçine esaslı malzemelere ve latekse karşı aşırı duyarlılığı konusunda da artan endişeler vardır (86,87).

Çocuklarda dental malzemeler de dahil olmak üzere çeşitli maddelere karşı artan hassasiyetin sebepleri araştırılmaya başlanmıştır. Yapılan bir araştırmada çocukların %49'unun bir tür malzemeye veya yiyeceğe duyarlı olduğunu ortaya koymuştur (88).Çocuklarda artan alerjik öykü, gelecekte yetişkinlerde kullanılan dental malzemelere karşı alerjilerin artacağını düşündürmektedir. Diş hekimleri tarafından kullanılan biyomalzemelerin hastalar için alerji riski oluşturabileceğine dair kanıtlar mevcuttur.

2.6.2. Diş Hekimliği Personelinin Güvenliği

Diş hekimliği personeli için biyomalzemelerin yan etkisi hastaya göre çok daha yüksektir. Personel, materyal temini veya uygulama esnasında malzemelere kronik olarak

maruz kalabilir. Bu problemin klasik örneği, amalgamdır çünkü yerleştirme veya çıkarma sırasında amalgamdan cıva buharının salınımı oldukça düşüktür ancak temas halinde risk daha fazladır (89). Bu tür sorunlar döküm alaşımları, reçineler ve protezde kullanılan diğer diş malzemeleri ile de ilgilidir. Diş hekimliği personeli için riskler, lateks ve reçine bazlı malzemelerle kronik temastan kaynaklanmaktadır. Bu malzemelerden kaynaklanan olumsuz etkiler, alerjenik tepkiler ve kümülatif tahriştir. Eldivenler bazı malzemelerle temasa karşı koruma sağlamaz çünkü malzemeler eldivenlerin içinden geçebilir (84,90). Ayrıca, eldivenlerin kendileri de sorunun kaynağı olabilir. İsveç'te yapılan bir araştırma, diş hekimlerinin %15'inin eldivenlere, özellikle lateks eldivenlere tepki olarak ellerinde kaşıntı yaşadığını ortaya koymuştur (90).Başka bir çalışma, diş hekimliği personelinin %6,2'sinin latekse alerjisi olduğunu göstermiştir (87).

Materyallerin kronik maruz kalma yoluyla sorunlara neden olduğu mekanizmalar tam olarak bilinmemekle birlikte, HEMA, TEGDMA ve CQ gibi bazı reçine bileşenlerinin doğrudan aktive olabileceğine dair kanıtlar vardır (91–94). Diş hekimliği alanında çalışan personelin, akrilik reçine, metal veya alçı gibi laboratuvar malzemelerini polisaj işlemi sırasında soluma riski vardır. Çapı 10 μm'den küçük olan partiküller solunum sistemi tarafından filtrelenemediğinden, herhangi bir materyali taşlarken veya parlatırken bir maske takmak uygun olacaktır. Laboratuvar personeli berilyum içeren alaşımlar döktüğü takdirde, buhar akciğerlerde berilyoza neden olabileceğinden, alaşımdan gelen buhara maruz kalmayı sınırlamak için önlemler alınmalıdır (94,95). Çeşitli dental malzemelere karşı verilen reaksiyonlar şiddetli olabilir ve bazı durumlarda hayati risk taşıyabilir (84).

2.6.3. Mevzuata Uygunluk Sorunları

Biyouyumluluk sorunları, diş hekimliği pratiğini etkileyen düzenlemelerle yakından bağlantılıdır. Bu bağlantının bir örneği amalgam ile ilgilidir. Cıva ile ilgili biyolojik tehlikeler nedeniyle, araştırmacılar, diş hekimliği uygulamalarından gelen atık sudaki cıva miktarını izlemeyi ve olası tehlikelere karşı çözüm üretmeyi düşünmüşlerdir. Partikül ve cıva elementlerini diş atıklarından arındırma yöntemleri konusunda önemli araştırmaları meydana getirmiştir (96). Dental alandaki riskli durumlardan biri de lateks kullanımıdır. Latekse karşı alerjik reaksiyonlar nedeniyle bazı ABD eyaleti yasama organları diş hekimliği ve tıp uygulamalarında lateks eldivenlere ilişkin yasaklar uygulamayı düşünmüş ancak yasaklar kabul edilmemiştir (87).

2.6.4. Yasal Sorumluluklar

Biyouyumluluk sorunları diş hekimlerinin ana problemlerindendir. Diş hekimliği malzemeleri hastaların ve diş hekimi yardımcılarının sağlığını etkileyebileceğinden, hekimler bu malzemeleri kullanırken yasal bir risk üstlenirler. Bir malzemenin biyouyumluluğunun değerlendirilmesi, çeşitli karmaşık biyolojik test türleri, korozyon gibi fiziksel özelliklerin testleri ve risk-fayda analizleriyle mümkündür. Materyallerin biyouyumluluğunu değerlendirmek zor olsa da hasta ve dental ekibin güvenliğini sağlamak açısından gereklidir.

2.7. BİYOUYUMLULUK TESTLERİ

Biyouyumluluk in vitro testler, hayvan testleri ve kullanım testleri olmak üzere 3 tür biyolojik test ile değerlendirilir.

2.7.1. In Vitro Testler

In vitro biyouyumluluk testleri, bir test tüpünde, hücre kültürü kabında veya başka bir şekilde canlı bir organizmanın dışında gerçekleştirilir. Bu testler oldukça çeşitlidir, ancak genellikle hücreleri veya bakterileri bir materyalle temas halinde değerlendirir. Örneğin, bir materyalin mutasyonlara veya bir suşa neden olma özelliğini değerlendirmek için bir bakteri suşu kullanılabilir (97,98). Fibroblastlar bir kültür kabında büyütülebilir ve bir materyalden alınan sıvı ekstraktlara maruz bırakılabilir. Malzemenin etkisi genellikle malzemelere maruz kalan hücrelerin sayısı, büyüme hızı, metabolik işlevi veya diğer hücresel işlevi ölçülerek belirlenir.

In vitro testler deneyseldir, tekrarlanabilir, hızlı, nispeten ucuz ve basit olma avantajlarına sahiptir. Ayrıca bu testler genellikle deney için hayvanların ve insanların kullanımını desteklemeyen etik ve yasal sorunları ortadan kaldırır. In vitro testlerin en önemli dezavantajı, materyalin laboratuvar ve ağız içindeki uyumluluk düzeyindeki farklılıklardır. Bu testler bir organizmanın dışında yapıldığından, vücuttaki biyolojik yanıtı oluşturan birçok karmaşık etkileşime maruz kalmaz (98).

2.7.2. Hayvan Testleri

Hayvan testleri in vitro testlerden farklıdır. Biyouyumluluğu test edilmek istenen materyal fare, sıçan, köpek, kedi, koyun, keçi veya maymun gibi bir hayvana implante edebilir ya da dişine yerleştirilebilir. Bir memeli organizması kullanılarak yapılan bu

testler biyolojik çevre ile malzeme arasında birçok karmaşık etkileşimin gerçekleşmesine neden olur. Böylelikle biyolojik cevap daha fazladır. Bununla birlikte, hayvan testlerinde değişkenleri kontrol etmek genellikle zordur. Örneğin, bir koyunun çiğneme alışkanlıklarının farklılığı, deneyde kullanılan materyali insanlarda gözlemlenen cevaba göre farklı kılar. Ayrıca biyolojik cevabı nicel olarak değerlendirmek zordur çünkü çok karmaşıktır. Bu tür testlerde etik kaygılar ve hayvan hakları giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Ayrıca bu testler zaman alıcı ve pahalıdır. Hayvan deneylerinin, insan üzerindeki deneyler kadar net cevap veremeyecek oluşu araştırmacılar için büyük bir sorun teşkil etmektedir (98).

2.7.3. Kullanım Testleri

Kullanım testleri, bir malzemenin klinik denemeleridir. Bu testlerde materyal, nihai kullanım amacına uygun bir gönüllüye yerleştirilir. Kullanım testi, tanımı gereği en bir biyouyumluluk testidir; diğer tüm testler, uygunluk açısından buna göre değerlendirilmelidir. Bununla birlikte, kullanım testlerinin pahalı olması, zaman alması, kontrolünün son derece zor olması, yorumlanma zorluğu ve yasal ve etik açıdan karmaşık olması gibi dezavantajları bulunmaktadır (98).

2.8. İLİŞKİLİ BİYOUYUMLULUK TESTLERİ

Yapılan çalışmalar, biyouyumluluk için in vitro, hayvan ve kullanım testlerinin birbirinden farklı sonuçlar verebildiğini göstermiştir (99–101). Klasik bir örnek çinko oksit-öjenol simanları ile ilgilidir. Klinik deneyimler ve klinik deneyler, bu simanın neredeyse hiç olumsuz pulpa etkisi olmadığını kesin olarak göstermiş olmasına rağmen hayvanlarda deri altına implante edilmek suretiyle yapılan testler önemli inflamasyonlara neden olmuş ve in vitro hücre kültürü testleri, bu simanın ciddi derecede toksik olabileceğini göstermiştir (99). Bunlar gibi tutarsızlıklar, dental biyomalzemeleri değerlendirmek için kullanım testi dışında herhangi bir testin yararlılığını sorgulamasına yol açmışsa da (100) günümüzde birçok araştırmacı ve düzenleyici kurumlar, in vitro ve hayvan testlerinin dental materyallerin biyolojik değerlendirmesinde önemli rol oynadığını kabul etmektedir (102).

Biyouyumluluk testlerinden anlamlı veriler elde edilebilmesi için test koşullarının mümkün olduğunca hassas hazırlanması gerekmektedir. In vitro testler için, kullanılan hücre tipi, deney koşulları ve ölçülen yanıtın derecesi önemlidir. Hayvan testleri için

hayvan sistemi, materyalin implantasyon yeri, implant üzerine uygulanan kuvvet miktarları ve testin süresi önemli özelliklerdir (103,104).

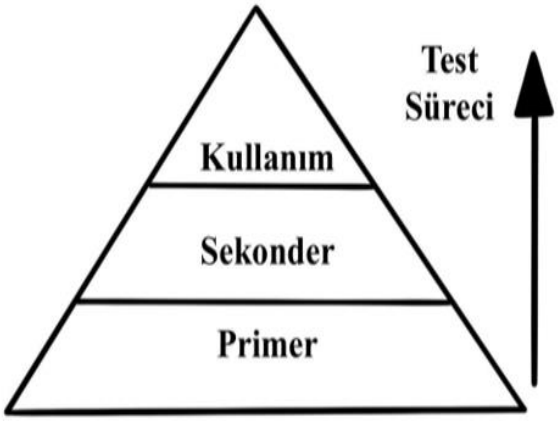
2.9. FARKLI BİYOUYUMLULUK TESTLERİNİN BİRLİKTE KULLANIMI

Araştırmacılar, yaklaşık 20 yıldır malzemelerin biyouyumluluğunu değerlendirmenin en verimli, uygun maliyetli ve etkili yönteminin in vitro, hayvan ve kullanım testlerinin bir kombinasyonunu kullanmak olduğu sonucuna vardılar (105). Bununla birlikte, bu testlerin birlikte kullanılma yolları ve her bir test türünün rollerine ilişkin özellikler yıllar içinde biraz değişmiştir. İlk araştırmacılar spesifik olmayan toksisite, spesifik toksisite ve klinik denemelerden oluşan bir piramit şeması önerdiler (106). Spesifik olmayan testler, testin koşullarıyla malzemenin kullanım koşullarının bütünüyle uyumlu olmadığı testlerdir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Spesifik olmayan toksisite, spesifik toksisite ve klinik deneylerin piramit şeması

Daha sonra araştırmacılar primer, sekonder ve kullanım testleri olarak gruplanmış benzer bir piramit şeması önerdiler (105). Spesifik toksisite testleri, test koşullarının materyalin klinik kullanımıyla daha ilgili olduğu testlerdir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Primer, sekonder ve kullanım testlerinin piramit şeması

Bu yeni şema, testlerin kapsamını toksisitenin ötesine geçirdi. Primer testler genel hücre toksisitesi, hayvanlarda sistemik toksisite, bakteriyel mutajenik testler ve diğer in vitro test türlerinden oluşmuştur. Sekonder testler ise alerji, mukozal tahriş ve enflamasyonu ölçmek için hayvan testlerinden oluşuyordu. Kullanım testleri klinik araştırmalara eşdeğerdi. Her iki şema da piramit şeklindeki tasarımı bir tarama prosedürü olarak kullandı. Yalnızca piramidin en düşük seviyesini geçen testler daha ileri testler için değerlendirildi. Aynı şekilde, klinik araştırmalar için yalnızca ikinci aşamayı geçen testler dikkate alındı. Zaman ve maliyet açısından verimli olsalar da bu planlar ilk testlerin göstermiş olduğu yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçların kesinlikle doğruyu yansıttığını garanti etmemektedir.

Genel olarak bakıldığında dental materyallerin biyouyumluluk değerlendirmelerinde kullanılan test yöntemleri in vitro deneyler, hayvan deneyleri ve kullanım deneyleri olarak ayrılmıştır. Bu deney türleri kendi arasında şu şekilde gruplandırılmıştır (102,107).

1. **In vitro deneyler**
   - -Hücre kültürü testleri
   - -Dentin bariyer testi
   - -Agar difüzyon testi
   - -Filtre difüzyon testi
   - -Hemoliz testi
   - -Ames testi

2. **Hayvan deneyleri**

-Ağız içi ve karın içi testi

-Soluma testi

-Dominant letal test

-Kas ve kemik içi implantasyon testi

-İrritasyon testleri

-Sensitizasyon testleri

-Subkutanöz implantasyon test

3. **Kullanım testleri**

-Restoratif materyaller için pulpa ve dentin testi

-Kuafaj ve pukpatomi materyallerinin testi

-Endodontik materyal testi

2.9.1. Hücre Kültürü Testleri

Günümüze kadar çok sayıda hücre kültür test yöntemi geliştirilmiştir. Dental materyallerin sitotoksisite incelemesinde en çok insan ve farelerin farklı dokularından alınan hücre tipleri kullanılır. Ancak tavşan, domuz gibi farklı canlılardan da hücreler elde edilerek materyal testi yapılabilmektedir. Hücre kültüründe en çok fibroblastlar, makrofajlar, odontoblast hücreler, gingival fibroblastlar, kretinositler, nöron hücreler ve osteoblastlar kullanılmaktadırlar (108,109).

Hücre kültürü testlerinde sitotoksisitesi incelenecek olan materyal seçilir ve bir ortama ekilir. Ekilen hücreler 24 saat sonra hücre üzerindeki etkileriyle birlikte gözlenmeye başlanır. Hücre kültürleri oluşturulurken genellikle oluşturulan ortam nemli, 37°C sıcaklıkta ve %5 karbondioksitin bulunduğu ortamlardır (110,111). Bunlara ek olarak, bu kültürler oluşturulurken bazı antibiyotik ve antioksidatif maddeler de kullanılır (112). Hücre ile belli bir süre temasta tutularak sitotoksisitesi incelenen materyalin hücre üzerinde oluşturduğu etkiler çeşitli yöntemlerle açıklanmaktadır. En yaygın kullanılan yöntemlerden biri kültür hücrelerinin ışık ya da elektron mikroskobu altında incelenmesidir (107). Materyalin toksisitesinin değerlendirilmesinde boyama maddesi kullanarak skorlama veya hücre membran bütünlüğünün saptanması işlemleri kullanılır. Buna ek olarak, hücre düzeyinde ortaya çıkan enzimatik farklılaşmalarda kullanılabilir. Metabolik değerlendirmede en çok baz alınan enzimler, laktat dehidrojenaz, lizozomal fosfataz ve suksinat dehidrojenazdır. Enzimatik aktivitelerde oluşan değişikliklere

bakarak materyalin toksik etkisine karar vermek son derece yanıltıcı yöntemlerdendir (102,113).

Hücre kültürü çalışmaları hızlıdır, basittir ve tekrarlanabilir (75,114). Hayvan deneyleri ve kullanım testlerinden daha ekonomiktir. Ancak materyalin in vivo ortamdaki etkilerini korucuyu mekanizmalar devre dışı olduğundan dolayı tam olarak yansıtamaz. Bu nedenle in vitro deneyler materyalin biyouyumluluğu konusunda bize net sonuçlar veremez.

2.10. HÜCRE YAPISINDAKİ DEĞİŞİMLER

Hücre çoğalması ve hücre ölümü arasındaki denge, bir organizmadaki hücre sayısını düzenler ve kontrol eder. Hücre ölümünün karakterizasyonu, esas olarak morfolojik ve ultrastrüktürel gözlemlerden kaynaklanmaktadır. Hasar görmüş hücrelerin yapısal özellikleri üzerine yapılan çalışmalar, ölüme uğrayan hücrelerin tanımlanmasında ve hücre ölümü mekanizmalarının anlaşılmasında önemli faktörler olarak kabul edilmiştir (115,116). Biyokimyasal, moleküler veya ultrastrüktürel değerlendirmeler, nihai olarak hücre ölümüne yol açan karmaşık modifikasyon dizisini analiz etmek için kullanılabilir. Bununla birlikte, makromolekül sentezinde, hücresel homeostazda, hücre hacmi regülasyonunda ve son olarak hücre canlılığı kaybında değişikliklere yol açan biyokimyasal ve fizyolojik olaylar, morfolojik değişikliklerle yakından ilişkilidir. Organel üst yapısındaki değişiklikler ve hücre yüzeyi seviyesindeki spesifik fenomenler, genellikle belirli hücre ölüm programlarıyla ilişkili belirteçler olarak kabul edilir. Memeli hücrelerinde en az üç tip hücre ölümü, morfolojik ve ultra yapısal kriterlere göre ayırt edilmiştir:

1. **Nekroz:** Enfarktüs, enfeksiyonlar, zehirlenme ve benzerlerinin neden olduğu nekroz, genellikle bitişik hücre gruplarını etkiler ve muhtemelen ölü hücrelerden yıkıcı faktörlerin serbest bırakılması yoluyla enfeksiyona sebep olur. Hücresel şişme, plazma zarı yırtılmaları, hücre organellerinin parçalanması ve sitoplazmik proteinlerin denatürasyonu, bu tür hücre ölümünün morfolojik özelliklerini temsil eder.
2. **Apoptoz:** Programlanmış olaylar dizisinin, çevreye zararlı maddeler salmadan hücrelerin yok edilmesine yol açtığı bir hücre ölümü şeklidir. Apoptoz eski, gereksiz ve sağlıksız hücreleri ortadan kaldırarak hücre sağlığını geliştirmede ve sürdürmede çok önemli bir rol oynar. Kromatin yoğunlaşması (piknoz) ve

parçalanma (karyorreksis), zarın korunması, genel hücre küçülmesi, plazma zarının kabarması ve nükleer veya sitoplazmik malzeme içeren apoptotik cisimlerin oluşumu ve ardından fagositoz apoptozun sitolojik özellikleridir. Apoptoz süreci oldukça düzenlidir. Çok fazla veya çok az apoptoz, otoimmün hastalıkların başlangıcı, nörodejeneratif hastalıklar ve gelişimsel kusurlar veya apoptoz bozulduğunda kanser gibi patolojik sonuçlara neden olabilir (117,118).

3. **Otofaji:** Bir hücrenin kendi bileşenlerinin lizozomal mekanizma yoluyla bozulmasını içeren katabolik bir süreçtir. Hücrenin tamamen yok edilmesiyle sonuçlanan otofaji, sitoplazmik hücre ölümü veya tip II programlanmış hücre ölümü olarak da bilinir. Bazı hastalıkların ilerlemesini durdurmaya yardımcı olabilir ve enfeksiyona karşı koruyucu bir rol oynar. Ancak bazı durumlarda aslında bir hastalığın gelişimine katkıda bulunabilir (119).

2.10.1. Morfolojik Analizlerin Katkısı

Son yıllarda, sonuçta hücre ölümüne yol açan karmaşık yapısal modifikasyon dizisini incelemek için çok sayıda farklı morfolojik teknik düşünülmüştür. Bunlar ağırlıklı olarak ışık mikroskobu (LM) ve elektron mikroskobu (EM) kullanılarak gerçekleştirilebilen kalitatif ve kantitatif analizlerdir. Sitometrik ve morfometrik analizler, ışık mikroskobu, floresan mikroskobu ve konfokal mikroskopi ile tarama ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak gerçekleştirilebilir. Bu tekniklerden bazıları laboratuvar uygulamalarında yaygın olarak kullanılırken diğerleri özel olarak belirli deneysel koşullarda kullanılmaktadır. Örneğin, geleneksel TEM analizi, otofajiyi yerinde izlemek için tek güvenilir yöntemdir.

2.10.1.1. Işık mikroskobu: Işık mikroskobu, hücre ölümünü spesifik olarak tanımlamanın ve ölçmenin basit ve etkili bir yoludur. Örneğin, hücre ölümünün çoğalan hücrelere karşı yerinde etiketlenmesi, bu farklı fenomenlerde yer alan hücre popülasyonunun yüksek hassasiyetine ve tam olarak tanımlanmasına izin verir. Apoptotik hücreler, LM tarafından, telofazdaki mitotik hücreler gibi yoğunlaştırılmış kromatine sahip diğer elementlerden kolayca ayırt edilemez. Bu nedenle, birkaç farklı teknik geliştirilmiştir. Örneğin, DNA ipliği kırılmalarının etiketlenmesine dayanan hücre ölümü tespit kitleri, apoptoz belirteçleri olarak kabul edilmiştir. Terminal deoksinükleotidil transferaz aracılı dUTP çentik uç etiketleme (TUNEL), apoptotik hücre fraksiyonlarının hızlı tanımlanması ve hücre miktarının belirlenmesi için kullanılan bir yöntemdir (120).

2.10.1.2. TUNEL tekniği: Etiketlenmiş nükleotitlerin DNA kırılmalarının 30-hidroksil (3OH) girintili uçlarına dahil edilmesine izin veren endojen enzimlerin kullanımına dayanır.

2.10.1.3. Floresan mikroskobu: Bu teknik, yalnızca floresan emisyon özelliklerine dayanarak tek bir moleküler türün dağılımını görüntüleme yeteneğine sahiptir. Kromatin yoğunlaşması, nükleer büzülme ve apoptotik cisimlerin oluşumu, çekirdeklerin DNA'ya özgü florokromlar [40,6diamidino-2-fenilindol (DAPI), Hoechst 33258] ile uygun şekilde boyanmasından sonra floresan mikroskobu altında kolaylıkla gözlemlenebilir. Floresan mikroskobu kullanılarak, spesifik floroforlarla etiketlenmiş hücre içi bileşenlerin kesin konumu da izlenebilir. Bu, otofajik vakuollerin varlığını değerlendirmek için kullanılmıştır. Özellikle, otofajiye uğrayan hücrelerin morfolojik tespiti için bazı floresan boyalar (LC3, lizotracker) kullanılmıştır, buna kendi kendii sindirme de denir (121).Geleneksel floresan mikroskobu için hazırlanan numuneler aynı zamanda konfokal mikroskopi ile de gözlemlenebilir.

2.10.1.4. Anneksin-V yöntemi: Hücre zarının sitoplazmik yüzünde membran lipidlerinden fosfatidilserin (PS) bulunmaktadır. Bu lipid sadece normal hücrelerde bulunur. Hücrenin apoptozu durumunda iç yüzeyde bulunan PS molekülleri hücre zarının dış yüzüne çıkarlar. Bu durum, hücre membran bütünlüğünün bozulmadığı apoptotik hücre ölümünün ilk dönemlerinde meydana gelir. Annexin-V, hücrenin dış yüzeyindeki fosfatidilserine bağlanabilen bir protein olduğu için floresan bir madde ile işaretlenebilir ve apoptoza uğramış hücre görünür hale gelebilir (122–124). Nekroza uğramış hücrelerin yüzeyinde de Annexin-V bağlanması görülebilir ve bu durumda ikinci boya olarak propidyum iyodür eklenir. Annexin-V ve non-vital boya olan propidyum iyodür ile aynı zamanda boyanan hücreler, canlı hücreler, erken apoptotik hücreler ve geç apoptotik veya nekrotik hücrelerin birbirinden ayırt edilmesine izin verir (122,123,125).

2.10.1.5. Elektron mikroskobu: Canlı hücreleri transmisyon elektron mikroskobu ile incelemek mümkün olmadığından, orijinal örneklerden 80 nm kalınlığında hatta daha ince kesitler elde etmek için onları sabitlemek ve işlemek gerekir. Böylelikle biyolojik malzeme kimyasal olarak sabitlenir, bir aseton veya etanol serisiyle dehidre edilir ve ardından epoksi veya akrilik reçinelere gömülür. Numune daha sonra bir ultramikrotom ile ince kesitlere ayrılır. Numuneyi bölümlere ayırmak, kişinin yapısal özellikleri görüntülemek için numuneler üzerinden enine kesitlere bakmasına izin verir.

80 ila 100 nm kalınlıktaki kesitler bakır ızgaralar üzerinde toplanır ve gözlemlenmeden önce elektrondan yoğun kısımlar zıt renkli boyalarla boyanır. Elektron mikroskobu hücre ölümü çalışması esas olarak aşağıdaki hedeflere odaklanmıştır:

Nekrozla ilgili olarak, plazma zarının yırtılmaları, matriks seyrelmesi ve kristanın bozulmasıyla birlikte mitokondrinin şişmesi, nükleer kromatin dispersiyonu,

Apoptoz, hücre yüzeyinde kabarcıklanma, kromatin agregasyonu, fisyon ve mitoptoz dahil olmak üzere MC ve mitokondriyal değişikliklerin tespiti ve

Otofaji, çift membranlı vakuollerle ilgilidir (126–129).

2.10.1.6. Taramalı elektron mikroskobu (SEM): Taramalı elektron mikroskobu, hücre yüzeyinin analiz edilmesini sağlar. Hücre ölümü analizinde SEM'in kullanımı, esas olarak hücre hasarının önemli belirtileri olan düzleştirme, mikrovillöz yapıların kaybı, kabarcıklanma ve küçülme gibi hücre yüzeyi değişikliklerinin incelenmesine yardımcı olur. Bununla birlikte, hücre ölümünün spesifik belirteçleri olarak kabul edilemezler. Tek tabakalı veya dağınık hücrelerde büyüyen, polilisin kaplı lameller üzerinde büyüyen hücre çizgileri, TEM yönteminde olduğu gibi sabitlenir. Bu sabitleme prosedürü, hücre yüzeyinde bazı değişikliklere neden olabilir. Artefaktlardan kaçınmak için, fiksatif yavaşça numunelerin üzerine damlatılmalıdır. Hücreler, etanol çözeltisi ile dehidre edildikten sonra, CO2'de kritik nokta olarak kurutulur. Kritik nokta kurutma (CPD) tekniği, yüzey gerilimi kuvvetlerinin zararlı etkilerinden kaçınmak için havada kurutmadan çok daha iyi bir yol sağlar. Böylece numune, 100'ü elde etmek amacıyla kapalı bir basınçlı kaba aktarılır. Altın püskürtme, düşük vakum gerektirir ve en yaygın kullanılan kaplamadır.

2.11. POLİMERİZASYON VE IŞIK

2.11.1. Polimerizasyon

Diş hekimliğinde kullanılan reçine bazlı restoratif ürünlerin neredeyse tamamında aynı temel monomerler ve polimerizasyon mekanizmaları kullanılmaktadır. Temel monomerler metakrilatlar ve vinillerdir. Bu monomerler serbest radikal ekleme polimerizasyonu kullanırlar (130).

"Vinil" terimi, bir monomer molekülünün terminal ucunda görünen, elektron açısından zengin, karbon-karbon çift bağının varlığını ifade eder. Spesifik olarak metakrilatlar, "a" karbon atomuna kovalent olarak bağlı bir metil grubunun varlığıyla ayırt edilir. "R" nin bir metil grubu ile ikame edilmesi monomer metil metakrilatı oluşturur. Bir etil grubunun kullanılması bazı geçici restoratif reçinelerde bir bileşen olan "etil metakrilat" ı ve bir "hidroksietil" yerleştirilmesi hidroksietil metakrilat (HEMA) oluşturur. Diğer monomer ucunda ek bir metakrilat grubu içeren diğer türlerle ikame, "dimetakrilat" monomerleri olarak bilinenleri sağlar: BisGMA, TEGDMA, UDMA, vb.

Radikal metakrilat polimerizasyonu aşamasında öncelikle radikallerin oluşumu gerçekleşir, daha sonra polimerizasyon başlar ve en son zincir yayılımı gerçekleştirilip sonlandırılır.

2.11.1.1. Radikallerin oluşturulması: Metakrilat vinil grubu, restoratif materyalde bulunan diğer metakrilat gruplarını birbirine bağlamak (polimerize etmek) için kullanılacak olan kısıtlı iç enerjiye sahip bir "sıkıştırılmış yay" olarak düşünülebilir. Bu iç enerjinin açığa çıkabilmesi için yüksek yoğunluklu bir karbon çift bağı arayan çok reaktif bir kimyasal tür gerekmektedir. Bu rol için farklı kimyasal türler kullanılsa bile sonuç benzerdir: Bileşik, bazı harici enerji biçimleriyle (ısı, kimyasallar veya ışıma enerjisi) etki eder ve "aktive" olur. Tür bu forma girdikten sonra bir dış kabuk elektronuna sahip bir "serbest radikal" haline gelerek yörüngesini paylaşmak için aktif olarak başka bir elektron arar ve böylece kararlı, kovalent bir bağ oluşturur. Klinisyen, polimerizasyon reaksiyonunun ne zaman, ne hız ve ne ölçüde ilerleyeceğini kontrol etmek için kullandığı adımın bu olduğuna dikkat etmelidir. Sonraki polimerizasyon reaksiyonunu oluşan serbest radikallerin sayısı, oluşma ve yok edilme hızı kontrol eder. Bu nedenle, bileşen oranları, sıcaklık ve radyant enerjiye maruz kalma miktarı gibi faktörler klinisyenin kontrolü altındadır ve bunların tümü, polimerizasyon işleminin ilerleyeceği hızı önemli ölçüde etkiler.

2.11.1.2. Polimerizasyon işleminin başlaması: Bir kez oluşturulduktan sonra, yeni oluşan serbest radikal, reçine ortamından yayılır. Bu süreçte serbest radikal, karbon çift bağına katkıda bulunan 4 elektrondan bir elektron alır ve kendisi ile bir karbon atomu arasında kovalent bir bağ oluşturur. En dıştaki karbon atomundaki ekstra elektron, serbest radikal türü haline gelir ve benzer bir şekilde reaksiyona girecek başka bir elektron açısından zengin, karbon çift bağı arayışında düşük viskoziteli reçine ortamından yayılır.

2.11.1.3. Zincir yayılımı: Serbest radikale dönüşen ilk monomer daha sonra elektron açısından zengin monomerik türleri arar, bunlarla kovalent bağlar oluşturmak için reaksiyona girer (gelişen polimer ağını inşa eder) ve ardından eklenen her monomer birimi için yeni bir radikal uç oluşturur. Bu şekilde, polimer zincirinin uzunluğu, monomer birimlerini teker teker kovalent olarak ekleyerek büyür. Süreç devam ettikçe, monomerin dönüşüm oranı önemli ölçüde artar. Monomerin büyüyen polimer ağına katılmasının artmasıyla, reçine sisteminin viskozitesi artar ve büyüyen radikal uçların difüzyon hızı büyük ölçüde azalır, bu da polimerizasyon hızında genel bir düşüşe ve ayrıca reaksiyona girmemiş artık monomerin azalmasına neden olur.

2.11.1.4. Sonlandırma: Polimerizasyon reaksiyonu birkaç farklı nedenden dolayı durabilir. Mevcut monomerin konsantrasyonu reaksiyon ilerledikçe azalır ve büyüyen radikal zincirler, başlangıçta jel benzeri olan matriste rahat ilerlerken, daha sonra cam benzeri reçine matrisi içerisinde yayılmada zorlanırlar. Bununla birlikte, en kolay anlaşılan mekanizma, büyüyen iki radikal ucun çarpıştığı mekanizmadır. Bu, aralarında kovalent bir bağ oluşmasına neden olur, böylece her bir radikal elementi yok eder ve her iki polimer zincirinin daha fazla büyümesini durma noktasına getirir.

2.11.2. Dental Işıkla Kürleme

Dental ışıkla kürleme, fotobaşlatıcı moleküllerin, ışık fotonlarında bulunan elektromanyetik enerji ile serbest radikalleri aktive etme yeteneğidir. Tüm elektromanyetik enerjinin temel bir özelliği, sinüzoidal olması ve ışık hızında hareket etmesidir. Hızın stabil olmasından dolayı, belirli bir mesafeden geçen sinüzoidal dalgalar, belirli sayıda tam dalga kullanarak hareketi tamamlar. Saniyede tamamlanan dalga sayısı, radyasyon "frekansı" olarak adlandırılır. Tamamlanan her dalganın (döngü) fiziksel uzunluğu, "dalga boyu" olarak adlandırılır.

2.11.2.1. Ultraviyole kürleme: Diş hekimliğinde kullanılan ultraviyole (UV) ışığın polimerizasyon amacıyla kullanımı ilk olarak baskı endüstrisinde karşımıza çıkmaktadır. 1970'lerin sonlarında, LD Caulk şirketi ilk dental, UV ile kürlenmiş restoratif sistemi satışa çıkarmıştır.

2.11.2.2. Görünür ışıkla kürleme: Görünür ışığın depolanmış enerjiye dönüştürülmesine neden olan, belirli bir dalga boyundaki fotonların fiziksel etkileşimidir (absorpsiyon). Görünür spektrum içinde, fotonların absorpsiyonu, enerjilerinin

tüketilmesini ve bu enerjinin, normal yörünge katmanından (temel durum) çıkıp, daha yüksek bir yörünge katmanına yükselmesi şeklindedir. Kullanılan foto başlatıcıya bağlı olarak, bileşik ya bir ara molekül (bir amin) ile reaksiyona girmeli, bu daha sonra serbest radikaller oluşturmaya devam etmeli (bir Tip 2 başlatıcı) ve polimerizasyona neden olmalı ya da doğrudan bir veya daha fazla serbest radikal halinde parçalanabilmelidir. Uyarılmış durum radikal oluşumuyla sonuçlanmazsa, dış kabuk elektronu daha düşük enerji durumuna geri döner, ısıyı serbest bırakır ve daha düşük dalga boylu bir foton oluşur. Böylece sistem, başlangıçta absorpsiyona neden olan fotonun aynı enerjisini geri döndürür ve onu daha yüksek kabuk katmanına yükseltir.

2.11.2.3. Dental görünür ışık fotobaşlatıcıları: Serbest radikallerin oluşturulması için görünür ışık gerektiren foto başlatıcıların kullanımı yine diğer endüstrilerde ortaya çıktı. Günümüzde ışıkla sertleşen, reçine bazlı restoratif sistemlerde birçok farklı tipte fotobaşlatıcı sistemi kullanılmaktadır (131). En yaygın kullanılan fotobaşlatıcı, kamforkinon (CQ) Tip 2 başlatıcı sistemdir (132). Bu sistem, CQ uyarılmış durumdayken bir üçüncül amin molekülü arasında bir proton donörü içerir. Bu transfer yapıldıktan sonra, amin metakrilat reçine sisteminde serbest radikal polimerizasyonu oluşturmaya devam eder. Bu nedenle, CQ içeren fotobaşlatma sistemleri nispeten yavaştır ve Tip 1 sistemlere göre daha az foton oluşturur (133).Kamforkinon, parlak kanarya sarısı rengindedir ve içeriğin sadece bir kısmı diş sistemlerinin ışıkla sertleştirilmesinde kullanılır. Bu nedenle, ortaya çıkan restorasyonlar sarımsı bir renge sahip olma eğilimindedir.1990'ların ortalarında, yalnızca CQ içermeyen sistemleri kullanan, genellikle "alternatif foto başlatıcılar" olarak anılan, ışıkla başlatılan bağlama ve kompozit sistemler kullanıma sunuldu (134,135).

2.12. GÖRÜNÜR POLİMERİZASYON LAMBALARI

2.12.1. Kuvars-Tungsten-Halojen Işıklar (QTH)

Diş hekimliğinde kullanılan Kuvars-Tungsten-Halojen kaynakları sadece bu alanda değil aynı zamanda uçak gövdesi aydınlatması için dayanıklı, uzun ömürlü, yüksek emisyonlu bir ışığın gerekli olduğu uçak endüstrisinde kullanılmak üzere uyarlanmıştır (136). İlk görünür ışıkla fotopolimerize edilen, direkt, estetik restoratif kompozit materyal hastaya 1976'da uygulanmıştır (137). Bu ünitelerdeki ampul, halojen bazlı bir gazla

doldurulmuş berrak, kristalin bir kuvars kılıf içine yerleştirilmiş bir tungsten filamentten oluşmaktaydı. Elektrik filamentten geçerken, tel direnci nedeniyle, tungsten atomlarının tel yüzeyinden tam anlamıyla buharlaşmasına neden olacak kadar ısı gelişir. Bu gerçekleştiğinde, büyük miktarlarda elektromanyetik enerji açığa çıkar ve çoğunlukla ısının üretildiği bölgede meydana gelir. Bu nedenle, bu tür ışık birimleri tipik olarak bu ısıyı gidermek için muazzam miktarlarda ışıkla sertleştirme için gerekli olmayan fazla görünür ışığı filtrelerler. Bu ışıkların biçim faktörleri elde tutulan (çoğunlukla "tabanca benzeri"), tetikleyici bir aktivasyon mekanizmasına ve kullanıcı tarafından seçilebilen poz sürelerine sahiptir. Diğer ışık stilleri, bir masa üstü ünitede daha yüksek bir güç kaynağı içeriyordu ve ışığı uzun, esnek bir fiber optik kablo aracılığıyla dişe yönlendiriyordu. Bu sürenin tipik bir örneği olarak, 2 mm kalınlığındaki kompoziti yeterince fotopolimerize etmek için pozlama süreleri 40 ila 60 saniye arasında değişiyordu. Elde tutulan QTH birimlerinin en önemli özelliği, sert, esnek olmayan, çıkarılabilir fiber optik ışık kaynaklarının bir araya getirilmesiydi (132).

Daha güçlü ışıkların QTH ürünlerine, örneğin, çok kısa pozlama süreleri sunan plazma ark kürleme ünitelerine (PAC) rakip olduğu dönemde, hedefe iletilen ışını artırmak için ışık kaynaklarında değişiklikler yapıldı. Bu hedefe ulaşmanın bir yolu "turbo uç" kullanmaktı. Bu cihaz, proksimal çapın (el tabancasına en yakın) distal (hedefe en yakın) uçtan daha büyük olduğu sert, cam elyaflı bir demet ışık kılavuzundan oluşur. Bunu yaparken, her iki uçta da benzer güç seviyeleri mevcut olduğundan, ancak distal uçtaki gücün proksimal uçtan çok daha küçük olduğu alan, daha büyük bir ışınım (güç/ birim alanı-mW/cm^2) değeri oluşturuyordu. Işın seviyelerini eşleştirmek PAC ışıklarının kullanıldığı kısa pozlama sürelerine karşılık, bazı QTH modelleri bir "güçlendirme" modu içeriyordu. Bu modda kullanıldığında, ışık filamentinin daha yüksek bir voltaj değeri uygulanarak daha sıcak yanmasına ve daha fazla ışık yaymasına neden oluyordu. Bu modun bir turbo uçla birlikte kullanılması, QTH ışıklarının sürekli artan PAC pazarı ile rekabet edebilmek için gösterdiği en önemli adımdı (136). Günümüzde hızlı polimerizasyonun marjinal boşluklara neden olan yüksek iç stres değerlerinin gelişimi üzerindeki bozucu etkileri ve ayrıca iyatrojenik pulpa ve dişeti dokusu hasarına yol açma potansiyelinin artması, yüksek yoğunluklu ışıklarının "hızlı kürlenmesi" ile ilgili olarak, klinisyenleri endişelendirmektedir (138).

2.12.2. Plazma Ark Kürleme Birimleri

Hızlı ışıkla kürlemeye bir alternatif olarak, plazma ark kürleme ünitesi (PAC) 1990'ların sonunda piyasaya sürüldü. PAC, plazma enerjisi üretmek için yüksek frekanslı bir elektrik alanı kullanır. Daha spesifik olarak, ksenon gazını bir iyon, elektron ve molekül karışımına dönüştürmek için iki elektrot kullanılır ve plazma olarak önemli miktarda enerji açığa çıkar. PAC, 2.000 mW/cm^2'ye kadar yüksek yoğunluklu ışıklar üretir ve ışık, kamforokinon tarafından pik absorpsiyon için 450 nm ila 500 nm'lik dar bir bant genişliği konsantrasyonuna dönüştürülebilir (139). Yeterli bir reçine polimerizasyonu elde etmek için 6 saniye ila 9 saniye arasında bir ışınlama süresi yeterlidir (140,141). Bununla birlikte, PAC birimlerinin yüksek maliyetleri, nispeten büyük boyutları ve karmaşık yapıları gibi bazı dezavantajları vardır (132).

2.12.3. LED Üniteleri

Galyum nitrür mavi ışık yayan diyotlara (LED) sahip ışıkla sertleştirme üniteleri de geliştirilmiştir (142). Spektral çıktıları kamforokinonun soğurucu bölgesi içinde yer alır, bu da mavi ışık üretimi için filtreye gerek olmadığı anlamına gelir. LED'ler, bir bataryadan sağlanan elektrik yükü ile iki bağlı katı yarı iletken içerir. Spektrum akışları, TQH veya PAC'den çok daha dar bir bant genişliğinde yoğunlaşmıştır (76,143,144). Enerji, neredeyse yalnızca ışık enerjisi olarak açığa çıkar ve minimum ısı üretir. LED'ler, TQH veya PAC ile karşılaştırıldığında, 10.000 saatin üzerinde kullanım ömrü, bu süre boyunca sabit ışık enerjisi ve küçük boyutları, düşük enerji tüketimi ve şok veya titreşime karşı yüksek dirençleri nedeniyle taşınabilir kullanıma uygunluk gibi birçok avantaja sahiptir. 410 nm ile 500 nm arasında güç üretirler. LED'lerin güç kaynaklarındaki ilerlemeler, LED'lerin 1.600 mW/cm^2'ye kadar emisyon yoğunluğuna ulaşmasına izin vererek kürleme süresini daha da düşürdü. Bir LED ünitesi için sertleşme süresinin 9 saniye ila 10 saniye arasında olduğu tahmin edilmektedir. Üç ışıkla sertleştirme sisteminin performansını karşılaştıran çeşitli in vitro, in vivo çalışmalar ve sistematik incelemeler yapılmıştır. Bir TQH lambası (Ortholux XT lambası, 3M, ABD) ve bir LED lamba (Ortholux LED, 3M, ABD) olmak üzere iki polimerizasyon kaynağının arıza oranına odaklanan bir çalışma yapılmıştır (143). Halojen ünitesi ile kaydedilen genel arıza oranı, LED ünitesi ile kaydedilenden önemli ölçüde farklı olmasa da halojen lamba ile polimerizasyon süresi, LED ünitesindekinin iki katı daha fazlaydı. Ortodontik kompozit reçine, Transbond (3M, ABD) ile bondlanan ve bir halojen ışık cihazı (Ortholux

XT lamba, 3M, ABD) veya bir LED ile ışıkla sertleştirilen braketlerin bağlanma mukavemetini karşılaştırarak benzer bir araştırma yapılmıştır. Hem halojen hem de LED sertleştirme üniteleri, ortodontik braketleri birleştirirken karşılaştırılabilir ve bağlanma kuvvetleri sağlıyor gibi görünmektedir (145). Bununla birlikte, LED birimlerinin ışık yoğunluğu, daha düşük kesme bağlanma kuvvetlerine başvurarak, mesafeyle birlikte azalır gibi görünmektedir (146). Yapılan başka bir çalışmada, LED ışığı kullanarak, daha büyük bir ışık ucu mesafesi, önemli ölçüde daha düşük kesme bağlanma mukavemeti değerleri üretirken, plazma ark lambası kullanıldığında, daha büyük bir ışık ucu mesafesi, önemli ölçüde daha yüksek kesme bağlanma mukavemeti gerektiğini göstermektedir (147).

Yapılan bir araştırmada Amerika Birleşik Devletleri'ndeki ortodontistlerin %64,1'nin hasta başı zamanı azalttığı için LED kürlemeyi, %26,2'sinin halojen lambayı ve sadece %6,9'unun plazma ışıklarını tercih ettiği görülmüştür (148–150).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri koordinatörlüğü tarafından desteklenmiş olan çalışmamız, Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'nın 26.06.2020 tarih ve 46418926-050.03.04 sayılı izni ile yürütülmüştür. Primerli ve primersiz adeziv rezinlerin biyouyumluluklarının in vitro olarak karşılaştırılmasının amaçlandığı araştırmamızda materyallerin biyouyumlulukları, sitotoksistesi ve fibroblast hücrelerinin apoptozuna olan etkileri Sağlık Bilimleri Üniversitesi Validebağ Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi hücre kültürü laboratuvarında incelenirken, artık monomer miktarları Sağlık Bilimleri Üniversitesi Eczacılık Fakültesi laboratuvarında tespit edilmiştir.

3.1. ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI

Çalışmamızda Transbond XT Primer (3M Unitek, Monrovia, Calif), Transbond XT adeziv (3M Unitek, Monrovia, Calif) ve Biofix (Biodinamica, Ibipora, Brezilya) marka ortodontik primer ve adezivler kullanılmıştır. Kullanılan materyaller ve içerikleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan materyaller ve içerikleri

MATERYAL	İÇERİK
Transbond XT Primer	%45-55 Bisfenol A Diglisidil Eter Dimetakrilat (BisGMA), %45-55 Trietilen Glikol Dimetakrilat (TEGDMA) ve %1'den küçük oranlarda Trifenilantimon, 4-(Dimetilamino)-Benzenetanol, DL-Kamforokinon ve Hidrokinon
Transbond XT Adeziv	%70-80 silanlanmış kuvartz, %10-20 Bisfenol A Diglisidil Eter Dimetakrilat (BisGMA), %5-10 Bisfenol A Bis (2-Hidroksietil Eter) Dimetakrilat ve <%2 silanlanmış silika ve <%0,2 Difeniliodonium heksaflorofosfat
Biofix	Bisfenol A Glisidilmetakrilat (%34,78), dimetakrilat grupları, inorganik doldurucu (%41,52), Titanyum Dioksit, Sodyum Florid ve Katalizör

Polimerize edilmemiş test materyalleri, özel olarak hazırlanmış olan biyoçözünür materyallerden biri olan polilaktik asit (pla) bir kalıp içerisine yerleştirilip, oksijen inhibisyonunu engelleyecek şekilde her iki yüzeyden de şeffaf bantlarla ve düzgün yüzeyli camlarla sıkıştırılmıştır. Çalışmamızda adeziv materyallerin polimerizasyon reaksiyonunu başlatmak için üretici firmaların önerilerine göre 450 nm dalga boyunda görülebilir mavi LED ışık ile (EliparTM S10 FreeLight 2 LED Curing Light, 3M ESPE) ve 395-480 nm dalga boyuna sahip (Valo Ortho Cordless) iki farklı ışık kaynağı kullanılmıştır. EliparTM S10 (3M ESPE, ST. Paul, MN, ABD) ışık cihazı 430-480 nm dalga boyu aralığında ve pilinin doluluk seviyesinden bağımsız olarak 1200 mW/cm^2 yoğunluğunda mavi ışık vermektedir. Işık ileticisinin çapı 10 mm'dir. VALO Ortho Cordless LED curing light geniş bantlı spektrumuyla VALO 395-480 nm dalga boyu aralığında tüm ışıkla sertleştirilen ürünlerin polimerizasyonu için tasarlanmıştır. Tez çalışmamızda Standart Güç modu olan 1000 mW/cm^2 kullanılmıştır.

Bahsedilen iki ışık kaynağıyla, 20 saniye ve 40 saniye olmak üzere iki farklı sürede bir yüzeyden ve 2 mm mesafeden materyaller polimerize edilmiştir. Örneklerin yüzey alanının solüsyon hacmine oranı, ISO standartlarının önerdiği 0,5-6,0 cm^2/ml aralığına uygun bir biçimde yaklaşık 3,17 cm^2/ml olarak ayarlanmıştır. Çalışmada kullanılan materyaller 4 ana gruba ayrılmış olup ek olarak pozitif ve negatif kontrol grupları oluşturulmuştur (Tablo 3.2). 1. grupta Transbond XT Primer ve XT Adeziv, 2. grupta Biofix, 3. grupta Transbond XT Adeziv ve 4. grupta Transbond XT Primer bulunmaktadır. Negatif kontrol grubunda hücre kültürü plastiğine ekmiş olduğumuz ve herhangi bir malzemeye maruz kalmadan normal büyüme ortamında kültürlenen hücreler ve pozitif kontrol grubunda hücre kültürü plastiğine ekmiş olduğumuz ve herhangi bir malzemeye maruz kalmadan normal büyüme ortamında kültürlenen hücrelerimize sitotoksik cevap veren Phenol grubu da eklenmiş şekilde gruplandırılmıştır. Işık kaynağının ışın yoğunluğu 3M Elipar Led ışık cihazı için 1200 mW/cm^2, Valo ışık cihazı için 1000 mW/cm^{2}dir.

Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan materyallerin gruplara göre ayrılması

GRUPLAR	İÇERİKLER
1. GRUP	Transbond™ XT Primer (3M Unitek, Monrovia, Calif) ve Transbond™ XT adeziv (3M Unitek, Monrovia, Calif)
2. GRUP	Biofix (Biodinamica, Ibipora, Brezilya) (primersiz adeziv rezin)
3. GRUP	Transbond™ XT adeziv (3M Unitek, Monrovia, Calif)
4. GRUP	Transbond™ XT Primer (3M Unitek, Monrovia, Calif)
NEGATİF KONTROL GRUBU	Hücre kültürü plastiğine ekmiş olduğumuz ve herhangi bir malzemeye maruz kalmadan normal büyüme ortamında kültürlenen hücreler
POZİTİF KONTROL GRUBU	Hücre kültürü plastiğine ekmiş olduğumuz ve herhangi bir malzemeye maruz kalmadan normal büyüme ortamında kültürlenen hücrelerimize sitotoksik cevap veren Phenol grubu da eklenmiştir.

Dört çalışma grubunun her biri kendi içinde alt gruplara ayrılmıştır. Her çalışma grubu için öncelikle iki farklı ışık cihazının etkilerini değerlendirmek açısından 2 alt grup oluşturulmuştur. Bu alt gruplar da kendi içinde 20 sn ve 40 sn ışınlama süresi uygulanacak şekilde iki alt gruba daha ayrılarak 1., 3. ve 7. günlerdeki sitotoksik etkiler, apoptoz ve artık monomer miktarları incelenmiştir. Grupların sınıflandırılması Tablo 3.3.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3: Çalışmada kullanılan örneklerin kullanılan ışık cihazı ve ışınlama süresine göre dağılımı

GRUPLAR	ADEZİV	IŞIK CİHAZI	SÜRE (sn)	ÖRNEK SAYI
1	Transbond XT + Primer	3M	20	12
	Transbond XT + Primer	3M	40	12
	Transbond XT + Primer	Valo	20	12
	Transbond XT + Primer	Valo	40	12
2	Biofix	3M	20	12
	Biofix	3M	40	12
	Biofix	Valo	20	12
	Biofix	Valo	40	12
3	Transbond XT	3M	20	12
	Transbond XT	3M	40	12
	Transbond XT	Valo	20	12
	Transbond XT	Valo	40	12
4	Primer	3M	20	12
	Primer	3M	40	12
	Primer	Valo	20	12
	Primer	Valo	40	12

3.2. HÜCRE KÜLTÜRÜNÜN HAZIRLANMASI

Gingival fibroblast hücreleri (GFBC) ATCC firmasından (katalog numarası: HGF-1 CRL-2014) temin edilmiştir. Dondurulmuş tüp içinde gelen hücreler seri şekilde 37°C'de su banyosu içerisinde yaklaşık 2 dk bekletilerek çözdürülmüştür. Hücreler çözüldükten sonra 25 cm^2 yüzey alanına sahip T25 kültür kapları (flask) içine besi yeri (low glucose DMEM/F12, %10 Fetal Bovin Serumu (FBS) ve %1 antibiyotik (pensilin-streptomisin-amfoterisin B iceren) ile birlikte ekilmiştir. Her üç günde bir besiyeri değişikliği uygulanmıştır. Kültürler günlük olarak kontrol edilmiştir. Hücrelerin yoğunluğu ve morfolojisi invert ışık mikroskopu kullanılarak değerlendirilmiştir. Hücreler flaskın %80'ini kaplayınca pasaj işlemi yapılmıştır. Bunun için ilk olarak hücrelerin besiyeri atılarak uzaklaştırılmıştır. Ardından flask, Ca^{++} ve Mg^{++} içermeyen steril fosfat tamponlu tuz (PBS) çözeltisi ile yıkanmıştır. PBS uzaklaştırıldıktan sonra 25

cm^2'lik flaska 0,4 mL Tripsin/etilendiamin tetraasetik asit eklenmiş, hücrelerin tabandan ayrılması için flasklar 5 dk inkübatörde bekletilmiştir. İnkübatörden alınan flaskta hücrelerin yüzeyden ayrılıp ayrılmadığı mikroskopla kontrol edilmiş, flaska 4 mL ilave edilerek süspansiyon haldeki hücreler steril tüpte 1200 rpm'de 5 dk santrifuj edilmiştir. Pellet oluşturan hücrelerin süpernatantı atıldıktan sonra 5 mL taze besiyeri ilave edilmiş, bunun 1 mL'si flaska geri koyulurken kalan miktar atılmıştır. Flasktaki 1 mL'lik hücre içeren besiyerinin üzerine 4 mL daha besiyeri eklenerek flasklar 37°C'de %5 CO2 içeren nemli ortamda inkübatörde bekletilmiştir.

Deneyler için hücre ekim işlemlerinde yüzeyi %90-95 oranında kaplayan aktif logaritmik üreme tarzındaki hücreler, pasajlama işlemine benzer biçimde flask tabanından ayrılıp taze besiyerinde süspansiyon haline getirilmiştir. Hemositometre ile hücre sayım işleminin ardından 96 kuyucuklu plakaların her kuyusuna 100 μL'de 1×10^5 hücre gelecek şekilde hücre ekimi işlemi yapılmış ve hücre dağılımının homojen olmasına özen gösterilmiştir. Çalışmamızın hücre kültürünün hazırlanma aşamasında aşamasında laminer akışlı steril kabin, invert mikroskop, inkübatör kullanılmıştır. Hücre kültürü pasajlanmış ve kuyucuklara hücre ekimi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Hücre kültürünün hazırlanma aşamaları ve kullanılan cihazlar

Not: a) Laminer akışlı steril kabin b) İnvert mikroskop c) İnkübatör d) Hücre kültürünün pasajlanması e) Kuyucuklara hücre ekimi

3.3. HÜCRELERİN ADEZİV MATERYALLERLE İNKÜBASYONU

Ultraviyole (UV) ışık altında 2 saat boyunca sterilize edilen örnekler; Transbond XT adeziv (Şekil 3.2a), Biofix (Şekil 3.2b), Transbond XT primer (Şekil 3.2c) bir gün önce hücre ekimi yapılmış olan 96 kuyucuklu plaklara, steril presel yardımıyla, steril kabinde hücrelerle doğrudan temas edecek biçimde taşınmıştır (Şekil 3.2d-f). İnkübatörde 1., 3. ve 7. gün sonunda analizler yapılmıştır.



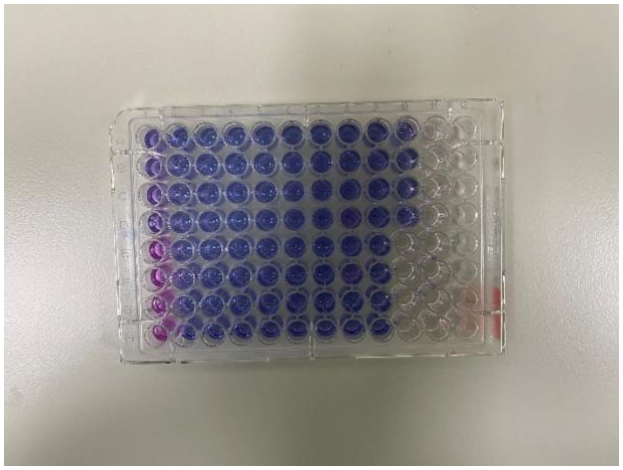
Şekil 3.2: Adeziv materyallerin deneyler için hazırlanması

Not: a) Transbond XT adeziv b) Biofix c) Transbond XT primer d) Materyallerin hazırlanması e) Hücre kültür çalışması için hazırlanan örnekler f) Hücrelerle inkübasyon öncesi sterilize edilmiş materyal örnekleri

3.4. RESAZURİN HÜCRE CANLILIK TESTİ

Resazurin hücre canlılığı testi, canlı hücrelerin hücre proliferasyonunu kantitatif olarak ölçmek için kullanılan bir çözeltidir. Hücreler canlı ve sağlıklı olduğunda, sitosolleri içinde indirgeyici bir ortam sağlarlar. Hücrenin sağlığı, floresan veya absorbanstaki değişiklik ile izlenebilir. Metabolik olarak aktif hücreler sürekli olarak resazurin reaktifini dönüştürür.

Kullanılacak hücre kültür kabına göre resazurin solüsyonun miktarı ayarlanmıştır (Şekil 3.3). 37 °C'de 4 saat inkübasyonun ardından 570 nm'de absorbans değerleri multimodlu plaka okuyucu ile elde edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.3: Hücre canlılık ölçümü için kuyucukların hazırlanması



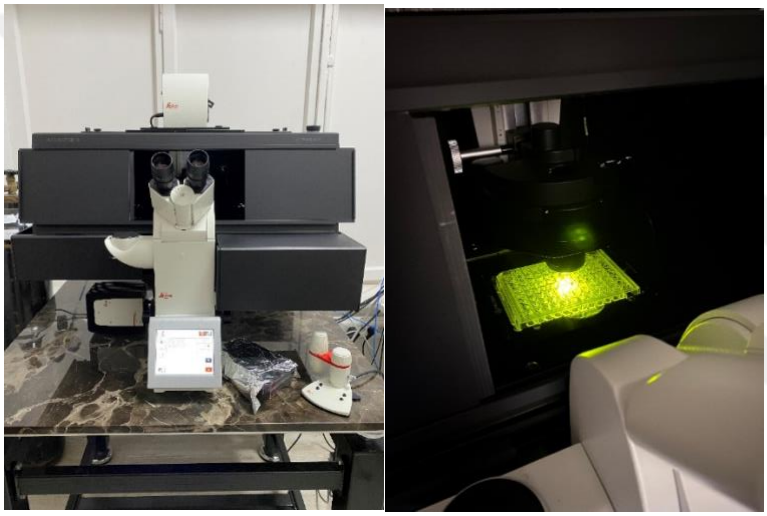
Şekil 3.4: Multimodlu plaka okuyucuda ölçüm alınması.

3.5. HÜCRE ÖLÜMÜNÜN BELİRLENMESİ

Primerli ortodontik adeziv rezin ve primersiz ortodontik adeziv rezin materyallerinin hücre kültüründe oluşturdukları sitotoksik etkinin apoptoz kaynaklı olup olmadığını araştırmak için Annexin-V Apoptoz kiti (Elabscience, katalog no: E-CK-A211) kullanarak mikroskop altında fotografik belirleme yapılmış ve görüntüler alınmıştır. Bunun için kit talimatları uygulanmış olup Annexin V-FITC ve propidyum iyodid eklenen hücreler boyamanın gerçekleşmesi için 20 dk oda ısısında karanlıkta bekletilmiştir (Şekil 3.5). Ardından PBS ile yıkanan hücreler 1 saat içinde mikroskop altında analiz edilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.5: Annexin-V kiti



Şekil 3.6: Floresan Mikroskop

3.6. HPLC İLE KANTİTATİF TAYİN

Düzenekten 1. 3. ve 7. günlerde 2,5 ml plastik enjektörlerle 0,5 ml.lik numuneler alınmıştır. Alınan örnekler buzdolabında 4°C'de bekletilmiş ve numuneler güneş ışığından korunmuştur. Araştırmada BisGMA monomerine ait saf kimyasal kullanılmıştır. HPLC cihazının kromatografi kalibrasyonunun yapılabilmesi için deney şartları hazırlanmıştır. Çalışma öncesinde standart çalışma çözeltileri, 100 ml etanol içerisinde çözündürülmüştür.

Kantitatif analizler Sağlık Bilimleri Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde Shimadzu Nexera-i LC-2040C 3D Plus marka HPLC cihazı ile yapılmıştır. Dedektör olarak DAD detektör (205 nm'de), ayrım Luna Omega 5u Polar C18 100A, LC Column

250 x 4.6 mm, Ea C18 ters faz dolgu maddeli kolon kullanılmıştır. Hareketli faz olarak deiyonize su (Çözücü A) ve asetonitril (Çözücü B) (Merck, HPLC grade) ile Tablo 3.4'teki pompa programı kullanılmıştır. Analiz boyunca mobil faz akış hızı 1 ml/dk olarak, kolon sıcaklığı ise 25°C olarak ayarlanmıştır. Numune ve standartlar cihaza 10 µL olarak enjekte edilmiştir.

Tablo 3.4: HPLC pompa program

Adımlar	Akış hızı (ml/dk)	Zaman (dakika)	% Çözücü A (deiyonize su)	% Çözücü B (Asetonitril)
Adım 1	1.00	0,01	30	70
Adım 2	1.00	12	30	70
Adım 3	1.00	12,01	Stop	

3.7. 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 (ortalama,standart sapma) yanı sıra Shapiro – Wilk normallik testi ile değişkenlerin dağılımına bakılmış, normal dağılım gösteren değişkenlerin zaman karşılaştırmalarında eşlendirilmiş tek yönlü varyans analizi, alt grup karşılaştırmalarında Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi, gruplar arası karşılaştırmalarında tek yönlü varyans analizi, alt grup karşılaştırmalarında Tukey çoklu karşılaştırma testi, ikili grupların karşılaştırmasında bağımsız t testi kullanılmıştır. Sonuçlar, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda ortodontide kullanılan primerli ve primersiz adeziv rezinlerin, gingival fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri in vitro olarak değerlendirilmiştir. Kullanılan materyaller farklı ışın cihazları ile değişik sürelerde polimerize edilmiş, polimerizasyonun sitotoksisite üzerine etkileri de incelenmiştir. Ayrıca kullanılan adeziv rezinlerin içeriğindeki artık monomer miktarları tespit edilmiş, sitotoksisiteye etkileri değerlendirilmiştir.

4.1. IŞIK KAYNAĞI VE POLİMERİZASYON SÜRESİNİN FİBROBLAST HÜCRE CANLILIK DÜZEYİNE ETKİLERİ

Çalışmamızda farklı adeziv rezinlerin ve primerin farklı ışık cihazları ile 20 sn ve 40 sn polimerize edilmesinden 1, 3 ve 7 gün sonra, resazurin hücre canlılık testi kullanılarak, fibroblast hücrelerinin canlılık düzeyleri üzerine etkileri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.1: Farklı ışık cihazları ile farklı sürelerde polimerize edilen materyallerin, fibroblast hücre canlılık düzeylerine etkilerinin "Tek Yönlü Varyans Analizi" ile karşılaştırılması

Işık Kaynağı	Süre	Zaman	Transbond XT+Primer	Biofix	Transbond XT	Primer	p
3M	20 sn	1. gün	0,379±0,017	0,397±0,019	0,386±0,009	0,381±0,033	0,655
		3. gün	0,366±0,019	0,378±0,026	0,378±0,006	0,389±0,010	0,378
		7. gün	0,373±0,053	0,347±0,006	0,339±0,009	0,334±0,012	0,257
	40 sn	1. gün	0,378±0,013	0,390±0,022	0,399±0,016	0,391±0,022	0,470
		3. gün	0,390±0,023	0,395±0,023	0,393±0,024	0,399±0,040	0,975
		7. gün	0,488±0,118	0,364±0,019	0,382±0,041	0,341±0,007	**0,029**
Valo	20 sn	1. gün	0,370±0,011	0,352±0,005	0,390±0,049	0,384±0,010	0,223
		3. gün	0,363±0,024	0,375±0,012	0,378±0,005	0,383±0,008	0,318
		7. gün	0,380±0,096	0,335±0,006	0,340±0,011	0,394±0,043	0,341
	40 sn	1. gün	0,373±0,011	0,361±0,002	0,368±0,009	0,415±0,014	**0,0001**
		3. gün	0,380±0,012	0,396±0,018	0,390±0,020	0,392±0,031	0,748
		7. gün	0,345±0,008	0,357±0,005	0,345±0,007	0,442±0,045	**0,0001**

Tek yönlü varyans analizi

3M ışık kaynağı ile 20 sn polimerizasyon yapıldığında; 1. gün, 3. gün ve 7. gün Transbond XT+Primer, Biofix, Transbond XT ve Primer gruplarının hücre canlılık

düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,655, p=0,378, p=0,257; p>0.05) (Tablo 4.1).

3M ışık kaynağı ile 40 sn polimerizasyon yapıldığında; 1. gün ve 3. gün Transbond XT+Primer, Biofix, Transbond XT ve Primer gruplarının hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmezken (sırasıyla p=0,470, p=0,975; p>0.05), 7. günde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p=0,029; p<0,05) (Tablo 4.1).

Valo ışık kaynağı ile 20 sn polimerizasyon yapıldığında; 1. gün, 3. gün ve 7. gün Transbond XT+Primer, Biofix, Transbond XT ve Primer gruplarının hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,223, p=0,318, p=0,341; p>0,05) (Tablo 4.1).

Valo ışık kaynağı ile 40 sn polimerizasyon yapıldığında; 1. gün ve 7. günde Transbond XT+Primer, Biofix, Transbond XT ve Primer gruplarının hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilirken (sırasıyla p=0,0001, p=0,0001; p<0,001), 3. günde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,078; p>0,05) (Tablo 4.1).

Tablo 4.2: Çalışmada kullanılan materyallerin farklı ışık cihazları ile farklı sürelerde polimerizasyonunun 1., 3. ve 7. günlerde fibroblast hücre canlılık düzeylerine etkilerinin "Eşleştirilmiş Tek Yönlü Varyans Analizi" ile karşılaştırılması

Grup	Işık Kaynağı	Süre	1. gün	3. gün	7. gün	p
Transbond XT+ Primer	3M	20 sn	0,379±0,017	0,366±0,019	0,373±0,053	0,867
		40 sn	0,378±0,013	0,390±0,023	0,488±0,118	0,125
	Valo	20 sn	0,370±0,011	0,363±0,024	0,380±0,096	0,910
		40 sn	0,373±0,011	0,380±0,012	0,345±0,008	**0,012**
Biofix	3M	20 sn	0,397±0,019	0,378±0,026	0,347±0,006	**0,041**
		40 sn	0,390±0,022	0,395±0,023	0,364±0,019	0,248
	Valo	20 sn	0,352±0,005	0,375±0,012	0,335±0,006	**0,0001**
		40 sn	0,361±0,002	0,396±0,018	0,357±0,005	**0,004**
Transbond XT	3M	20 sn	0,386±0,009	0,378±0,006	0,339±0,009	**0,0001**
		40 sn	0,399±0,016	0,393±0,024	0,382±0,041	0,704
	Valo	20 sn	0,390±0,049	0,378±0,005	0,340±0,011	0,100
		40 sn	0,368±0,009	0,390±0,020	0,345±0,007	**0,013**
Primer	3M	20 sn	0,381±0,033	0,389±0,010	0,334±0,012	**0,014**
		40 sn	0,391±0,022	0,399±0,040	0,341±0,007	**0,029**
	Valo	20 sn	0,384±0,010	0,383±0,008	0,394±0,043	0,752
		40 sn	0,415±0,014	0,392±0,031	0,442±0,045	0,133

Eşlendirilmiş Tek Yönlü Varyans Analizi

Tablo 4.3: Çalışmada kullanılan materyallerin farklı ışık cihazları ile farklı sürelerde polimerizasyonunun fibroblast hücre canlılık düzeylerine etkilerinin günlere göre "Newman Keuls Çoklu Karşılaştırma" testi ile karşılaştırılması

	Transbond XT+Primer	Biofix			Transbond XT		Primer	
	Valo	3M	Valo		3M	Valo	3M	
Zaman	40 sn	20 sn	20 sn	40 sn	20 sn	40 sn	20 sn	40 sn
1. gün / 3. gün	0,558	0,427	**0,009**	**0,033**	0,177	0,190	0,684	0,704
1. gün / 7. gün	**0,049**	**0,025**	**0,002**	0,305	**0,001**	**0,001**	**0,044**	**0,011**
3. gün / 7. gün	**0,001**	**0,045**	**0,003**	**0,02**	**0,001**	**0,031**	**0,0001**	**0,045**

Newman Keuls Çoklu Karşılaştırma testi

Transbond XT+Primer grubu 3M ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,867; p>0,05) (Tablo 4.2).

Transbond XT+Primer grubu 3M ışık kaynağı ile 40 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,125; p>0,05) (Tablo 4.2).

Transbond XT+Primer grubu Valo ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,910; p>0,05) (Tablo 4.2).

Transbond XT+Primer grubu Valo ışık kaynağı ile 40 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (p=0,012; p<0,05) (Tablo 4.2). 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş (sırasıyla p=0,049, p=0,001; p<0,05), 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,558; p>0,05) (Tablo 4.3).

Biofix grubu 3M ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (p=0,041; p<0,05) (Tablo 4.2). 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş (sırasıyla p=0,025, p=0,045; p<0,05), 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,427; p>0,05) (Tablo 4.3).

Biofix grubu 3M ışık kaynağı ile 40 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün Transbond XT+Primer grubu Valo ışık kaynağı ile 40 sn polimerize edildiğinde; 1. gün,

3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (p=0,012; p<0,05) (Tablo 4.2). 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş (sırasıyla p=0,049, p=0,001; p<0,05), 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,558; p>0,05) (Tablo 4.3).

Biofix grubu 3M ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (p=0,041; p<0,05) (Tablo 4.2). 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş (sırasıyla p=0,025, p=0,045; p<0,05), 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,427; p>0,05) (Tablo 4.3).ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,248; p>0,05 (Tablo 4.2).

Biofix grubu Valo ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (p=0,0001; p<0,001) (Tablo 4.2). 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş (sırasıyla p=0,002, p=0,003; p<0,01), 3. gün hücre canlılık düzeyleri ise 1. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,009; p<0,01) (Tablo 4.3).

Biofix grubu Valo ışık kaynağı ile 40 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (p=0,004; p<0,01) (Tablo 4.2). 3. gün hücre canlılık düzeyleri 1. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunurken (p=0,033; p<0,05), 7. gün hücre canlılık düzeyleri 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,02; p<0,05) (Tablo 4.3). 1. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,305) (Tablo 4.3).

Transbond XT grubu 3M ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (p=0,0001; p<0,001) (Tablo 4.2). 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş

(p=0,001; p<0,01), 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,177; p>0,05) (Tablo 4.3).

Transbond XT grubu 3M ışık kaynağı ile 40 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,704; p>0,05) (Tablo 4.2).

Transbond XT grubu Valo ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,100) (Tablo 4.2).

Transbond XT grubu Valo ışık kaynağı ile 40 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (p=0,013) (Tablo 4.2). 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş (sırasıyla p=0,001, p=0,031; p<0,05), 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,190; p>0,05) (Tablo 4.3).

Primer grubu 3M ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (p=0,014; p<0,05) (Tablo 4.2). 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş (sırasıyla p=0,044, p=0,0001; p<0,05), 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,684; p>0,05) (Tablo 4.3).

Primer grubu 3M ışık kaynağı ile 40 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (p=0,029; p<0,05) (Tablo 4.2). 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş (sırasıyla p=0,011, p=0,045; p<0,05), 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,704; p>0,05) (Tablo 4.3).

Primer grubu Valo ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,752, p>0,05) (Tablo 4.2).

Primer grubu Valo ışık kaynağı ile 40 sn polimerize edildiğinde 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,133; p>0,05) (Tablo 4.2).

Tablo 4.4: Çalışmada kullanılan materyallerin polimerizasyonu için kullanılan ışık cihazlarının, fibroblast hücre canlılık düzeylerine etkilerinin "Bağımsız t" testi ile karşılaştırılması

Grup	Süre	Zaman	3M	Valo	p
Transbond XT+Primer	20 sn	1. gün	0,379±0,017	0,37±0,011	0,398
		3. gün	0,366±0,019	0,363±0,024	0,854
		7. gün	0,373±0,053	0,380±0,096	0,899
	40 sn	1. gün	0,378±0,013	0,373±0,011	0,574
		3. gün	0,390±0,023	0,380±0,012	0,460
		7. gün	0,488±0,118	0,345±0,008	**0,049**
Biofix	20 sn	1. gün	0,397±0,019	0,352±0,005	**0,004**
		3. gün	0,378±0,026	0,375±0,012	0,830
		7. gün	0,347±0,006	0,335±0,006	**0,034**
	40 sn	1. gün	0,390±0,022	0,361±0,002	**0,040**
		3. gün	0,395±0,023	0,396±0,018	0,921
		7. gün	0,364±0,019	0,357±0,005	0,537
Transbond XT	20 sn	1. gün	0,386±0,009	0,390±0,049	0,893
		3. gün	0,378±0,006	0,378±0,005	0,897
		7. gün	0,339±0,009	0,340±0,011	0,896
	40 sn	1. gün	0,399±0,016	0,368±0,009	**0,014**
		3. gün	0,393±0,024	0,390±0,02	0,866
		7. gün	0,382±0,041	0,345±0,007	0,128
Primer	20 sn	1. gün	0,381±0,033	0,384±0,01	0,902
		3. gün	0,389±0,010	0,383±0,008	0,386
		7. gün	0,334±0,012	0,394±0,043	**0,037**
	40 sn	1. gün	0,391±0,022	0,415±0,014	0,121
		3. gün	0,399±0,040	0,392±0,031	0,790
		7. gün	0,341±0,007	0,442±0,045	**0,004**

Bağımsız t testi

Transbond XT+Primer grubu 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. günde 3M ve Valo ışık kaynaklarının hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,398, p=0,854, p=0,899; p>0,05) (Tablo 4.4).

Transbond XT+Primer grubu 40 sn polimerize edildiğinde; 1. gün ve 3. günde 3M ve Valo ışık kaynaklarının hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,574, p=0,460) Ancak 7. günde hücre canlılık düzeyleri; 3M ışık kaynağı ile polimerize edilen grupta, Valo ışık kaynağı ile polimerize edilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,049; p<0,05) (Tablo 4.4).

Biofix grubu 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün ve 7. günde hücre canlılık düzeyleri 3M ışık kaynağı ile polimerize edilen grupta, Valo ışık kaynağı ile polimerize edilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,004, p=0,034; p<0,01, p<0,05) Ancak 3. günde 3M ve Valo ışık kaynaklarının hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,830; p>0,05) (Tablo 4.4).

Biofix grubu 40 sn polimerize edildiğinde; 1. günde hücre canlılık düzeyleri 3M ışık kaynağı ile polimerize edilen grupta, Valo ışık kaynağı ile polimerize edilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,04; p<0,05). Ancak 3. gün ve 7. günde 3M ve Valo ışık kaynaklarının hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,921, p=0,537; p>0,05) (Tablo 4.4).

Transbond XT grubu 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün, 3. gün ve 7. günde 3M ve Valo ışık kaynaklarının hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,893, p=0,897, p=0,896; p>0,05) (Tablo 4.4).

Transbond XT grubu 40 sn polimerize edildiğinde; 1. günde hücre canlılık düzeyleri 3M ışık kaynağı ile polimerize edilen grupta, Valo ışık kaynağı ile polimerize edilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,014; p<0,05). Ancak 3. gün ve 7. günde 3M ve Valo ışık kaynaklarının hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,866, p=0,128; p>0,05) (Tablo 4.4).

Primer grubu 20 sn polimerize edildiğinde; 1. gün ve 3. günde 3M ve Valo ışık kaynaklarının hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,902, p=0,386; p>0,05). Ancak 7. günde hücre canlılık düzeyleri; Valo ışık kaynağı ile polimerize edilen grupta, 3M ışık kaynağı ile polimerize edilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,037; p<0,05) (Tablo 4.4).

Primer grubu 40 sn polimerize edildiğinde 1. gün ve 3. günde 3M ve Valo ışık kaynaklarının hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,121, p=0,790; p>0,05). Ancak 7. günde hücre canlılık düzeyleri; Valo ışık kaynağı ile polimerize edilen grupta, 3M ışık kaynağı ile polimerize edilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,004; p<0,01) (Tablo 4.4).

Tablo 4.5: Çalışmada kullanılan materyallerin polimerizasyon sürelerinin, fibroblast hücre canlılık düzeylerine etkilerinin "Bağımsız t" testi ile karşılaştırılması

Grup	Işık Kaynağı	Zaman	20 sn	40 sn	p
Transbond XT+Primer	3M	1. gün	0,379±0,017	0,378±0,013	0,927
		3. gün	0,366±0,019	0,390±0,023	0,162
		7. gün	0,373±0,053	0,488±0,118	0,124
	Valo	1. gün	0,370±0,011	0,373±0,011	0,709
		3. gün	0,363±0,024	0,380±0,012	0,265
		7. gün	0,380±0,096	0,345±0,008	0,490
Biofix	3M	1. gün	0,397±0,019	0,390±0,022	0,633
		3. gün	0,378±0,026	0,395±0,023	0,379
		7. gün	0,347±0,006	0,364±0,019	0,150
	Valo	1. gün	0,352±0,005	0,361±0,002	**0,019**
		3. gün	0,375±0,012	0,396±0,018	0,100
		7. gün	0,335±0,006	0,357±0,005	**0,001**
Transbond XT	3M	1. gün	0,386±0,009	0,399±0,016	0,213
		3. gün	0,378±0,006	0,393±0,024	0,274
		7. gün	0,339±0,009	0,382±0,041	0,086
	Valo	1. gün	0,390±0,049	0,368±0,009	0,412
		3. gün	0,378±0,005	0,390±0,020	0,274
		7. gün	0,340±0,011	0,345±0,007	0,437
Primer	3M	1. gün	0,381±0,033	0,391±0,022	0,634
		3. gün	0,389±0,010	0,399±0,040	0,638
		7. gün	0,334±0,012	0,341±0,007	0,369
	Valo	1. gün	0,384±0,010	0,415±0,014	**0,011**
		3. gün	0,383±0,008	0,392±0,031	0,584
		7. gün	0,394±0,043	0,442±0,045	0,171

Bağımsız t testi

Transbond XT+Primer grubunun 3M ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonu karşılaştırıldığında; 1. gün, 3. gün ve 7. günlere hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,927, p=0,162, p=0,124; p>0,05). Ancak 20 sn polimerizasyonda 3. günde hücre canlılık düzeyleri hafif azalırken, 7. günde hafif bir artış görülmüştür. 40 sn polimerizasyonda ise 3. günde ve 7. günde hücre canlılığı sürekli bir artış göstermiştir (Tablo 4.5) (Şekil 4.1).

Transbond XT+Primer grubunun Valo ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonu karşılaştırıldığında; 1. gün, 3. gün ve 7. günlere hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,709, p=0,265, p=0,490; p>0,05) (Tablo 4.5) (Şekil 4.1).

Biofix grubunun 3M ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonu karşılaştırıldığında; 1. gün, 3. gün ve 7. günlere hücre canlılık düzeyleri arasında

istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,633, p=0,379, p=0,150) (Tablo 4.5) (Şekil 4.1).

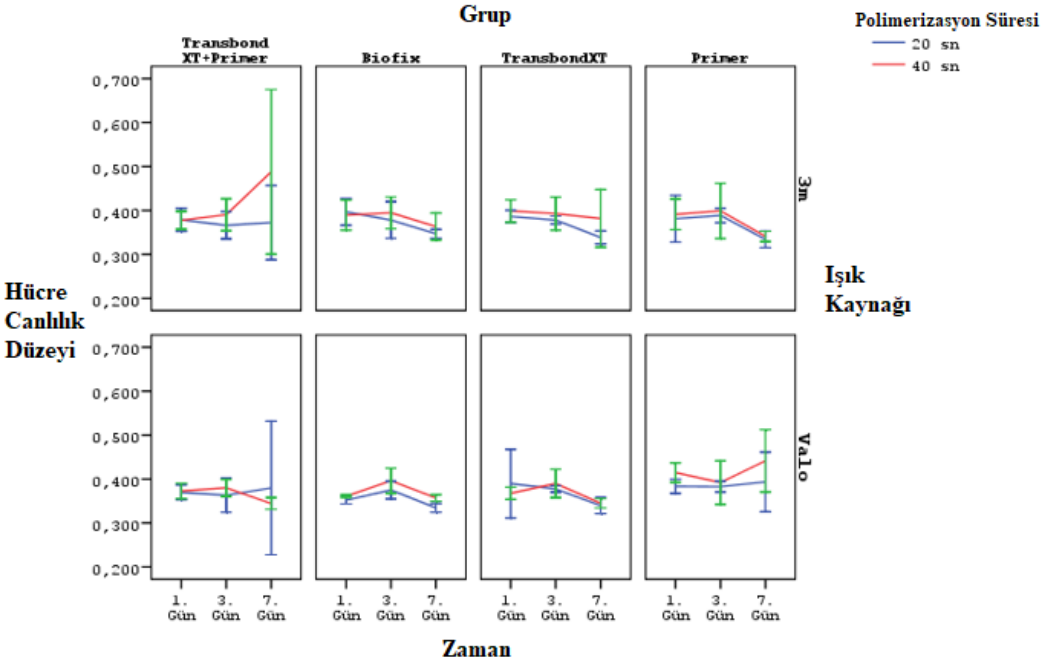
Biofix grubunun Valo ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonu karşılaştırıldığında; 1. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri 40 sn polimerize edilen grupta, 20 sn polimerize edilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,019, p=0,001; p<0,05). 3. günde ise 20 sn ve 40 sn polimerize edilen grupların hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,100; p>0,05) (Tablo 4.5) (Şekil 4.1).

Transbond XT grubunun 3M ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonu karşılaştırıldığında; 1. gün, 3. gün ve 7. günlere hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,213, p=0,274, p=0,086; p>0,05) (Tablo 4.5) (Şekil 4.1).

Transbond XT grubunun Valo ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonu karşılaştırıldığında; 1. gün, 3. gün ve 7. günlere hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,412, p=0,274, p=0,437) (Tablo 4.5) (Şekil 4.1).

Primer grubunun 3M ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonu karşılaştırıldığında; 1. gün, 3. gün ve 7. günlere hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,634, p=0,638, p=0,369) (Tablo 4.5) (Şekil 4.1).

Primer grubunun Valo ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonu karşılaştırıldığında; 1. gün hücre canlılık düzeyleri 40 sn polimerize edilen grupta, 20 sn polimerize edilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,011; p<0,05). 3. gün ve 7. günde ise 20 sn ve 40 sn polimerize edilen grupların hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,584, p=0,171; p>0,05) (Tablo 4.5) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Çalışmada kullanılan grupların her iki ışık kaynağıyla polimerizasyonu sonucunda hücre canlılık düzeyleri

Tablo 4.6: Pozitif ve negatif kontrol gruplarının 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeylerinin "Eşlendirilmiş Tek Yönlü Varyans Analizi" ve "Bağımsız t testi" ile karşılaştırılması

Zaman	Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol	p*
1. gün	0,366±0,022	0,484±0,004	**0,0001**
3. gün	0,448±0,044	0,578±0,092	**0,044**
7. gün	0,361±0,017	0,483±0,011	**0,0001**
p‡	**0,004**	0,074	

‡Eşlendirilmiş Tek Yönlü Varyans Analizi *Bağımsız t testi

Tablo 4.7: Pozitif kontrol grubuna ait fibroblast hücrelerinin canlılık düzeylerinin günlere göre Newman Keuls Çoklu Karşılaştırması

	Pozitif Kontrol Grubu
1. gün / 3. gün	**0,030**
1. gün / 7. gün	0,350
3. gün / 7. gün	**0,026**

Newman Keuls Çoklu Karşılaştırması

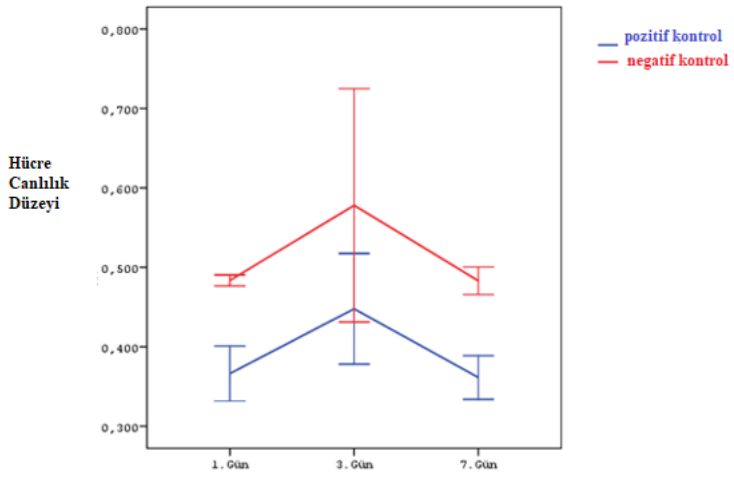
1. gün negatif kontrol grubunun hücre canlılık düzeyleri pozitif kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,0001; p<0,01) (Tablo 4.6).

3. gün negatif kontrol grubunun hücre canlılık düzeyleri pozitif kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,044; p<0,05) (Tablo 4.6).

7. gün negatif kontrol grubunun hücre canlılık düzeyleri pozitif kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,0001; p<0,01) (Tablo 4.6).

Negatif kontrol grubunun 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,074; p>0,05) (Tablo 4.6) (Şekil 4.2).

Pozitif kontrol grubunun 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (p=0,004; p<0,01) (Tablo 4.6). 3. gün hücre canlılık düzeyleri 1. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş (sırasıyla p=0,03, p=0,026; p<0,05), 1. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,350; p>0,05) (Tablo 4.7) (Şekil 4.2).

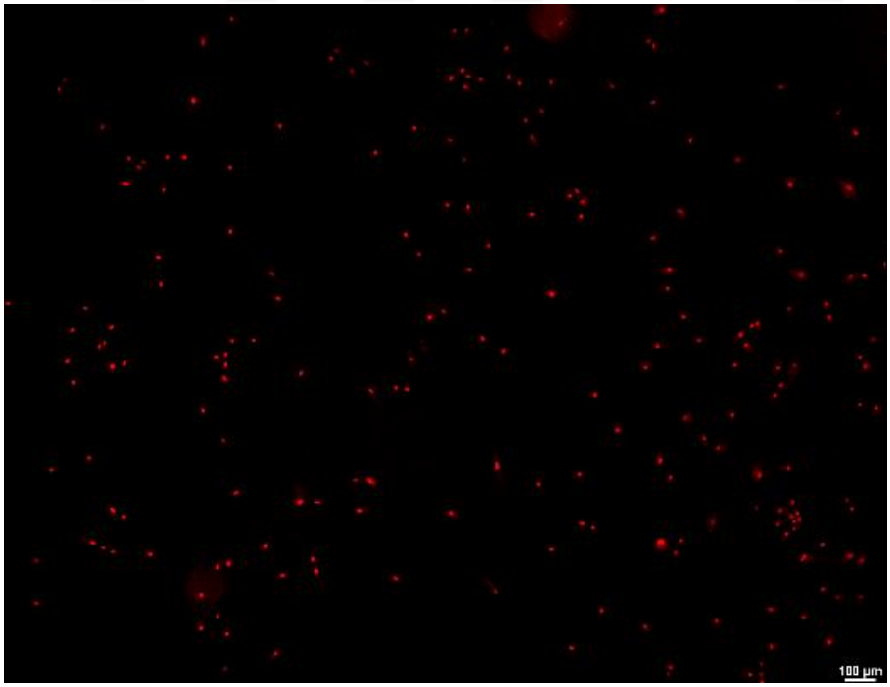


Şekil 4.2: Pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait 1., 3. ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri

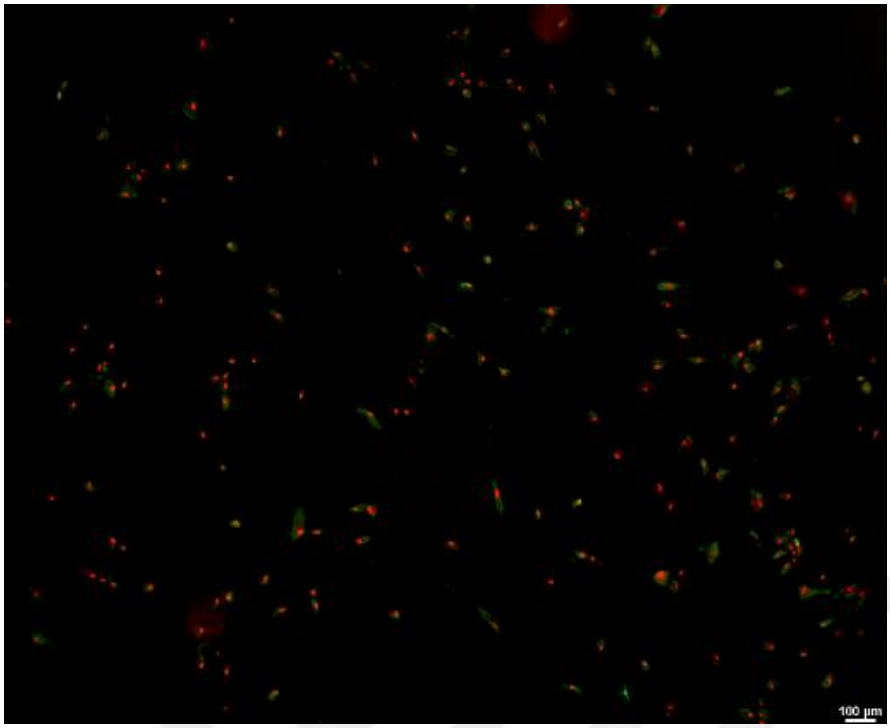
4.2. IŞIK KAYNAĞI VE POLİMERİZASYON SÜRESİNİN HÜCRE APOPTOZUNA ETKİLERİ

Çalışmamızda farklı ışık kaynaklarıyla 20 sn ve 40 sn polimerize edilen çalışma gruplarındaki hücre apoptozu floresan mikroskopu ile değerlendirilmiştir. Floresan mikroskobuyla alınan görüntülerde yeşil renkte olan hücreler canlı, kırmızı renkte olan hücreler nekrotik ve kırmızı-yeşil bir arada olan hücreler ise (bu hücreler çakışmadan ötürü sarı olarak da görünebilmektedir) apoptotik hücrelerdir.

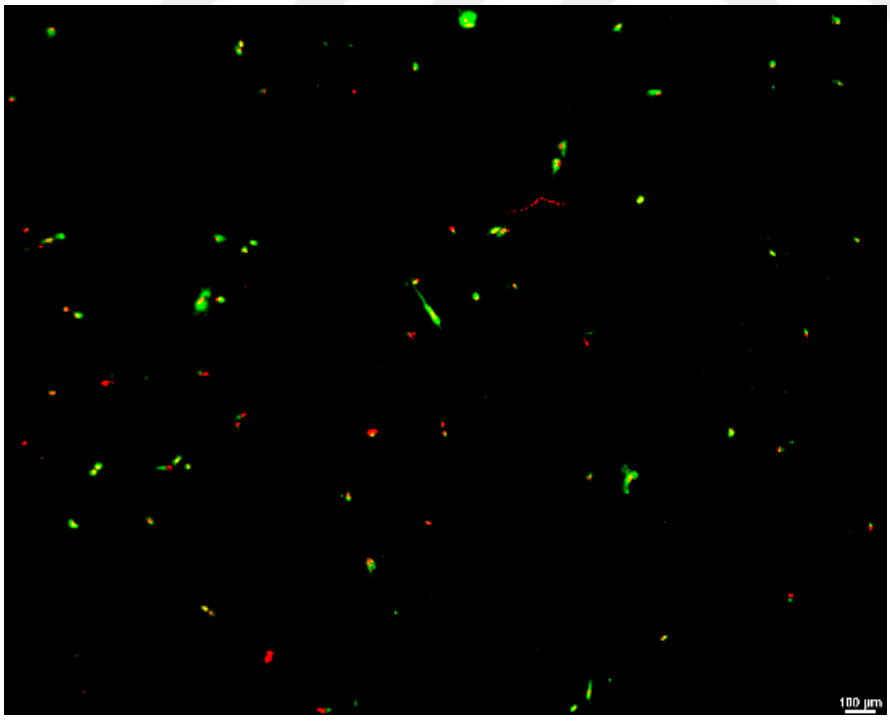
Floresan mikroskobuyla alınan görüntüler incelendiğinde nekrotik hücre miktarının biofix grubunda diğer gruplara göre daha fazla olduğu görüldü (Şekil 4.3). Alınan görüntülerde Biofix grubundan sonra en çok nekrotik hücre Transbond XT+ Primer grubunda izlendi (Şekil 4.4). Transbond XT+Primer grubunu, Transbond XT grubu takip ederken, en az nekrotik hücre Primer grubunda görüldü (Şekil 4.5, Şekil 4.6). Çalışmada kullanılan kontrol gruplarında ise negatif kontrol grubunda hücre canlılığı izlenirken (Şekil 4.7), sitotoksik etkiye sahip fenol eklenen pozitif kontrol grubunda nekrotik hücre daha fazla olarak görüldü (Şekil 4.8).



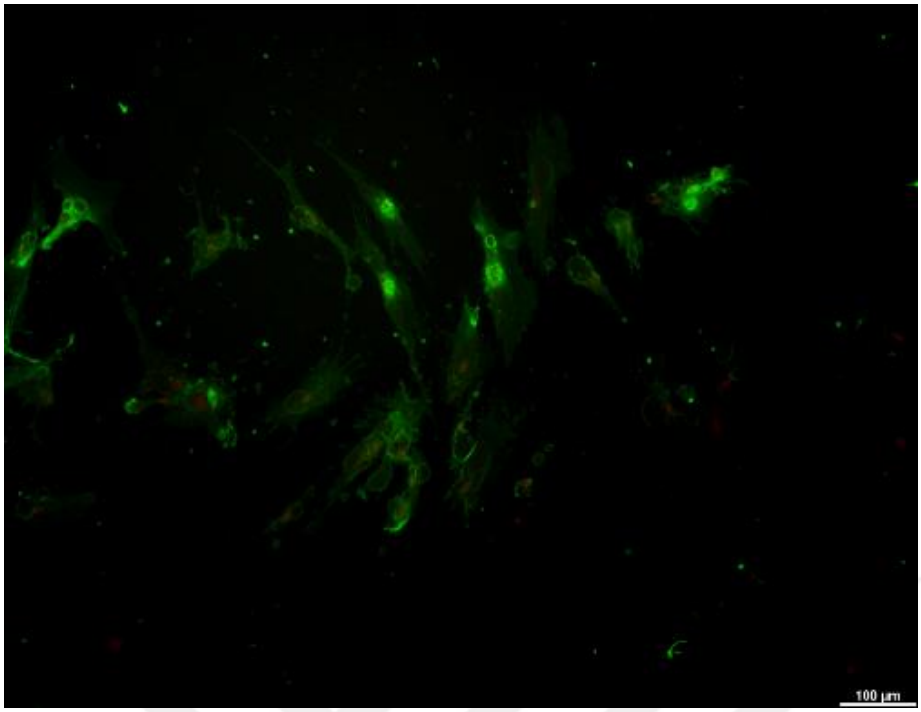
Şekil 4.3: Biofix grubuna ait hücrelerin görüntüsü



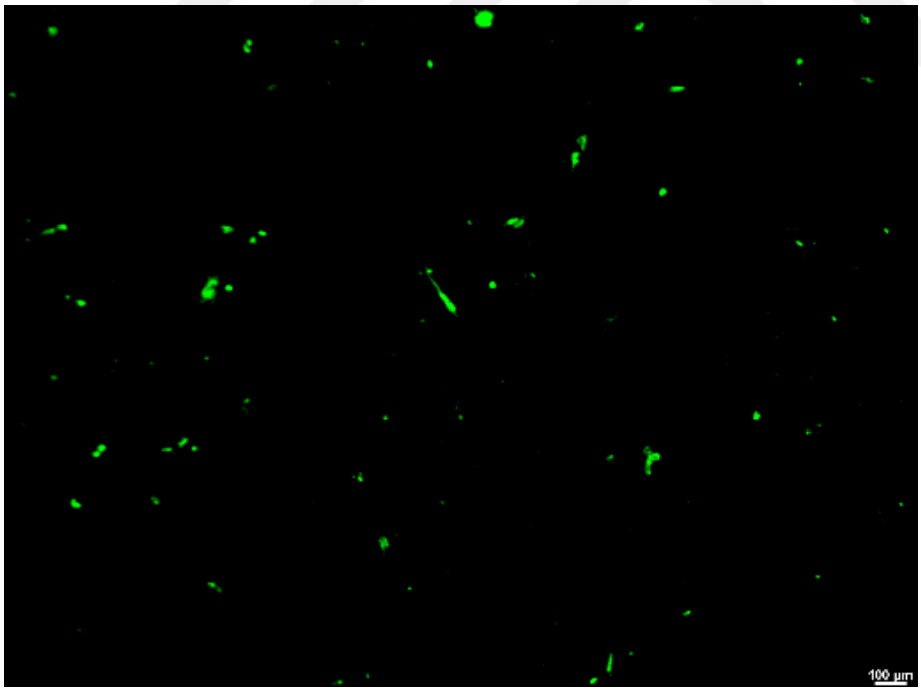
Şekil 4.4: Transbond XT+Primer grubuna ait hücrelerin görüntüsü



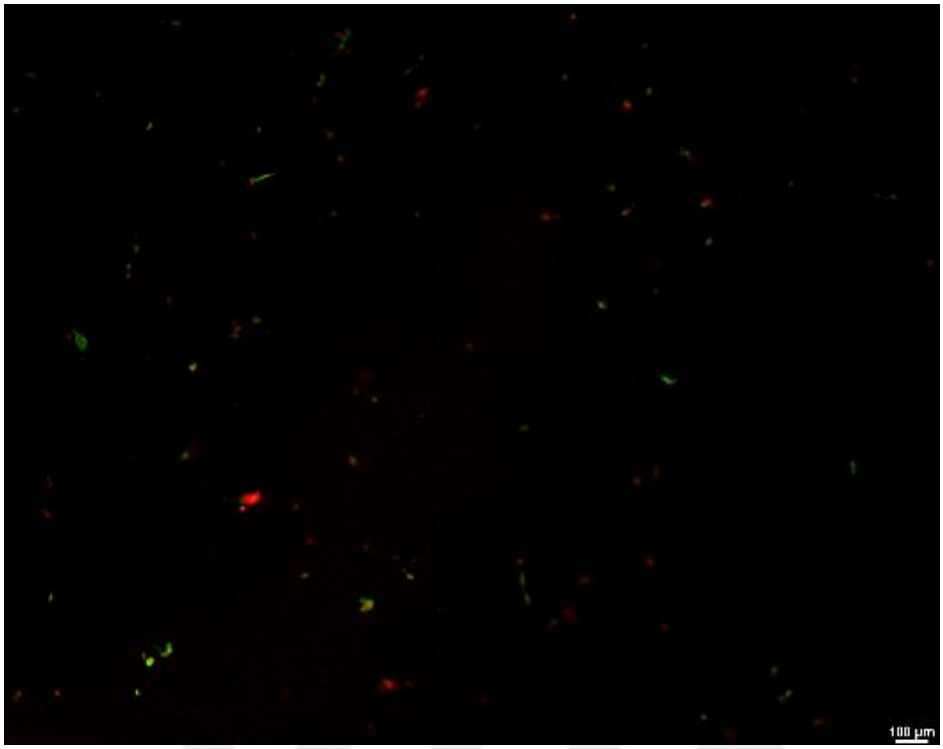
Şekil 4.5: Transbond XT grubuna ait hücrelerin görüntüsü



Şekil 4.6: Primer grubuna ait hücrelerin görüntüsü



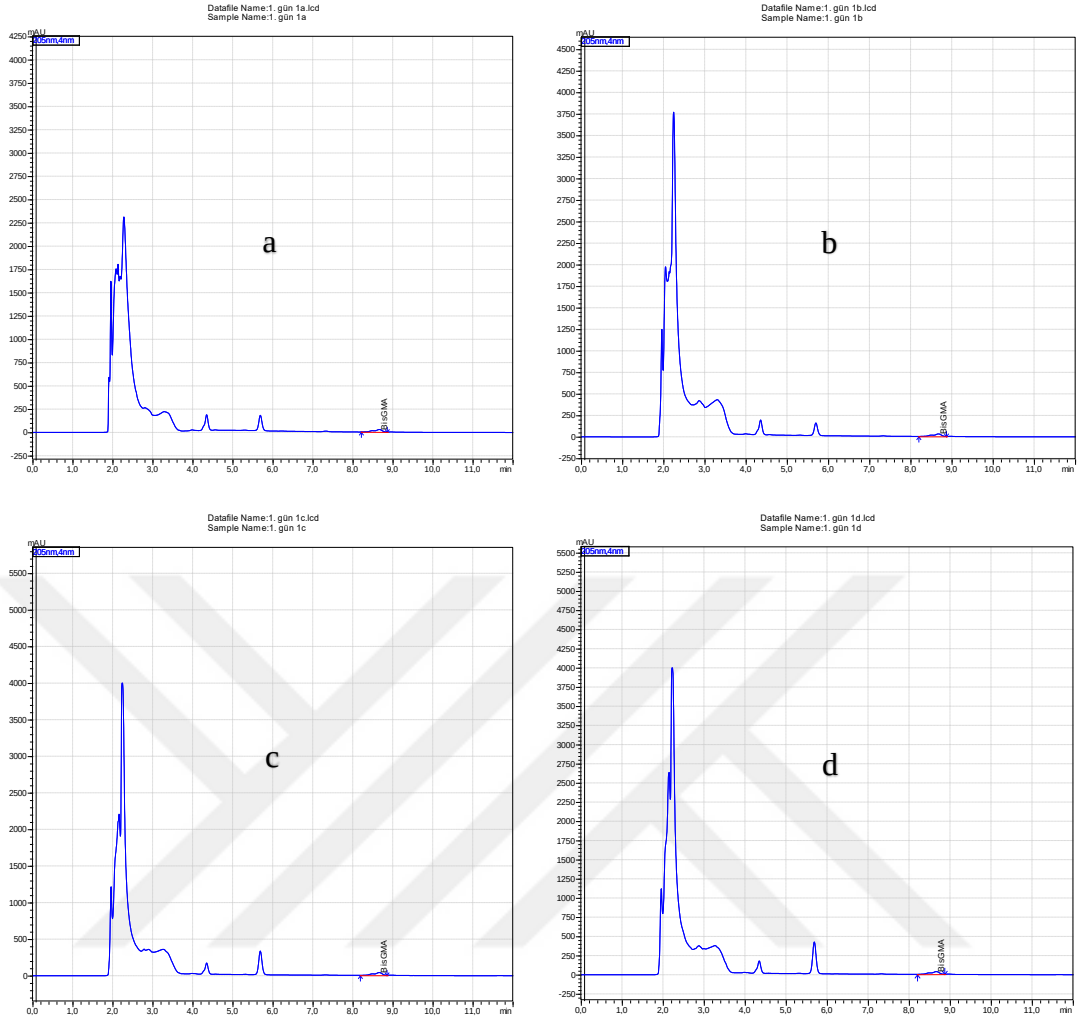
Şekil 4.7: Negatif kontrol grubuna ait hücre görüntüleri



Şekil 4.8: Pozitif kontrol grubuna ait hücre görüntüleri

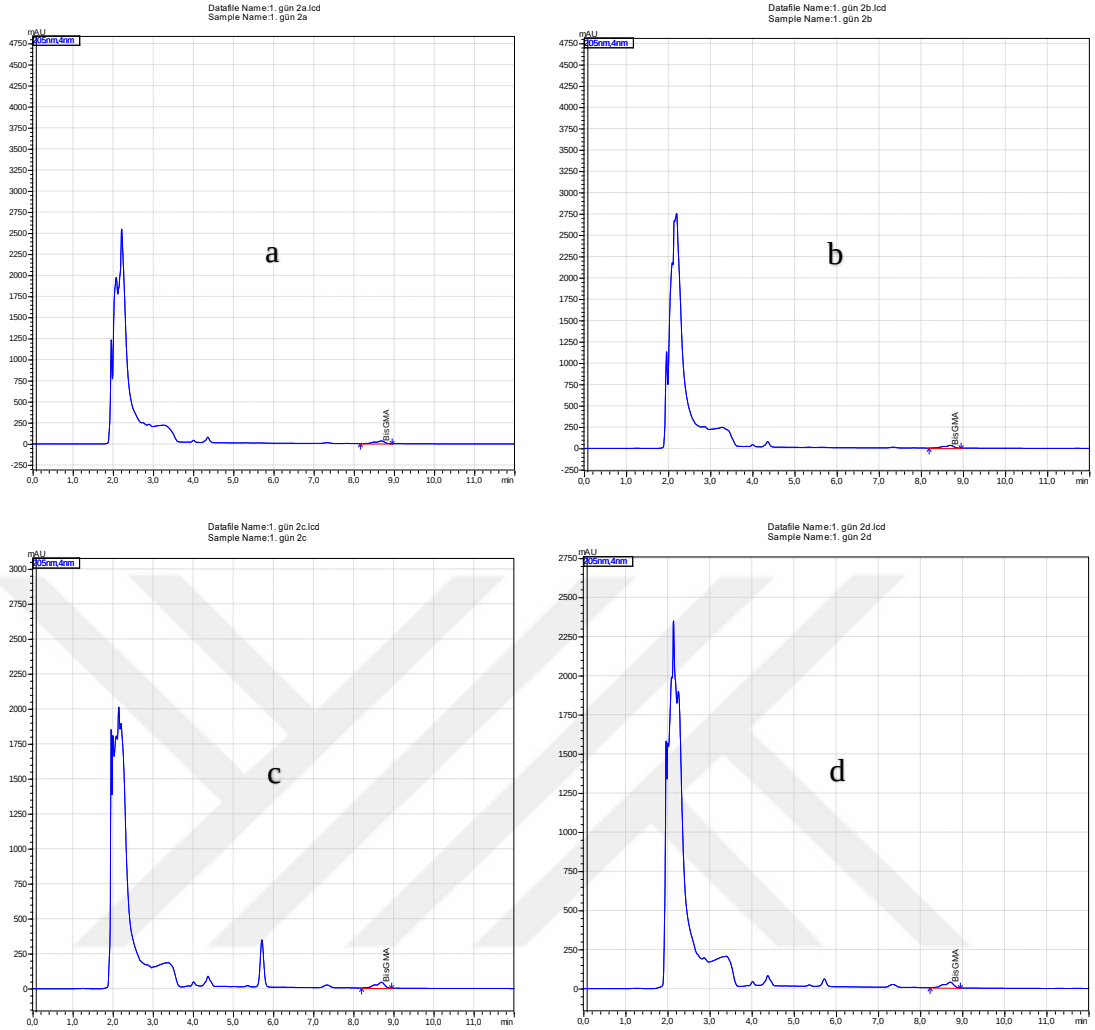
4.3. IŞIK KAYNAĞI VE POLİMERİZASYON SÜRESİNİN ARTIK MONOMER MİKTARINA ETKİLERİ

Çalışma gruplarının 3M ve Valo ışık kaynakları ile 20 sn ve 40 sn polimerize edilmesinden 1, 3 ve 7 gün sonra açığa çıkan artık monomer miktarları HPLC cihazı ile kantitatif olarak tespit edilmiştir. Birinci günde Transbond XT+Primer (Şekil 4.9), Biofix (Şekil 4.10), Transbond XT (Şekil 4.11) ve Primer gruplarında (Şekil 4.12) açığa çıkan artık monomer miktarları aşağıda sunulmuştur.



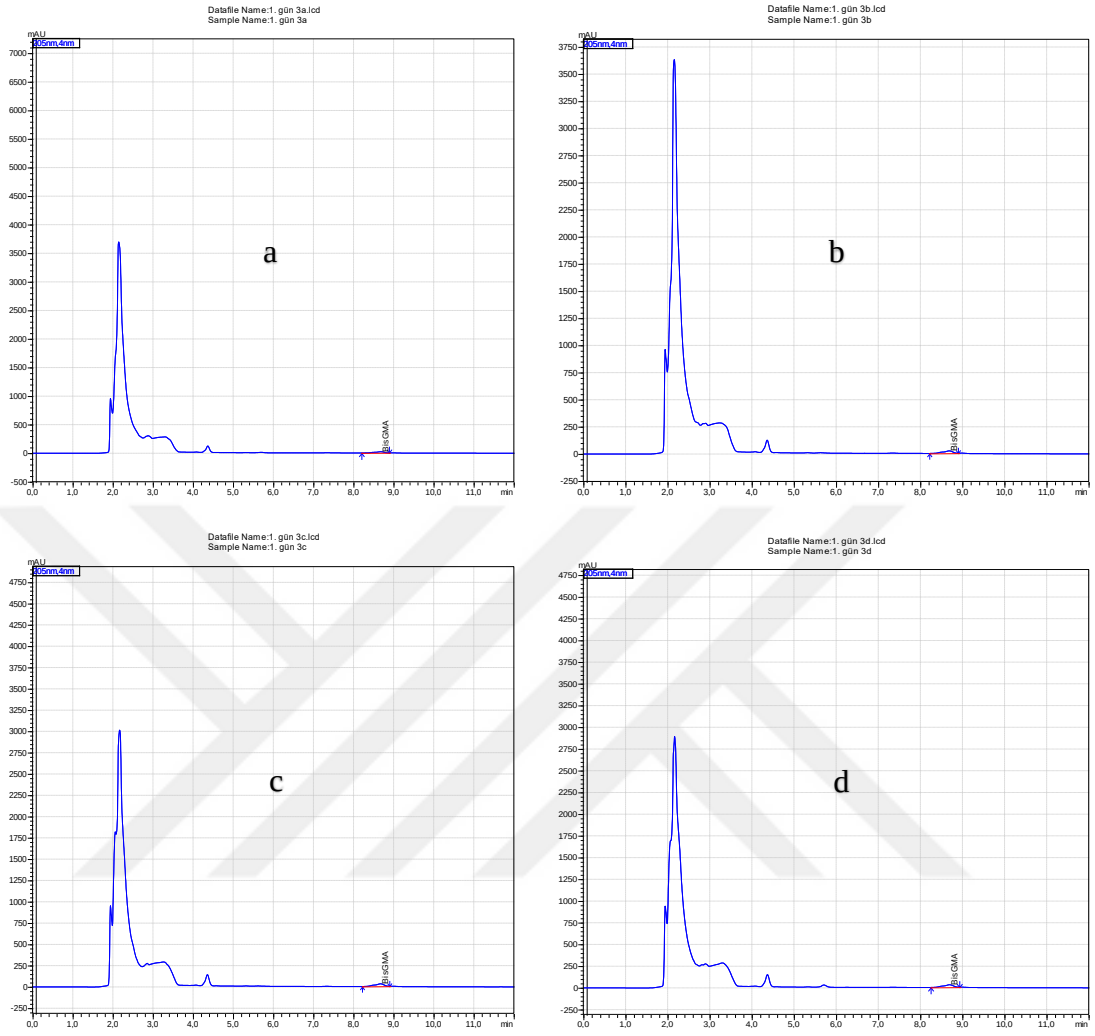
Şekil 4.9: Transbond XT+Primer grubunda 1. gün açığa çıkan BisGMA miktarları

Not: a) 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup b) 3M ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup c) Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup d) Valo ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup



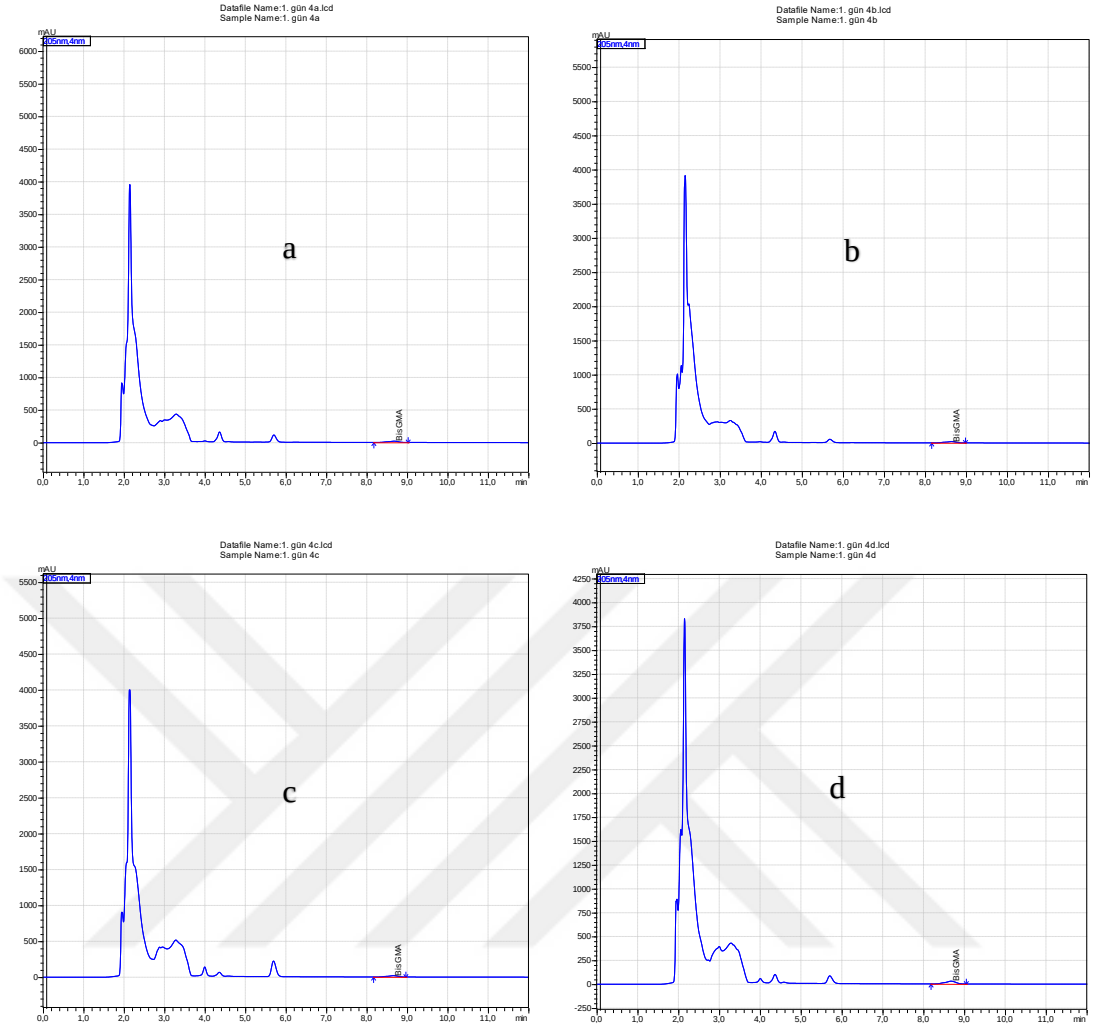
Şekil 4.10: Biofix grubunda 1. gün açığa çıkan BisGMA miktarları

Not: a) 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup b) 3M ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup c) Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup d) Valo ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup



Şekil 4.11: Transbond XT grubunda 1. gün açığa çıkan BisGMA miktarları

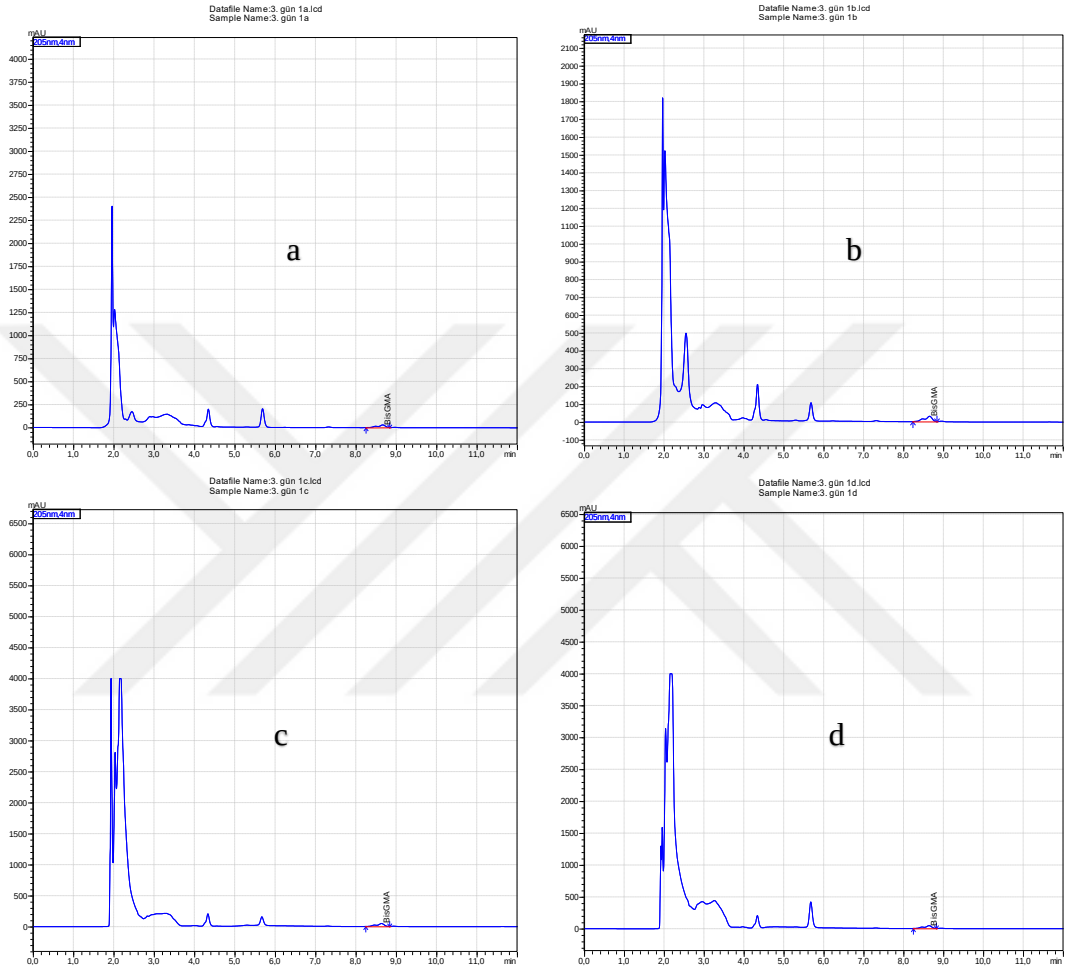
Not: a) 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup b) 3M ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup c) Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup d) Valo ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup



Şekil 4.12: Primer grubunda 1. gün açığa çıkan BisGMA miktarları

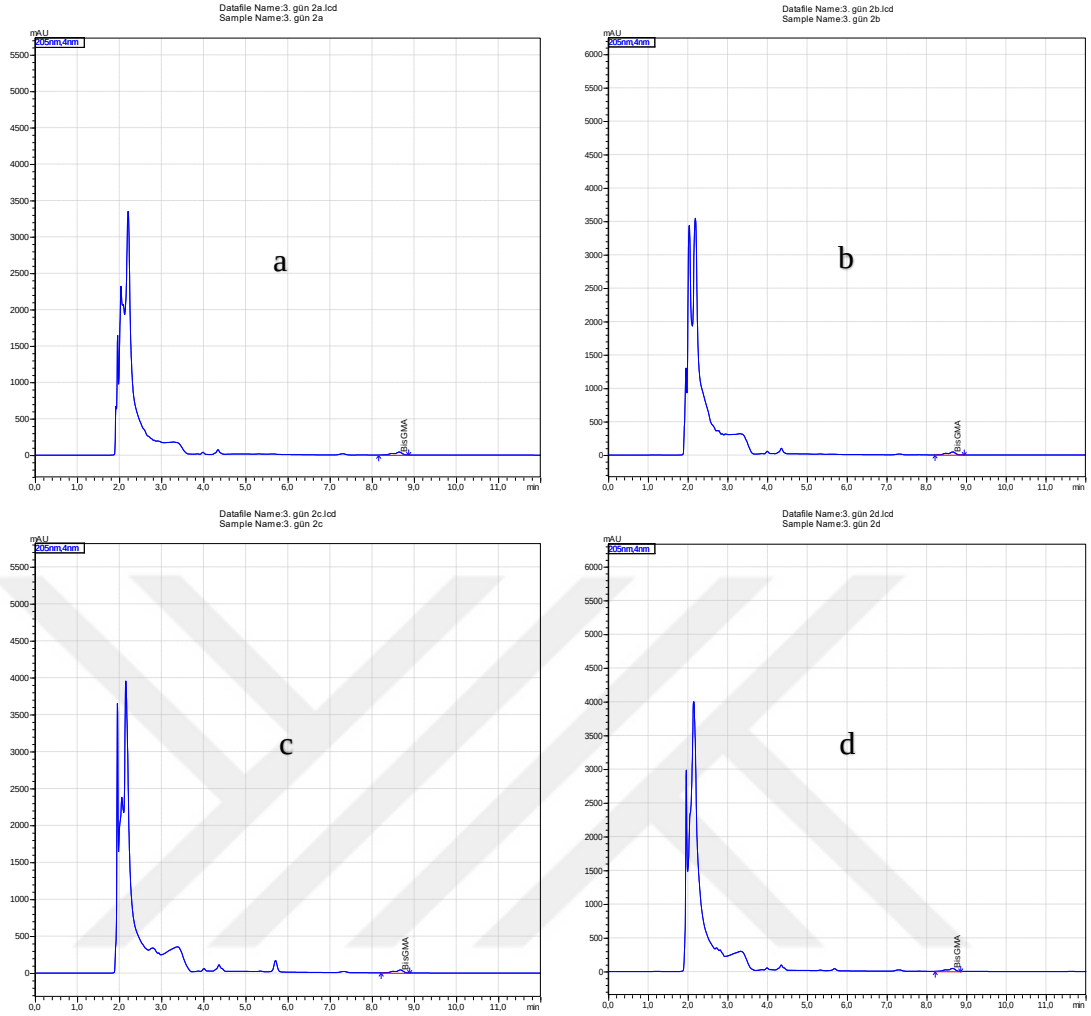
Not: a) 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup b) 3M ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup c) Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup d) Valo ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup

Üçüncü günde Transbond XT+Primer (Şekil 4.13), Biofix (Şekil 4.14), Transbond XT (Şekil 4.15) ve Primer gruplarında (Şekil 4.16) açığa çıkan artık monomer miktarları aşağıda sunulmuştur.



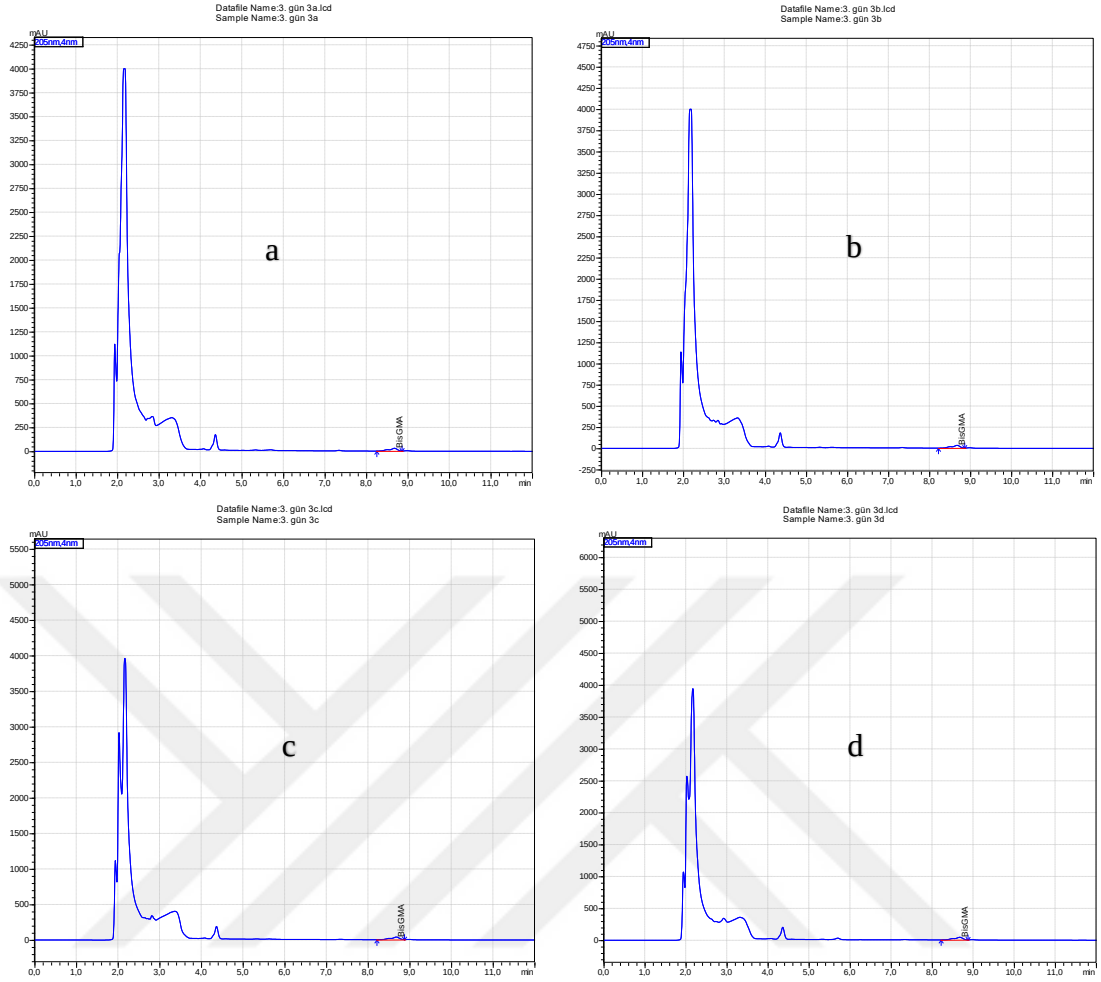
Şekil 4.13: Çalışmamızda Primer ve Transbond XT örneklerinin bir arada kullanıldığı gruptaki 3. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları

Not: a) 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, b) 3M ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup, c) Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, d) Valo ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup



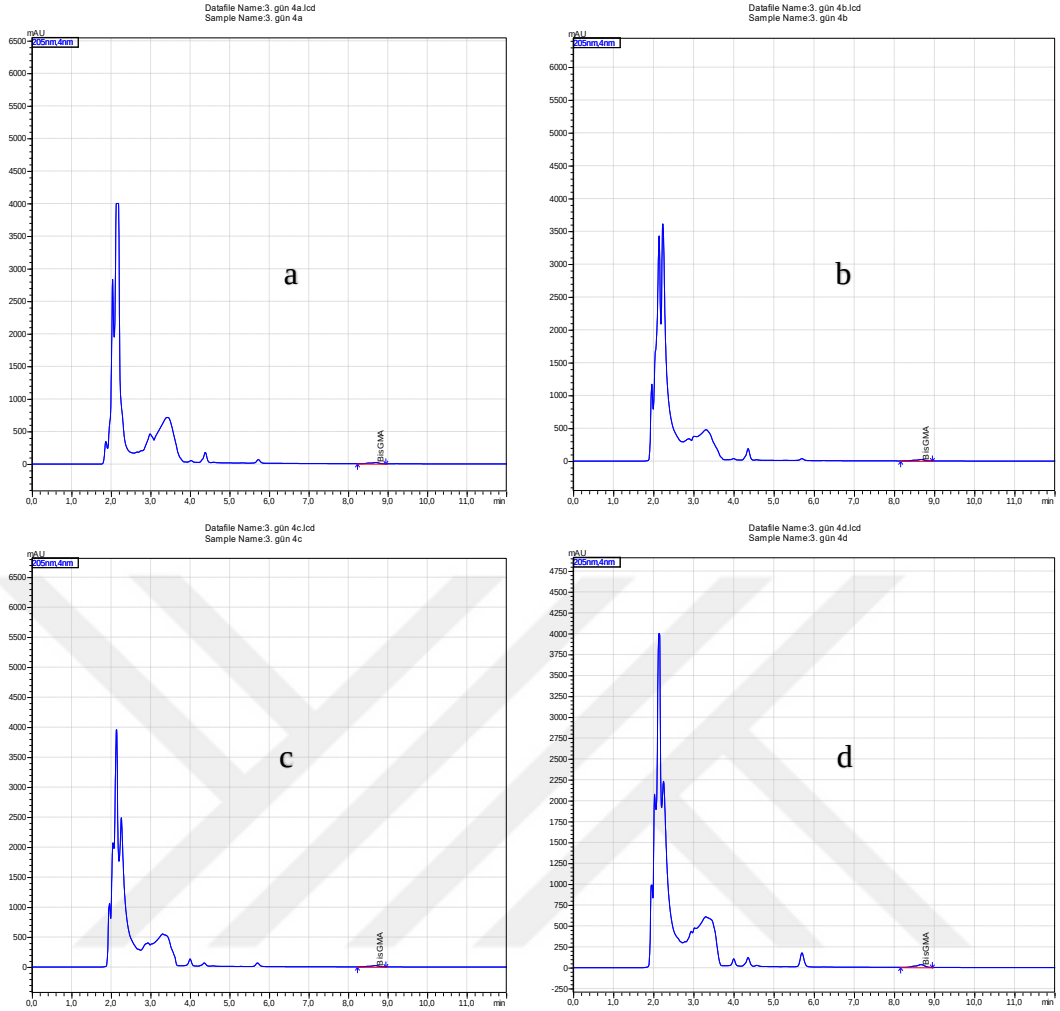
Şekil 4.14: Çalışmamızda Biofix örneklerinin kullanıldığı gruptaki 3. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları

Not: a) 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, b) 3M ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup, c) Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, d) Valo ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup



Şekil 4.15: Çalışmamızda Transbond XT örneklerinin kullanıldığı gruptaki 3. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları

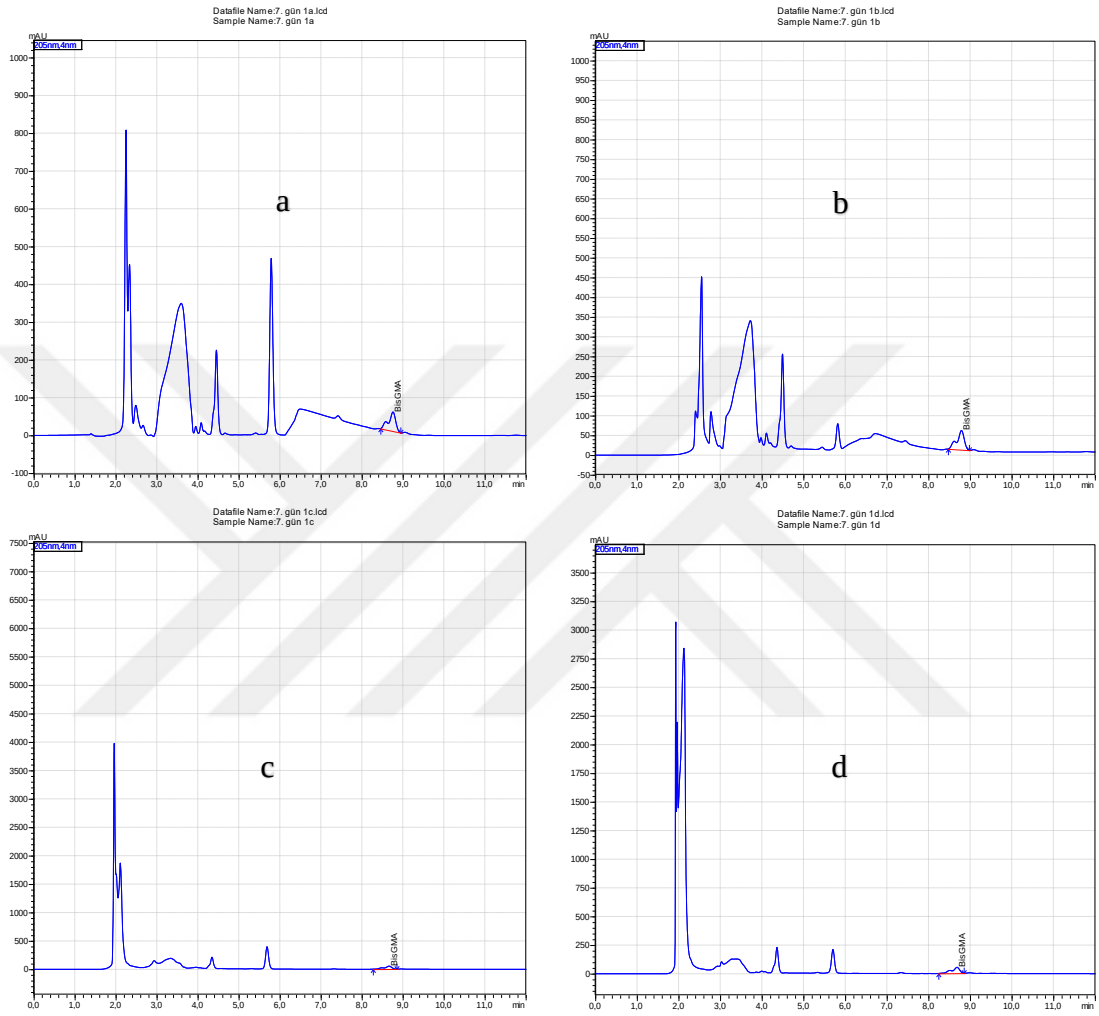
Not: a) 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, b) 3M ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup, c) Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, d) Valo ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup



Şekil 4.16: Çalışmamızda Primer örneklerinin kullanıldığı gruptaki 3. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları

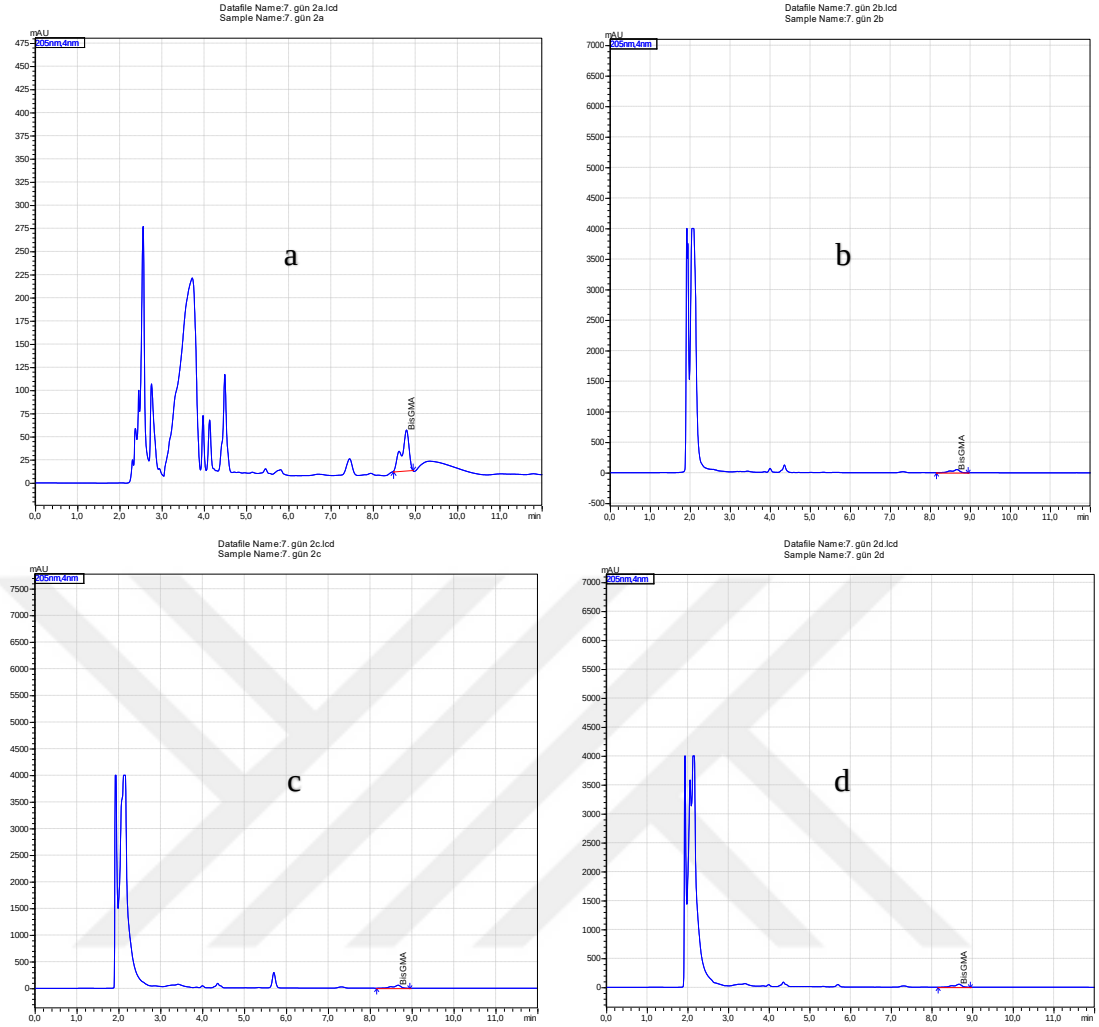
Not: a) 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, b) 3M ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup, c) Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, d) Valo ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup

Yedinci günde Transbond XT+Primer (Şekil 4.17), Biofix (Şekil 4.18), Transbond XT (Şekil 4.19) ve Primer gruplarında (Şekil 4.20) açığa çıkan artık monomer miktarları aşağıda sunulmuştur.



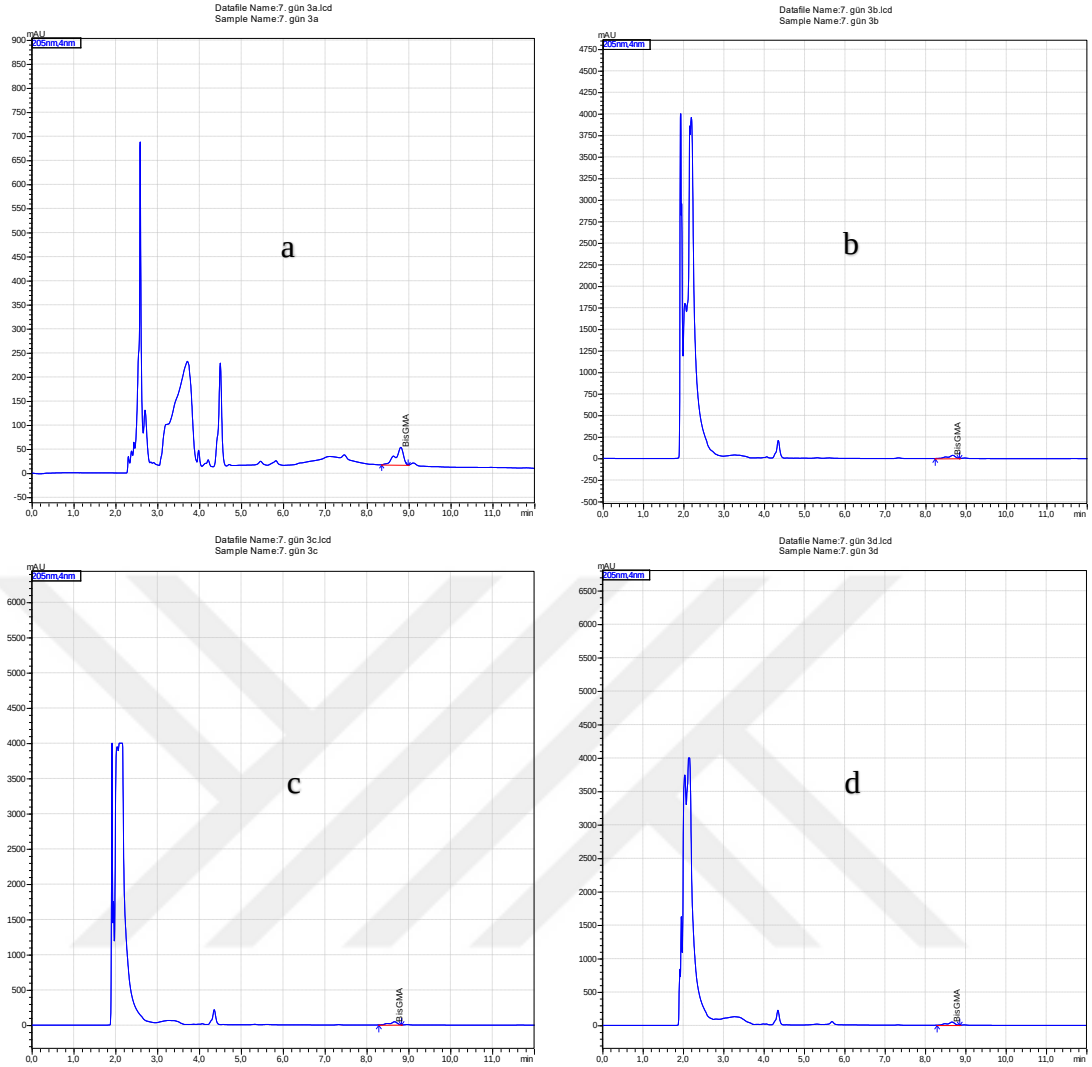
Şekil 4.17: Çalışmamızda Primer ve Transbond XT örneklerinin bir arada kullanıldığı gruptaki 7. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları

Not: a) 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, b) 3M ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup, c) Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, d) Valo ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup



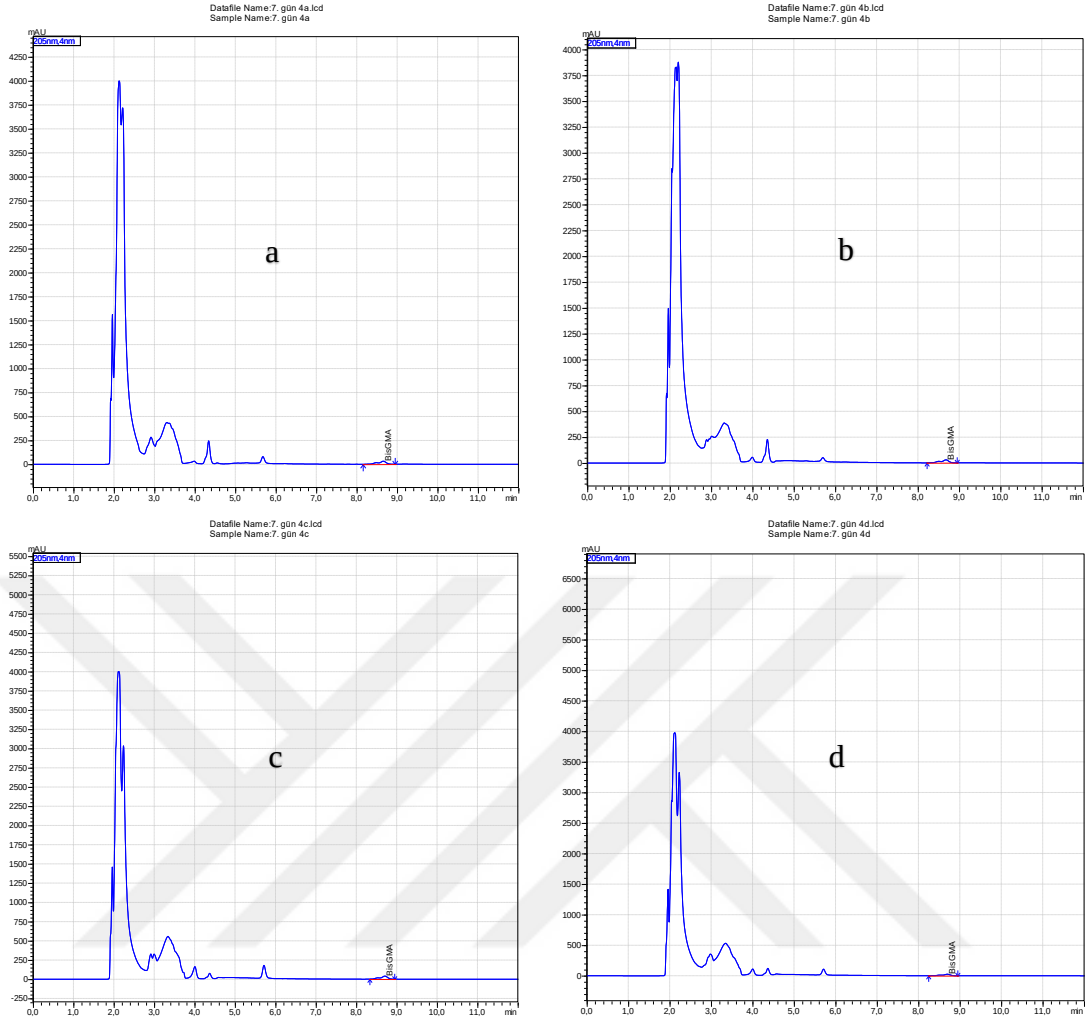
Şekil 4.18: Çalışmamızda Biofix örneklerinin kullanıldığı gruptaki 7. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları

Not: a) 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, b) 3M ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup, c) Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, d) Valo ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup



Şekil 4.19: Çalışmamızda Transbond XT örneklerinin kullanıldığı gruptaki 7. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları

Not: a) 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, b) 3M ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup, c) Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, d) Valo ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup



Şekil 4.20: Çalışmamızda Primer örneklerinin kullanıldığı gruptaki 7. güne ait açığa çıkan BisGMA miktarları

Not: a) 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, b) 3M ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup, c) Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edilen grup, d) Valo ışık cihazıyla 40 sn polimerize edilen grup

Artık monomer olarak adezivler içerisinde bulunan BisGMA monomerinin, ışık cihazı ve polimerizasyon süresi değişkenlerine bağlı olarak 1., 3. ve 7. günlerde salınma miktarları Şekil 4.21'de ve Şekil 4.22'de gösterilmiştir. Tüm gruplarda birinci günden itibaren atık monomer salınımı olmuştur.

Transbond XT+Primer grubunda 3M ışık cihazı kullanılarak 20 sn ve 40 sn polimerizasyon yapıldığında salınan artık monomer miktarında 3. günde hafif bir düşüş olurken, 7. gün en fazla artık monomer salınımı görülmüş, 20 sn ve 40 sn polimerize edilen gruplarda belirgin bir fark izlenmemiştir. Valo ışık cihazı kullanılarak yapılan 20 sn ve 40 sn polimerizasyonda 3. Günde 1. Güne göre daha fazla artık monomer görülmüş, en yüksek artık monomer ise yine 7. Günde tespit edilmiştir. Transbond XT+Primer

grubunda Valo ile yapılan polimerizsayonda ortaya çıkan artık monomer miktarları tüm günlerde 3M ile polimerize edilen gruplardan daha fazla olmuştur. 3M ışık cihazı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonda belirgin farklar görülmemiştir (Şekil 4.21) (Şekil 4.22).

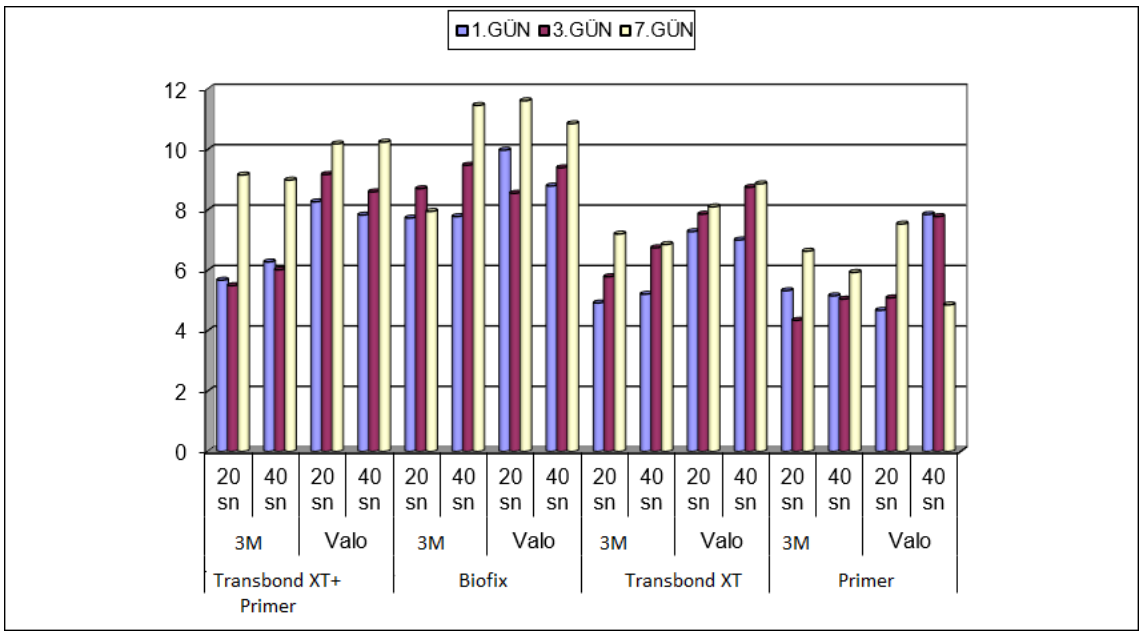
Biofix grubu 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edildiğinde 3. günde 1. güne göre daha fazla artık monomer görülmüş, 7. günde artık monomer salınımı azalmıştır. 40 sn polimerizasyonda ise artık monomer miktarı kademeli olarak artmış ve en fazla monomer 7. günde açığa çıkmıştır. 3M ışık cihazı ile 40 sn polimerizasyonda daha fazla atık monomer açığa çıktığı tespit edilmiştir. Valo ışık cihazı kullanılan grupta ise 20 sn polimerizasyonda 1. günde oldukça fazla miktarda artık monomer salınımı olurken 3. günde belirgin bir düşüş olmuş ancak 7. günde en yüksek artık monomer salınımı görülmüştür. 40 sn polimerizasyonda ise artık monomer miktarı kademeli olarak artmış ve en fazla monomer yine 7. günde açığa çıkmıştır. Valo ışık cihazı ile 20 sn polimerizasyonda daha fazla atık monomer açığa çıktığı tespit edilmiştir (Şekil 4.21) (Şekil 4.22).

Transbond XT grubu 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edildiğinde artık monomer miktarı kademeli olarak artmış ve en fazla artık monomer 7. günde tespit edilmiştir. 40 sn polimerize edildiğinde ise 3. günde 1. güne göre oldukça fazla bir artış olmuş, 7. gün ve 3. gün atık monomer miktarları birbirine yakın bulunmuştur. Valo ışık cihazıyla 20 sn ve 40 sn polimerizasyon yapıldığında en fazla artık monomer miktarı 7. günde tespit edilmişse de 3. gün ve 7. günlerdeki monomer miktarları birbirine yakın olmuştur. 3M ışık cihazı için 20 sn polimerizasyonda, Valo ışık cihazı içinse 40 sn polimerizasyonda daha fazla atık monomer açığa çıktığı tespit edilmiştir. Ancak Valo ile polimerize edilen gruplardaki artık monomer miktarlarının daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil 4.21) (Şekil 4.22).

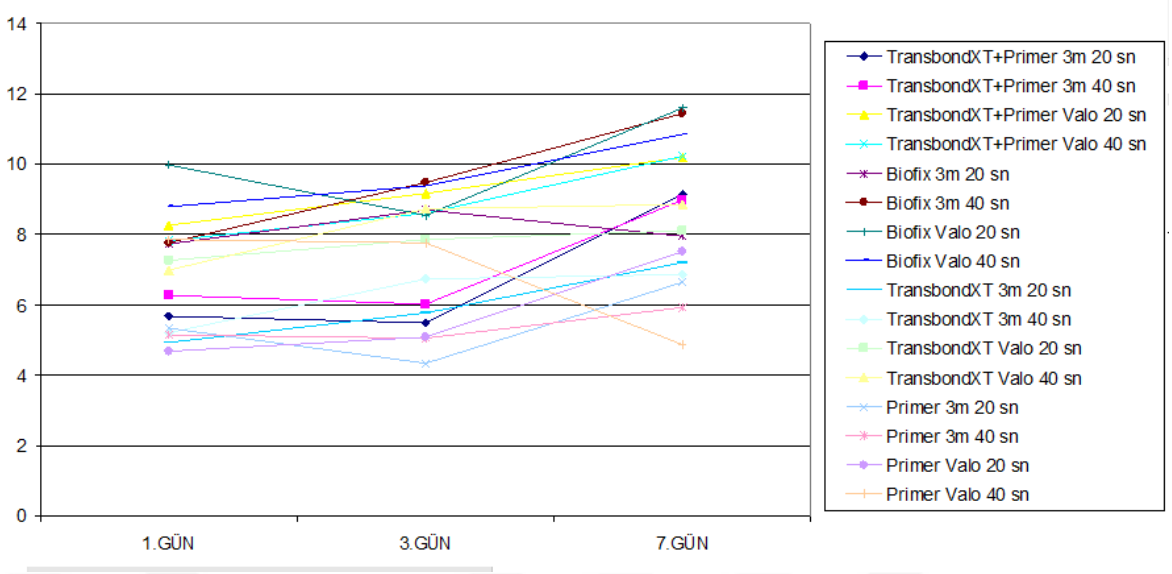
Primer grubu 3M ışık cihazıyla 20 sn polimerize edildiğinde 3. günde açığa çıkan artık monomer miktarı 1. güne göre belirgin şekilde azalmış ancak 7. günde artış olmuş ve en fazla artık monomer miktarının 7. günde olduğu görülmüştür. 40 sn polimerizasyonda ise 3. günde hafif bir azalma, 7. günde ise artış görülmüştür. Valo ışık cihazıyla 20 sn polimerize edildğinde en fazla artık monomer 7. günde ortaya çıkarken, 40 sn polimerize edildiğinde en fazla artık monomer miktarı 1. gün ve 3. günlerde tespit edilmiş, 7. günde ise diğer gruplardan farklı olarak atık monomer miktarında ani bir düşüş

olmuştur. Her iki ışık kaynağında da 20 sn polimerizasyonda açığa çıkan artık monomer miktarı daha fazla olmuştur (Şekil 4.21) (Şekil 4.22).

Bütün gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında en fazla artık monomer miktarına Biofix grubunda rastlanmaktadır. Biofix grubunu, Transbond XT+Primer grubu takip etmektedir. Transbond XT grubu artık monomer miktarı bakımından Transbond XT+Primer grubundan daha iyi olmasına rağmen, en az artık monomer miktarı polimerizasyon sonrasında daha kristalize yapıya bir sahip olan Primer grubuna aittir (Şekil 4.21) (Şekil 4.22).



Şekil 4.21: Işık cihazı ve polimerizasyon süresine göre 1., 3. ve 7. günlerde açığa çıkan artık monomer miktarlarını gösteren grafik



Şekil 4.22: Işık cihazı ve polimerizasyon süresine göre 1.,3. ve 7. günlerde açığa çıkan artık monomer miktarları

5. TARTIŞMA

Kompozit adezivler diş hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Gelişen teknoloji ile birlikte kompozit adezivlerin, kullanımındaki kolaylık, diş ve braket ile iyi bir bağlantı oluşturması, mikro sızıntıyı daha aza indirgemesi, oklüzal kuvvetlere karşı yeterli düzeyde mekanik dayanıklılık sağlamaları ve bağlantının devamlılığının sağlanması başarı kriterleri olarak belirtilse de adeziv materyallerin biyolojik dokular üzerine zararlı etkilerinin olmaması kompozit adezivlerde öncelikle aranan özelliklerdendir. Kompozit adezivlerin polimerizasyonunun tam gerçekleşmemesi, biyouyumluluk sorunu yaratmakta ve fiziksel özelliklerini de büyük oranda etkilemektedir (151–153). Yapılan araştırmalarda monomerlerin polimere dönüşme oranının %35-%77 civarında olduğu rapor edilmiştir (35,74). Teknolojik gelişmelere rağmen kompozit adezivlerden monomer salınımının önüne henüz geçilememiştir. Güncel ortodontik kompozit adeziv rezinlerin yumuşak dokular üzerindeki biyouyumluluğunu fibroblast hücre kültüründe değerlendirdiğimiz in vitro çalışmamızda, monomer içeriği benzer olan adeziv rezinler kullanılmıştır. Bu kompozit adeziv rezinlerin farklı ışık cihazları ile farklı sürelerde polimerizasyonlarından sonra in vitro ortamda hücre canlılıkları ve atık monomer miktarları değerlendirilerek, ışık kaynağının ve polimerizasyon süresinin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri karşılaştırılmıştır.

5.1. GEREÇ VE YÖNTEMİN TARTIŞILMASI

Araştırmacılar dental materyallerin sitotoksik etkilerini hücre kültürleri üzerinde yapılan in vitro testlerle, laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan in vivo testlerle ya da klinik araştırmalarla insanlar üzerinde değerlendirmektedir (154,155). In vivo yapılan çalışmalarda deney koşullarındaki zorluklar sonuçları etkileyebilmektedir. In vivo yöntemlerin en önemli dezavantajı etik sorunlar ve toplumsal kaygılar nedeniyle az sayıda örnek kullanımı ve buna bağlı olarak klinik genelleme yapılırken sonuçların yetersiz kalmasıdır (156,157). Ayrıca, bu tür test yöntemlerinde dental materyallere karşı gelişen cevapları gözlemlemek için uzun zaman periyotlarına ihtiyaç vardır ve akut toksik etkiler geleneksel in vivo test yöntemleriyle belirlenememektedir (156). Dental bir materyalin toksik etkilerinin belirlenebilmesi için en temel ve sıklıkla tercih edilen yöntem hücre kültürü ortamlarında yapılan in vitro çalışmalardır (107). İn vitro biyouyumluluk testleri

ile materyallerin canlı dokular üzerinde oluşturduğu biyolojik etkiler laboratuvar ortamında belirlenebilmektedir (103). Son yıllarda diş hekimliğinde kullanılan rezin esaslı materyallerin biyouyumluluğunun test edilmesi amacıyla hücre kültürü çalışmaları önem kazanmıştır (158–161). Hücre kültürü çalışmalarının hızlı, basit ve tekrarlanabilir olması gibi avantajlarının yanında, in vitro ortamda deneye etki eden faktörlerin kolayca kontrol edilebilir olması da avantaj sağlamaktadır (75,114). Ancak in vitro test yöntemlerinin de kendine özgü eksikliklerinin bulunduğu bildirilmektedir (155,156). In vivo koşullardaki konak doku ile materyal arasındaki etkileşimler; metabolik, immunolojik ve enflamatuar cevapları içeren pek çok faktöre bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Oysa in vitro yöntemlerde tek bir hücre tipi kullanıldığı için bu tür etkileşimler gerçekleşmemektedir. In vitro test sistemlerinde çalışmanın amacına uygun hücre seçimi yapılmalıdır. Hedef doku periodontal dokular ve ağız mukozası ise fibroblastlar, hedef doku diş pulpası ise odontoblastlar ve fibroblastlar en uygun hücre tipleridir (156). Dental materyallerin biyouyumluluklarının değerlendirildiği çalışmalarda hedef hücre olarak uygun hücrenin seçilmesi ve materyalin sebep olduğu biyolojik etkinin ölçülmesinde olabildiğince in vitro şartlar uygulanmaktadır (106). Çalışmamızda ortodontik adeziv rezinlerin klinikte kullanımları sırasında yumuşak dokularla olası temasları halinde yaratabilecekleri sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmış olup, fibroblast hücreleri üzerinde in vitro bir çalışma yapılması planlanmıştır.

Sitotoksisitenin değerlendirildiği çalışmalarda biyolojik sistem olarak kültür ortamındaki primer hücreler veya devamlı hücre dizileri kullanılmaktadır (155). Devamlı hücre dizilerinin kullanılması, fenotipik olarak tutarlı ve stabil hücre popülasyonları oluşturur ve biyokimyasal analizler için yeterli hücre miktarlarına kolayca ulaşılır. Ancak bu tür immortalize hücrelerden elde edilen sonuçların klinik koşullara göre yorumlanması tartışmalıdır. Spesifik metabolik potansiyele sahip olan primer hücrelerin kullanımı ile in vivo şartlara daha yakın deneysel koşullar oluşturulacağı bildirilmektedir (162). Primer hücre kullanımındaki en önemli problem hücre standardizasyonudur. Primer hücreler farklı bireylerden elde edildikleri için aynı bölgeden alınmış aynı tip hücreler olsalar bile kültür ortamında boyutsal ve davranışsal farklılık sergileyebilirler (163). Primer hücre kullanımının hücre standardizasyonu açısından yaratabileceği dezavantajlar göz önünde bulundurularak, çalışmamızda devamlı hücre dizileri kullanılmıştır.

Rezin esaslı kompozit dolgu materyalleri ile ilgili yapılan toksisite çalışmalarında kullanılan kalıpların, hangi materyallerden üretildiği önemlidir. Araştırıcılar, plastik ve cam esaslı kalıpların kompozitlerden salınan maddelerin ölçüm sonuçlarını salınan artık maddelerin farklılığından dolayı olumsuz etkileyebileceğini ifade etmişlerdir (164). Farklı yapıdaki kompozit materyallerin toksik etkilerinin incelendiği bir çalışmada, örneklerin hazırlanmasında politetrafloroetilen kalıplar kullanmışlardır (165). Yapılan başka bir çalışmada ise paslanmaz çelik materyalden üretilmiş kalıplar kullanılmıştır (166). Rezin esaslı endodontik materyallerin (165) ve kompozit materyallerin (166,167) sitotoksik etkilerinin incelendiği bazı çalışmalarda, örneklerin hazırlanması için teflon kalıplar kullanılmıştır (167,168). Çalışmamızda, endüstriyel uygulamalar için geleneksel petrokimya bazlı polimerlerin yerini alma veya tıpta çok sayıda uygulama için önde gelen bir biyomateryal olarak kanıtlanmış bir potansiyele sahip olan Polilaktik Asit (PLA) materyalinden yapılmış kalıplar kullanılmıştır (169). Rezin esaslı kompozit dolgu materyalleri ile ilgili yapılan toksisite çalışmalarında, gruplar arası farklılıkların sağlıklı bir şekilde değerlendirilebilmesi için standart boyutlarda örneklerin hazırlanması, çalışmanın güvenilirliği ve materyalin hazırlanma standardizasyonu açısından önemlidir. Bu amaçla çalışmamızda PLA materyalinden 2 mm yüksekliğinde ve 5 mm çapında delikler açılarak 3 boyutlu yazıcılarda kalıplar kullanılmıştır (170).

Çalışmamızın amacı ortodonti de kullanılan primerli ve primersiz adeziv rezinlerin sitotoksisitesini ve bu sitotoksisitenin olası sebeplerini araştırmaktır. Bu amaçla çalışmamızda primerle birlikte kullanılan Transbond XT adezivi ve primersiz kullanılan Biofix adezivi kullanılmıştır. Çalışma grupları oluşturulurken Transbond XT+Primer (primerli adeziv) ve Biofix (primersiz adeziv) gruplarının yanı sıra sadece Transbond XT ve sadece primer içeren gruplar da oluşturulmuş böylece primerin sitotoksisite üzerine etkisini incelemek amaçlanmıştır. In vitro olarak yapılan sitotoksisite çalışmalarında hücre canlılığının tespit edilmesi için boyama yöntemleri, kolorimetik yöntemler, luminometrik yöntemler ve florometrik yöntemler kullanılmaktadır (171–173). Çalışmalarda kolorimetrik yöntemlerden olan MTT, MTS ve nötral kırmızılık testi sıklıkla tercih edilmektedir. Florometrik yöntemlerden olan Alamar Mavisi Testi ise ilk olarak 2000 yılında kullanılmaya başlanmıştır (174). MTT testine iyi bir alternatif olan Alamar Mavisi Testin'de toksik olmayan, hücre içine giren ve floresan mavi indikatör bir boya olan resazurin kullanılır. Bu test yöntemi aynı zamanda resazurin indüksiyon testi olarak da adlandırılmaktadır. Alamar mavisi

testi kantitatif olarak insan, hayvan, mantar, bakteri ve mikrobakterilerde hücre proliferasyonunu belirlemek için de kullanılır. Bunlara ek olarak hücre büyümesi de bu test ile izlenebilmektedir (175,176). Pithon ve arkadaşları (177) yapmış oldukları çalışmada 7 farklı ortodontik adeziv rezini sitotoksisite açısından MTT testi ile değerlendirmişler. Çalışmamıza dahil ettiğimiz materyallerin hücre canlılığını ve hücre proliferasyonu belirleyebilmek için resazurin indüksiyon testi kullanılmıştır. Resazurin testi MTT testine göre, kullanılan hücrelere daha uzun süre çalışma zamanı kazandırması, daha kısa sürede daha doğru sonuçlar vermesi bakımından avantajlıdır. Bununla birlikte kullandığımız canlılık testi olan Resazurin testinin fiyat olarak yüksek olması dezavantajlarındandır. Jagdisha ve ark. (178) ve Jonke ve ark. (179) yapmış oldukları çalışmalarda bizim çalışmamızla aynı yöntemi kullanmışlardır.

Kompozit adezivlerin içeriğini hem materyalin mekanik özelliklerini oluşturan monomerler oluşturur. BisGMA, UDMA ve TEGDMA bunların başlıcalarıdır (14). Monomerlerin özellikleri ve yapıları, sitotoksisiteyi de etkilemektedir. İki adet metakrilat grubu içeren bifonksiyonel monomerler, monofonksiyonel monomerlere göre daha fazla sitotoksik etki göstermektedirler. HEMA ve TEGDMA monomerleri yapısal olarak hidrofilik, BisGMA ve UDMA monomerleri ise hidrofobik monomerler olarak tanımlanırlar (107). HEMA ve TEGDMA monomerlerinin BisGMA ve UDMA monomerlerine kıyasla daha düşük sitotoksisite potansiyeli taşıdığı bildirilmiştir(107). Düşük molekül ağırlığına sahip monomerler, molekül ağırlığı fazla olanlara göre daha hızlı salınım yapmaktadırlar (180,181). Kompozit adezivlerin hem patında hem de primerinde BisGMA monomeri bulunmaktadır. Monomerlerin birbirinden farklı yoğunluktaki genotoksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, BisGMA'nın düşük yoğunlukta bile diğer monomerlerden daha yüksek sitotoksisiteye sebep olduğu sonucuna varmışlardır (182). BisGMA, UDMA, TEGDMA ve HEMA monomerlerinin fare fibroblastları üzerinde değerlendirildiği bir çalışmada, BisGMA'nın diğer monomerlere göre daha toksik olduğu sonucuna varılmıştır (183). BisGMA'nın hidrolizi sonucunda BPA oluşmaktadır ve BPA'nın östrojenik etkilerinin olduğu sonucuna varılmıştır. BisGMA içeren kompozitler sonrasında tükürük ve idrarda BPA seviyesinde artış tespit edilmiştir (184). Bütün bunlar göz önüne alınarak, çalışmamızda artık monomer olarak, diğer monomerlere göre daha yüksek sitotoksik etkisi olduğu düşünülen BisGMA monomeri değerlendirilmiştir.

Monomerlerin polimere dönüşememesi sonucunda ortaya çıkan artık monomerleri ölçmek için NMR, MIRS, FT-IR, LC/MS, UV spektroskopisi, GC ve HPLC gibi cihazlar kullanılmaktadır (14,54,66,185). Bu cihazlar arasında en yaygın olarak kullanılanı GC ve HPLC cihazlarıdır. BisGMA, TEGDMA, UDMA ve HEMA gibi büyük molekül ağırlığındaki monomerler için HPLC kullanılırken, BPA gibi küçük molekül ağırlığındaki monomerler için GC yönteminin uygun olduğu belirtilmiştir (14,186). HPLC cihazında ölçüm değerleri yapılacak olan örneklerin bileşenlerinin etkileşime girdikleri ve kromatografi örneğinin çeşidine göre tasarlanmış olan, değişik materyallerden farklı ölçülerde 'kolon' adı verilen sabit fazlar bulunmaktadır. Genellikle C4 ve C18 kolonu kullanılmaktadır. C4 kolonlar protein ölçümleri için kullanılırken, dental monomer ölçümlerinde yaygın olarak C18 kolonu kullanılmaktadır (187). Çalışmamızda adeziv materyallerden salınan artık monomer miktarını tespit etmek için HPLC cihazının C18 ters faz analitik kolonu kullanılmıştır.

Görünür ışık kaynakları diş hekimliğinde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Görünür ışık kaynaklarının kullanım alanları arasında; ışıkla sertleşen restoratif materyaller, bağlayıcı ajanlar, yapıştırıcı ajanlar, kompozit rezinler, poliasit modifiye kompozit rezinler, fissür örtücüler, rezin modifiye cam iyonomerler, peridontal materyaller ve geçici restoratif materyaller bulunmaktadır. Bunlara ek olarak birçok dental materyalin polimerizasyonunda ve diş beyazlatma uygulamalarında da yaygın olarak kullanılmaktadır. Polimerizasyonun yeterli olarak gerçekleşebilmesi için ışık şiddetinin ve polimerizasyon süresinin yeterli olması gerekmektedir. Bunlara ek olarak doğru bir görünür ışık dalga boyu gerekmektedir. Kompozit rezinin çeşidi, rengi, translusensisi, materyal tabakasının kalınlığı ve görünür ışık kaynağının ucunun materyal yüzeyinden uzaklığı da polimerizasyonu etkileyen faktörlerdendir (188). Polimerizasyonun yetersiz olması durumunda restoratif materyalin fiziksel ve mekanik özellikleri etkilenir ve restorasyonda mikrosızıntı, aşınma, renklenme, kırılmaya karşı direnç azalması, su emilimi, restorasyonun tutuculuğunun azalması, bağlanma dayanımının azalması, restorasyon kaybı ve pulpal reaksiyonlar meydana gelebilir (140). Ayrıca yetersiz polimerizasyona bağlı olarak dental materyallerde kalan artık monomere pulpada geri dönüşümü olmayan sorunlara yol açabilir (140). Polimerizasyon kalitesi dental materyallerin biyolojik özelliklerini etkilediği için oldukça önemlidir (140). Görünür

ışık kaynakları kompozit rezinlerin mekanik özelliklerini büyük ölçüde etkiler (189). Polimerizasyonun başarılı sayılabilmesi için materyalin mekanik özelliklerini koruması gerekmektedir. Üzerine gelen kuvvetlere karşı direnç gösterebilecek şekilde minimum doz ile polimerize edilmesi, polimerizasyonun başarısını göstermektedir. Bunlara ek olarak polimerizasyon için kullanılan görünür ışık kaynağının kullanım süresi yeterli olmalıdır (190).

Işıkla sertleşen kompozit adezivlerin polimerize olması için LED ve QTH ışık cihazları yaygın olarak kullanılmaktadır. Kompozit adezivlerin polimerizasyonunda cihazların ışık yoğunluğu, uygulama uzaklığı, polimerizasyonu başlatıcı maddelerin duyarlılığı ve uygulama süresi gibi faktörler etkili olmaktadır. Rahiotis ve ark. (191) LED, QTH ve plazma ark cihazlarını karşılaştıran bir çalışma yapmışlar ve QTH cihazının karbon çift bağlarının dönüşümünde daha başarılı sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmanın aksine Tabatabaee ve ark. (192) QHT ve LED cihazlarını karşılaştırmış ve QHT cihazı ile gerçekleştirilen polimerizasyon sonrası tükürük solüsyonunda daha fazla monomer salınımı olduğunu bildirmişlerdir. Purushothaman ve ark. (193) HLC ve LED cihazlarını karşılaştırmışlar ve LED cihazlarının kullanımının Bisfenol A (BPA) salınımını azalttığını rapor etmişlerdir. QTH ışık kaynakları yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır ancak polimerizasyon esnasında ısı oluşumunun fazlalığı, reflöktör, ampul ve filtrelerdeki bozulmaya bağlı olarak gücünün azalması nedeniyle yerini LED cihazlarına bırakmıştır. Aynı şekilde PAC lambaları ve Argon Lazerde günümüzde dental alanda halojen ışık kaynaklarına alternatif olarak bilinmektedirler. Lazer cihazları da polimerizasyon amacı taşırlar fakat yüksek teknoloji ve karmaşık yapıya sahip olmalarından dolayı oldukça pahalı sistemlerdir ve bu nedenle yaygın bir kullanımları bulunmamaktadır (194). Diş hekimliği tedavilerinde estetik kaygıya ek olarak ağız sağlığını da devam ettirmek önemlidir. Diş tedavilerinde kullanılan dental materyallerden ve ışıklı dolgu cihazlarından kaynaklanan pek çok muhtemel yan etki ağız sağlığını etkilemektedir. Bu etkiler klasik olarak toksik, enflamatuvar, alerjik ve mutajenik etkiler olarak sınıflandırılmaktadır (195). Diş hekimliğinde kullanılan her materyal vücutta lokal veya sistemik biyolojik etkilere neden olmaktadır. Vücut kullanılan bu materyale karşı savunma gerçekleştirir. Genellikle lokal etkiler görünür ve pulpa, periodontal dokular, dil veya komşu yanak mukozasında etkili olur. Etkinin şiddeti uygulama süresine ve maruz kaldığı yoğunluğa bağlı olarak değişir (196,197).

Bütün bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda, ışıkla sertleşen kompozit adezivlerde hem daha iyi polimerizasyon sağlamak için yüksek güçlü LED cihazı kullanılmıştır. Işıkla polimerizasyon esnasında yüksek güçlü LED cihazını tercih etmemizin bir başka nedeni ise QTH cihazlarının lambalarının çalışırken ürettikleri ısının yüksek olmasıdır ve bu durum ışığın gücünde azalmaya neden olmaktadır. Bu durum polimerizasyonu olumsuz yönde etkileyeceği için halojen lambaların periyodik olarak değiştirilmesi önerilmektedir (198). LED cihazları, QTH cihazlara göre uzun ömürlüdür (yaklaşık 10. 000 saat) ve ışık şiddetleri değişmemektedir (199). Branchal ve ark. (200) LED ve QTH cihazlarını sırasıyla 6-9 ve 40 sn olarak uygulamışlar ve LED ışık cihazının 1,5 mm kalınlığındaki kompozit için daha iyi polimerizasyon gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda 3M ve Valo LED ışık cihazları kullanılmıştır. Kullanılan ışık cihazlarının dalga boyları benzerlik göstermesine rağmen, fiziksel özellikleri ve cihazların uygulama ucundaki alan değişkenlik göstermektedir. Cihazlar arasındaki bir diğer büyük fark ise nesil farkıdır. 3M Elipar S10 cihazı ikinci nesil bir LED ışık cihazıyken, Valo Işık cihazı üçüncü nesil bir ışık cihazıdır. Uygulama süresini azaltmak için ilk üretilen LED ışık cihazları ikinci nesil mavi ışık yayan cihazlardır. Bu cihazlardan sonra en hızlı uygulama süresi için mor ışık yayan üçüncü nesil ışık cihazları üretilmiştir. Üçüncü nesil polimerizasyon cihazlarının dental restoratif materyallerin her tipinde yeterli polimerizasyonu sağladığı bildirilmektedir (201).

Sideridou ve Achilies (14), yapmış oldukları çalışmada BisGMA, UDMA, TEGDMA ve Bis-EMA rezin monomerleri 60 sn, 80 sn ve 100 sn'lik sürelerde teflon kalıplar içerisinde polimerize ettikten sonra ethanol-su karışımı içerisinde bekletmişler ve polimerizasyon süresinin artmasıyla artık monomerin azaldığını bildirmişlerdir. Moreira ve ark. (202) da benzer bir çalışma yapmış ve total-etch bir adezivi 10 sn, 20 sn ve 40 sn'lik sürelerde polimerize etmişler ve polimerizasyon süresinin arttırılmasıyla su emiliminin ve salınan artık monomer miktarının azaldığını tespit etmişler, firmaların tavsiye ettiği polimerizasyon süresinin yeterli olmadığını bildirmişlerdir. Caderano ve ark. (203) dört farklı adeziv sistemin çift bağ dönüşüm oranını incelemişler ve polimerizasyon süresinin arttırılmasıyla sadece self-etch adezivlerin monomer dönüşüm oranının arttığını bulmuşlardır. Breschi ve ark. (204) adeziv materyallerin, monomer dönüşüm oranlarını araştırmış ve sürenin artmasıyla self-etch adeziv sistemlerde dönüşüm oranının arttığını bulmuşlardır. Adeziv rezinlerin sitotoksisitesinin ve salınan

artık monomer miktarının, kullanılan ışık cihazı ve polimerizasyon süresi ile bağlantılı olduğu düşünülerek, çalışmamızda her grup için iki farklı LED ışık cihazı kullanılmıştır. Grupların standart olması amacıyla her iki cihazla da 20 sn ve 40 sn polimerizasyon yapılmış, böylece sitotokisite üzerinde ışık cihazının ve polimerizasyon süresinin etkileri incelenmiştir.

5.2. BULGULARIN TARTIŞILMASI

Çalışmamızın sonuçlarına göre Transbond XT+Primer grubu 3M ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerize edildiğinde 1., 3. ve 7. günlerde hücre canlılık düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiş olmasına rağmen 20 sn ve 40 sn polimerizasyonun fibroblast hücreleri üzerinde farklı etkileri olduğu görülmüştür. 20 sn polimerize edilen grupta 3. günde hücre canlılığında hafif bir azalma, 7. günde ise hafif bir artma görülürken, 40 sn polimerize edilen grupta gün geçtikçe hücre canlılığının arttığı ve istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile bu grupta 7. günde en fazla hücre canlılığının 3M ışık kaynağı ile 40 sn polimerize edilen grupta olduğu tespit edilmiştir. Transbond XT+Primer'in 3M ışık kaynağı ile polimerizasyonunda, sitotoksisite açısında polimerizasyon süresinin olumsuz bir değişikliğe sebep olmadığı hatta polimerizasyon sürenin uzamasının hücre canlılık düzeyinde artışa sebep olduğu görülmüştür. Benzer şeklilde, 40 sn polimerizasyonda salınan artık monomer miktarında hafif bir düşüş görülmüş olup, bu bulgumuz polimerizasyon süresinin artması ile su emiliminin ve salınan artık monomer miktarının azaldığını tespit eden ve firmaların tavsiye ettiği polimerizasyon süresinin yeterli olmadığını bildiren Moreira ve ark.nın (202) çalışması ile uyumludur.

Transbond XT+Primer grubu Valo ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde hücre canlılığı etkilenmemiş, sitotoksik etki görülmemiştir. Ancak Valo ışık kaynağı ile 40 sn polimerizasyonun 1. ve 3. günlerde olmasa bile 7. günde hücre ölümünü artırdığı görülmüş, 3M ışık kaynağının aksine 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. günlere göre daha düşük bulunmuştur. Çalışmamızın sonuçlarına göre Transbond XT+Primer grubunun Valo ışık kaynağı ile 40 sn polimerizasyonu hücre canlılığını azaltmış yani polimerizasyon süresinin uzaması, zaman içinde sitotoksisiteyi arttırmıştır. 40 sn polimerizasyonda ışık kaynakları karşılaştırıldığında 7. günde hücre canlılık düzeyleri 3M ışık kaynağı ile polimerize edilen grupta, Valo ışık kaynağı ile polimerize edilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. 3M ışık cihazında

polimerizasyon süresinin artması 7. günde, 1. ve 3. güne göre hücre canlılığını arttırırken, Valo ışık kaynağı tam tersi bir etki yaratarak hücre ölümünü arttırmıştır. Artık monomer miktarları karşılaştırıldığında Transbond XT+Primer'in Valo ışık cihazı ile polimerizasyonda, 3M ışık cihazı ile polimerizasyonuna göre daha fazla artık monomer salınımı olduğu tespit edilmiş ancak Valo ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonun, 7. günde artık monomer miktarını değiştirmediği görülmüştür. Bu nedenle Valo ışık kaynağı ile 20 sn polimerizasyon sitotoksisiteyi etkilemezken, 40 sn polimerizasyon yapıldığında, 7. günde hücre canlılığındaki azalmanın artık monomer miktarından ziyade, güçlü LED teknolojisi ile uzun süre polimerizasyonda açığa çıkan ısıya bağlı olduğunu, sıcaklık nedeniyle fibroblast hücrelerinin canlılığında azalma olduğunu ve sitotoksik etkinin meydana geldiğini düşünmekteyiz. Ayrıca Transbond XT+Primer'in güçlü LED teknolojisi ile 40 sn polimerizasyonu, 7. günde besi ortamındaki besin miktarının azalmasına neden olmuş ve yetersiz besin nedeniyle fibroblast hücrelerinde hücre canlılığında azalma görülmüş olabilir. Bu bulgular ışığında fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etki göz önüne alındığında Transbond XT+Primer'in 3M ışık cihazı ile 40 saniye polimerizasyonunun tercih edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre Biofix grubu 3M ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde; 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. 40 sn polimerizasyonda da benzer şekilde hücre canlılığı 7. günde azalmışsa da bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aynı şekilde Valo ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonda; 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş, ancak 3M ile polimerizasyona göre 3. gün hücre canlılık düzeylerinde 1. güne göre artış olmuştur. Valo ışık cihazıyla gerçekleştirilen polimerizasyon sonucunda hücre canlılık düzeyi önce artmış daha sonra azalmıştır. Polimerizasyon sürelerine göre Biofix grubundaki hücre canlılık düzeyleri karşılaştırıldığında 20 sn polimerizasyonda 1. gün ve 7. günde, 40 sn polimerizasyonda ise 1. günde 3M ışık kaynağının hücre canlılığı açısından daha iyi olduğu, Valo ışık cihazının bu günlerde daha fazla hücre ölümüne sebep olduğu ve daha sitotoksik olduğu görülmüş, bu günlerde artık monomer miktarları da bu bulgularımızı destek nitelikte Valo ışık kaynağında daha yüksek bulunmuştur. 3. gündeki artık monomer miktarları incelendiğinde ise Valo ile hem 20 sn hem de 40 sn polimerizasyonda 3M ışık kaynağına

göre daha az artık monomer açığa çıktığı görülmüştür. Valo grubunda 3. günde hücre canlılığındaki artışın sebebinin bu grupta 3. günde, 3M grubuna göre daha az artık monomer açığa çıkmasına bağlı olduğu görüşündeyiz. Biofix grubunun Valo ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonu karşılaştırıldığında; 1. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeyleri 40 sn polimerize edilen grupta, 20 sn polimerize edilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Yine artık monomer miktarları değerlendirildiğinde Biofix grubunda Valo ışık cihazı ile polimerizasyon süresi arttığında, yüksek LED gücüne bağlı olarak artık monomer miktarının azaldığı tespit edilmiş olup, 40 sn polimerize edilen grupta hücre canlılığındaki artışın, artık monomer miktarındaki azalmaya bağlı olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre Transbond XT grubu 3M ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş, 40 saniye polimerizasyonda ise hücre canlılık düzeyleri etkilenmemiştir. Valo ışık kaynağında ise 40 sn polimerizasyonda da 7. gün hücre canlılık düzeylerinin 1. ve 3. günlere göre azaldığı tespit edilmiş, 20 saniye polimerizasyonda hücre canlılıkları etkilenmemiştir. Bu bulgularımız Transbond XT grubunda 3M ışık kaynağı ile 20 saniye polimerizasyonda ve Valo ışık kaynağı ile 40 sn polimerizasyonda sitotoksisitenin arttığını göstermektedir. Artık monomer miktarları incelendiğinde ise bu bulgularımızla uyumlu olarak 3M ile 20 sn polimerizasyon yapılan grupta 40 sn polimerizasyona göre, Valo ile 40 sn polimerizasyon yapılan grupta ise 20 sn polimerizasyona göre daha fazla artık monomer açığa çıktığı tespit edilmiştir. Biofix grubunda olduğu gibi, Transbond XT grubunda da fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkinin, artık monomer miktarındaki artışa bağlı olarak arttığı görülmüştür.

Primer grubu 3M ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerize edildiğinde; 7. gün hücre canlılık düzeyleri, 1. gün ve 3. gün hücre canlılık düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Valo ışık kaynağı ile 20 sn ve 40 sn polimerize edildiğinde ise 1. gün, 3. gün ve 7. gün hücre canlılık düzeylerinde anlamlı bir değişim izlenmemiştir. Ancak 40 sn polimerize edilen grupta, 20 sn polimerize edilen gruba göre 1. gün hücre canlılık düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. 20 sn polimerize edilen gruptan farklı olarak 40 sn polimerize edilen grupta, 3. gün hücre canlılığında azalma, 7 günde ise artış olmuş fakat bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Primer grubunun 7. günde hücre canlılık düzeyleri, Valo ışık

kaynağı ile polimerize edilen grupta hem 20 sn hem de 40 sn polimerizasyonda 3M grubuna göre yüksek bulunmuştur. Çalışmamızın sonuçları primerin 3M ışık cihazı ile polimerizasyonunun fibroblast hücreleri üzerinde 7. günde daha sitotoksik olduğunu göstermiş, Valo ile 40 sn polimerize edilen grupta ise en yüksek hücre canlılığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde primer grubunda 7. günde en az artık monomer Valo ışık cihazı ile 40 sn polimerize edilen grupta açığa çıkmıştır. Tüm gruplarda 7. gündeki artık monomer miktarları değerlendirildiğinde, en az artık monomerin Valo ışık kaynağı ile 40 sn polimerizasyon yapılan primer grubunda açığa çıktığı görülmüştür. Bu sonucun primerin yüksek LED ışık cihazından yayılan mor ışık teknolojisi sonucunda kristalize bir yapıya dönüşmesi ve bu kristalizasyon sonucunda artık monomer salınımın çok düşük seviyede olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Polimerizasyon süresi arttığında yüksek enerji yoğunluğu oluşur, reaksiyon başlar ve yüksek molekül ağırlıklı, çapraz bağlardan oluşan polimer meydana gelir (205). Polimerizasyon süresinin artması ile adezivlerden salınan artık monomer miktarının etkilendiği daha önce yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (14,202). Sideridou ve Achilies (14) yapmış oldukları çalışmada, BisGMA, TEGDMA, UDMA ve Bis-EMA rezin monomerlerini 60 sn, 80 sn ve 100 sn'lik sürelerde polimerize etmişler ve polimerizasyon süresinin arttırılmasıyla monomer salımının azaldığını gözlemlemişlerdir. Caderano ve ark. (203) dört farklı adeziv sistemini 20 sn, 40 sn ve 60 sn'lik sürelerde polimerize etmişler ve artık monomer miktarında etkili olan monomerlerin çift bağ dönüşümünü incelemişlerdir. Yaptıkları bu çalışmanın sonunda, polimerizasyon süresi arttıkça artık monomer miktarının azaldığını tespit etmişlerdir. Bu araştırma sonuçları ile uyumlu olarak bizim çalışmamızda da Transbond XT+Primer, Transbond XT ve Primer gruplarında 3M ışık cihazı ile 40 sn polimerizasyon yapıldığında, 20 sn polimerizasyona göre daha az artık monomer salınımı tespit edilmiştir. Ancak Biofix grubunun 3M cihazı ile 40 sn polimerizasyonu diğer grupların aksine artık monomer miktarının artmasına neden olurken, Valo ışık cihazı ile 40 saniye polimerizasyonda artık monomer salınımının azaldığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda Biofix grubunun her iki ışık cihazı ile 20 sn polimerizasyonu ve Primer grubunun Valo ile 40 sn polimerizasyonu dışındaki tüm gruplarda ilk gün oldukça yüksek artık monomer salınımı olmuş ve gün geçtikçe BisGMA salınımı devam etmiştir. Valo ışık cihazı ile 40 sn polimerize edilen Primer grubu dışındaki tüm gruplarda en

yüksek artık monomer salınımının 7. günde olduğu görülmüştür. Sonuçlarımız ilk 24 saat ve 48 saat içerisinde artık monomer salınımının en yüksek seviyede gerçekleştiğini bildiren çalışmalarla uyumludur. Danesh ve ark.nın (206) yapmış olduğu çalışmada gün ve artık monomer ilişkisi incelenmiş ve salınan UDMA miktarında 1., 3. ve 7. günlerde artış gözlendiğini bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada salınan artık monomer miktarlarının zamanla arttığı ve çalışılan örneklerin çaplarının artık monomer salınımıyla doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (187). Gorgen ve ark. (208) 30 gün boyunca farklı kompomerlerden salınan BisGMA miktarının en fazla ilk dakikalarda gerçekleştiğini ve daha sonra azalmaya başladığını tespit emişlerdir. Moreira ve ark. (202) ise yapmış oldukları çalışmalarında salınımın %75'inin ilk birkaç saat içinde meydana geldiğini, %95'inin ise ilk 48 saat içerisinde gerçekleşeceğini bildirmişlerdir. Polydorou ve ark. (40), farklı adeziv rezinlerden TEGDMA ve BisGMA monomerlerinin en yüksek ilk 24 saat içinde gerçekleştiğini ve 7. ve 28. günlerde ise giderek azalan bir tablo izlediğini ifade etmişlerdir.

Çalışmamızın sonuçları sitotoksik içeriklere sahip malzemelerin, farklı LED ışık cihazlarıyla farklı sürelerde polimerizasyonu ile artık monomer salınımının ve dolayısıyla ürünlerin sitotoksisitesinin değiştirilebileceğini göstermiştir. Bulgularımız, içeriğinde yüksek BisGMA monomeri bulunduran adezivlerin, artık monomer salınımını ve fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini azaltmak için ikinci jenerasyon LED ışık cihazı olan 3M ile 40 saniye polimerize edilmesi gerektiğini ancak yüksek güçlü üçüncü jenerasyon LED ışık cihazı olan Valo ile 20 sn polimerizasyonun yeterli olduğunu gösterir niteliktedir. Kullanılan ışık cihazının gücü azaldıkça, polimerizasyon süresi arttırılmalıdır. Primersiz ortodontik adeziv rezin olan Biofix 3M ışık kaynağı ile 20 sn polimerize edildiğinde 7. günde sitotoksik bulunurken, 40 sn polimerizasyonda sitotoksik etki göstermemiştir. Transbond XT+Primer grubu ise Valo ışık kaynağı ile 40 sn polimerize edildiğinde 7. günde sitotoksik bulunurken, 20 sn polimerize edildiğinde sitotoksik etki göstermemiştir. Kullanılan ışık kaynağı ve polimerizasyon süresi çalışmamıza dahil edilen materyallerin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini değiştirmiştir. Polimerizasyon sürelerini belirlerken kullanılan LED ışık cihazlarının gücünün göz önünde bulundurulması fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkiyi azaltmada etkili olabilir. Valo ışık cihazı ile 5 sn ve 10 sn polimerizasyonun, primerli ve primersiz ortodontik adezivlerin biyouyumluluğuna olan etkilerinin karşılaştırıldığı ileri çalışmalar yapılmalıdır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda Transbond XT+Primer, Biofix, Transbond XT ve Primer grupları in vitro ortamda farklı ışık kaynakları ile 20 sn ve 40 sn polimerize edilmiş, açığa çıkan BisGMA artık monomeri incelenmiş, fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıda sıralanmıştır;

1. Tüm çalışma gruplarında BisGMA monomeri salınımı gözlemlenmiştir.
2. Çalışma gruplarımız içinde BisGMA monomeri en fazla Biofix grubunda tespit edilmiştir. Biofix üzerinde ileri çalışmalar yapılarak artık monomer salınımının nasıl azaltılabileceği araştırılmalıdır.
3. BisGMA monomeri en az Transbond XT ve Primer gruplarında gözlenmiş, özellikle Primerin Valo ışık cihazı ile 40 sn polimerizasyonunda, kristalize bir yapı oluşmuş ve 7. günde artık monomer salınımında belirgin bir düşüş tespit edilmiştir.
4. Fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri değerlendirildiğinde, Transbond XT+Primer, Biofix, Transbond XT gruplarında 3M ışık cihazı ile 40 sn polimerizasyonun ve Transbond XT grubunda Valo ışık cihazı ile 20 sn polimerizasyonun en iyi sonuçlara sahip olduğu belirlenmiştir. Primer grubunda ise Valo ışık cihazı ile 20 sn ve 40 sn polimerizasyonda daha az sitotoksik etki gözlenmiştir.
5. Kullanılan ışık kaynağı ve polimerizasyon süresi çalışmamıza dahil edilen materyallerin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini değiştirmiştir. Polimerizasyon sürelerini belirlerken kullanılan LED ışık cihazlarının gücünün göz önünde bulundurulması, fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkiyi azaltmada etkili olabilir. Yüksek güçlü üçüncü jenerasyon LED ışık cihazı ile 5 sn ve 10 sn polimerizasyonun etkilerinin karşılaştırıldığı farklı çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

1. Stanley, H.R. (1993). Effects of Dental Restorative Materials: Local and Systemic Responses Reviewed. *The Journal of the American Dental Association*,124,76–80.
2. Cox, C.F., Keall, C.L. , Keall, H.J., Ostro, E, Bergenholtz, G. (1987). Biocompatibility of surface-sealed dental materials against exposed pulps. *J Prosthet Dent*, 57,1–8.
3. Modena, K, Caroll, C.A., Atta, T, Costa, C, Hebling, J, Renata, S. C. (2009). Cytotoxicity and biocompatibility of direct and indirect pulp capping materials. *Journal Applied Oral Sciences*, 17, 544-54.
4. Babakhin, A.A., Volozhin, A.I., Kazarina, L.N., Gushchina, O.O., Babakhina, I.A., Diubuske, L.M. (2006). Histamine-releasing activity of dental materials employed as root canal filling. *Stomatologiia (Mosk)*, 85,7–11.
5. Nilsen, B.W., Simon-Santamaria, J., Örtengren, U., Jensen, E., Bruun, J.A., Michelsen, V.B. (2018). Dose- and time-dependent effects of triethylene glycol dimethacrylate on the proteome of human THP-1 monocytes. *European Journal of Oral Sciences* ,126, 345–58.
6. Sivakumar, I., Arunachalam, K.S., Solomon, E.G.R. (2012). Occupational health hazards in a prosthodontic practice: Review of risk factors and management strategies. *Journal of Advanced Prosthodontic*, 4,259–65.
7. Munksgaard, E.C., Hansen, E.K., Engen, T., Holm, U. (1996). Self-reported occupational dermatological reactions among Danish dentists. *European Journal of Oral Sciences*,104,396–40.
8. Jacobsen, N., Hensten-Pettersen, A. (1989). Occupational health problems and adverse patient reactions in orthodontics. *European Journal Orthodontics*,11,254–64.
9. Jörgensen, K.D., Shimokobe, H. (1975). Adaptation of resinous restorative materials to acid etched enamel surfaces. *European Journal Oral Sciences*,83,31–6.
10. Bazargani, F., Magnuson, A., Löthgren, H., Kowalczyk, A. (2016). Orthodontic bonding with and without primer: A randomized controlled trial. *European Journal Orthodontic*,38,503–7.
11. Ryou, D.B., Park, H.S., Kim, K.H., Kwon, T.Y. (2008). Use of flowable composites for orthodontic bracket bonding. *Angle Orthodontist*,78,1105–9.
12. Wallenhammar, L.M., Örtengren, U., Andreasson, H., Barregård, L., Björkner, B., Karlsson, S. (2021). Contact allergy and hand eczema in Swedish dentists. *Contact Dermatitis*,43,192–9.
13. Spagnuolo, G. (2009). In vitro cytotoxicity of orthodontic primers. *Progress in Orthodontics*,10,4-11.
14. Sideridou, I.D., Achilias, D.S. (2005). Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. *Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomater*,74,617–26.
15. Altintaş, S.H., Üşümez, A. (2012). Evaluation of TEGDMA leaching from four resin cements by HPLC. *European Journal of Dentist*,6,255–62.
16. Noort, R., Barbour, ME. (2013). Denture Base Resin. *Dental Materials*, 175–82.
17. Altun, C. (2005). Kompozit dolgu materyallerinde son gelişmeler,47,77-82.
18. Bayne, S.C., Heymann, H.O., Swift, E.J. (1994). Update on dental composite restorations. *Journal of the American Dental Association*, 125,687–701.
19. Cobb, D.S., Macgregor, K.M., Vargas, M.A., Denehy, G.E. (2000). The physical properties of packable and conventional posterior resin-based composites: A comparison. *Journal of the American Dental Association*,131,1610–5.
20. Misilli, T., Cabadağ, Ö.G., Gönülol, N. (2021). Bulk-fill kompozit rezinlere güncel bakış. *Selcuk Dental Journal*, 8, 220–8.
21. Morin, D., Delong, R., Douglas, W.H. (1984). Clinical Science Cusp Reinforcement by the Acid-etch Technique. *Journal of Dental Research*, 63,1075–8.
22. García-Godoy, F. (2000). Resin-based composites and compomers in primary molars. *Dental Clinics of North America*,44,541–70.
23. Kugel, G., Ferrari, M. (2000). The science of bonding: From first to sixth generation. *Journal of the American Dental Association*,131,20-25.
24. Tsujimoto, A., Barkmeier, W.W., Fischer, N.G., Nojiri, K., Nagura, Y., Takamizawa, T. (2018). Wear of resin composites: Current insights into underlying mechanisms, evaluation methods and influential factors. *Japanese Dental Science*,54,76.
25. Swift, E.R., Perdigão, J., Heymann, H.O. (1995). Bonding to enamel and dentin. *Quintessence International*, 26, 95-110.

26. Van Landuyt, K.L., Snauwaert, J., De Munck, J., Peumans, M., Yoshida, Y., Poitevin, A. (2007). Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*, 28,3757–85.
27. Chan, K.H.S., Mai, Y., Kim,H., Tong, K.C.T., Ng. D., Hsiao, J.C.M. (2010). Review: Resin composite filling. *Molecular Diversity Preservation International*,3,1228–43.
28. Luo, S., Zhu, W., Liu, F., He, J. (2016). Preparation of a Bis-GMA-Free dental resin system with synthesized fluorinated dimethacrylate monomers. *International of Journal Molecular Sciences*, 12, 17
29. Pratap, B., Gupta, R.K., Bhardwaj, B., Nag, M. (2019). Resin based restorative dental materials: characteristics and future perspectives. *Japanese Dental Science*, 55, 126–38.
30. Kim, W.B., Joshi, U.A., Lee, J.S. (2004). Making Polycarbonates without Employing Phosgene: An Overview on Catalytic Chemistry of Intermediate and Precursor Syntheses for Polycarbonate. Industrial and Engineering Chemistry Research. *American Chemical Society*, 43, 1897–914.
31. Kalachandra, S., Kusy, R.P. (1991). Comparison of water sorption by methacrylate and dimethacrylate monomers and their corresponding polymers. *Polymer*, 32, 2428–34.
32. Cook, W.D. (1992). Thermal aspects of the kinetics of dimethacrylate photopolymerization. *Polymer*, 33,2152–61.
33. Gajewski, V.E.S., Pfeifer, C.S., Fróes-Salgado, N.R.G., Boaro, L.C.C., Braga, R.R. (2012). Degree of conversion, mechanical properties and water sorption/solubility. *Monomers used in resin composites*, 23, 508–14.
34. Peutzfeldt, A. (1997). Resin composites in dentistry: The monomer systems. *European Journal of Oral Sciences*, 105, 97–116.
35. Sideridou, I., Tserki, V., Papanastasiou, G. (2002). Effect of chemical structure on degree of conversion in light-cured dimethacrylate-based dental resins. Biomaterials, 23, 1819–29.
36. Kumar, S.R., Patnaik, A., Bhat, I.K. (2016). Physical and thermo-mechanical characterizations of resin-based dental composite reinforced with Silane-Modified nanoalumina filler particle. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part L: Journal of Materials: Design and Applications*, 230, 504–14.
37. Barszczewska-Rybarek, I., Jurczyk, S. (2015). Comparative study of structure-property relationships in polymer networks based on Bis-GMA, TEGDMA and various urethane-dimethacrylates. *Materials*, 8,1230–48.
38. Karimzadeh, A., Ayatollahi, M.R., Bushroa, A.R. (2016). Effect of dental restorative material type and shade on characteristics of two-layer dental composite systems. *Latin American Journal of Solids and Structures*, 13, 1851–65.
39. Wichterle, O., Lím, D. (1960). Hydrophilic Gels for Biological Use. *Nature*,185, 117–8.
40. Polydorou, O., König, A., Hellwig, E., Kümmerer, K. (2009). Urethethane dimethacrylate: A molecule that may cause confusion in dental research. *Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomaterials*, 91, 1–4.
41. Khatri, C.A., Stansbury, J.W., Schultheisz, C.R., Antonucci, J.M. (2003). Synthesis, characterization and evaluation of urethane derivatives of Bis-GMA. *Dental Materials*, 19, 584–8.
42. Stansbury, J.W., Dickens, S.H. (2021). Network Formation and Compositional Drift During Photo-Initiated Copolymerization of Dimethacrylate Monomers. *Polymer*, 42, 6363-6369
43. Hervás-García, A., Martínez-Lozano, M.A., Cabanes-Vila, J., Barjau-Escribano, A., Fos-Galve, P. (2006). Composite resins. A review of the materials and clinical indications. *Medicina oral, patología oral y cirugía buccal*, 11, 215-20.
44. Xu, H.H.K. (1999). Dental composite resins containing silica-fused ceramic single-crystalline whiskers with various filler levels. *Journal of Dental Research*, 78, 1304–11.
45. Ferdous, S.F., Sarker, M.F, Adnan, A. (2021). Role of nanoparticle dispersion and filler-matrix interface on the matrix dominated failure of rigid C60-PE nanocomposites: A molecular dynamics simulation study. *Polymer*, 54, 2565–76.
46. Craig, R.G., Dootz, E.R. (1996). Effect of mixed silanes on the hydrolytic stability of composites. *Journal of Oral Rehabilitation*, 23, 751–6.
47. Park, Y.J., Chae, K.H., Rawls, H.R. (1999). Development of a new photoinitiation system for dental light-cure composite resins. *Dental Materials*, 15, 120–7.
48. Van Landuyt, K.L., Snauwaert, J., de Munck, J., Peumans, M., Yoshida, Y., Poitevin, A. (2007). Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*, 28, 3757–85.
49. Dunnick, J.K., Brix, A., Sanders, J.M., Travlos, G.S. (2014). N,N-dimethyl-p-toluidine, a component in dental materials, causes hematologic toxic and carcinogenic responses in rodent model systems. *Toxicol Pathol*, 42, 603–15.

50. Ge, X., Ye, Q., Song, L., Laurence, J.S., Spencer, P. (2015). Synthesis and Evaluation of a Novel Co-Initiator for Dentin Adhesives. *Polymerization Kinetics and Leachables Study*,67,796–803.
51. Ferracane, J.L., Greener, E.H. (1984). Fourier Transform Infrared Analysis of Degree of Polymerization in Unfilled Resins—Methods Comparison. *Journal of Dental Research*. 63,1093–5.
52. Bae, J.H., Cho, B.H., Kim, J.S., Kim, M.S., Lee, I.B., Son, H.H. (2005). Adhesive layer properties as a determinant of dentin bond strength. *Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomaterials*, 74,822–8.
53. Rueggeberg, F.A., Ergle, J.W., Lockwood, P.E. (1997). Effect of photoinitiator level on properties of a light-cured and post-cure heated model resin system. *Dent Mater*, 13,360–4.
54. Nunes, T.G., Garcia, F.C.P., Osorio, R., Carvalho, R., Toledano, M. (2006). Polymerization efficacy of simplified adhesive systems studied by NMR and MRI techniques. *Dental Materials*, 22, 963–72.
55. Cadenaro, M., Breschi, L., Antoniolli, F., Navarra, C.O., Mazzoni, A., Tay, F.R. (2008). Degree of conversion of resin blends in relation to ethanol content and hydrophilicity. *Dental Materials*, 24, 1194–200.
56. Tay, F.R., Pashley, D.H., Yiu, C., Cheong, C., Hashimoto, M., Itou, K. (2004). Nanoleakage types and potential implications: evidence from unfilled and filled adhesives with the same resin composition. *American Journal of Dentistry*, 17, 182–90.
57. De Munck, J., Van Landuyt, K., Peumans, M., Poitevin, A., Lambrechts, P., Braem, M. (2005). A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: Methods and results. *Journal of Dental Research*, 84, 118–32.
58. Sideridou, I.D., Achilias, D.S. (2005). Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. *Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomaterials*, 74, 617–26.
59. Al-Hiyasat, A.S., Darmani, H., Milhem, M.M. (2005). Cytotoxicity evaluation of dental resin composites and their flowable derivatives. *Clinical Oral Investigation*, 9, 21–5.
60. Altintaş, S.H., Üşümez, A. (2008). Evaluation of monomer leaching from a dual cured resin cement. *Journal of Biomedical Materials Reserach B Applied Biomaterials*, 86, 523–9.
61. Kömürcüoğlu, E., Ölmez, S., Vural, N. (2005). Evaluation of residual monomer elimination methods in three different fissure sealants in vitro. *Journal of Oral Rehabilitation*,32, 116–21.
62. Stansbury, J.W., Dickens, S.H. (2001). Determination of double bond conversion in dental resins by near infrared spectroscopy. *Dental Materials*, 17, 71–9.
63. Holmes, R.G., Rueggeberg, F.A., Callan, R.S., Caughman, F., Chan, D.C.N., Pashley, D.H. (2007). Effect of solvent type and content on monomer conversion of a model resin system as a thin film. *Dental Materials*, 23, 1506–12.
64. Heil, J., Reifferscheid, G., Waldmann, P., Leyhausen, G., Geurtsen, W. (1996). Genotoxicity of dental materials. *Mutation Research - Genetic Toxicology*,368, 181–94.
65. Spahl, W., Budzikiewicz, H., Geurtsen, W. (1998). Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Dentistry*, 26, 137–45.
66. Lee, S.Y., Huang, H.M., Lin, C.Y., Shih, Y.H. (1998). Leached components from dental composites in oral simulating fluids and the resultant composite strengths. *Journal of Oral Rehabilitation*, 25, 575–88.
67. Nunes, T.G., Garcia, F.C.P., Osorio, R., Carvalho, R., Toledano, M. (2006). Polymerization efficacy of simplified adhesive systems studied by NMR and MRI techniques. *Dental Materials*, 22, 963–72.
68. Sideridou, I.D., Achilias, D.S. (2005). Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. *Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomaterials*, 74, 617–26.
69. Cuatrecasas, P., Wilchek, M., Anfinsen, C.B. (1968). Selective enzyme purification by affinity chromatography. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 61, 636–43.
70. Porath, J. (1997). From gel filtration to adsorptive size exclusion. In: Journal of Protein Chemistry, 463–8.
71. Steehler, J.K. (2005). Exploring Chemical Analysis. *Journal of Chemical Education*, 82,685.
72. Coşkun, O. (2016). Separation Tecniques: Chromatography. *Northern Clinics of Istanbul*, 3,156.
73. Gerberding, S.J., Byers, C.H. (1998). Preparative ion-exchange chromatography of proteins from dairy whey. *Journal of Chromatography A*, 808, 141–51.
74. Sideridou, I.D., Achilias, D.S. (2005). Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. *Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomaterials*, 74, 617–26.

75. Wataha, J.C. (2001). Principles of biocompatibility for dental practitioners. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 86,203–9.
76. Ergün, G., Eğilmez, F., Üçtaşli, M.B., Yilmaz, Ş. (2007). Effect of light curing type on cytotoxicity of dentine-bonding agents. *International Endodontic Journal*, 40, 216–23.
77. Oilo, G. (1992). Biodegradation of dental composites/glass-ionomer cements. *Advances in Dental Research*, 6, 50–4.
78. Wegehaupt, F.J., Lunghi, N., Belibasakis, G.N., Attin, T. (2016). Influence of light-curing distance on degree of conversion and cytotoxicity of etch-and-rinse and self-etch adhesives. *BMC Oral Health*, 7,17.
79. Hebling, J., Giro, E.M.A., Costa, C.A.S. (1999). Human pulp response after an adhesive system application in deep cavities. *Journal of Dentistry*, 27, 557–64.
80. Szep, S., Kunkel, A., Ronge, K., Heidemann, D. (2002). Cytotoxicity of modern dentin adhesives - In vitro testing on gingival fibroblasts. *Journal of Biomedical Materials Research*, 63,53–60.
81. Demirci, M., Hiller, K.A., Bosl, C., Galler, K., Schmalz, G., Schweikl, H. (2008). The induction of oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity by dental adhesives. *Dental Materials* ,24, 362–71.
82. Vamnes, J.S., Morken, T., Helland, S., Gjerdet, N.R. (2000). Dental gold alloys and contact hypersensitivity. *Contact Dermatitis*, 42,128–33.
83. Hensten-Pettersen, A. (1992). Casting alloys: side-effects. *Advances in Dental Research*, 6, 38–43.
84. Hensten-Pettersen, A. (1998). Skin and mucosal reactions associated with dental materials. *European Journal Oral Sciences*, 106,707–12.
85. Hildebrand, H.F., Veron, C., Martin, P. (1989). Nickel, chromium, cobalt dental alloys and allergic reactions: an overview. *Biomaterials*, 10, 545–8.
86. Rustemeyer, T., de Groot, J., von Blomberg, B.M.E, Frosch, P.J., Scheper, R.J. (1998). Cross-reactivity patterns of contact-sensitizing methacrylates. *Toxicol Applied Pharmacol*, 148,83–90.
87. Glen P. (2001). New product news. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 86, 209.
88. Shah, M., Lewis, F.M., Gawkrodger, D.J. (1997). Patch testing in children and adolescents: Five years' experience and follow-up. *Journal American Academy Dermatologia*, 37,964–8.
89. Engle, J.H., Ferracane, J.L., Wichmann, J., Okabe, T. (1992). Quantitation of total mercury vapor released during dental procedures. *Dental Materials*, 8, 176–80.
90. Örtengren, U., Andreasson, H., Karlsson, S., Meding, B., Barregård, L. (1999). Prevalence of self-reported hand eczema and skin symptoms associated with dental materials among Swedish dentists. *European Journal Oral Sciences*, 107, 496–505.
91. Rustemeyer, T., de Ligter, S., von Blomberg, B.M.E., Frosch, P.J., Scheper, R.J. (1999). Human T lymphocyte priming in vitro by haptenated autologous dendritic cells. *Clinical and Experimental Immunology*, 117,209–16.
92. Jontell, M., Bratel, J., Bergenholtz, G., Hanks, C.T. (1995). Effects of Unpolymerized Resin Components on the Function of Accessory Cells Derived from the Rat Incisor Pulp. *Journal of Dental Research*, 74,1162–7.
93. Adresi, Y., Küçükepmen, Ç. (2009). Süt ve daimi dişlerde bağlayıcı ajanların etkinliği, biyouyumluluğu ve sitotoksisitesi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 16, 48–55.
94. Covington, J.S., McBride, M.A., Slagle, W.F., Disney, A.L. (1985). Quantization of nickel and beryllium leakage from base metal casting alloys. Journal of Prosthetic Dentistry, 54, 127–36.
95. Fikirdeşici, Ş., Altindağ, A., Özdemir, E. (2012). Investigation of acute toxicity of cadmium-arsenic mixtures to Daphnia magna with toxic units approach. *Journal of Zoology*, 36,543–50.
96. Letzel, H., de Boer, F.A., van'T Hof, M.A. (1997). An estimation of the size distribution of amalgam particles in dental treatment waste. *Journal of Dental Research*, 76, 780–8.
97. Gahyva, S.M.M., Siqueira Junior, J.F. (2005). Direct genotoxicity and mutagenicity of endodontic substances and materials as evaluated by two prokaryotic test systems. *Journal of Applied Oral Science*, 13, 387–92.
98. Stea, S., Savarino, L., Ciapetti, G., Cenni, E., Stea, S., Trotta, F. (1994). Mutagenic potential of root canal sealers: Evaluation through Ames testing. *Journal of Biomedical Materials Research*, 28, 319–28.
99. Wennberg, A., Mjör, I.A., Hensten-Pettersen, A. (1983). Biological evaluation of dental restorative materials—a comparison of different test methods. *Journal of Biomedical Materials Research*, 17, 23–36.
100. Mjör, I.A., Hensten-Pettersen, A, Skogedal, O. (1977). Biologic evaluation of filling materials. A comparison of results using cell culture techniques, implantation tests and pulp studies. *International Dental Journal*, 27,124–9.
101. Hensten- Pettersen, A., Helgeland, K. (1977). Evaluation of biologic effects of dental materials using four different cell culture techniques. *European Journal Oral Sciences*, 85,291–6.
102. Pişkin, B., Avsever, H., Gündüz, K. (2009). Dişhekimliğinde kullanılan materyallerin biyouyumlıluk değerlendirme yöntemleri , *Ondokuz Mayıs Universitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi,* 10.

103. Hanks, C.T., Wataha, J.C., Sun, Z. (1996). In vitro models of biocompatibility: A review. *Dental Materials*, 12,186–93.
104. Schuster, G.S., Lefebvre, C.A., Wataha, J.C., White, S.N. (1996). Biocompatibility of posterior restorative materials. *Journal of the California Dental Association*, 24, 17–31.
105. Swetha, B., Mathew, S., Murthy, B.V.S., Shruthi, N., Bhandi, S.H. (2015). Determination of biocompatibility: A review. *International Dental & Medical Journal of Advanced Research* – 1,1–6.
106. Schmalz, G. (1998). Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. Clinical oral investigations. *Clinical Oral Investigation*, 1, 154–62.
107. Schmalz, G., Arenholt-Bindslev, D. (2009). Biocompatibility of dental materials. *Biocompatibility of Dental Materials*. 1–379.
108. Bächle, M., Kohal, R.J. (2004). A systematic review of the influence of different titanium surfaces on proliferation, differentiation and protein synthesis of osteoblast-like MG63 cells. *Clinical Oral Implants Research*, 15,683–92.
109. Schmid-Schwap, M., Franz, A., König, F., Bristela, M., Lucas, T., Piehslinger, E. (2009). Cytotoxicity of four categories of dental cements. *Dental Materials*, 25, 360–8.
110. Vande Vannet, B., Mohebbian, N., Wehrbein, H. (2006). Toxicity of used orthodontic archwires assessed by three-dimensional cell culture. *European Journal Orthodontics*, 28, 426–32.
111. Pişkin, B., Avsever, H., Gündüz, K. (2009). Dişhekimliğinde kullanılan materyallerin biyouyumlıluk değerlendirme yöntemleri, *Ondokuz Mayıs Universitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi,* 10.
112. Kleinsasser, N.H., Wallner, B.C., Harréus, U.A., Kleinjung, T., Folwaczny, M., Hickel, R. (2004). Genotoxicity and cytotoxicity of dental materials in human lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (comet) assay. *Journal of Dentistry*, 32, 229–34.
113. Schmalz, G., Schuster, U., Thonemann, B., Barth, M., Esterbauer, S. (2001). Dentin barrier test with transfected bovine pulp-derived cells. *Journal of Endodontic*, 27, 96–102.
114. Cao, T., Saw, T.Y., Heng, B.C., Liu, H., Yap, A.U.J., Ng, M.L. (2005). Comparison of different test models for the assessment of cytotoxicity of composite resins. *Journal of Applied Toxicology*, 25, 101–8.
115. Kerr, J.F.R., Wyllie, A.H., Currie, A.R. (1972). Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*, 26, 239–57.
116. Huerta, S., Goulet, E.J., Huerta-Yepez, S., Livingston, E.H. (2007). Screening and Detection of Apoptosis. *Journal of Surgical Research*, 143–56.
117. Galluzzi, L., Maiuri, M.C., Vitale, I., Zischka, H., Castedo, M., Zitvogel, L. (2007). Cell death modalities: Classification and pathophysiological implications. *Cell Death and Differentiation*, 14, 1237–43.
118. Takemura, G., Fujiwara, H. (2006). Morphological aspects of apoptosis in heart diseases. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 10, 56–75.
119. Klionsky, D.J., Cuervo, A.M., Seglen, P.O. (2007). Methods for monitoring autophagy from yeast to human. Autophagy, 3,181–206.
120. Labat-Moleur, F., Guillermet, C., Lorimier, P., Robert, C., Lantuejoul, S., Brambilla, E. (1998). TUNEL apoptotic cell detection in tissue sections: Critical evaluation and improvement. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 46, 327–34.
121. Mormone, E., Matarrese, P., Tinari, A., Cannella, M., Maglione, V., Farrace, M.G. (2006). Genotype-dependent priming to self- and xeno-cannibalism in heterozygous and homozygous lymphoblasts from patients with Huntington's disease. *Journal Neurochemistry*, 98,1090–9.
122. Güleş, Ö., Eren, Ü. (2008). Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19,73–8.
123. Overbeeke, R., Steffens-Nakken, H., Vermes, I., Reutelingsperger, C., Haanen, C. (1998). Early features of apoptosis detected by four different flow cytometry assays. Apoptosis, 3, 115–21.
124. Bratton, D.L., Fadok, V.A., Richter, D.A., Kailey, J.M., Guthrie, L.A., Henson, P.M. (1997). Appearance of phosphatidylserine on apoptotic cells requires calcium- mediated nonspecific flip-flop and is enhanced by loss of the aminophospholipid translocase. *Journal of Biological Chemistry*, 272,26159–65.
125. Tesarik, J., Greco, E., Cohen-Bacrie, P., Mendoza, C. (1998). Germ cell apoptosis in men with complete and incomplete spermiogenesis failure. *Molecular Human Reproduction*, 4, 757–62.
126. Matarrese, P., Tinari, A., Mormone, E., Bianco, G.A., Toscano, M.A., Ascione, B. (2005). Galectin-1 sensitizes resting human T lymphocytes to Fas (CD95)-mediated cell death via mitochondrial hyperpolarization, budding, and fission. *Journal of Biological Chemistry* ,280, 6969–85.
127. Tinari, A., Garofalo, T., Sorice, M., Degli Esposti, M., Malorni, W. (2007). Mitoptosis: Different pathways for mitochondrial execution. *Autophagy*, 3, 282–4.

128. Kroemer, G., El-Deiry, W.S., Golstein, P., Peter, M.E., Vaux, D., Vandenabeele, P. (2005). Classification of cell death: Recommendations of the nomenclature committee on cell death. *Cell Death Differ*, 12,1463–7.
129. Malorni, W., Matarrese, P., Tinari, A., Farrace, M.G., Piacentini, M. (2007). Xeno-cannibalism: A survival "escamotage." *Autophagy*, 3, 75–7.
130. Leprince, J.G., Palin, W.M., Hadis, M.A., Devaux, J., Leloup, G. (2013). Progress in dimethacrylate-based dental composite technology and curing efficiency. In: Dental Materials. *Dent Mater*, 139–56.
131. Kunio, I., Takeshi, E. (2010). A review of the development of radical photopolymerization initiators used for designing light-curing dental adhesives and resin composites. Dental Materials Journal. *Dent Mater Journal*, 29,481–501.
132. Allen, R., Marcelo, G., Cesar, A., Price, F. (2017). Light curing in dentistry and clinical implications: a literature review. *Critical review Dental Materials/Dentistry*, 31,61.
133. Chen, Y.C., Ferracane, J.L., Prahl, S.A. (2007). Quantum yield of conversion of the photoinitiator camphorquinone. *Dental Materials*, 23, 655–64.
134. Neumann, M.G., Schmitt, C.C., Ferreira, G.C., Corrêa, I.C. (2006). The initiating radical yields and the efficiency of polymerization for various dental photoinitiators excited by different light curing units. *Dental Materials*, 22, 576–84.
135. Neumann, M.G., Miranda, W.G., Schmitt, C.C., Rueggeberg, F.A., Correa, I.C. (2005). Molar extinction coefficients and the photon absorption efficiency of dental photoinitiators and light curing units. *Journal of Dentistry*, 33, 525–32.
136. Rueggeberg, F.A. (2011). State-of-the-art: Dental photocuring - A review. Dental Materials. *Dent Mater*, 27,39–52.
137. Rueggeberg F. (1999). Contemporary issues in photocuring. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*,25,4-15.
138. Chye, C.H., Yap, A.U.J., Laim, Y.C., Soh, M.S. (2005). Post-gel polymerization shrinkage associated with different light curing regimens. *Operative Dentistry*, 30, 474–80.
139. Oesterle, L.J., Newman, S.M., Shellhart, W.C. (2001). Rapid curing of bonding composite with a xenon plasma arc light. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 119,610–6.
140. Peutzfeldt, A., Sahafi, A., Asmussen, E. (2000). Characterization of resin composites polymerized with plasma arc curing units. *Dental Materials*, 16, 330–6.
141. Klocke, A., Korbmacher, H.M., Huck, L.G., Kahl-Nieke, B. (2002). Plasma arc curing lights for orthodontic bonding. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 122, 643–8.
142. Mills, R.W. (1995). Blue light emitting diodes--another method of light curing. *British Dental Journal*, 178,169–169.
143. Koupis, N.S., Eliades, T., Athanasiou E. (2008). Clinical Evaluation of Bracket Bonding Using Two Different Polymerization Sources. *Angle Orthodontist*, 5-78.
144. Fleming, P.S., Eliades, T., Katsaros, C., Pandis, N. (2013). Curing lights for orthodontic bonding: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 143-4
145. Bishara, S.E., Ortho, D., Ajlouni, R., Oonsombat, C. (2003). Evaluation of a New Curing Light on the Shear Bond Strength of Orthodontic Brackets. *Angle Orthodontist*, 73.
146. Oyama, N., Komori, A., Nakahara, R. (2004). Evaluation of Light Curing Units Used for Polymerization of Orthodontic Bonding Agents. *Angle Orthodontist* ,74, 810.
147. Sfondrini, M.F., Cacciafesta, V., Pistorio, A., Sfondrini, G. (2001). Effects of conventional and high-intensity light-curing on enamel shear bond strength of composite resin and resin-modified glass-ionomer. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 119,30–5.
148. Lippitz, S.J., Staley, R.N., Jakobsen, J.R. (1998). In vitro study of 24-hour and 30-day shear bond strengths of three resin-glass ionomer cements used to bond orthodontic brackets. *American Journal of Orthodontic Dentofacial Orthopedics*, 113,620–4.
149. Retief, D.H. (1975). The use of 50 per cent phosphoric acid as an etching agent in orthodontics: A rational approach. *American Journal of Orthodontics*, 68,165–78.
150. Gottlieb, E.W., Retief, D.H., Jamison, H.C. (1982). An optimal concentration of phosphoric acid as an etching agent. Part I: Tensile bond strength studies. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 48,48–51.
151. Sideridou, I. (2003). Study of water sorption, solubility and modulus of elasticity of light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials*, 24,655–65.
152. Minhui, D., Ying, Z. (2008). Degree of conversion and mechanical properties studies of UDMA based materials for producing dental posts. *Polymer Composites*, 29, 623–30.
153. Reichl, F.X., Walther, U.I., Durner, J., Kehe, K., Hickel, R., Kunzelmann, K.H. (2001). Cytotoxicity of dental composite components and mercury compounds in lung cells. *Dental Materials*, 17,95–101.

154. Hensten-Pettersen, A. (1988). Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. *International Endodontic Journal*, 21,89–99.
155. Schmalz, G., Schweikl, H., Eibl, M. (1994). Growth kinetics of fibroblasts on bovine dentin. *Journal of Endodontic*, 20, 453–6.
156. Browne, R.M. (1988). The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials--does it have a role. *Intenational Endodontic Journal*, 21,50–8.
157. Craig, R.G., Robert, G., Powers, J.M., Wataha, J.C. (2004). Properties and manipulation. *Dental materials*, 348.
158. Darmani, H., Al-Hiyasat, A.S., Milhem, M.M. (2007). Cytotoxicity of dental composites and their leached components. *Quintessence International*, 38, 789-95.
159. Bakopoulou, A., Leyhausen, G., Volk, J., Tsiftsoglou, A., Garefis, P., Koidis, P. (2011). Effects of HEMA and TEDGMA on the in vitro odontogenic differentiation potential of human pulp stem/progenitor cells derived from deciduous teeth. *Dent Mater*, 27, 608–17
160. Galler, K.M., Schweikl, H., Hiller, K.A., Cavender, A.C., Bolay, C., D'Souza, R.N. (2011). TEGDMA reduces mineralization in dental pulp cells. *Journal of Dental Research*, 90,257–62.
161. J, R.L.F., I, S.B., C, P.C.J., T, C.P.M. (2013). Effects of two low-shrinkage composites on dental stem cells (viability, cell damaged or apoptosis and mesenchymal markers expression). *Journal of Material Science Materials Medical*, 24, 979–88.
162. Arenholt- Bindslev, D., Bleeg, H. (1990). Characterization of two types of human oral fibroblast with a potential application to cellular toxicity studies: tooth pulp fibroblasts and buccal mucosa fibroblasts. *International Endodontic Journal*, 23, 84–91.
163. Van Wyk, C.W., Olivier, A., Maritz, J.S. (2001). Cultured pulp fibroblast: Are they suitable for in vitro cytotoxicity testing. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 30,168–77.
164. Ferracane, J.L. (1994). Elution of leachable components from composites. *Journal Oral Rehabilitation*, 21,441–52.
165. Ergün, G., Eğilmez, F., Cekiç-Nagas, I. (2011). The cytotoxicity of resin composites cured with three light curing units at different curing distances. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*,16.
166. Aranha, A.M.F., Giro, E.M.A., Hebling, J., Lessa, F.C.R., Costa, C.A. (2010). Effects of light-curing time on the cytotoxicity of a restorative composite resin on odontoblast like cells. *Journal of Applied Oral Science*, 18, 461.
167. Wataha, J.C., Lockwood, P.E., Bouillaguet, S., Noda, M. (2003). In vitro biological response to core and flowable dental restorative materials. *Dent Mater*, 19, 25–31.
168. Aldbass, A., Amina, M., al Musayeib, N.M., Bhat, R.S., Al-Rashed, S., Marraiki, N. (2021). Cytotoxic and anti-excitotoxic effects of selected plant and algal extracts using comet and cell viability assays. *Scientific reports*, 11
169. Savioli, M., Jardini, A.L., Maciel, R. (2012). Poly (Lactic Acid) Production for Tissue Engineering Applications. *Procedia Engineering*, 42,1402–13.
170. Gorduysus, M., Avcu, N., Gorduysus, O., Pekel, A., Baran, Y., Avcu, F. (2007). Cytotoxic effects of four different endodontic materials in human periodontal ligament fibroblasts. *Journal Endodontic*, 33, 1450–4.
171. Stoddart, M.J. (2011). Cell viability assays: introduction. *Methods in Molecular Biology*, 740,1–6.
172. Adan, A., Kiraz, Y., Baran, Y. (2016). Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Current Pharmaceurtical Biotechnology*, 17,1213–21.
173. Johnson, S., Nguyen, V., Coder, D. (2013). Assessment of cell viability. Current Protocol Cytometry,64.
174. O'Brien, J., Wilson, I., Orton, T., Pognan, F. (2000). Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European Journal Biochemistry*, 267,5421–6.
175. Eilenberger, C., Kratz, S.R.A., Rothbauer, M., Ehmoser, E.K., Ertl, P., Küpcü, S. (2018). Optimized alamarBlue assay protocol for drug dose-response determination of 3D tumor spheroids. *MethodsX*, 5:781.
176. Vega-Avila, E., Pugsley, M.K. (2011). An overview of colorimetric assay methods used to assess survival or proliferation of mammalian cells. *Proc West Pharmacol Soc*, 54,10–4.
177. 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*, 13,165–9.
178. Jagdish, N., Padmanabhan, S., Chitharanjan, A.B., Revathi, R., Palani, G., Sambasivam, M. (2009). Cytotoxicity and degree of conversion of orthodontic adhesives. *Angle Orthodontics*, 79, 1133–8.
179. 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 Orthodontics*,30, 495–502.

180. Moharamzadeh, K., Van Noort, R., Brook, I.M., Scutt, A.M. (2007). HPLC analysis of components released from dental composites with different resin compositions using different extraction media. *Journal of Materials Science Materials Medicine*, 18, 133–7.
181. Hume, W.R., Gerzina, T.M. (1996). Bioavailability of components of resin-based materials which are applied to teeth. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 7, 172–9.
182. Urcan, E., Scherthan, H., Styllou, M., Haertel, U., Hickel, R., Reichl, FX. (2010). Induction of DNA double-strand breaks in primary gingival fibroblasts by exposure to dental resin composites. *Biomaterials*, 31,2010–4.
183. Ratanasathien, S., Wataha, J.C., Hanks, C.T., Dennison, J.B. (1995). Cytotoxic Interactive Effects of Dentin Bonding Components on Mouse Fibroblasts. *Journal Dental Research,* 74,1602–6.
184. 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*, 22,172–7.
185. Viljanen, E.K., Langer, S., Skrifvars, M., Vallittu, P.K. (2006). Analysis of residual monomers in dendritic methacrylate copolymers and composites by HPLC and headspace-GC/MS. *Dental Materials*, 22,845–51.
186. Panduric, V., Tarle, Z., Hameršak, Z., Stipetić, I., Matosevic, D., Negovetić-Mandić V. (2009). of HEMA in self-etching adhesive systems with high performance liquid chromatography. *Journal Moleculer Structure*, 924–926,358–60.
187. Botsalı, S.M. (2008). M. Rezin esaslı fissür örtücülerin farklı ışık kaynaklarıyla polimerizasyonu sonrasında açığa çıkan artık monomer miktarının, yüzey sertliğinin ve bağlanma dayanımının araştırılması. *Acta Odontologica Turcica*, 1,6-12.
188. Özden, Ö., Bektaş Ş., Eren D., (2005). Polimerizasyon ve Klinik Uygulamalar Curing Units, Polymerisation and Clinical. *Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*,26.
189. McCabe, J.F. (1998). Walls Angus. *Applied dental materials*, 242.
190. Zaimoğlu, A., Can, G., Ersoy, E., Aksu, L. (1993). *Diş Hekimliğinde Maddeler Bilgisi*. Nadir Kitap.
191. Rahiotis, C., Kakaboura, A., Loukidis, M., Vougiouklakis, G. (2004). Curing efficiency of various types of light-curing units. *European Journal Oral Science*, 112, 89–94.
192. Tabatabaee, M.H., Mahdavi, H., Zandi, S., Kharrazi, M.J. (2009). HPLC analysis of eluted monomers from two composite resins cured with LED and halogen curing lights. *Journal Biomedical Material Research B Applied Biomater*,88,191–6.
193. 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.
194. Ozan, G., Sar-Sancakli, H., Tiryaki, M., Bayrak, I., Ozan, G., Sar-Sancakli, H. (2020). Effect of Light Curing Modes on the Color Stability of a Nanohybrid Composite Immersed in Different Beverages. *Odovtos International Journal of Dental Sciences*. 22, 72–83.
195. Niom I. (1990). Current views on biological testing of restorative materials. Journal Oral Rehabiltation, 17, 503–7.
196. Curtis, A.R., Wright, A.J., Fleming, G.J.P. (2006). The influence of surface modification techniques on the performance of a Y-TZP dental ceramic. *Journal of Dentistry*,34,195–206.
197. Nakamura, T., Wakabayashi, K., Zaima, C., Nishida, H., Kinuta, S., Yatani, H. (2009). Tensile bond strength between tooth-colored porcelain and sandblasted zirconia framework. *Journal Prosthodont Research*, 53,116–9.
198. Uluakay, M., İnan, H., Yamanel, K., Arhun, N. (1999). Kompozit Rezinler Ve Polimerizasyon Büzülmesi Resin Composites and Polymerization Shrinkage. *ADO journal of clinical sciences*, 5,895-902
199. Mills, R.W., Jandt, K.D., Ashworth, S.H. (1999). Dental composite depth of cure with halogen and blue light emitting diode technology. *British Dental Journal*, 186,388–91.
200. Gagliani, M., Fadini, L., Jörg, Ritzmann M. (2002). Depth of Cure Efficacy of High-power Curing Devices vs Traditional Halogen Lamps. *Journal of Adhesive Dentistry*,4,41–7.
201. Price, R.B.T., Fahey, J., Felix, C.M. (2010). Knoop microhardness mapping used to compare the efficacy of LED, QTH and PAC curing lights. *Operative Dentistry*,35,58–68.
202. Moreira, C.L., Antoniosi, N.R., de Souza, J.B., Lopes, L.G. (2010). Sorption, solubility and residual monomers of a dental adhesive cured by different light-curing units. *Brazilian Dental Journal*, 21, 432–8.
203. Cadenaro, M., Antoniolli, F., Sauro, S., Tay, F.R., Lenarda, R., Prati, C. (2005). Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *European Journal Oral Science*, 113,525–30.
204. Breschi, L., Cadenaro, M., Antoniolli, F., Sauro, S., Biasotto, M., Prati, C. (2007). Polymerization kinetics of dental adhesives cured with LED: Correlation between extent of conversion and permeability. *Dental Materials*, 23,1066–72.

205. Reis, A., Ferreira, S.Q., Costa, T.R.F., Klein-Júnior, C.A., Meier, M.M., Loguercio, A.D. (2010). Effects of increased exposure times of simplified etch-and-rinse adhesives on the degradation of resin-dentin bonds and quality of the polymer network. *European Journal Oral Science*,118, 502–9.
206. Danesh, G., Hellak, T., Reinhardt, K.J., Végh, A., Schäfer, E., Lippold, C. (2012). Elution characteristics of residual monomers in different light and auto-curing resins. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 7–8,867–72.
207. Ak, A.T., Alpoz, A.R., Bayraktar, O., Ertuğrul, F. (2010). Monomer Release from Resin Based Dental Materials Cured with LED and Halogen Lights. *European Journal Dentistry*, 4,34–40.
208. Güler Ç., Görgen V. (2015). Diş Hekimliğinde Artık Monomerler: Bir Literatür Derlemesi. *Medical Science*, 4, 2024–38

EK

Etik Kurul Uygunluk Belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 07/07/2020-E.21676

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Hamidiye Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 46418926-050.03.04
Konu : Araştırma Projesi Değerlendirme Raporu (20/259)

Sayın Prof. Dr. Şeniz KARAÇAY

Kurulumuza değerlendirilmek üzere sunulan 20/259 kayıt numaralı, ***"Ortodontide Kullanılan Primerli ve Primersiz Adeziv Rezinlerin Biyouyumluluklarının In Vitro Olarak Karşılaştırılması"*** başlıklı proje önerisi kurulumuzun 26.06.2020 tarihli toplantısında değerlendirilmiş ve etik açıdan uygun bulunmuştur. İlgili kurul kararı Ek'te sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN
Başkan

Ek: Kurul Kararı

Adres:Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane Kampüsü, Tıbbiye Cad. No:38 Selimiye
Telefon:0216 346 36 38 Faks0216 346 36 40
Elektronik Ağ:http://sbu.edu.tr

Bilgi için: Arş.Gör.Ronayı COŞKUN
Unvanı: Sekreter

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.