

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

**FARKLI CAD-CAM TAM SERAMİK MATERYALLERİNİN  
İNSAN GİNGİVAL FİBROBLASTLARI ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Gökçen FERİZ**

**UZMANLIK TEZİ**

**PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI**

**Danışman**

**Prof. Dr. İsa YÖNDEM**

**KONYA-2018**

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

**FARKLI CAD-CAM TAM SERAMİK MATERYALLERİNİN  
İNSAN GİNGİVAL FİBROBLASTLARI ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Gökçen FERİZ**

**UZMANLIK TEZİ**

**PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI**

**Danışman**

**Prof. Dr. İsa YÖNDEM**

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 18102032 proje numarası ile desteklenmiştir.

**KONYA-2018**



UZMANLIK TEZİ JÜRİ TUTANAGI

Dok.Kodu	KU.FR.57
Yürürlüğe Gir. Tar.	Haziran 2015
Revizyon No	00
Revizyon Tarihi	
Sayfa No	1 / 1

Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı : Gökçen FERİZ

Uzmanlık Dalı : Protetik Diş Tedavisi

Tez Danışmanı : Prof.Dr.İsa YÖNDEM

Tezin Adı : "Farklı CAD/CAM Tam Seramik Materyallerinin İnsan  
Gingival Fibroblastları Üzerine Etkileri"

Dt. Gökçen FERİZ'in hazırlamış olduğu tezini 06.11.2018 tarihinde aşağıda isimleri yazılı olan jüri huzurunda savunmuştur.

SONUÇ:

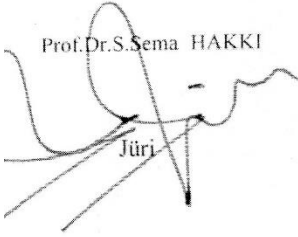
TEZ BAŞARILI (X)

TEZ YETERSİZ ( )

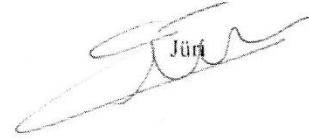
Prof.Dr.S.Sema HAKKI

Prof.Dr.İsa YÖNDEM

Dr.Öğr.Üyesi. Esra TALAY ÇEVLIK

  
Jüri

  
Jüri

  
Jüri

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince desteğini esirgemeyen, bana rehberlik eden, mesleki bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım çok değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. İsa YÖNDEM'e,

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde bana kıymetli fikirleri ile yol gösteren, bütün yoğunluğuna rağmen deney aşamalarında engin bilgi ve deneyimlerini benden asla esirgemeyen, çalışkanlığı ve iradesine her daim hayranlık duyduğum değerli hocam Sayın Prof. Dr. Sema SEZGİN HAKKI'ya,

Bazı insanlar vardır hayatımda özel olduklarına inandığım, yaşam enerjisi, pozitifliği, zekâsı, sahiplenen tavrı... Tezimin laboratuvar aşamalarında, sonuçlarının yorumlanmasında ve yazımında göstermiş olduğu sonsuz sabır ve karşılıksız fedakârlığının yanısıra bana yalnızca mesleki anlamda değil hayata dair de paha biçilemez katkıları olan canım ablam Dr. Buket BOZKURT'a,

Uzmanlık hayatımın her aşamasında değerli fikirleri ve yönlendirmeleriyle bana destek olan, mesafelerin uzaklığına rağmen desteğini hep yanımda hissettiğim sevgili ablam Dr. Öğr. Üyesi Esra TALAY ÇEVİLİK'e,

Varlıkları ve yardımlarıyla uzmanlık sürecimi güzelleştiren, yılların göz açıp kapayana dek geçip gitmesini sağlayan, sevgili dostlarım Mehtap BOZKURT, Zeynep KARA ve İlknur TORUN'a,

Çocukları olmaktan gurur ve onur duyduğum, sonsuz sevgi destek ve özverileriyle hayatımın her aşamasında arkamda olan, bugüne gelmemde en çok emeği geçen annem Beyhan ÖZTÜRK ve babam Hasan ÖZTÜRK'e,

Hayatımda olduğu günden itibaren en güzel anılarımı biriktirdiğim, verdiği sınırsız sevgi ve huzurla beni daha güçlü kılan, her konuda olduğu gibi tez sürecimde de destekleriyle yanımda olan şansım, yol arkadaşım Kemal FERİZ'e

sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

# İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER LİSTESİ .....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
ÖZET .....	xviii
SUMMARY .....	xix
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1. DENTAL SERAMİKLER .....	1
1.1.1 Dental seramiklerin tarihçesi ve gelişimi .....	2
1.1.2 Dental seramiklerin içeriği ve kimyasal yapısı.....	6
1.1.3 Dental seramiklerin sınıflandırılması .....	7
1.2 TAM SERAMİK RESTORASYONLAR .....	9
1.2.1 Tam seramiklerin avantajları .....	10
1.2.2 Tam seramiklerin dezavantajları.....	10
1.2.3 Tam seramiklerin endikasyonları.....	11
1.2.4 Tam seramiklerin kontraendikasyonları .....	11
1.3 CAD-CAM SİSTEMLERİ.....	12
1.3.1 Dental CAD/CAM sistemlerin avantajları.....	12
1.3.2 Dental CAD/CAM sistemlerin dezavantajları .....	13
1.3.3 CAD/CAM sistemlerde kullanılan materyaller.....	13
1.4 BİYUYUMLULUK.....	31
1.4.1 Biyolojik uyum testleri.....	32
1.4.2 Hücre kültürü.....	36
1.4.3 xCELLigence gerçek zamanlı hücre analiz sistemi (xCELLigence Real time cell analysis system RTCA) .....	46
1.4.4 Real time- polymerase chain reaction (RT-PCR).....	48
1.5 TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU (SEM).....	49
<b>2. MATERYAL METHOD.....</b>	<b>51</b>
2.1 ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI .....	51
2.1.1 Materyallerin sterilizasyonu.....	54
2.1.2 Materyallerin deneyler için hazırlanması.....	54
2.2 İNSAN GİNGİVAL FİBROBLAST HÜCRELERİNİN ELDESİ .....	55
2.3 HÜCRE PROLİFERASYON DENEYLERİ .....	56
2.4 MRNA EKSPRESYON DENEYLERİ.....	60

2.4.1	<i>İnsan gingival fibroblast hücrelerinden RNA izolasyonu</i>	60
2.4.2	<i>RNA örneklerinin absorbanlarının ölçülmesi</i>	63
2.4.3	<i>Complementary DNA (cDNA) sentezi</i>	64
2.4.4	<i>RT-PCR deneyleri</i>	65
2.5	HÜCRE ATAÇMANI DENEYLERİ	68
2.6	İSTATİSTİKSEL ANALİZ	70
<b>3.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>71</b>
3.1	PROLİFERASYON DENEYİ SONUÇLARI	71
3.2	SEM SONUÇLARI	74
3.3	MRNA EKSPRESYON DENEYLERİ SONUÇLARI	83
3.3.1	<i>Superoksit dismutaz (SOD) ekspresyonu sonuçları</i>	85
3.3.2	<i>Glutasyon peroksidaz (GPX) ekspresyonu sonuçları</i>	85
3.3.3	<i>Matriks metalloproteinaz-1 (MMP-1) ekspresyonu sonuçları</i>	86
3.3.4	<i>Matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2) ekspresyonu sonuçları</i>	86
3.3.5	<i>Matriks metalloproteinaz-3 (MMP-3) ekspresyonu sonuçları</i>	87
3.3.6	<i>Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ekspresyonu sonuçları</i>	88
3.3.7	<i>TIMP-1 ekspresyonu sonuçları</i>	89
3.3.8	<i>TIMP-2 ekspresyonu sonuçları</i>	89
3.3.9	<i>TNF-<math>\alpha</math> ekspresyonu sonuçları</i>	90
3.3.10	<i>IL-1 <math>\beta</math> ekspresyonu sonuçları</i>	90
3.3.11	<i>İnterlökin-6 (IL-6) ekspresyonu sonuçları</i>	91
3.3.12	<i>İnterlökin-8 (IL-8) ekspresyonu sonuçları</i>	92
3.3.13	<i>İnterlökin-10 (IL-10) ekspresyonu sonuçları</i>	92
3.3.14	<i>Kollojen-1 (Col-1) ekspresyonu sonuçları</i>	93
<b>4.</b>	<b>TARTIŞMA</b>	<b>94</b>
<b>5.</b>	<b>SONUÇLAR</b>	<b>111</b>
<b>6.</b>	<b>KAYNAKLAR</b>	<b>114</b>
<b>7.</b>	<b>EKLER</b>	<b>127</b>
<b>8.</b>	<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>129</b>

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1: Dental seramiklerin atomik yapısı

Şekil 1.2: Dental seramiklerin cam ve kristalin yapısı

Şekil 1.3: Feldspatik seramik bloklar

Şekil 1.4: IPS Empress CAD bloklar

Şekil 1.5: a) IPS e.max CAD bloklar. b) IPS e.max CAD hibrit abutment kron için üretilmiş bloklar

Şekil 1.6: Vita Suprinity bloklar

Şekil 1.7: a) In-Ceram Alumina blok. b) In-Ceram Spinell blok. c) In-Ceram Zirconia blok

Şekil 1.8: a) Cerec Zirconia, b) Sirona Incoris Tzi c) Bruxzir, d) Vita YZ HT

Şekil 1.9: Hibrit seramik (PICN) yapısı

Şekil 1.10: a) Vita Enamic blok. b) Vita Enamic CAD hibrit abutment kron için üretilmiş bloklar

Şekil 1.11: Lava Ultimate blok

Şekil 1.12: Dizüstü bilgisayar ve RTCA SP istasyonu

Şekil 1.13: Kuyucuk tabanındaki altın plağın hücrelerin elektrik yük empedanslarını ölçmesi

Şekil 1.14: e *plate*-96

Şekil 2.1: a) IPS Empress CAD örnekler. b) Vita Mark II örnekler. c) IPS e.max CAD örnekler. d) Vita Suprinity örnekler. e) Vita Enamic örnekler. f) Lava Ultimate örnekler. g) Sinterizasyon öncesi Vita Suprinity ve IPS e.max CAD örnekler. h) CAD-CAM tam seramik örnekler

Şekil 2.2: Dijital mikrometre ile örnek kalınlıklarının ölçümü

Şekil 2.3: a) Materyallerin DMEM içerisinde 3 ve 10 gün bekletilmesi. b) Fetal bovine serum, DMEM. c) Materyallerin inkübatörde bekletilmesi

Şekil 2.4: Laminar flow kabin

Şekil 2.5: Faz kontrast mikroskobu

Şekil 2.6: a) İnsan gingival fibroblast hücrelerinin tripsin enzimi ile muamele edilmesi ve inkübatörde bekletilmesi. b) Çözeltinin falkon tüplerine yerleştirilmesi. c) Falkon tüplerinin santrifüje edilip hücre pelletlerinin elde edilmesi. d) *Neubauer* lamında hücre sayımı

Şekil 2.7: DMEM, FBS çözeltisinin *view plate* kuyucuklarına yerleştirilmesi

Şekil 2.8: Hücrelerin *view plate* kuyucuklarına yerleştirilmesi

Şekil 2.9: Ekstratların filtre edilmesi

Şekil 2.10: Ekstratların İGF hücreleri ile muamele edilmesi

Şekil 2.11: RNA izolasyonu gruplarının şeması

Şekil 2.12: a) İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 60 ml'lik petri kaplarına dağıtımı. b) Filtrasyon. c) Filtre edilen ekstratın İGF hücreleri ile muamele edilmesi

Şekil 2.13: PBS solüsyonu uygulanması

Şekil 2.14: a) RNA izolasyon kiti. b) Kazıyıcı. c) Propilen tüplere aktarma işlemi. d) B solüsyonu. e) Propilen tüplere B solüsyonu ilavesi

Şekil 2.15: a) Vorteksleme işlemi. b) Santrifüj işlemi. c) En altta protein, ortada DNA, en üstte RNA olmak üzere 3 faz. d) RNA fazlarının farklı tüplere aktarımı. e) İsopropil alkol ilavesi. f) İkinci santrifüj sonrası oluşan RNA peleti. g)  $-80^{\circ}\text{C}$  'de muhafaza edilmesi

Şekil 2.16: a) EtOH-DEPC dH<sub>2</sub>O karışımının toplanması. b) *Heat block* cihazında ısı ile muamele edilmesi

Şekil 2.17: RNA miktarları ve saflık oranlarının elde edilmesi

Şekil 2.18: a) cDNA sentez kiti. b) Santrifüj. c) Polymerase chain reaction (PCR) cihazı

Şekil 2.19: SYBR Green Master Mix



Şekil 2.20: SYBR green miksla hazırlanan 25 µl reaksiyon hacmi bileşenleri oluşturulması

Şekil 2.21: RT-PCR cihazı

Şekil 2.22: a) *Well plate* içerisine DMEM aktarımı. b) Insestlerin *plate* içerisine yerleştirilmesi. c) Örneklerin *plate* içerisine yerleşimi. d) İnsan gingival fibroblast hücrelerinin örnekler üzerine yayımı.

Şekil 2.23: a) Örneklerin liyofizitör cihazında kurutulması. b) Örneklerin altın yüzey kaplaması. c) SEM cihazı

Şekil 3.1: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ve 10-HKO ile muamelesi sonucu proliferasyon grafiği

Şekil 3.2: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamelesi sonucu proliferasyon grafiği

Şekil 3.3: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 10-HKO ile muamelesi sonucu proliferasyon grafiği

Şekil 3.4: IPS Empress CAD grubunun hücre ekilmemiş örneğinin yüzeyinin KX 1000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 2µm

Şekil 3.5: a) IPS Empress CAD grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X99 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. b) IPS Empress CAD grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X200 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

Şekil 3.6: a) IPS Empress CAD grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. b) IPS Empress CAD grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX1000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 2µm

Şekil 3.7: Vita Mark II grubunun hücre ekilmemiş örneğinin yüzeyinin KX 1000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 2µm

Şekil 3.8: a) Vita Mark II grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. b) Vita Mark II grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

Şekil 3.9: a) Vita Mark II grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. b) Vita Mark II grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

Şekil 3.10: IPS e-max CAD grubunun hücre ekilmemiş örneğinin yüzeyinin X 100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm

Şekil 3.11: a) IPS e-max CAD grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. b) IPS e-max CAD grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

Şekil 3.12: a) IPS e-max CAD grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. b) IPS e-max CAD grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

Şekil 3.13: Vita Suprinity grubunun hücre ekilmemiş örneğinin yüzeyinin X 100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm

Şekil 3.14: a) Vita Suprinity grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. b) Vita Suprinity grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

Şekil 3.15: a) Vita Suprinity grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm. b) Vita Suprinity grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX200 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

Şekil 3.16: Vita Enamic grubunun hücre ekilmemiş örneğinin yüzeyinin KX 1000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 2µm

Şekil 3.17: a) Vita Enamic grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 200µm. b) Vita Enamic grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µ

Şekil 3.18: a) Vita Enamic grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. b) Vita Enamic grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µ

Şekil 3.19: Lava Ultimate grubunun hücre ekilmemiş örneğinin yüzeyinin KX 1000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 2µm

Şekil 3.20: a) Lava Ultimate grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. b) Vita Enamic grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX200 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

Şekil 3.21: a) Lava Ultimate grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. b) Lava Ultimate grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX200 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

Şekil 3.22: RNA izolasyonu öncesinde 3-HKO, 10-HKO ile muamele edilen hücrelerin inverted mikroskoptaki görüntüleri

Şekil 3.23: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında SOD ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.24: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında GPX ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava Ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita Suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.25: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında MMP-1 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava Ultimate; VM: Vita Mark II; VS: Vita Suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.26: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında MMP-2 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita Mark II; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.27: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında MMP-3 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.28: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında MMP-9 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita Mark II; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.29: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında TIMP-1 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.30: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında TIMP-2 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.31: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında TNF- $\alpha$  ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.32: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında IL-1  $\beta$  ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.33: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında IL-6 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol; VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.34: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında IL-8 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.35: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10 HKO ile muamele edilmesi sonrasında IL-10 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava Ultimate; VM: Vita Mark II; VS: Vita Suprinity; EC: IPS Empress CAD

Şekil 3.36: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10 HKO ile muamele edilmesi sonrasında Col-1 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava Ultimate; VM: Vita Mark II; VS: Vita Suprinity; EC: IPS Empress CAD

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 1.1: CAD/CAM sistemlerde kullanılan materyaller

Tablo 1.2: Biyouyumluluk testlerinin avantaj ve dezavantajları

Tablo 2.1: Çalışmada kullanılan materyaller

Tablo 2.2: Vita Suprinity ve IPS e-max CAD seramik blokların sinterizasyon döngüsü

Tablo 2.3: Deney gruplarının *view plate* yerleşimi

Tablo 2.4: RNA örneklerinin konsantrasyon ve saflık oranları

Tablo 2.5: 1 µg RNA için gerekli çözelti miktarları

Tablo 2.6: Complementary DNA sentezi için gerekli bileşenler ve miktarları

Tablo 2.7: mRNA ekspresyonları incelenecek primerler (insan orijinli)

Tablo 2.8: SYBR green miksle Hazırlanan 25 µl reaksiyon hacmi bileşenleri

Tablo 3.1: İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, CAD/CAM tam seramik materyallerinden 3 ve 10 gün boyunca salınanları içeren hücre kültür ortamı ile muamele edilmesini takiben yaşama yüzdeleri

## SİMGELER ve KISALTMALAR

### Simgeler

**atm:** Atmosfer

**%:** Yüzde

**cm<sup>2</sup>:** Santimetre kare

**rpm:** Dakikadaki devir sayısı

**dH<sub>2</sub>O:** Distile su

**µm:** Mikrometre

**MPa:** Megapaskal

**GPa:** Gigapaskal

**µl:** Mikrolitre

**µg:** Mikrogram

**ml:** Mililitre

**ng:** Nanogram

**nm:** Nanometre

**mm:** Milimetre

**°C:** Santigrad derece

**sn:** Saniye

**≥:** Büyük eşit

**pH:** *Power of hydrogen*

**pmol:** Pikomol

### Kısaltmalar

**10-HKO:** Materyallerden 10 gün boyunca salınanları içeren hücre kültürü ortamı

**3-HKO:** Materyallerden 3 gün boyunca salınanları içeren hücre kültürü ortamı

**ADA:** Amerikan Diş Hekimliği Akademisi

**Bis-EMA:** Etoksilat bisfenol a dimetakrilat

**BisGMA:** Bisfenol glisidil metakrilat

**CAD/CAM:** Bilgisayar destekli tasarım/ bilgisayar destekli üretim

**cDNA:** Complementary DNA

**CI:** *Cell index*

**DEPC:** Diethyl pirokarbonat

**DMEM:** Dulbecco's Modified Minimal Essential Medium

**DMSO:** Dimetilsülfoksid

**DNA:** Deoksiribonükleik asit

**EC:** IPS Empress CAD

**ECM:** Ekstrasellüler matriks

**EM:** IPS e.max CAD

**EtOH:** Etil alkol

**EZ-RNA A:** Guanidinium thiocyanate

**FBS:** Fetal Bovin Serum

**FDI:** Uluslararası Dis Hekimligi Birliği

**GAPDH:** *Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase*

**GAPDH:** *House keeping gene*

**GF:** Gingival fibroblast

**GPX:** Glutatyon peroksidaz

**GPX:** Glutatyon peroksidaz

**HT:** *High* translüsent

**IL:** İnterlökin

**ISO:** Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu

**İGF:** İnsan gingival fibroblastı

**LT:** *Low* translüsent

**LU:** Lava Ultimate

**M.Ö:** Milattan önce

**MMP:** Matriks metalloproteinaz

**MTT:** 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide

**PBS:** Phosphate *Buffer Saline*

**PCR:** *Polymerase chain reaction*

**PMNL:** Polimorfonükleer lökosit



**PSG:** *Penicillin streptomycin glutamine*

**RNA:** Ribonükleik asit

**RT-PCR:** *Real time- polymerase chain reaction*

**RT-PCR:** Reverse transcription-polymerase chain reaction

**SEM:** *Scanning electron microscope*

**SOD:** Superoksit dismutaz

**T:** Translüsent

**TEDGMA:** Trietilen glikol dimetakrilat

**TIMP:** Matriks metalloproteinazların doku inhibitörleri

**Tm:** *Melting temperature*

**TNF- $\alpha$ :** Tümör nekrozis faktör -alfa

**UDMA:** Uretan dimetakrilat

**UV:** Ultraviyole

**VE:** Vita Enamic

**VM:** Vita Mark II

**VS:** Vita Suprinity

**xCELLigence RTCA:** *xCELLigence Real Time Cell Analysis System*

**Y-TZP:** Yttrium ile stabilize edilmiş tetragonal zirkonya polikristali

# ÖZET

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

## Farklı Cad/Cam Tam Seramik Materyallerinin İnsan Gingival Fibroblastları Üzerine Etkileri

Gökçen FERİZ

Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı

UZMANLIK TEZİ / KONYA-2018

Bilgisayar destekli tasarım ve bilgisayar destekli üretim (CAD/CAM) sistemleri, klinisyenlerin geleneksel restorasyon malzemelerinden farklı restoratif materyaller seçebilmelerine olanak tanır, hasta başı restorasyonların yapımını sağlar ve laboratuvar aşamalarını azaltır. Bu çalışmanın amacı, altı farklı CAD/CAM tam seramik protetik materyalinin (IPS Empress CAD, Vita mark II, IPS e-max CAD, Vita Suprinity, Vita Enamic, Lava Ultimate), insan gingival fibroblastlarının (İGF) proliferasyonu, hücre ataçmanları ile ekstraselüler matriks, doku inhibitörleri, oksidatif stres enzimleri, pro-enflamatuar ve anti-enflamatuar sitokinlerin mRNA ekspresyonları üzerine etkilerini incelemektir.

Bu amaçla, her gruptan 3 ve 10 gün boyunca ekstratlar toplandı. Daha sonra, İGF hücreleri bu ekstratlarla muamele edildi. Proliferasyon deneyleri, gerçek zamanlı hücre analizi (RTCA-SP) sistemi ile 200 saat izlenerek gerçekleştirildi. Toplam RNA, 24. saatte izole edildi ve gen ekspresyonları, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile analiz edildi. Ayrıca, hücre ataçmanı için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanıldı.

Proliferasyon deneyi sonuçlarına göre, 3 günlük ekstratlarda, Vita Enamic materyalinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ( $p<0.01$ ). Tüm materyallerde 10 günlük ekstratlarda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu ( $p<0.01$ ). Bu dönem boyunca, 72. saatte Lava Ultimate, 96. saatte Lava Ultimate ve Vita Suprinity, 190. saatte ise tüm materyallerde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ( $p<0.01$ ). SEM analizinde, IPS e-max CAD grubunda diğer tüm test edilen materyallere göre İGF için artmış ataçman yeteneği görüldü. RT-PCR sonuçlarına göre, tüm materyallerin 10. gün ekstratları, SOD, GPX, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 ve IL-10'un mRNA ekspresyonunu arttırdı. Ek olarak, seramik materyallerin 3 ve 10 günlük ekstratlarında, değişken seviyelerde IL-1 $\beta$ , MMP-1, 2, 3, 9 ile TIMP-1 ve TIMP-2 mRNA ekspresyonu gözlemlendi.

Tam seramik restorasyon materyalleri, İGF hücrelerinin proliferasyonlarını azaltmış, pro-enflamatuar sitokinlerin mRNA ekspresyonlarını regüle etmiş, yıkım ve yıkımın inhibisyonundan sorumlu enzimlerin ekspresyonlarını ise farklı düzeylerde etkilemiştir. İGF hücrelerinin yüzey ataçmanlarını ise pozitif yönde etkilediği gözlemlenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** CAD/CAM tam seramik, İnsan Gingival Fibroblastı, Biyouyumluluk

## **SUMMARY**

REPUBLIC of TURKEY  
SELCUK UNIVERCITY

### **Effects of Different CAD/CAM Full Ceramic Materials on Human Gingival Fibroblasts**

**Gökçen FERİZ**

**Department of Prosthetic Dentistry**

**SPECIALIST THESIS/ KONYA-2018**

Computer aided design and computer aided manufacturing (CAD/CAM) systems lets the practitioners choose different restorative materials than the conventional ones, place chairside restorations and also decrease the laboratory procedures. The purpose of this study was to investigate the impact of 6 CAD/CAM full ceramic restoration materials (IPS Empress CAD, Vita mark II, IPS e-max CAD, Vita Suprinity, Vita Enamic, Lava Ultimate ) on the proliferation, cell attachment and gene expressions, extracellular matrix degrading enzymes and their tissue inhibitors, oxidative stress enzymes, pro-enflamatuar and anti-enflamatuar cytokines, col-1 of human gingival fibroblast (HGF).

For this purpose, extracts were collected at the 3rd and 10th day for each group. Then, HGF was treated these extracts. Proliferation experiments were performed using real time cell analyzer (RTCA-SP) system to 200 hours. Total RNA was isolated on 24th hour and genes expressions were analyzed by quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). Furthermore, scanning electron microscope (SEM) was used to evaluate cell attachment.

The proliferation result of VE showed significant differences after the 3rd day of incubation period ( $p<0.01$ ). There were significant differences within the ceramic groups in 10th day of incubation period regarding cell index ( $p<0.01$ ). Throughout the entire test period, only LU at the 72th hour, LU and VS at the 96th and the all materials at the 190th hour revealed statistically significant decrease as compared with the control group ( $p<0.01$ ). SEM analyse demonstrated an increased attachment ability for HGF on IPS e-max CAD, whereas the other all tested materials at all points of measurement. According to RT-PCR results, all materials increased mRNA expression of SOD, GPX, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-10 in 10th day extract. Additionally, ceramic materials have resulted in varying IL-1 $\beta$ , MMP-1, 2, 3,9; TIMP-1 ve TIMP-2 mRNA expression levels in 3 and 10 day extracts.

CAD/CAM restoration materials reduced the proliferation of IGF cells, regulated mRNA expression of proinflammatory cytokines, and affected expression of enzymes responsible for inhibition of destruction and destruction at different levels. It was observed that IGF cells surface attachment affected positively.

**Key Words:** CAD/CAM Full Ceramic, Human Gingival Fibroblast, Biocompatibility

## 1. GİRİŞ

Bilgisayar destekli tasarım/bilgisayar destekli üretim (CAD/CAM) sistemleri diş hekimliğinde 1985 yılından beri kullanılmaktadır. Son 30 yılda teknolojinin ilerlemesiyle üstün özelliklerde çeşitli klinik ve laboratuvar CAD/CAM sistemleri geliştirilmeye devam edilmektedir. Özellikle hasta başında kullanılan CAD/CAM sistemlerinin yaygınlaşması ile birlikte protetik tedavilerin tek seansta bitirilmesi amaçlanarak, laboratuvar aşamalarının elimine edilmesini sağlayacak materyallerin gelişimi hızlanmıştır.

Diş hekimliği uygulamalarında, canlı dokular ile yapay materyalleri yakın temasta kullanma gereksinimi biyolojik uyumluluk kavramını beraberinde getirmektedir. Tam seramik restorasyonlar, periodontal dokularla uzun süre ilişki içerisindeyler. Bu nedenle tam seramik materyallerinin biyoyuumluluğu oldukça önemlidir. Geleneksel tam seramik malzemeler ile ilgili biyoyuumluluk çalışmaları yoğunluktadır. Ancak CAD/CAM tam seramik materyallerin insan gingival fibroblastları üzerindeki etkileri ile ilgili literatür bilgisi sınırlıdır. Bu çalışmanın amacı altı farklı CAD/CAM tam seramik materyalinin insan gingival fibroblastları üzerine etkilerini incelemektir.

Çalışmamızın hipotezi, tam seramik materyallerinin temasta olduğu gingival fibroblast hücrelerinin biyolojik davranışlarını etkilemesidir.

### 1.1. Dental Seramikler

Seramik kelimesi Yunanca “keramos, keramikos, keramenes” sözcüklerinden türetilmiştir. Yanmış madde veya topraktan yapılan anlamını taşır. Seramik, insanoğlu tarafından yapay olarak üretilen ilk materyaldir (Akın 1983). Seramik sözcüğü istenilen özellikleri elde etmek amacı ile yüksek ısıda pişirilerek metal olmayan bir maddeden elde edilen ürünü tanımlar. Kapsamlı bir anlama sahip olan seramik sözcüğüne göre porselen terimi ise daha alt grupları ifade eder (Van Dijken 1999). Porselen terimi, İtalyanca küçük deniz kabuğu anlamına gelen ‘porcellana’ kelimesinden türetilmiştir. “Dental porselenler” terimi, içinde farklı kristal partiküllerinin serpiştirildiği cam matrisi içeren dayanıklı seramik materyaller için kullanılır. Camsı yapı düzensiz bağlar içerdiğinden zayıf ve transparandır. Kristalin

yapının atomik diziliş i ise düzenlidir, bu yapı ise daha dayanıklı olmasına rağmen opak bir özellik göstermektedir (Jones 1985, Van Dijken 1999).

Diş hekimliğinde kullanılan seramikler, yapıları bakımından seramikçilerin kullandığı sert seramiğe oldukça yakındır. Günlük kullanım için üretilen çanak çömlekten dental seramiklere kadar aynı yapıda olan seramikler genel olarak silikat yapısındadır. Bir ya da birden fazla metalin, metal olmayan bir elementle ve çoğu zaman da oksijenle yaptığı kombinasyonudur (Anusavice 2003, Pilathadka ve Vahalova 2007).

Seramikler, hem iyonik hem de kovalent bağlara sahiptir. Bu güçlü bağlar, seramiklerin sertlikleri, stabiliteleri, kimyasal ve ısı l etkilere dirençleri gibi olumlu özelliklerinin kaynağıdır. Bu bağlar sağladığı pozitif özelliklere rağmen, seramiklerin kırılma dayanıklılığının da sebebidir (Anusavice 2003).

Diş hekimliğinde kullanılan seramikler, sinterizasyon ile üretilir. Sinterizasyon, seramik içindeki taneciklerin eriyerek birleşmesi anlamını taşır. Dental seramikler, sinterleme ile elde edilen ve içinde çeşitli kristaller bulunan camsı bir matris olup tümüyle cam faza geçmemiş seramik türüdür (Anusavice 2003, Yavuzylmaz ve ark 2005).

### **1.1.1 Dental seramiklerin tarihçesi ve gelişimi**

Taş devrinden bu yana insanlar seramik benzeri aletler kullanmıştır. Örneğ in, M.Ö 10.000'den 6.000'e kadar olan Paleo-Hint kültürünün zanaatkarları, çeşitli doğal kaya ham maddelerinden ok başı, mızrak benzeri aletler yapmışlardır (Anusavice ve ark 2013b). M.Ö 50 yıllarında Çin'de seramikler üretilmeye başlanmış ve M.S 100 yıllarında seramiklerin yapım tekniklerinin geliştirilmesiyle beraber özgün hale getirilmiştir. M.S 800 yıllarının başında Çin porseleninin Avrupa'da üretilmeye başlandığı görülmüştür (Kelly ve Benetti 2011).

Diş hekimliğinde seramiğ in ilk kullanımı, Fransız eczacı Alexis Duchateau tarafından 1774 yılında, tam protezler için seramik dişlerin üretilmesiyle başlamıştır. Böylece Avrupa ve Amerika'da dental seramiklerle ilgili çalışmalar artmıştır. İlk olarak tek üyeli seramik dişlerin üretimi, 1808 yılında İtalyan asıllı bir diş hekimi olan

Fonzi tarafından Paris'te gerçekleştirilmiştir. Ancak opasite ve kırılma sebebi ile bu girişim başarıya ulaşmamıştır (Borges ve ark 2012, Asavapanumas ve Leevailoj 2013).

Murphy (1883), platin folyo kullanarak seramik inley üretmiştir. Charles H. Land ise 1886-1888 yılları arasında platin folyo üzerinde seramiği pişirerek sabit restorasyonlarda seramik kullanımını sağlamıştır. Bu restorasyonların oldukça estetik olmalarının yanısıra yüksek kırılma göstermeleri sebebiyle kullanımları yaygınlaşmamıştır (McLean 1979).

Seramiğin sabit restorasyonlarda kullanımı ile kırılma özelliğinin giderilmesine yönelik çalışmalar sonradan hız kazanmıştır. Fishes, 1910 ve 1918 yıllarında ilk defa dental seramik ve diğer maddelerin mekanik özelliklerini araştırmıştır. 1925 yılında, Dr. Alber Le Gro'nun "Ceramics in Dentistry" adlı kitabı yayınlanmıştır (McLean 1979).

Dental seramikler 1930-1940'larda pişirme ısılarına göre; yüksek ısı (1200-1450°C), orta ısı (1050-1200°C), düşük ısı seramiği (850-1050°C) olarak sınıflandırılmışlardır. Yüksek ısı seramiği 1930'larda kron ve köprü yapımında kullanılmıştır. 1940-1950'lerde ise orta ve düşük ısı seramikleri daha yaygın hale gelmiştir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan modern dental seramikler de orta ve düşük ısı seramiklerinin çeşitleri arasında yer almaktadır.

Modern dental seramiklerde homojenize toz kullanımı, sinterizasyon döngüsünün daha düşük ısıda ve kısa sürede olmasını sağlamıştır. Bundan yola çıkılarak 1980'lerde diş hekimliğinde düşük ısı seramiklerine daha yakın ilgi gösterilmeye başlanmıştır (Jones 1985).

Dental seramiklerin vakum altında pişirilmesi 1940'larda ortaya çıkmıştır. Düşük atmosfer basıncı altında pişirmenin kabul görmesiyle seramik restorasyonların yarı şeffaflığı da geliştirilmiştir. Ayrıca, seramiğin vakum altında fırınlanması ile seramikte daha az porözite oluştuğu gözlenmiştir (Jones 1985).

Seramiklerin metaller ile desteklenmesine yönelik araştırmalar 1950'li yıllardan sonra yapılmaya başlanmıştır. Seramik ve soy metal alaşımları arasındaki

bağlantı geliştirilmiş ve M. Weinstein, S. Katz ve A.B. Weinstein 1962 yılında ilk kez metal destekli seramik kron yapım yöntemlerinin patentini almışlardır.

Metal destekli seramik restorasyonların %97,7 gibi bir oranla başarılı olmasına rağmen alt yapının estetik yetersizliği, biyolojik uyumsuzluğu, alerjenik yapısı gibi olumsuz özellikleri sebebiyle dental restorasyon çalışmalarında tam seramik restorasyonlara yönelim artmıştır (Pilathadka ve Vahalova 2007).

Tam seramik çalışmalarının yoğunlaşmasıyla 1965 yılında Mc Lean ve Hugues tarafından %40-50 oranında  $Al_2O_3$  içeren camsı matrisli seramikler geliştirilmiştir. Bu sistemin avantajı seramiğin artmış dayanıklılığı olarak sunulmuştur. Ancak estetik bir restorasyon elde edebilmek amacıyla opak görünümdeki alüminöz kor seramiğin feldspatik üst yapı seramiği ile maskelenmesi gereksinimi ve üretiminde platin folyo kullanılması ve seramiğin fırınlanma esnasında oluşan yüksek büzülme oranının (%15-20) kenar uyumunu zorlaştırması negatif özellikleri arasında sunulmuştur (Pilathadka ve Vahalova 2007).

Tam seramiklerdeki gelişmeler 1980'li yıllardan sonra hız kazanmıştır. Seramiklerin güçlendirilmesi için yapılan çalışmalar sürerken, bilgisayar destekli üretimin ilk adımları atılmaya başlanmıştır. 1984 yılında Adair ve Grossman tarafından dökülebilir cam seramikler üretilmiştir (Anusavice ve ark 2013b). Refrakter bir kalıba eritilerek dökülen cam matris içine tetrasiliklik flormika kristalleri ilave edilerek Dicor (Dentsply, New York, ABD) cam seramiğini geliştirilmiştir (Anusavice ve ark 2013b; Tatal ve ark 2015). Aynı dönemde Brugges alümina miktarı %75 olan Hi-ceram'ı (Vita Zahnfabrik) geliştirmiştir. Ancak opak olması ve büzülme direncinin düşük olması gibi sebeplerle kullanımı sınırlanmıştır (Tatal ve ark 2015). 1989 yılında Michael Sadoun %90 oranında  $Al_2O_3$  içeren ve slip casting metoduyla üretilen yüksek dayanıma sahip In-Ceram (Vita Zahnfabrik) sistemini geliştirmiştir (Raigrodski 2004, Tatal ve ark 2015).

Ardından 1990'ların başında, hacimce yaklaşık %34 lösit içeren ve basınçla şekillendirilen cam seramikler olan IPS Empress (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) sistemi piyasaya sürülmüştür. IPS Empress sisteminin, Dicor cam seramiklerine benzer mekanik özellikleri ve benzer marjinal adaptasyona sahip olması nedeniyle kullanımları anterior bölgede tek kuron, lamina, inley, onley ile sınırlı

kalmıştır. Elde edilen tüm gelişmelere rağmen tam seramikler çok üyeli sabit bölümlü protezlerde kullanılmaya uzun süre elverişli bulunmamıştır (Kelly ve Benetti 2011, Anusavice ve ark 2013b).

Sonrasında 1998 yılında, kırılmaya karşı dirençli, basınca dayanıklı cam seramik IPS Empress 2 (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) sistemi kullanıma sunulmuştur. Hacimce yaklaşık %70 lityum disilikat kristalleri içeren bu seramik sistemi, ikinci küçük azı dişine kadar üç üyeli sabit protetik restorasyonlar için önerilmiştir (Brochu ve El-Mowafy 2002, Anusavice ve ark 2013b).

1985 yılında ilk dental CAD/CAM uygulaması Cerec (Sirona Dental Systems, Bensheim, Almanya), Werner Mörmann ile Marco Brandestini tarafından gerçekleştirilmiştir (Liu ve Essig 2008). Bu sistem ile ilk olarak inley ve onleyleler üretilmiştir. Cerec (Sirona Dental Systems) sistemi ile birlikte diş hekimliğinde CAD/CAM uygulamalarının popülerliği artış göstermiştir (Miyazaki ve Hotta 2011). Bununla birlikte, destek dişin ağız içi dijital tarama cihazı ile alınan ölçüsünün netliği yeterli olmamıştır. Bundan sonraki en önemli gelişme 1993 yılında Andersson ve Odén tarafından gerçekleştirilmiştir. %100 alümina ( $Al_2O_3$ ) içeren yeni bir core materyalini (Procera All-Ceram) CAD/CAM sistemi kullanarak üretmişlerdir (Andersson ve ark 1996).

İlerleyen dönemlerde yttrium ile stabilize edilmiş tetragonal zirkonya polikristalinin (Y-TZP) seramik alt yapısı olarak CAD/CAM ile hazırlanması, üstün mekanik özelliklerinden dolayı popüler hale gelmiştir (Beuer ve ark 2009). Aynı zamanda zirkonyumdan farklı olarak CAD/CAM kullanılarak hazırlanabilen seramik blokların üretimi son yıllarda giderek artmıştır.

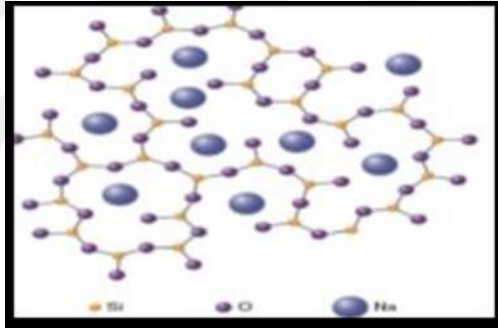
Günümüzde seramiklerin üretimi sürecinde, teknolojik gelişmelerle birlikte estetik, biyolojik uyum ve yeterli mekanik dayanımı bir arada bulunduran materyallerin kullanıma sunulması için çalışmalar devam etmektedir.



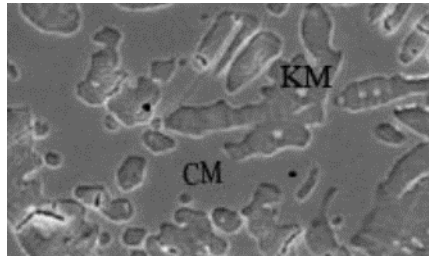
### 1.1.2 Dental seramiklerin içeriği ve kimyasal yapısı

Seramikler, kristalize ve camsı fazdan meydana gelirler. Dental seramiklerin optik ve mekanik özellikleri, kristal fazın yapısı ve miktarına bağlıdır. Camsı fazın daha yoğun olması ışık geçirgenliğinin artmasına neden olurken, kırık oluşumuna karşı direnci azaltır. Diğer yandan kristal fazın daha yoğun olması mekanik açıdan daha dirençli bir yapı oluşumunu sağlarken estetik özelliklerin aynı oranda azalmasına sebep olur (Sakaguchi 2012, Kenneth ve ark 2013).

Diş hekimliğinde kullanılan porselen, dört oksijen ( $O^-$ ) atomu ile merkezde yer alan bir silisyum ( $Si^{+4}$ ) atomu arasında kimyasal bağ kurulmasıyla oluşan silisyum tetraoksitten ( $SiO_4$ ) meydana gelmektedir. Yapısı üç boyutludur ve feldspar, kuartz, kaolin porselenin temel bileşenleridir. Ayrıca opaklaştırıcı, lüminisans özelliği veren ajanlar, ara oksitler, cam modifiye ediciler, renk pigmentleri ve akışkanları da bulundurmaktadır (McLean 1979) (Şekil 1.1, Şekil 1.2).



Şekil 1.1. Dental seramiklerin atomik yapısı (Anusavice ve ark 2013b)



Şekil 1.2. Dental seramiklerin cam ve kristalin yapısı. (CM; cam matris, KM; kristalin matris) (Anusavice ve ark 2013b)

### **1.1.2.1. Feldspar ( $K_2OAl_2O_26SiO_2$ )**

Porselenin ana yapısını oluşturan ve ona doğal bir saydamlık veren ana maddedir (Akın 1983). Porselenin yapısında %70-90 oranında bulunur (McLean 1979). Potasyum alümina silikat ( $K_2O.Al_2O_3.6SiO_2$ ) ve sodyum alümina silikat ( $Na_2O.Al_2O_3.6SiO_2$ ) karışımıdır. Porselene bağlayıcı özellik verir. Fırınlama sırasında 1100-1300°C'de eriyerek kuartz ve kile matris oluşturur. Yüksek ergime dereceli bileşenlere akışkanlık kazandıran feldspar, ısıya daha dayanıklı bileşenleri tutar, birbirlerine bağlar ve camsı yapıdan sorumludur. Aynı zamanda porselene şeffaflık kazandırır (Akın 1983, Yavuzılmaz ve ark 2005).

### **1.1.2.2. Kuartz (Silika) ( $SiO_2$ )**

Kuartz; yapı içinde doldurucu görevi yaparak dental seramiklere destek oluşturan, silika yapısında ve erime ısısı diğer maddelere göre daha yüksek (yaklaşık 1700 °C) olan bir maddedir. Pişirme sonucu ortaya çıkabilecek büzülme önler. Isısal genleşme katsayısını kontrol etmeye yardımcı olur. Porselenin yapısında %10-30 oranında bulunur ve dayanıklılığını artırır (Zaimoğlu ve ark 1993, Zan 1999, Yavuzılmaz ve ark 2005).

### **1.1.2.3. Kaolin ( $Al_2O_3SiO_2H_2O$ )**

Yapıdaki diğer maddeleri bir arada tutan 1800 °C'de eriyen kaolin; yapışkan yapıda alüminyum hidrat silikatıdır. Opak yapıdadır ve ısıya oldukça dayanıklıdır. Porselende kaolin % 1-5 oranında bulunur. Seramiğin modelajını kolaylaştırır.

Bu maddelerin dışında seramik yapıya; ara oksitler, akışkanlar ve cam modifiye ediciler, çeşitli renk pigmentleri, opaklaştırıcı ve lüminisans özelliği geliştiren çeşitli ajanlar da eklenmiştir (Zaimoğlu ve ark 1993, Zan 1999, Yavuzılmaz ve ark 2005).

## **1.1.3 Dental seramiklerin sınıflandırılması**

Dental seramikler çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler (Anusavice ve ark 2013b);

- 1) Kullanım şekillerine göre;
  - a) Metal-seramik restorasyonlarda kullanılan dental seramikler,
  - b) Tam seramik restorasyonlarda kullanılan dental seramikler,
  - c) Tam ve hareketli bölümlü protezlerde kullanılan dental seramikler,
- 2) Kimyasal yapılarına göre;
  - a) Silika cam,
  - b) Lössit içerikli feldspatik porselen,
  - c) Lössit içeren cam seramik,
  - d) Lityum disilikat içeren cam seramik,
  - e) Alümina porselen,
  - f) Cam infiltre alümina,
  - g) Cam infiltre zirkonya,
  - h) Zirkonya,
- 3) Üretim şekillerine göre;
  - a) Dökülebilir cam seramikler
    - i. Dicor (Dentsply, York, ABD),
    - ii. Cerapearl (Kyocera, San Diego, ABD),
  - b) Refraktör die üzerinde fırınlanan seramikler
    - i. Optec (Jeneric/Pentron Inc., Wallingford, ABD),
    - ii. Hı-ceram (Vita Zahnfabrik),
    - iii. In-Ceram (Vita Zahnfabrik)
    - iv. Cerestore/Allceram (Innotek Dental Corp., Lakewood, ABD),
    - v. Mirage (Myron International, Kansas City, ABD),
  - c) Isı ve basınç altında üretilen seramikler
    - i. IPS-Empress (Ivoclar Vivadent),
    - ii. IPS-Empress II (Ivoclar Vivadent),
    - iii. Finesse (Dentsply, York, ABD),
  - d) CAD/CAM sistemi ile üretilen seramikler
    - i. Cerec (Sirona Dental Systems),
    - ii. Celay (Mikrona Technologies, Spreitenbach, İsviçre),
    - iii. Procera (Nobel Biocare AB, Göteborg, İsveç),
    - iv. Cercon (Dentsply Ceramco, New Jersey, ABD),
    - v. Precident (DCS Dental AG, Allschwil, İsviçre),

vi. Lava (3M ESPE, St. Paul, ABD),

4) Fırınlama ısılarına göre;

- a) Çok düşük ısılı dental seramikler (870 °C altında),
- b) Düşük ısılı dental seramikler (870 – 1065 °C),
- c) Orta ısılı dental seramikler (1090 – 1260 °C),
- d) Yüksek ısılı dental seramikler (1290 – 1370 °C),

5) Saydamlığına göre;

- a) Opak dental seramikler,
- b) Transparan dental seramikler olarak bildirilmiştir.

## 1.2 Tam Seramik Restorasyonlar

Geçmişten günümüze kadar restoratif diş hekimliğinin en önemli amacı kaybedilmiş olan doku bütünlüğünün tekrar sağlanması, fonksiyon fonasyonun ve estetiğin yerine getirilmesi olmuştur. Bu bağlamda seramik materyali diş hekimliğinde özel bir yere sahiptir (Ural 2011). Ancak seramiklerin çiğneme kuvvetleri karşısındaki dayanıksızlıkları sebebiyle, güçlü bir alt yapı ile güçlendirilmeleri gündeme gelmiştir. Bunun için, metal ya da kendinden daha kuvvetli bir alt yapı seramiği kullanılabilir. Metal destekli restorasyonların, estetik beklentileri karşılayamaması, zamanla korozyona uğraması ve düşük biyouyumlulukları gibi dezavantajları sebebiyle tam seramik restorasyonlara yönelim olmuştur. Bunun yanında farklı bir alt yapı kullanımına alternatif olarak porselenin tüm yapısının kuvvetlendirilmesi gündeme gelmiştir (O'brien 2002).

Işığın doğrudan diş yüzeyinden yansması ile beraber içeri giren ışığın, dentin ve mine tabakasından geçip yansması ile birleşmesi sonucu doğal diş rengi oluşur. Doğal diş, ışığın arka tarafa doğru iletilmesine izin verirken, metal destekli seramik restorasyonlar ışığın sadece yansmasına izin verir. Dental restorasyonlar renk derinliği ve ışık geçirgenliği açısından doğal dişi taklit edebilmelidir. Tam seramik restorasyonlar ışık iletimine izin verdiklerinden, komşu dişlerle uyumlu bir estetik sağlanabilir (Lehner ve Scharer 1992, Wall ve Cipra 1992).

### 1.2.1 Tam seramiklerin avantajları

- Dokular ile biyolojik olarak uyumludurlar, diş etinde iritasyon ya da renklenmeye sebep olmazlar.
- Oldukça estetikler. Işığı geçirme özellikleri sayesinde doğal dişe yakın görünümde dirler. Renk ve boyut olarak stabildirler.
- Isı iletimi, metal destekli seramik restorasyonlara göre daha azdır ve pulpal hassasiyet yaratmazlar.
- Doğal diş dokusuna benzer ısıl genişleme katsayısına ve ısı iletkenliğine sahiptirler.
- Aşınmaya karşı dirençlidirler.
- Sıkışma kuvvetlerine karşı çok dayanıklıdır lar.
- İyon salınımı ve elektrolitik korozyon yönünden güvenilir dirler.
- Plak ve bakteri birikiminin çok az olması sebebi ile subgingival bölgelerde (örneğin implant üstü restorasyonlarda) sağlıklı bir şekilde kullanılabilirler.
- Alerjik etki oluşturmazlar.
- Ağızda tat değişikliğine sebep olmazlar.
- Laminate veneer olarak hazırlandıklarında, diş dokusundan oldukça az madde kaybı ile estetik sonuçlar alınabilir.
- Çoğunluğu radyografik olarak çürük teşhisine imkân verir.
- Preparasyonun basamağının supragingival bitirilebilmesi dişetini diş preparasyonu ve ölçü alımı sırasındaki travmalardan korur ve restorasyonun uygulanmasından sonra bölgenin temizliğini kolaylaştırır (Kelly 2004, Raigrodski 2004, Conrad ve ark 2007, Donovan 2008).

### 1.2.2 Tam seramiklerin dezavantajları

- Ekonomik olmayıp özel malzeme kullanımı gerektirirler.
- Kırılma dayanıklılıkları düşüktür. Ağızdaki uyumlamaları dikkatli yapılmalıdır.
- Gerilme kuvvetlerine karşı dirençleri düşüktür.
- Her sistem arka dişlerde çok üyeli sabit restorasyon yapımına uygun değildir.

- Diş preparasyonu, ölçü alımı, restorasyonun hazırlanması ve simantasyon gibi aşamalarda dikkat gerektirirler (Toksavul ve ark 2002, Kelly 2004, Raigrodski 2004, Conrad ve ark 2007, Donovan 2008).

### **1.2.3 Tam seramiklerin endikasyonları**

- Travma veya çürük nedeniyle kırılmış dişler, mine displazileri,
- Anterior diastema vakaları,
- Abrazyon, atrizyon ve erozyon sonucu aşınmış dişler,
- Diş renklenmelerinin olduğu durumlar,
- Malpoze dişler,
- Şekil bozukluğu olan dişler,
- Doğumsal veya kazanılmış diş eksiklikleri,
- Sınıf 1, 2, 3, 4, 5 kaviteelerde,
- Aşırı harabiyeti olan endodontik tedavili dişler,
- Estetiğin önem kazandığı tüm anterior dişler,
- Metal alerjisi olan hastalarda dişeti sağlığının devamını sağlamada tam seramik kuronlar güvenle kullanılabilir (Toksavul ve ark 2002, Kelly 2004, Raigrodski 2004, Conrad ve ark 2007, Pilathadka ve Vahalova 2007, Donovan 2008).

### **1.2.4 Tam seramiklerin kontraendikasyonları**

- Klinik kuron boyu kısa olan dişler,
- Over-bite ve over-jetin fazla artmış olduğu olgular,
- Aşırı çapraşık dişlerin varlığı,
- Parafonksiyonel alışkanlık varlığı,
- Yetersiz meziodistal boyutu nedeniyle basamaklı preparasyona izin vermeyen servikale doğru aşırı daralma gösteren kronlar,
- Klinik kuron boyları uygun preparasyon yapımı için çok uzun olan periodontal açıdan sağlıklı dişler,
- Çiğneme basıncının yüksek olduğu bölgeler,
- Preparasyon sonrası interokluzal aralığın 1-2 mm'den az olacağı vakalar,
- Travmatik sporla uğraşan kişiler,
- Ağız hijyeni yönünden motive edilemeyen hastalar,

- Önceden basamaksız kesim yapılmış veya basamaklı kesimin mümkün olmadığı olgularda tam seramik kuronlar tercih edilmemelidir (Toksavul ve ark 2002, Kelly 2004, Raigrodski 2004, Conrad ve ark 2007, Pilathadka ve Vahalova 2007, Donovan 2008).

### 1.3 CAD-CAM Sistemleri

CAD/CAM sistemleri (bilgisayar destekli tasarım/ bilgisayar destekli üretim) diş hekimliğinde 1985 yılından beri kullanılmaktadır. Son 30 yılda teknolojinin ilerlemesiyle üstün özelliklerde çeşitli klinik ve laboratuvar CAD/CAM sistemleri geliştirilmeye devam etmektedir. Özellikle hasta başında kullanılan CAD/CAM sistemlerinin yaygınlaşması ile birlikte protetik tedavilerin tek seansta bitirilmesi amaçlanarak, laboratuvar aşamalarının elimine edilmesini sağlayacak materyallerin gelişimi hızlanmıştır (Çetindağ ve Meşe 2016).

Günümüzde CAD/CAM restorasyonlarda, tarayıcı uçlar kullanılarak ağızdan direkt olarak ya da alınan konvansiyonel ölçüden taranan model üzerinden elde edilen indirekt dijital ölçüler üzerinde çalışılır. Bilgisayar ortamında modelasyon planlandıktan sonra bilgisayar destekli freze sistemleri ile hazır porselen bloklardan kazanarak üretim yapılmaktadır. 1984'den günümüze Cerec, DC-Zirkon, Celay, Procera, Cercon, Cicero ve Lava sistemler gibi birçok CAD/CAM sistemi geliştirilmiştir (Karaalioğlu ve Duymuş 2008).

#### 1.3.1 Dental CAD/CAM sistemlerin avantajları

CAD/CAM uygulamalarının kullanımı birçok avantajı beraberinde getirmiştir (Çetindağ ve Meşe 2016). Bunlar;

- Geleneksel ölçü alma yöntemleri ortadan kalkar.
- Daha uyumlu restoratif materyallerin daha hızlı elde edilmeleri sağlanır.
- İndirekt restorasyonlardan kaynaklanabilecek muhtemel çapraz kontaminasyon riski azalmıştır (Liu ve Essig 2008).
- Tek seansta uygulamalar yapılabildiği için hem hastalar hem de hekimler açısından zaman kaybı olmamaktadır. Geçici kuron hazırlama gibi zorunluluklar da ortadan kalkmıştır.

- Dijital ölçü sistemleri ile antagonist dişlerin ve kapanış kaydının görüntüsü alınarak, final restorasyonlarda mükemmel oklüzal ilişkiler elde edilmektedir.
- Dijital ölçü sistemleri ile arşivleme kolaylaşmaktadır. Sistemin kendi içinde depolanan bilgilere uzun yıllar sonra bile kolayca ulaşılabilir.
- Diş hekimliğinde CAD/CAM sisteminin kullanılmasıyla seramik materyallerin kondensasyon, eritme, kaynaştırma işlemleri azalmıştır (Heffernan ve ark 2002)
- CAD yazılımları sayesinde CAD/CAM sistemlerden hastalar kadar kazançlı çıkan başka bir grup ise laboratuvar teknisyenleridir. Alt yapılar ve restorasyonlar CAD yazılımları ile dizayn edildiklerinden dolayı teknisyenlerin işleri kolaylaşmıştır (Feuerstein 2004).

### **1.3.2 Dental CAD/CAM sistemlerin dezavantajları**

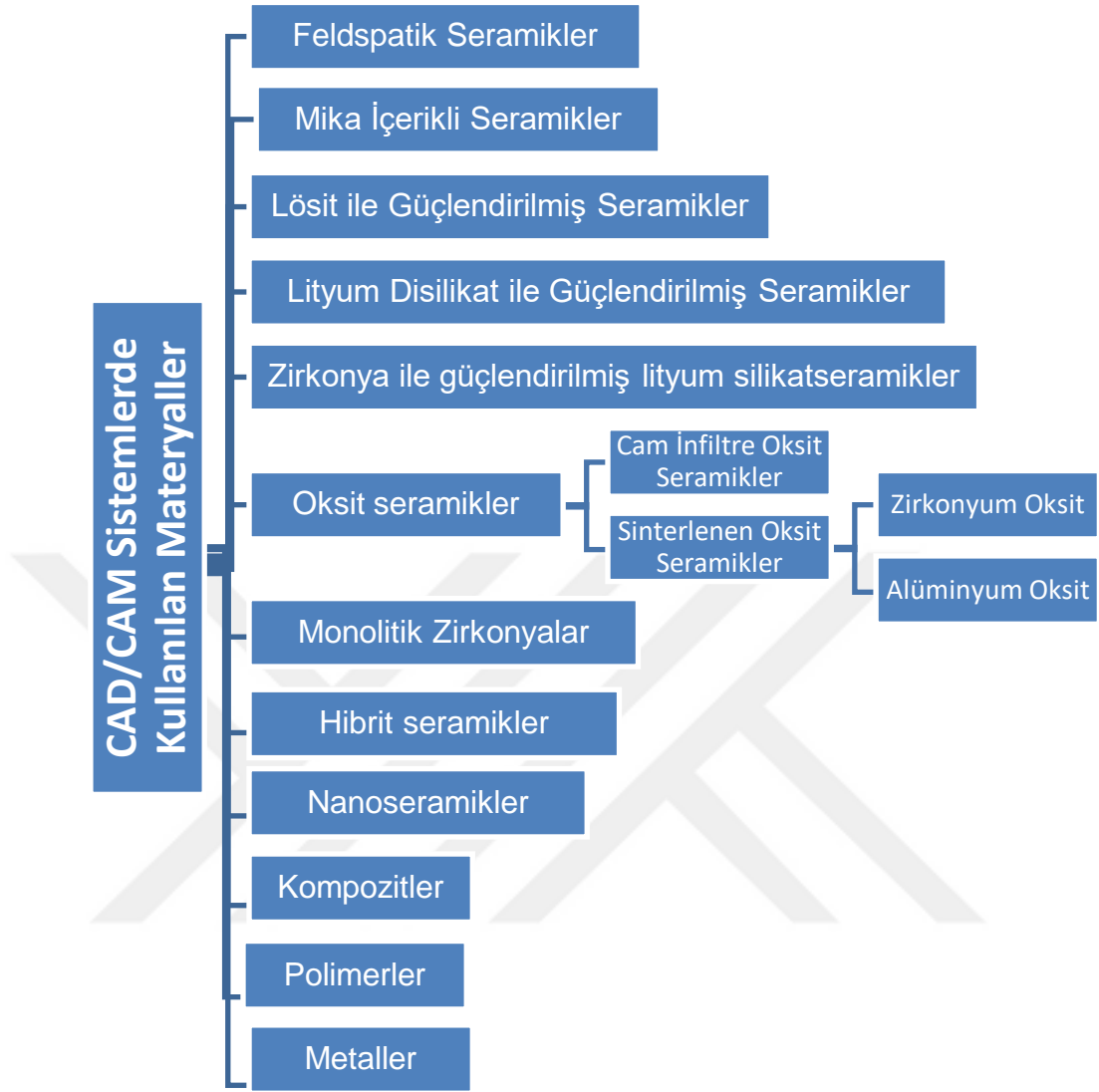
- CAD/CAM restorasyonların kullanımını kısıtlayan faktörlerin başında üretim maliyeti gelmektedir. Birçok yeni sistem geliştirilmesine rağmen CAD/CAM uygulamaları henüz ekonomik değildir.
- Monokromatik blokların kullanılması ideal estetik beklentilerin her zaman karşılanamamasına sebep olmaktadır. Ancak renk katmanlarına sahip blokların geliştirilmesiyle bu sorun aşılmaya başlanmıştır.
- Derin subgingival marjnlere sahip dişlerin dijital ortama aktarılması da sorun olabilmesi sebebiyle, bu durumlarda geleneksel sabit protez yapımında olduğu gibi iyi bir dişeti retraksiyonu yapmak da zorunlu hale gelmektedir (Christensen 2001).
- Kron ve köprülerin keskin köşelerinin ve ince kenarlarının mekanik freze ile oluşturulması kırılğan seramik materyali ile oldukça güçtür. Bu yüzden, üretimi kontrol edecek gelişmiş bir yazılım ve güçlü bir freze ünitesi gerekmektedir (Miyazaki ve Hotta 2009).

### **1.3.3 CAD/CAM sistemlerde kullanılan materyaller**

CAD/CAM sistemleri ile kullanılan yeni nesil materyaller tablo 1.1’de sınıflandırılmıştır.



**Tablo 1.1.** CAD/CAM Sistemlerde Kullanılan Materyaller



### 1.3.3.1 Feldspatik seramikler

Feldspatik seramik içerikli bloklar diş hekimliğinde CAD/CAM sistemlerinde kullanılan ilk bloklardır. 3-4 mikron büyüklüğündeki feldspar partikülleri cam matriks içerisinde homojen bir dağılım gösterir. Vakum altında sinterlenen, standart, kontrollü ve endüstriyel olarak üretilen bu blokların laboratuvarında sinterlenen seramiğe göre daha homojen ve stabil bir mikro yapıları vardır. Feldspatik cam seramik blokların en önemli avantajı, frezeleme işleminden hemen sonra kolayca cila yapılarak tek seansta hastaya teslim edilebilmesidir (Christensen 2001, Pjetursson 2007).

Feldspatik cam seramik bloklarla inley, onley, laminate veneer ve ön bölge kron restorasyonları yapılabilirken, kırılma dirençlerinin düşük olması sebebiyle

feldspatik blokların köprü ve endokron restorasyonlarında kullanımını sınırlandırılmıştır (Conrad ve ark 2007).

Günümüzde Sirona ve Vita firmaları tarafından üretilen çeşitli feldspatik seramik bloklar bulunmaktadır. Sirona firmasının monokromatik ve polikromatik olarak geliştirilen iki grup bloğu mevcuttur. Vita firmasının ise günümüzde kullanılan feldspatik seramik blokları, monokromatik olan Vita Mark II, polikromatik olan Vita Block Triluxe ve servikal bölgede renk doygunluğu ile floresan özellikleri artırılmış olan Vita Triluxe Forte, son olarak da iki kromalı olan Vita Block Reallife'dır.

Monokromatik blokların geliştirilme çabaları dikromatik ve polikromatik blokların geliştirilmesini sağlamıştır. Dikromatik bloklarda küresel bir dentin çekirdeği ve etrafında translusent mine tabakası bulunmaktadır. Bu bloklarda renk geçişi dentin ve mineyi taklit etmek amacıyla 3 boyutlu olarak bir yay şeklinde oluşturulmuştur. Polikromatik bloklar farklı renk doygunluğu ve ışık geçirgenliklerine sahip olmaları nedeniyle doğal diş dokusunu taklit edebilmektedirler. Böylece doğal dişin optik özelliklerini kopyalayarak mevcut doğal dentisyon ile restorasyonun bir bütün oluşturması sağlanmaktadır (Reich ve Hornberger 2002). Cam içeriklerinin fazla olması nedeniyle hidroflorik asitle pürüzlendirilebilir ve adeziv simantasyonda oksit seramiklere oranla daha başarılı sonuçlar verirler. Mekanik olarak cilalanabilirlikleri oldukça iyidir (Sorensen ve ark 1991, Sorensen ve ark 1995).

Vita Mark II (Vita Zahnfabrik) 1991 yılında, CEREC (Sirona Dental Systems) CAD/CAM sisteminde kullanılmak üzere üretilmiştir (Liu ve Essig 2008). Kırılma direnci yaklaşık 160 Mpa olan Vita Mark II, Vita Mark I'e göre daha iyi mekanik özelliklere sahiptir (Bindl ve ark 2003, Giordano 2006). Vita Mark II geleneksel feldspatik porselenlere yapısal olarak benzemesine rağmen, ekstrüzyon kalıplama olarak bilinen farklı bir süreçle üretilir (Li ve ark 2014). Klinik çalışmalar, Vita Mark II ile üretilen inleylerin 5 yıl sonunda %94,7; 8 yıl sonunda %90,6 ve 10 yıl sonunda %85,7 sağ kalım oranına sahip olduğunu göstermiştir (Pallasen ve van Dijken 2000, Sjogren ve ark 2004, Zimmer ve ark 2008). Bir *in vitro* çalışma, Vita Mark II blokları

kullanarak yapılan mandibular posterior kronların 53-67 µm arasında marjinal aralığa sahip olduklarını göstermiştir (Nakamura ve ark 2003).



Şekil 1.3. Feldspatik seramik bloklar

### 1.3.3.2 Mika içerikli seramikler

Kimyasal bileşimi  $K_2Al_4[Si_6Al_2O_{20}](OH,F)_4$  olan mika mineralleri, fillosilikat olarak da adlandırılırlar (Manicone ve ark 2007). Dicor (Dentsply, New York, ABD) mika minerali içeren bir cam seramik materyaldir. CAD/CAM tekniğinde kullanılmak üzere üretilmiştir. Geleneksel yöntemlerle hazırlanan Dicor %45 oranında kristal matriks içerirken, Dicor MGC'de bu oran yaklaşık %70 civarındadır. Dicor MGC ile üretilen restorasyonların bükülme direncinin yaklaşık 229 MPa olduğu belirtilmiştir (Seghi ve Sorensen 1995). Dicor MGC ve Vita bloklarının klinik performansının benzer oldukları gösterilmiştir (Gladys ve ark 1995).

### 1.3.3.3 Lösit ile güçlendirilmiş seramikler

Seramik içinde bulunan lösit kristalleri çok aşamalı fabrikasyon işlemleri ile cam matrikste kontrollü kristalizasyon oluşturularak üretilmektedir. Sistemde kullanılan lösit esaslı cam seramik materyal temel olarak silisyum oksit ( $SiO_2$ ), alüminyum oksit ( $Al_2O_3$ ) ve potasyum oksitten ( $K_2O$ ) meydana gelmiştir (Pröbster ve ark 1997). Silikat cam matriks hacminin %30-40 kadarını 1-5 µm büyüklüğündeki lösit kristal fazı meydana getirir (Kelly ve ark 1996). Materyalin yarı geçirgenlik özelliği ve aşındırma etkisi doğal dişle benzerlik gösterirken, bükülme direnci ise 160 MPa'dır (Giordano 1996).

Lösit kristallerinin materyalin direnci üzerindeki etkisi iki farklı mekanizma sonucunda ortaya çıkar. Bunlardan birincisi; lösit kristallerinin çatlağın yönünü

değiştirerek çatlak ilerlemesini durdurmasıdır (Albakry ve ark 2004). Diğer mekanizma ise; seramiğin soğuması sırasında cam matriks içerisinde artık baskı geriliminin oluşmasıdır. Yapı içerisinde %40 oranında bulunan lösit kristallerinin genişleme katsayısı, içinde bulunduğu cam matriksten daha fazladır. Seramiğin ısıtılıp soğutulması sırasında lösit kristalleri büzülerek, cam matriksi kendine doğru çeker ve böylece yapı içinde oluşan iç basınç mikro çatlakların ilerlemesini durdurur (Tinschert ve ark 2000).

Lösit kristalleri ile güçlendirilmiş cam seramik bloklar, ışık geçirgenliğinin ve estetik özelliklerinin yüksek olmasından dolayı tercih edilirler. Bu gruptaki bloklar renk özelliklerine göre 3'e ayrılır. Yüksek translusensiye sahip HT bloklar, düşük ışık geçirgenlikli LT bloklara göre, yüksek ışık geçirgenliği ve düşük parlaklık değerlerine sahiptir. İnley, onley restorasyonlarda endikedir. Düşük translusentliğe sahip bloklar ise yüksek parlaklık özelliğiyle daha geniş restorasyonların yapımında tercih edilebilir. Birkaç renk tonunu içinde bulunduran polikromatik multi bloklar (MT) doğal dişlerde servikalden insizale doğru değişen renk ve translusensi özelliklerini yapılan restorasyona yansıtabilmektedir. Lösit kristalleri ile güçlendirilmiş cam seramik blokların ışık geçirgenliği fazla olduğundan, dayanak dişte herhangi bir renklemenin olması estetik sorunlara sebep olabilmektedir (Heffernan ve ark 2002, Fradeani ve Redemagni 2002).

Bu materyallerin renk, translusentlik, floresanslık, opalesanslık, aşınma ve abrazyona direnç gibi özellikleri doğal dişe benzerlik göstermektedir. Restorasyonların direnci, diş dokusuna olan başarılı adezyona bağlıdır ve adeziv simantasyon gerektirmektedir. Bu amaçla yapılan yüzey pürüzlendirme işleminde, restorasyon iç yüzeyine 60 sn hidroflorik asit uygulanır ve adeziv simantasyon yapılır. Endikasyonları anterior bölge kron ve laminate veneer ile sınırlıdır (Fasbinder 2002).

Günümüzde Ivoclar firmasının IPS Empress CAD (EC) (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) ve 3M ESPE firmasının Paradigm C (3M/ESPE, Saint Paul, MN, USA) blokları lösitle güçlendirilmiş seramik bloklara örnektir (Fasbinder 2002)(Şekil 1.4).



Şekil 1.4. IPS Empress CAD bloklar

### 1.3.3.4 Lityum disilikat ile güçlendirilmiş seramikler

Cam seramik restorasyonların endikasyonlarının genişletilmesi amacıyla daha yüksek dayanım ve kırılma dayanımına sahip materyallerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Bu sistemde alt yapı seramiğini güçlendirmek amacıyla lösit cam seramiklere kıyasla çok daha yüksek miktarda kristal içeriği bulunur. Materyalde %70 oranında lityum disilikat kristalleri kullanılmaktadır ve üst yapı seramiği ise florapatit kristallerinden oluşmaktadır (Pagniano ve ark 2005, Rosenstiel ve ark 2006 ).

Lityum disilikat materyalinin freze edilmesinin çok zor olması ve materyalin kırılma dayanımından dolayı CAD/CAM sistemlerinde kullanılmak üzere hazırlanan blokların üretim aşamasında farklı prosedürlerin uygulanması gerekmektedir. CAD/CAM sistemleri ile kullanılan lityum disilikatla güçlendirilmiş cam seramiklerin üretim sürecinde seramik, parsiyel olarak kristalize edilmektedir. Parsiyel kristalizasyonun amacı blokların hem kolay ve hızlı bir şekilde freze edilmesini sağlamak, hem de frezeleme işlemi sırasında seramiğe yeterli direnci kazandırmaktır. Parsiyel kristalize bloklardaki temel kristal faz lityum metasilikattır ( $Li_2Si_2O_3$ ). Bu özellikteki materyal oldukça düşük kimyasal ve mekanik dayanıma sahiptir.  $850^{\circ}C$ 'de uygulanan kristalizasyon işlemi sonrasında lityum metasilikat dirençli olmakla birlikte dış rengindeki lityum disilikata dönüşür (Ritzberger ve ark 2010).

Üç farklı ışık geçirgenliğine sahip lityum disilikat CAD blokları mevcuttur. Yüksek translusensiye sahip bloklar, çevre dokuların rengini absorbe etme özelliğine (bukalemun efekti) sahip olması ve estetik özellikleriyle, inley onley restorasyonların yapımında kullanılabilirler. Düşük translusensiliğe sahip bloklar ise çeşitli renk seçenekleri ile full anatomik restorasyonların yapımında kullanılabilirler. Renklenmiş

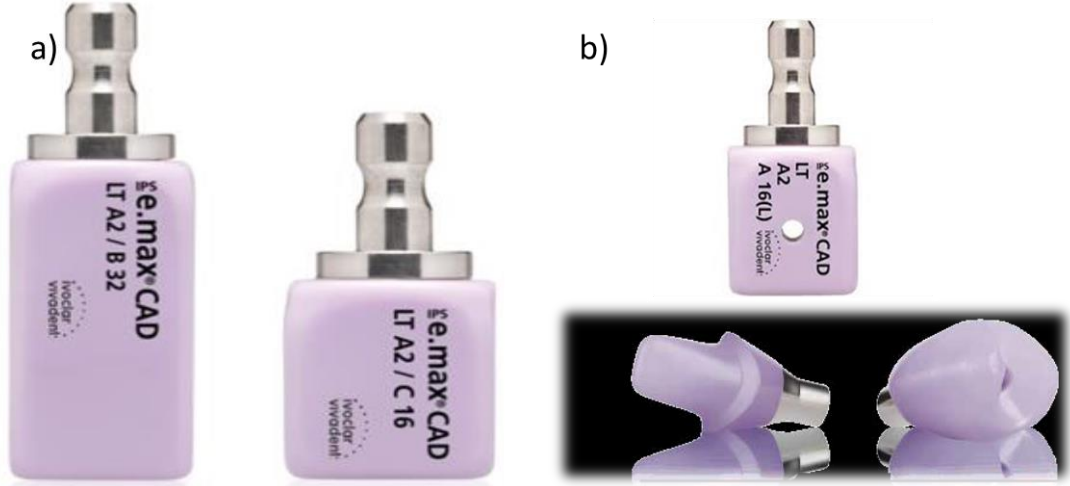
dişlerin tedavisinde, tabakalama tekniğiyle “medium opacity” blokların kullanımı uygundur. Daha estetik bölgelerde cut-back tekniği ile üst yapı porseleni uygulanabilir (Guess ve ark 2010).

IPS e.max CAD restorasyonların adeziv tekniklerle simantasyonu önerilmektedir. Reçine simanla kuvvetli bir bağlantı sağlanabilmesi için seramik iç yüzeyine hidroflorik asit (20 sn) ve silan uygulaması (60 sn) gereklidir (Akgüngör ve ark 2005, Preis ve ark 2015).

Üretici firmaların önerileri doğrultusunda 0,8 mm kalınlıkta hazırlanan altyapı sayesinde kırılma direnci 360 MPa'a kadar arttırılmıştır. Bu sayede tek kron restorasyonlarının yanı sıra, 3 üyeli köprü protezlerinin yapımı da mümkün olup endikasyon alanı 2. premolar dişlerin anterior bölgesi ile sınırlıdır (Taskonak ve ark 2005).

E-max CAD bloklar tek katmanlı olarak kullanımının dışında veneer porselen olarak da kullanılabilir. Lityum disilikat (LS<sub>2</sub>) ile zirkonyum oksidin (ZrO<sub>2</sub>) kombinasyonunun anterior ve posterior bölgelerde diş ve implant üstü köprü restorasyonlarına uygun olduğu üretici firma tarafından bildirilmiştir(Şekil 1.5 a).

Ivoclar firmasının güncel olarak piyasaya çıkardığı lityum disilikat ürünlerinden biri de kişiye özel üretilen implant abutmentı bloklarıdır. Tek diş implant destekli hibrid abutment ve hibrit abutment kronların üretimi için tasarlanmıştır. Hibrid bileşenler, ayrı olarak lityum disilikat (LS<sub>2</sub>) bloklardan kazınarak titanyum tabana simante edilirler. Bu blokların şeffaflık olarak MO ve LT kademeleri ve çeşitli renkleri üretilmektedir. MO bloklar A14 boyutunda, LT bloklar ise hem A14 hem de A16 boyutunda mevcuttur (Şekil 1.5 b).



Şekil 1.5. a) IPS e.max CAD Bloklar. b) IPS e.max CAD hibrit abutment kron için üretilmiş bloklar

### 1.3.3.5 Zirkonya ile güçlendirilmiş lityum silikat seramikler

Günümüzde CAD/CAM sistemlerinde kullanılmak üzere tanıtılan Vita Suprinity (VITA Zahnfabrik, Bad Sackingen, Almanya) ve Celtra DeguDent (DeguDent, Hanau, Almanya), zirkonya ile güçlendirilmiş seramik bloklara örnektir.

Vita Suprinity; geleneksel cam seramiklerin ve zirkonyanın olumlu özelliklerini bir araya getirmek amacıyla geliştirilmiştir (VITA 2013). Zirkonya infiltre lityum silikat seramikler olarak da adlandırılmaktadır. Bu cam seramiğin, küçük tanecik boyutu ve homojen bir mikroyapısı vardır(Şekil 1.6).

Kütleli olarak %56-64'ünü  $\text{SiO}_2$ , %15-21'ini  $\text{Li}_2\text{O}$ , %10'unu ise  $\text{ZrO}_2$  bileşikleri oluşturur. Mikroyapısı; ortalama boyutu 0,5-0,7  $\mu\text{m}$  olan çok ince lityum metasilikat ve lityum disilikat kristalleri ile %10'luk zirkonyum oksit kristalleri içeren camsı matriksten oluşur (Zimmermann ve ark 2012, Krüger ve ark 2013). Zirkonya infiltrasyonu ile yüksek fiziksel dayanımın yanı sıra cam seramiklerin estetik özelliklerine sahip olan bir materyal elde edilmesi amaçlanmıştır.

Lityum disilikat esaslı cam seramiklerle kıyaslandığında daha homojen bir yapısı vardır. Lityum disilikat esaslı cam seramikler 1,5  $\mu\text{m}$  kristal boyutuna sahipken, zirkonya infiltre lityum silikat cam seramikler 0,5-0,7  $\mu\text{m}$  kristal boyutuna sahiptir (Awad ve ark 2015, Rinke ve ark 2016).

Zirkonya ile güçlendirilmiş lityum silikat cam seramiklerin üretiminin ilk aşamasında blok, cam yapıda ve kırılmandır. Cam yapının kırılmanlığı nedeniyle blok bu aşamada freze edilmeye uygun değildir. Bu nedenle bloğa ön ısıtma işlemi

uygulanarak prekristalizasyon gerçekleştirilir. Bu aşamada blok içerisinde kristaller oluşmaya ve büyümeye başlar. Prekristalize bloklar yalnızca zirkonya ve lityum metasilikat kristalleri içerir (Denry ve Kelly 2008).

Frezeye hazır prekristalize bloklar bal rengi görünümündedir. Blokların 10-22 dakikalık freze işlemini takiben uyumlamaları yapılır, bu aşamada materyal kolaylıkla aşındırılabilir. Daha sonra 840°C’de 8 dakika süreyle son kristalizasyon fırınlaması yapılarak cam matriks içinde ikili lityum silikat mikroyapıya ulaşılır. Bu ikili yapı lityum metasilikat ve lityum disilikat kristallerinden oluşur. Bu süreçten önce kırılma dayanımı 180 MPa iken, kristalizasyonu tamamlandıktan sonra yaklaşık 420 MPa değerine yükselir (Denry ve Kelly 2008, Rinke ve ark 2016). Son kristalizasyon fırınlamasından sonra blok doğal diş rengine ulaşır. Zirkonya ile güçlendirilmiş lityum silikat seramiklerin Dentsply firması tarafından üretilmiş tamamen kristalize formdaki blokları da mevcuttur. Celtra Duo adı verilen bu bloklar freze sonrası ekstra bir ısı işleme tabi tutulmadan ağız içerisine uygulanabilmektedir (Weyhrauch ve ark 2015).

*High* translüent ve translüent olmak üzere iki farklı translüentlik derecesi ve 8 farklı renk tonu mevcuttur. Ön-arka bölge kron, inley, onley ve laminate veneer restorasyonlarda kullanımı endikedir. Bu bloklar monolitik olarak kullanılabildiği gibi, cut-back tekniği kullanılarak üst yapı seramiği ile beraber de uygulanabilmektedir. Üst yapı seramik materyali olarak feldspatik seramikler kullanılır (D’Arcangelo ve ark 2016).

Diğer cam seramik materyallerde olduğu gibi adeziv tekniklerle simante edilmesi önerilir. Simantasyon öncesi seramik iç yüzeyine hidroflorik asit (20 saniye) ve silan (60 saniye) uygulaması gereklidir (Bilginer 2017).



**Şekil 1.6.** Vita Suprinity bloklar



### 1.3.3.6 Oksit seramikler

#### a) Cam infiltre oksit seramikler

Bu seramik sistemlerinin son sertliklerine ulaşabilmeleri için lanthan oksit cam infiltrasyonu işlemine maruz kalmaları gerekir. Bu bloklar In-Ceram Spinell, In-Ceram Alumina ve In-Ceram Zirconia olmak üzere 3'e ayrılır.

In-Ceram Spinell, 1994 yılında opak altyapıya sahip In-Ceram Alumina materyaline estetik açıdan daha başarılı bir alternatif olarak üretilmiştir. In-Ceram materyalleri arasında en fazla translüsenliğe sahip olan materyaldir. Bükülme direnci In-Ceram Alumina materyaline göre %25 daha düşüktür (Magne ve Belser 1997). Translüsensliği ise 2 kat daha fazladır. Translüsens özelliği sayesinde estetik beklentinin fazla olduğu anterior bölge restorasyonlarında tercih edilir (Fradeani ve Redemagni 2002).

In-Ceram Alumina 1989 yılında yüksek oranda sinterlenmiş pöröz alumina alt yapı materyaline, düşük viskoziteli sodyum lanthan oksit cam infiltrasyonu ile elde edilmiştir. Anterior, posterior bölge kronlarda ve üç üyeli anterior bölge köprülerde altyapı materyali olarak kullanılır (Sorensen ve Torres 1992).

In-Ceram Zirconia alüminyum oksit içeriğine ilave olarak %33 oranında seryum stabilize zirkonyum katılarak piyasaya sürülmüştür. In-Ceram Zirconia 1100°C'de iki saat süreyle sinterlendikten sonra cam infiltrasyonu gerçekleşir. Cam faz son halini almış yapının yaklaşık %23'ünü oluşturmaktadır (Deville ve ark 2003, Guazzato ve ark 2004)(Şekil 1.7).



Şekil 1.7. a) In-Ceram Alumina Blok. b) In-Ceram Spinell Blok. c) In-Ceram Zirconia Blok

#### b) Sinterlenen oksit seramikler

Bu gruptaki materyaller, alüminum ve zirkonyum içeren polikristalin seramiklerdir. Cam matris içermeyenler, yapılarındaki kristaller düzenli ve sık olacak

şekilde doldurulur, sonrasında sinterlenir (Giordano 2006). Yoğun kristalin yapısı, çatlak yayılımını azaltan mekanik özellik gösterir. Dayanıklılığı artmış polikristalin seramikler, kimyasal yapıları nedeniyle sadece CAD/CAM sistemleri ile üretilmektedir. Polikristalin seramikler opaktır, üst yapı porseleni kullanılmasıyla ideal görünüm elde edilir (Kelly ve Benetti 2011).

Alimünyum oksit içerenler; ilk dental polikristal seramiği olan Procera AllCeram (Nobel Biocare, Göteborg, İsveç) 1993 yılında üretilmiştir. Bu kor materyal %99,9 gibi yüksek oranda alümina içerir. Bu seramikler presinterize durumdadır ve restorasyon üretildikten sonra 1520°C'de fırınlanırlar. %100 alüminyum oksit kristalleri içeren yarı sinterlenmiş, yüksek dayanıklılığa sahip oksit bloklardır. Kırılma dayanımı 500 MPa'ın üzerinde olup, bükülme dayanımı ortalama 610 MPa'dır. Bu bloklar tek renklidirler; fakat daha sonra üzerine yığılacak porselen rengine göre renklendirme likitiyle renklendirilebilirler (Guazzato ve ark 2004). Procera AllCeram ön ve arka bölgedeki kronların başarı oranlarının 5 yıl sonunda yaklaşık %97 ve 10 yıl sonunda %93,5 olduğu bildirilmiştir (Brunton ve ark 1999, Vagkopoulou ve ark 2009). Opak yapısı sebebiyle Procera AllCeram'ın renklenmiş ön dişlere sahip hastalarda uygulanan laminalarda kullanmasının uygun olduğu gösterilmiştir (Hager ve ark 2001).

Zirkonyum oksit içerenler; biyomedikal zirkonya (3Y-TZP) %3 mol yitrium içerir ve 1990'lardan beri ortodontik braketler, endodontik postlar, kronlar ile sabit köprülerde implantlar ve implant abutmentleri olarak diş hekimliğinde kullanılmaktadır. Doğal zirkonya mat beyaz, X-ray'da opak ve alt yapı materyali olarak metallere daha fazla avantaja sahiptir. Kristalin yapının artmasıyla translusentlik azalmaktadır. Bununla birlikte zirkonyanın opasitesi metale göre daha kabul edilebilir değerdedir. Ayrıca farklı renkte altyapı zirkonyanın kullanılması, klinik olarak renk uyumunu sağlayabilmektedir (Li ve ark 2014). Yüksek mekanik direnci, kimyasal ve boyutsal stabilitesi ile ön plana çıkan zirkonyum günümüzde, tam porselen restorasyonların alt yapılarının yapımında sıklıkla kullanılan materyaldir. Tam seramik restorasyonların değerlendirildiği bir derlemede, zirkon destekli restorasyonlarla ilgili uzun süreli klinik çalışmaların yetersiz olduğu görülmüştür. İncelenen çalışmalarda, klinik sağ kalım oranlarının tek kronlarda 3 yıl sonunda %92,7-100, 3 veya 4 üyeli sabit bölümlü protezlerde 4 yıl sonunda %94-96 olduğu

gözlenmiştir. Bununla birlikte, zirkon alt yapıli protezlerde en sık karşılaşılan başarısızlığın alt yapı ile üst yapı porseleni arasında oluşan koheziv kırıklar olduğu bildirilmiştir. Üst yapı porselenindeki kırılma oranının tek kronlarda 2-3 yıl sonunda %9, sabit bölümlü protezlerde 5 yıl sonunda %36 oranında olduğu gözlenmiştir. Ayrıca implant destekli protezlerde kırılma oranının %53' e kadar çıktığı bildirilmiştir (Conrad ve ark 2007, Vagkopoulou ve ark 2009).

Sinterlenmemiş zirkonyum dioksit bloklar, üretim aşamasında zirkonyum dioksit tozunun herhangi bir sinterleme işlemi uygulanmadan basınçsız bir şekilde preslenmesi ile üretilir. Kolay aşındırılır, sonrasında sinterlenerek kullanılırlar (Beuer ve ark 2009).

Yarı sinterlenmiş zirkonyum dioksit bloklar, zirkonyum dioksit tozunun yapı içerisine bağlayıcı madde konularak preslenip blok haline getirilmesi ile üretilirler. Zirkonyum dioksit tozu, üretici firma tarafından ısı uygulamadan basınçla sıkıştırılır ve 1350-1550°C ısıda ön sinterleme işlemine tabi tutulur (Denry ve Kelly 2008).

Tam sinterlenmiş zirkonyum dioksit bloklar, ilk olarak 1300°C'de sinterlenir ve %95 yoğunluğa ulaşır. Oluşan yapı çok sert olduğu için aşındırma işlemi uzun zaman almaktadır.

Y-TZP seramiklerinin, kron ve üç dört üyeli köprü protezlerinin üretiminde kullanımı endikedir. Derin kapanış vakaları, yetersiz okluzal mesafe, kanatlı köprü protezi tasarımları ve bruksizm gibi parafonksiyonel alışkanlıkları olan bireylerde bu restorasyonların uygulanması kontrendikedir (Vagkopoulou ve ark 2009).

CAD/CAM teknolojisi yardımıyla zirkonya (Y-TZP) altyapıların üretiminde kullanılabilecek olan bloklara; Lava Frame (3M ESPE), Everest ZS ve ZH (KaVo), In-Ceram YZ (VITA), Zerion (Straumann) ve Cercon Smart Ceramics (Degu-Dent) örnek olarak verilebilmektedir (Beuer ve ark 2009, Zarone ve ark 2011).

### **1.3.3.7 Monolitik zirkonyalar**

Monolitik terimi Yunanca'daki "mono: tek" ve "lithos: taş" kelimelerinden gelen, malzemelerin tamamının düzenli bir yapıya sahip olduğunu ifade eden terimdir. Monolitik zirkonyumlar, kısmi olarak yitrium ile stabilize edildiğinden (% 0,01)

yüksek bükülme direnci (1570 MPa) ve yüksek ısıya dayanma gücüne (2600 °C'ye kadar) sahiplerdir. Isıya karşı olan bu direnç sayesinde, boyutsal stabiliteleri oldukça yüksektir (Berthelsen ve Stilley 2000, Zhang ve ark 2013). Standart zirkonya blokların içeriğinde materyalin dayanıklılığını artıran ancak optik özelliklerini olumsuz yönde etkileyen organik bağlayıcılar bulunmaktadır. Solid ya da translusent olarak da adlandırılan bu blokların yapısındaki atomlar ise, herhangi bir organik bağlayıcı olmadan birbirinin içine geçmektedir. Yapıdaki nanopartiküller sayesinde porözite içermemesi ve alumina içeriğinin %0,01'e kadar azaltılması ışık geçirgenliğinin artmasını sağlamaktadır. Ayrıca, renklendirilebilir olmaları estetik özelliklerini arttırmaktadır (Zhang ve ark 2013).

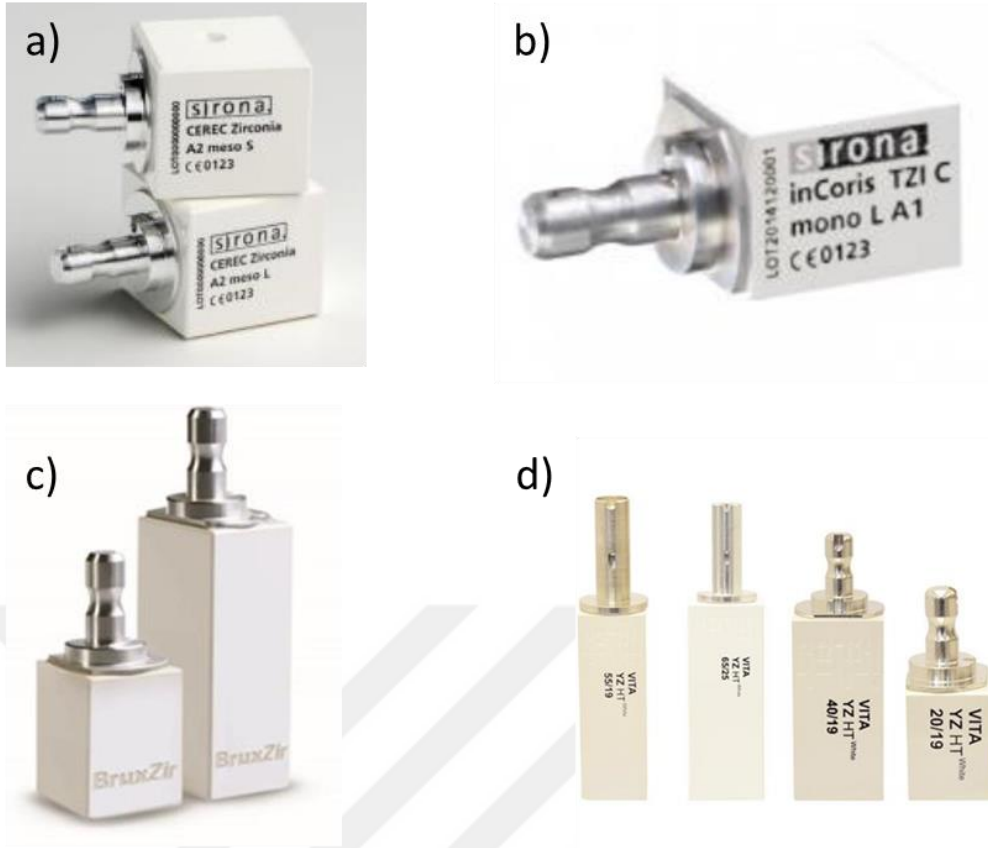
Zirkonyum restorasyonlarda en sık karşılaşılan sorunlar ve kısa ömürlü olmalarının sebebi veneer porselende meydana gelen koheziv kırılmalardır (Triwatanana ve ark 2012). Bu dezavantajı ortadan kaldırmak amacıyla CAD/CAM sistemlerle yalnızca tek bir materyalden üretilen, veneer porselene ihtiyaç duyulmayan monolitik kuronlar geliştirilmiştir (Marchack ve ark 20011). Bu özellikleri sayesinde veneer porselen ile zirkonyum alt yapı arasında görülen "chipping" denilen kopma ve kırılmalarla karşılaşılmamaktadır (Marchack ve ark 20011, Batson ve ark 2014). Ayrıca estetik kaygı yaşamadan gülme hattı içerisinde bulunan her bir diş için rahatlıkla kullanılabilirler(Ulu ve Bayındır 2016).

Aşınma dirençleri doğal dişe çok yakın olan gözeneksiz bir yapıya sahip olan monolitik zirkonya restorasyonlar (Batson ve ark 2014) zamanla karşıt doğal dişte abrazyonlara ve yaşlanmalara sebep olan zirkonyum esaslı kuronlar gibi bir abrazyon dezavantajına sahip değildir (Sripetchdanond ve Leevailoj 2014).

Zirkonya seramikler cam faz içermemesinden dolayı, cam seramik restorasyonların adezyonu için önerilen yöntem olan hidroflorik asit ile pürüzlendirme ve pürüzlendirilen yüzeye silan uygulaması zirkonya seramiklerde önerilmemektedir (Sahafi ve ark 2003, Xible ve ark 2006, Ozcan ve ark 2012, Zhang ve ark 2013). Zirkonya seramiklerin adeziv reçine simanlar ile simantasyonu ise, zirkonya esaslı seramiklerin simantasyon yüzeylerine ilave yüzey işlemleri (kumlama, tribokimyasal kaplama) uygulanarak gerçekleştirilebilmektedir. Böylece adeziv reçine simanların mekanik üstünlüklerinden yararlanır. Bununla birlikte, yüksek bükülme direnci,

yüksek kırılma dayanıklılığı ve materyalin opak olması nedeniyle zirkonya seramiklerin geleneksel simanlarla simantasyonuna da olanak sağlamaktadır.

Zirkonyum alt yapılı seramik kuronların kullanıldığı tüm endikasyonlar, monolitik zirkonyum restorasyonlar için de geçerlidir. Ayrıca, yüksek sertlik ve kırılma dirençlerinden dolayı ek olarak; implant üstü restorasyonlarda, uzun gövdeli köprü protezlerinde, interoklüzal mesafenin yetersiz olduğu durumlarda (restorasyon 0.3-0.5 mm'ye kadar inceltiyerek), endokronlarda, inley ve onley kronlarda kullanılabilir. Son yıllarda, monolitik zirkonya seramik restorasyonlar özellikle çiğneme kuvvetlerinin fazla olduğu arka dişlerde kullanılmak üzere piyasaya sürülmüştür. Lava all-Zirconia (3M ESPE, Seefeld, Germany), Zircon Zahn (ZIRCONZAHN GMBH, Bruneck, Italy), BruxZir Solid Zirconia (Glidewell laboratories, California, USA), Vita YZ HT (VITA Zahnfabrik, Bad Säckingen, Germany) ve Sirona InCoris TZi (Sirona, Germany), Cerec Zirconia (Sirona, Germany), bu bloklara örnek verilebilir (Şekil 1.8).



Şekil 1.8. a) Cerec Zirconia b) Sirona İncoris Tzi c) Bruxzir d) Vita YZ HT

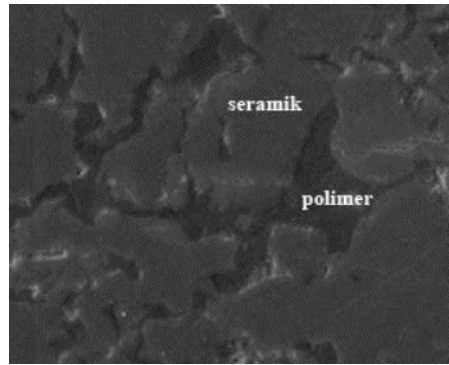
### 1.3.3.8 Hibrit seramikler

Vita Enamic : Yeni geliştirilen bir CAD-CAM materyali olan hibrit seramikler; tam seramik materyaller ile kompozit materyallerin olumlu özelliklerini bir araya getiren bir malzemedir.

Sabit bölümlü protezlerde kullanılan estetik CAD/CAM materyalleri seramik ve kompozit olarak iki ana grupta toplanmaktadır. Yapı ve bileşimine göre oluşan materyal özelliklerine bağlı olarak seramiklerin elastisite modülü, bükülme direnci, sertliği ( $E_f \geq 60$  GPa,  $\sigma_f \geq 140$  MPa, Vickers sertliği  $> 4$  GPa) kompozitlere ( $E_f = 9-20$  GPa,  $\sigma_f \cong 100$  MPa, Vickers sertliği = 0,4 GPa) oranla daha yüksektir. Seramiklerin kırılma direnci düşük ve çatlak oluşumuna bağlı olarak başarısızlığı yüksektir (Quinn ve Quinn 2010, Nguyen ve ark 2012). Optik özellikleri (saydamlık, opaklık, floresan vb.) kompozitlere oranla daha iyidir (Lim ve ark 2010). Kompozit restorasyonların ise CAD/CAM kullanılarak üretimi daha az maliyetlidir. Nispeten pahalı olan CAD/CAM frezleri ile yaklaşık 5 ile 10 adet seramik kuron yapılabilirken, aynı frezlerle yaklaşık 100 adet kompozit restorasyon yapılabilir (Ruse ve Sadoun 2014). Ayrıca

CAD/CAM ile işleme sırasında kompozit kuronların kırılma ihtimali daha düşüktür. Bunun yanında, seramik kuronların ağız içi tamiri, son derece toksik olan hidroflorik asit ile pürüzlendirme işlemini takiben, mekanik ve optik özellikleri seramiklerden farklı olan kompozit ile düzeltilmesini içeren karmaşık ve zor bir işlem gerektirir. Kompozit restorasyonların ağız içi tamirleri ise çok daha basit bir şekilde kumlama ya da frez ile pürüzlendirmenin ardından benzer mekanik ve optik özelliklere sahip bir kompozit materyali ile düzeltilmesini içerir (Tsitrou ve ark 2007).

Seramik ve kompozit materyallerinin olumlu özelliklerinin birleştirilmesi ile elde edilecek yeni materyallerin üretilmesi; kolay yapım sürecine sahip, mekanik özellikleri daha üstün ve daha estetik, klinik ömrü uzun restorasyonlar yapılmasını sağlamıştır (Schlichting ve ark 2011, Coldea ve ark 2013). Bu amaçla VITA Enamic (VITA Zahnfabrik) 2013 yılında piyasaya sürülmüştür. VITA Enamic, hibrit seramik olarak da adlandırılan polimer-infiltrate seramik ağ malzemesidir (PICN). Hibrit materyalin; ilk olarak boşluklu seramik bir alt yapıya, monomer (UDMA, TEGDMA) karışımının infiltrasyonu, ardından da polimerize edilmesiyle üretildiği belirtilmektedir (Coldea ve ark 2013). PICN birbiri içerisine geçmiş ağırlıkça %86 seramik ağa penetre olmuş %14 oranındaki akrilat polimer ağından oluşmaktadır (Kinney ve ark 2003). Şekil 1.9'da hibrit seramiğin yapısı gösterilmektedir (Coldea ve ark 2013).



Şekil 1.9. Hibrit seramik (PICN) yapısı

Restoratif diş hekimliğinde amaç; diş dokusunu taklit edebilen bir restoratif materyal ile fonksiyon, fonasyon ve estetiği geri kazandırmaktır. Dentin dokusunun elastisite modülü 20-30 GPa'dır (Kinney ve ark 2003). Cam seramikler diş dokusu ile uyumlu olmayan yüksek elastiklik modülleri sebebiyle kırılabilir materyallerdir. Hibrid seramiklerin ise 30 GPa değerindeki elastisite modülü ile dişe yakın elastiklik

özelliklerine sahip olduğu belirtilmektedir (Coldea ve ark 2013, Vita Zahnfabrik 2013, Rohr ve ark 2015, Zhi ve ark 2016).

Frezeleme işlemi sonrasında bu bloklar için özel olarak geliştirilen cilalama setleri ile bitim işlemlerinin yapılması önerilmektedir. Hibrit seramik bloklar ile inley, onley, kuron protezleri üretilebilmektedir. Restorasyonların 60 sn boyunca hidroflorik asitle pürüzlendirilmesi, silan uygulanması ve daha sonra adeziv olarak simante edilmesi önerilmektedir (Peumans ve ark 2007, Nguyen ve ark 20012, Della Bona ve ark 2014)(Şekil 1.10 a).

*Translucent (T), high translucent (HT)* olarak iki farklı translüenslik derecesi ve 6 farklı renk seçeneği bulunmaktadır. HT blokların daha çok ön bölge ve laminate veneer restorasyonlarda, T blokların ise renkleşmiş dişlerde kullanımı önerilmektedir (Stawarczyk ve ark 2012).

İnley, onley, lamina veneer kronlarda, tek üye anterior ve posterior kronlarda, implant üstü tek üye anterior ve posterior restorasyonlarda kullanılabileceği belirtilmiştir. Bruksizme sahip olan hastalarda ve çok üyeli sabit bölümlü protezlerde kullanımının uygun olmadığı bildirilmiştir (Dirxen ve ark 2013). Vita firmasının güncel olarak piyasaya çıkardığı hibrit seramik blok ürünlerinden biri de kişiye özel üretilen implant abutment bloklarıdır. Tek diş implant destekli hibrid abutment ve hibrid abutment kronların üretimi için tasarlanmıştır (Vita Zahnfabrik, 2013)(Şekil 1.10 b).



**Şekil 1.10. a)** Vita Enamic blok. **b)** Vita Enamic CAD hibrit abutment kron için üretilmiş bloklar



### 1.3.3.9 Nanoseramikler

Lava Ultimate (3M ESPE, Seefeld, Germany) bloklar kompozit ve seramik materyallerin fiziksel ve estetik özelliklerini bir arada bulunduran reçine nanoseramik materyaller olarak tanıtılmışlardır. Nanoseramik matriks 20 nm çapında silika ve 4-11 nm çapında zirkonya nanomer içerir. Reçine matriks içerisinde ise BisGMA (bisfenol glisidil metakrilat), UDMA (üretan dimetakrilat), Bis-EMA (etoksilat bisfenol a dimetakrilat) ve TEDGMA (triötilen glikol dimetakrilat) bileşenleri bulunmaktadır (Fasbinder 2010, Zimmermann ve ark 2012, Lauvahutanon ve ark 2014, Kassotakis ve ark 2015). Blokların üretim aşamasında silan ile reçine matris ve nanomer yapı arasında kimyasal bağlantı oluşturulur (Gueth ve ark 2013). Bu kimyasal bağlantı sonucu oluşan nanopartikül demetleri 0,6-10 mikrometre boyutundadır. Reçine matriks içerisinde %80 oranında gömülü olarak bulunan bu seramik nanopartikül yapı, materyale yüksek kırılma ve aşınma dayanıklılığı sağlamaktadır. Üretim sırasında bloklar ısısal işleme tabi tutulmaktadır. Yarı sinterize seramik blokların tersine tam sinterize nanoseramik bloklar ilave ısı işlem gerektirmez. Cam seramiklere göre karşıt dişte daha az aşındırma yapmakta, glazür işlemine gerek duyulmamakta, cila işlemleri kolaylıkla yapılabilmektedir. Ayrıca kompozit restorasyonlarla tamir ve ilave işlemleri de yapılabilmektedir (Koller ve ark. 2012).

Düşük translüsent (LT, low translucent) ve yüksek translüsent (HT, high translucent) olmak üzere iki farklı translüsensi derecesi bulunmaktadır. LT blokların 8, HT blokların ise 4 ayrı renk seçeneği mevcuttur. Blokların sahip olduğu reçine matriks, ağız içerisinde kompozit dolgu materyalleriyle tamir edilmesine olanak sağlar.

Lava Ultimate blokların bükülme direncinin 200 MPa olduğu belirtilmiştir (Awad ve ark 2015, Rocca ve ark 2015). Yüksek ve düşük translüsensiye sahip blok çeşitleri piyasada bulunmaktadır. Lava Ultimate blokların; inley, onley, laminate veneer üretiminde kullanımı endikedir. Üretilen restorasyonların kumlama işlemi yapılarak adeziv olarak simante edilmesi tavsiye edilmektedir (3M ESPE 2011) (Şekil 1.11).



Şekil 1.11. Lava Ultimate Blok

#### 1.4 Biyouyumluluk

Biyouyumluluk, canlı dokularla temasta olan herhangi bir materyalin antijenik, allerjik, toksik, mutajenik veya karsinojenik etki yapmaması (inert), vücudun yumuşak ve sert dokularında olumlu yönde doku reaksiyonları oluşturması (biyoaktif etki) olarak ifade edilir. Biyouyumlu maddelere genel olarak biyomateryal denir (Eidenbentz 1994). Başka bir deyişle, kullanılan materyalin uygun konak cevabı oluşturması olarak tanımlanmaktadır (Schmalz 1997). Bir materyalin ağız ortamında kullanılabilmesi için biyouyumlu olması gerekmektedir (Polyzois ve ark 1994).

Biyolojik uyum için; malzemenin kimyasal yapısı, restorasyonun tasarımı, elde edilme yöntemleri, mekanik özellikleri, doku ile temasının şekli, yeri ve dokunun özellikleri gibi pek çok faktörün bir arada uyum içerisinde olması gereklidir. Biyolojik olarak uyumlu olmayan materyaller doku reaksiyonuna yol açmaktadırlar (Hanks ve ark 1996). Materyallerin dokularla etkileşimi normal metabolizmayı ve fizyolojik süreçleri değiştirebilir. Herhangi bir ajan tarafından hücrelere ve dokulara olan hasarın üç aşaması vardır. Bunlar sırasıyla biyokimyasal hasar, fonksiyonel hasar ve morfolojik hasardır. Biyokimyasal hasar, oksijenlenememe sonucu oksidatif fosforilasyonun ve adenzin trifosfat (ATP) üretiminin baskılanmasıdır. Bu olayı takiben fonksiyonel hasar gelişir. Hücre membranındaki sodyum pompası bozulması sebebiyle hücrede su ve sodyum tutulumuna bağlı mobilite azalması gelişir. Son olarak da hücre ve çekirdek membranlarının bütünlüğü kaybolur ve lizozomal enzimler açığa çıkar, morfolojik hasar ve nekroz gelişir. Bu kimyasal ve fiziksel hasarlar enflamatuar reaksiyonlar, immünolojik reaksiyonlar ve tamir olarak sınıflandırılan bir dizi bağ dokusu değişikliklerine yol açar (Smith 1982).

### **1.4.1 Biyolojik uyum testleri**

Piyasaya sürülecek her yeni dental materyalin, klinik kullanım öncesinde mutlaka biyolojik riskler yönünden araştırılması ve biyouyumluluğunun değişik yöntemlerle değerlendirilmesi gerekmektedir. Biyouyumluluk testlerinin temel prensibi; materyal ve biyolojik sistem arasında meydana gelebilecek reaksiyonların, canlıdaki fonksiyonel ve yapısal değişimin niteliği ve niceliğinin önceden belirlenmesidir. Başka bir ifadeyle; materyalin etkisiyle biyolojik sistemin yapısında değişiklik meydana gelip gelmediğinin belirlenmesi ve bu etkinin geri dönüşümlü olup olmadığının açığa çıkarılmasıdır. Dental materyallerin biyolojik performanslarını belirlemek amacıyla, günümüze kadar çok sayıda yöntem geliştirilmiştir.

Günümüze dek hücresel ve moleküler biyolojideki hızlı gelişmelere paralel olarak materyallerin biyouyumluluğunu belirlemek amacıyla çok sayıda test yöntemi geliştirilmiş olmakla birlikte, bu yöntemlerin standardize edilmemesi nedeni ile testler, geliştirilen malzemelerdeki teknik ilerlemelerin gerisinde kalmıştır. Ancak 1982 yılında FDI (Uluslararası Diş Hekimliği Birliği), ISO (Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu) ve ADA (Amerikan Diş Hekimliği Akademisi) tarafından ortak bir görüşe varılarak diş hekimliğinde kullanılacak malzemelerin biyolojik uyumunun araştırılmasına yönelik testler oluşturulmuştur (Hanks ve ark 1996, Özdemir 2007). Materyallerin biyouyumluluğunun değerlendirilmesinde kullanılacak olan testler; öncül testler, ikincil testler ve kullanım testleri olmak üzere üç aşamada gerçekleştirilmektedir (Tunçel 2005).

#### **1.4.1.1 Öncül testler (birincil testler)**

Bu testler deneysel olarak kontrol edilebilir, tekrarlanabilir, hızlı, göreceli olarak daha az maliyetli ve kolaydırlar. Aynı zamanda bu testler, hayvan ve insan çalışmalarının etik sorunlarını elimine ederler. En büyük dezavantajları ise, birçok farklı biyolojik cevabın oluştuğu vücut ortamının tam olarak yaratılamamasıdır. Bu nedenle, materyale karşı oluşan nihai cevabın alınmasında eksik sonuçlar verebilirler (Hamid ve ark 1998, Tunçel 2005).

Öncül testler;

- LD50 ağız içi test,
- LD10 karın içi test,
- Solunum testi,
- Hemolizis testi,
- Ames testi,
- Styles testi,
- Dominant letal test,
- Sitotoksosite testi.

Sitotoksosite Testi: Diş hekimliğı malzemelerinin biyolojik uyumluluğı, genellikle, öncül testler grubunda yer alan sitotoksosite testleri ile değerlendirilmektedir. Test malzemesinin uygun hücre kültürlerindeki hücre büyüme oranı ve morfolojik özellikleri üzerindeki etkisinin negatif ve pozitif kontrol grupları kullanılarak değerlendirildiğı test yöntemidir (ISO 1997). Sitotoksosite testleri sırasında hücrelerde oluşan morfolojik değişiklikleri inceleyen çalışma sayısı oldukça azdır. En sık karşılaşılan hücresel bozulma, hücrelerin yapıştıkları yüzeyden ayrılmaları ve iğ şeklindeki fibroblast hücrelerinin sitoplazmik büzülme nedeniyle yuvarlaklaşması, mikrovillüslerin kaybolması ve vakuol oluşumu şeklindedir (Sen ve ark 1998).

Diş hekimliğı malzemelerinin sitotoksitesinin değerlendirildiğı testlerde, uygulanan materyalin;

- Hücre sayısı veya büyümesi,
- Hücre membran bütünlüğü,
- Biyosentez veya enzim aktivitesi,
- Hücre genetiğı üzerindeki etkilerini ölçer (Hensten-Pettersen 1988).

#### **1.4.1.2 İkincil testler (hayvan testleri)**

Alınan biyolojik cevap in vitro testlere oranla daha kapsamlıdır. Bununla beraber, hayvan testlerinde değişkenlerin kontrolü genellikle zordur. Bu testler zaman

alıcı ve pahalıdır. Son olarak uygulayıcı için önemli bir nokta da, hayvan türlerinin insanlardaki cevabı aynı şekilde vermelerinin şüpheli olmasıdır (Wataha 2001).

İkincil testler:

- Kemik implantasyon testi,
- Oral mukoza membran testi,
- Sensitizasyon testi,
- Subkutanöz implantasyon testi.

#### **1.4.1.3 Kullanım Testleri**

Bu testler materyaller için önemli klinik denemelerdir. Materyal son kullanılacak haliyle gönüllü bir insana yerleştirilir. Kullanım testleri en yararlı biyouyumluluk testleridir. Ancak birtakım yan etkileri ve problemleri de bulunmaktadır. Maliyetli, zaman alıcı, kontrolü ve yorumlanmaları oldukça zordur. Ayrıca hukuksal ve etik açıdan da limitasyonları bulunmaktadır (Wataha 2001).

Kullanım testleri:

- Restoratif malzemeler için pulpa ve dentin testi,
- Kuafaj ve pulpatomi malzemeleri testi,
- Endodontik malzeme testi,
- Kemik içi implant malzemesi testi

**Tablo 1.2.** Biyoyoumluluk testlerinin avantaj ve dezavantajları (Wataha 2001, Sakaguchi ve Power 2012, Anusavice ve Schmalz 2013)

Testler	Avantajları	Dezavantajları
İn vitro testler	Uygulaması kolaydır	In vivo ortam ile uyumluluğu tartışmalıdır
	Uygun maliyetlidir	
	Tekrarlanabilir	
	Standardize edilebilir	
	Geniş bir skalada değerlendirme yapılabilir	Materyale karşı oluşacak biyolojik cevap ile ilgili yanıltıcı sonuçlar verebilmektedir
	Deney kontrolü kolaydır	
	Etkileşimlerin mekanizması bakımından üstündür	
	Test için hayvan veya insan deneklerin kullanımı ile ilgili etik ve yasal sorunlar çoğunlukla önlenmiş olur	
In vivo testler	Karmaşık sistemik etkileşimlere olanak verir	Materyallerin kullanımlarının uygunluğu tartışmalıdır
		Pahalıdır
		Zaman alıcıdır
	In vitro testlere göre yanıt daha kapsamlı ve gerçeğe yakındır	Yasal ve etik zorlukları vardır
		Kontrol edilmesi zordur
		Yorumlanması ve nicel olarak değerlendirilmesi zordur
Kullanım testleri	Materyal kullanımının uygunluğu garanti edilir	Çoğunlukla histolojik inceleme yapılamaz
		Çok pahalıdır
		Çok zaman alıcıdır
		Önemli yasal ve etik zorlukları vardır
		Kontrol edilmesi zor olabilir
		Yorumlanması ve nicel olarak değerlendirilmesi zordur

Bir dental materyal her üç basamağa da tabi tutulmalıdır. Bu işlemler sırasıyla basit testlerden daha karmaşık olanlarına, *in vitro* testlerden *in vivo* testlere, prelinik testlerden klinik testlere doğru olacak şekilde gerçekleştirilmelidir. Yeni geliştirilen birçok materyal ilk testi geçtikten sonra sırasıyla ikinci ve üçüncü testlere tabi tutulmalıdır (Schmalz 1997). Günümüzde bu sınıflama *in vitro* ve *in vivo* test sistemleri olarak ikiye ayrılmaktadır. Bir hayvan sistemi dışında gerçekleştirilen, birincil testlerin de bu gruba dahil olduğu tüm testlere “*in vitro* test sistemleri”, hayvanlarda gerçekleştirilen sekonder ve kullanım testlerini de içine alan testlerin tümüne “*in vivo* test sistemleri” adı verilmektedir. Dental materyallerin yol açabileceği biyolojik etkilerin çeşitliliği nedeni ile biyoyumluluk değerlendirmeleri bir tek test sonucuna bağlanamaz. Bu nedenle, her bir materyal için belirli bir sıra ile değerlendirmelerin yapılması önerilmektedir. Böylece dental materyaller, basitten karmaşık test yöntemlerine, *in vitro*dan hayvan testlerine ve klinik öncesi testlerden, insanlardaki klinik testlere doğru belirli bir sistemde değerlendirilmektedir. Geliştirilen çok sayıda yeni materyalden sadece birinci basamağı başarılı şekilde geçenler bir üst basamakta test edilmektedir. Dolayısı ile, tüm materyaller için zaman alıcı, pahalı ve daha sofistike test yöntemlerinin uygulanmasına gerek kalmamaktadır. Ayrıca, böyle bir sıranın takip edilmesi, hayvan çalışmalarına duyulan gereksinimi azaltacağı gibi, yetersiz materyallerin insanlarda kullanılması olasılığını da azaltmaktadır (Torabinejad ve ark 1995).

#### **1.4.2 Hücre kültürü**

Hücre kültürü, spontan migrasyon, mekanik veya enzimatik parçalanma ile bir dokudan ayrılmış olan hücrelerin vücut dışında yaşatılması, sürekli üretim ve gelişimini ifade etmektedir (Tanrıku 2006). Canlı yapılardan elde edilen dokular, vücut ısılarında kültüre edilmekte ve vücudun özgün fizyolojik durumunu taklit eden besleyici sıvılarda beslenerek çoğaltılmaktadır.

Hücre kültürlerinin elde edilmesinde dikkat edilmesi gereken ana kaide, steril ortamların muhafazasıdır. Vücut dışında izole edilmiş hücre ya da organlar, enfeksiyonlara karşı koyabilme özellikleri olmadığı için, hücre kültürü çalışmalarında,

özel teçhizat ve malzemenin tecrübeli personelce kullanımının yanında kontaminasyondan kaçınmak için sterilizasyona özen gösterilmelidir (Ozkan 2008).

#### 1.4.2.1 Hücre kültürü kullanım alanları

Hücre kültürünün çok yaygın kullanım alanları vardır. Bunlardan bazıları şöyle sıralanabilir:

- Viral hastalık teşhisi ve aşı üretimi,
- Monoklonal antikorlar ile antikor üretimi,
- İnterferon üretimi,
- Enzim üretimi,
- İnsektisit ve insekt aşı üretimi,
- Hormon üretimi (insülin gibi),
- İnterlökin gibi immünregülatörlerin üretimi,
- İnterlökin gibi immünregülatörlerin üretimi,
- Büyüme faktörleri üretimi,
- Somatik gen tedavisi, sitogenetik, biyokimyasal, moleküler biyolojik çalışmalarda,
- Tümör aşılı,
- Canlı hücrelerin greft amaçlı kullanması,
- Kompleks üç boyutlu dokular ve deri mühendisliğinde (yapay deri, yapay kıkırdak, yapay karaciğer, yapay pankreas),
- Kanser araştırmalarında (in vitro toksikoloji),
- Çeşitli hastalıkların tanı ve araştırılmasında,
- Tüp bebek ve kısırlık tedavilerinde,
- Farmasötik proteinlerin üretiminde ve
- Bitki, hayvan ıslahı ve geliştirilmesi çalışmalarında kullanılır (Tanrıku 2006, Ozkan 2008).

#### 1.4.2.2 Hücre kültürü avantajları

- Son yıllarda hayvan hakları savunucularının kamuoyunda oluşturdukları baskı nedeniyle hayvan haklarına geçmişe nazaran daha çok önem verildiği



düşünülürse hücre kültürü çalışmaları birçok hayvan çalışmasını gereksiz kılacak bir araştırma türüdür (Ozkan 2008).

- Hücre kültürü ortamında fizikokimyasal çevre ve buna bağlı olarak fizyolojik koşulları daha iyi kontrol etmek mümkündür. Sıcaklık, pH, ozmotik basınç, O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> kısmi basınçları gibi fizikokimyasal koşullar hücre kültüründe daha kolay sağlanırken, canlı vücudunda sabit bir çevreyi oluşturarak birtakım testleri yapmak zordur (Tanrıku 2006).
- Ağza yeni uygulandıkları zaman, tam olarak polimerize olmamış materyallerin test hücreleri veya dokuları ile herhangi bir immünolojik etkileşim olmadan teması, gerçek akut kimyasal toksisitenin belirlenmesinde yararlı olmaktadır. Bu da hücre kültürü test yöntemlerinin kullanımı ile sağlanabilir (Browne 1998).
- Hücre kültürleri ekonomiktir. İn vivo sistemlerde test için organizmaya verilen maddenin bir kısmı çeşitli yollarla dışarıya atılacak, bir miktarı da organizmanın immün sistemince yok edilecektir. Bu durumlarda canlı bir organizmada, verilen maddenin ancak %10'una bir cevap alabilirken, hücre kültürlerinde bu oran %90'a kadar çıkabilir (Tanrıku 2006).
- Hücre kültürü test yöntemlerinin kontrol edilebilme olanakları yüksektir ve tekrarlanabilme özellikleri vardır. Ayrıca sonuçlar hücreler üzerindeki etki doğrudan doğruya gözlemlendiği için daha kısa sürede ve daha hızlı alınabilmektedir.
- Kimyasal maddelerin etkileri her cins doku ya da hücrelerde ayrı ayrı araştırılabilir. Organizmadaki karşılıklı etkileşimler nedeniyle yapılamayan araştırmalar in vitro da yapılabilir.
- İstatistik olarak hayvan deneyleriyle karşılaştırılmayacak kadar fazla hücre kullanılabilir.
- Hücre soyları kolayca taşınabilir. Karantina gibi bir sorun olmadığından birbirlerinden uzak ülkelerde de deneyler ve uygulamalar aynı şartlarda yapılabilir (Helfrich ve Ralston 2003).

#### **1.4.2.3 Hücre kültürü dezavantajları**

- Hücre kültürü çalışmaları ile kimyasal maddelerin davranışlar üzerine olan karmaşık etkileri incelenemez.

- Tek başına hücre kültürünün yeterli bilgi sağlaması mümkün değildir (*in vivo* ve *in vitro*).
- Manipulasyon hataları, sonuçları ciddi biçimde etkiler. Deneyim ve uzmanlık gerektiren bir uygulamadır.
- Hücreler kendilerini koruyacak bir immün sistemden yoksun olduklarından çok titiz ve steril bir laboratuvar çalışması gerektirir.
- Hücreleri uzun süre dondurmak, biyokimyasal ve genetik değişikliklere sebep olabilir. Ayrıca normal dokulardan elde edilen hücre soyları yavaş yavaş çoğalma potansiyellerini kaybederler.
- Primer kültür ile başlanıldığında birbirini izleyen pasajlarda hücreler farklılaşır ve bir miktar ölüm her zaman gerçekleşir. Yani hücreler pasajlandıkça, başlangıçta sahip oldukları ekspresyon ve fonksiyonlarını devam ettiremeyebilir (Davis 1994, Doyle ve Griffiths 1998, Tanrıkulu 2006, Ozkan 2008).

Diş hekimliğinde hücre kültürü çalışmaları kendisine birçok uygulama alanı bulmasına rağmen literatür incelendiğinde hücre kültürü daha fazla olarak dental materyallerin biyolojik uyumlarının tespitinde sıklıkla başvurulan bir yöntem olmuştur (Ozkan 2008).

Bu çalışmamızda, farklı CAD/CAM tam seramiklerinin insan gingival fibroblastları üzerine sitotoksik etkisi incelendi.

#### **1.4.2.4 İnsan gingival fibroblastı (İGF)**

Fibroblastlar, embriyolojik olarak mezenşim kökenli hücrelerdir. Fenotipik olarak kasılabilen miyofibroblastlardan periodontal ligament fibroblastlarına kadar geniş bir dağılım gösterirler (Desmouliere ve ark 2003). Gingival fibroblastlar sağlıklı diş eti dokusunun temel hücreleridir. Periodontal dokuların yapısal bütünlüğünün sürdürülmesinde rol oynamaktadırlar.

Fibroblastlar, vücudun ekstraselüler matriks içeren doku ve organlarında bulunan iğ şeklinde, yassı ve uzun hücrelerdir. Bağ dokusunun en yaygın ve fonksiyonel olarak en önemli hücreleri fibroblastlardır. Dişeti bağ dokusundaki hücrelerin %65'ini oluşturan fibroblastların görevi; glikoproteinler ve

glikozaminoglikanların yanı sıra yapısal bağ dokusu proteinleri, kollajen ve elastin gibi ekstraselüler matriks bileşenlerinin çoğunu sentezlemek ve yıkmaktır (Hassell 1993). Bu hücrelerin tipik özellikleri arasında; protein sentezi yapan hücrelere mahsus gelişmiş granüllü endoplazmik retikuluma sahip olmaları, geniş golgi kompleksi içermeleri ve bazofilik sitoplazma bulunması sayılabilir. Fibroblastlar, matriks metalloproteinaz olarak bilinen birçok aktif kollajenaz sayesinde ekstraselüler matriksi yıkma kapasitesine sahiptir. Tüm metalloproteinazlar inaktif formda fibroblastlar tarafından salgılanır. Ayrıca metalloproteinazlar aktif olduklarında bile çeşitli doku inhibitörleri tarafından etkili bir biçimde inhibe edilir. Fibroblastlar fibril demetlerinin uzun aksına paralel olarak konumlanmış bazofilik stoplazmada uzunlamasına görünürler. Elektron mikroskopuyla incelendiğinde fibroblastlar aktif sentez yapan hücrelerin tüm karakteristik özelliklerini gösterirler (Hassell 1993).

Doku yaralanmasından sonra fibroblastlar yara iyileşmesi ve tamirinde önemli bir rol üstlenirler. Yaralanmadan sonra pıhtı oluşumu ve trombosit degradasyonu gerçekleşir. Ortaya çıkan mediatörler iltihabi hücrelerin ve fibroblastik hücrelerin yara bölgesine gelmesine ve ilave birtakım mediatörlerin açığa çıkmasına neden olur. Bölgeye gelen fibroblastlar erken dönemde oluşturulmuş olan geçici matriksi, enflamatuar hücrelerden salınan mediyatörlerin kontrolünde kollajen ve fibronektin içeren daha olgun bir ekstraselüler matriks ile devam ettirirler (Desmouliere ve ark 2003).

**a) İnsan gingival fibroblast hücreleri tarafından üretilen sitokinler, ekstraselüler matriks yapım ve yıkım enzimleri, oksidatif stres enzimleri**

**Sitokinler**

Enflamasyonun ilerleme sürecinin ve şiddetinin belirlenmesinde görevli olan düşük molekül ağırlığına sahip protein yapılardır. Hücrelerin yüzey reseptörlerinin spesifik bölümleri ile etkileşime girerek, immün cevabın ve enflamasyonun başlamasında ve ilerlemesinde etkilidirler. İmmün cevabın düzeyinin ve süresinin düzenlenmesinde görev alırlar (Genco 1992, Kinane ve ark 2001, Seymour ve Gemmell 2001). Sitokinlerin bir kısmı (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 ve TNF), proenflamatuar özellikte, bir kısmı ise (interlökin-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra), IL-4, IL-10, IL-11 ve TGF- $\beta$ ) anti-enflamatuar özelliktedirler (Takashiba ve ark 2003).

**İnterlökin 1**

İnterlökin-1; kaynağı B hücreleri, makrofajlar, monositler ve dendritik hücreler olan güçlü proenflamatuar etkisi olan bir sitokindir.  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere 2 subtipi vardır. Enflamatuvar bir belirteç olarak daha çok IL-1 $\beta$  kullanılmaktadır. (Dinarello 2011).

IL-1'in hedef hücre ve dokular üzerine etkisi şu şekilde olmaktadır:

- Makrofajların hedef bölgeye göçünü sağlayarak prostaglandin üretimini artırmakta ve hücre öldürücü aktivitelerini artırmaktadır.
- Nötrofillerin hedef bölgeye migrasyonu ile nötrofillerin metabolik olarak aktifleşmesini ve nötrofillerin yüzde olarak artmasına (nötrofili) neden olmaktadır.
- B hücrelerini proliferasyon ve antikor üretimi için uyarmaktadır.
- T hücrelerini lenfokin üretimi için uyarmaktadır.
- Fibroblastların proliferasyonu, prostaglandin ve kollajenaz üretimini sağlar.
- Osteoklast yapımına, kırıkta ve kemik rezorpsiyonunun artmasına neden olur.
- Hepatositlerin alfa-1 antitripsin, amiloid, C-reaktif protein, fibrinojen, haptogloblin ve seruloplazmin üretimlerine neden olmaktadır.

- Endotel hücrelerinin proliferasyon ve prostaglandin salınımı için uyarmaktadır.
- Beyin dokularını etkileyerek anoreksi, ateş, uyku haline sebep olmaktadır.
- Epitel hücrelerini proliferasyonunu sağlamaktadır ve kollajen sentezini artırıcı etki göstermektedir (Genco 1992).

### **Interlökin 6**

IL-6, aktive olmamış lenfositler ve *Ebstein Barr* virüsü tarafından dönüştürülmüş B lenfositler aracılığıyla immünglobulin salgılatan, osteoklastik aktivite ve kemik rezorpsiyonunu stimule eden bir sitokindir. Başlıca T ve B lenfositler, endotelial hücreler, fibroblastlar, keratinositler, mezenkimal hücreler, monositler, kemik iliği stromal hücreleri ve astrositler tarafından endotoksinlere, enflamatuvar uyarılara ve viral enfeksiyonlara karşı sentezlenmektedir (Kishimoto 1989).

### **Interlökin 8**

IL-8 nötrofillerin, degranülasyon ve mobilizasyonunu sağlayan önemli bir kemotaktik ajandır. IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve IL-8 sinerjistik etki oluşturarak polimorfonükleer lökositlerin dokuya infiltrasyonunu sağlayıp prostaglandinlerin kan damarlarını genişletmesine ve ağrı oluşmasına neden olur (Gainet ve ark 1999).

### **Interlökin 10**

Konak cevabının baskılanmasında önemli rol oynar. Monosit ve makrofaj fonksiyonunu baskılayarak etki gösterir. Monosit kaynaklı proenflamatuvar sitokinlerin inhibisyonuna neden olan bir antienflamatuvardır. (Fiorentino ve ark 1991, de Waal Malefyt ve ark 1992).

### **Tümör Nekrotizan Faktör (TNF)**

Tümör nekrozis faktör, enflamasyon aşamasında hücre regülasyonunda, farklılaşmasında ve apoptozisinde önemli rol oynayan polipeptid yapılı bir sitokindir. Endotel hücreleri ve fibroblastların aktif hale gelmesine neden olarak, sitokin salınımını ve MMP'lerin uyarılmasını indükleyerek konak savunma sisteminde

etkilidir. Tümör nekrotizis faktör- $\alpha$ , periodontal hastalık sürecinde doku yıkımında etkin olan kollejenaz enziminin salınımı için gingival fibroblastları ve kemik rezorpsiyonunu stimüle eder. TNF- $\alpha$ , gingiva, periodontal ligament ve alveol kemik yıkımında etkin olan MMP salınımı artırmaktadırlar (Soga ve ark 2003, Pivodova ve ark 2011).

### **Matriks metalloproteinazlar (MMP) ve doku inhibitörleri (TIMP)**

MMP'ler, yıkım mekanizmasında yer alan birçok ekstraselüler matriks proteini ile organogenez, büyüme ve farklılaşması aşamalarında etkin olan, 1, 2, 3, 8, 9, 20 gibi tipleri olan enzim grubudur. MMP'lerin olgunlaşmış hücreler aracılığıyla aktive olması ve salınımı sınırlıdır, fakat kontrol edilemeyen doku yıkımına sebep olan enflamatuvar hastalıklarda anlamlı bir yükseliş söz konusudur (Brinckerhoff ve Matrisian 2002). MMP aktivitesi, MMP'lerin en büyük endojen inhibitörü olan TIMP'lerin sentezi arasındaki hassas denge ile kontrol edilmektedir. MMP'lerin katalizör etkisi proenzimlerin aktif hale geçmesiyle ve TIMP'lerin inhibisyonu aracılığıyla sağlanır. TIMP-1 ve TIMP-2, çoğu hücre için kuvvetli bir büyüme faktörü olarak tanımlanmıştır (Hayakawa ve ark 1992, Hayakawa ve ark 1994). Ayrıca TIMP'ların hücre apoptozisinin düzenlenmesinde rol oynadığı gözlenmiştir (Guedez ve ark 1998).

### **Serbest radikaller ve oksidatif stres**

Serbest radikaller; bir ya da daha fazla sayıda çiftleşmemiş elektronu olan, fiziksel stabilitesi olmayan reaktif moleküllerdir. Serbest radikaller çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır. Serbest radikallerin oluşumu antioksidan savunma sistemi tarafından engellenmediği durumda stabil hale geçmek için en yakınındaki yağ, protein, karbonhidrat, deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) molekülleri ile reaksiyona girerek, fonksiyonlarının bozulmasına sebep olmaktadır. Dokularda serbest radikallerin oluşum hızı ile yıkım hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılmaktadır. Oksidatif dengenin serbest radikallerin lehine değişmesi ile veya antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalmasıyla, hücre yapısal ve fonksiyonel bozukluğa uğrar. Serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulmasıyla oluşan oksidatif zarar, oksidatif stres olarak tanımlanmıştır (Sies ve ark

1992). Serbest oksijen radikalleri birçok mekanizma ile meydana gelmektedir. Bu bileşiklerin aktivitesini bozan çeşitli doğal mekanizmalar bulunmaktadır. Serbest oksijen radikallerine yönelik savunma mekanizmasını bozan bileşikler antioksidan olarak adlandırılır. Antioksidanlar, endojen veya ekzojen kaynaklıdır. Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Enzim olan endojen antioksidanlar; GPX, glutatyon S-Transferazlar (GST), SOD, katalaz (CAT), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemidir. Enzim olmayan endojen antioksidanlar; albümin, bilirubin, ferritin, hemoglobin, laktoferrin, melatonin, metiyonin, miyoglobinglutatyon, seruloplazmin, transferrin, sistein ve üratdır. Ekzojen antioksidanlar ise; gıda antioksidanları, medikasyonlar ve vitaminler olmak üzere sınıflandırılabilirler (Bendich 1990).

#### **1.4.2.5 Hücre kültürü test yöntemleri**

Dental malzemelerin sitotoksitesi, *in vitro* koşullarda genel olarak şu şekillerde belirlenmektedir.

#### **Biyosentez veya enzimatik aktivite testleri**

Deoksiribonükleik asit (DNA) sentezi ya da protein sentezi ölçümleri bu test türünün yaygın örnekleridir. DNA veya protein sentezi analizlerinde genellikle, hücre kültür ortamına işaretleyici radyoizotop ilave edilmesini takiben DNA veya protein ile birleşip birleşmediği değerlendirilir. Sitotoksitenin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan enzimatik test ise MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] testidir. Tetrazolium halkasının parçalanması sonucu soluk sarı renkli MTT boyası, koyu mavi-mor formazan ürününe dönüşmektedir. Bu reaksiyon fragil bir mitokondrial enzim olan süksinat dehidrogenaz enziminin aktivitesine bağlıdır. Sonuç olarak canlı ve mitokondri fonksiyonu bozulmamış hücreler mor renkte boyanmakta, ölü ya da mitokondri fonksiyonu bozulmuş hücreler boyanmamaktadır (Tyas 1977, Messer ve ark 2000, Putnam ve ark 2002, Weyermann ve ark 2005, Fotakis ve Timbrell 2006, Khattak ve ark 2006, Yaka ve ark 2006, Bopp ve Lettieri 2008).

Optik densite ölçülerek formazan oluşumu saptanabilir. Alternatif olarak test örneği çevresindeki formazan, ışık veya elektron mikroskopuyla da belirlenebilir (Freshney 1992, Sjogren ve ark 2000, Issa ve ark 2004).

Hücre ölümüyle ilgili diğer bir parametre, hücre zarı bütünlüğünün, ölü veya hasar görmüş hücrelerden salınan sitoplazmik enzim aktivitesinin ölçülmesiyle değerlendirilmesidir. Laktat dehidrogenaz (LDH) tüm hücrelerde bulunan sabit sitoplazmik bir enzimdir. Hücre plazma membranı hasar gördüğünde hücre kültürü supernatantına kolaylıkla salınabilmektedir. LDH, NAD<sup>+</sup>'nın indirgenme reaksiyonlarında görev almaktadır. Sonuç, kolorimetrik ölçüm yöntemleriyle değerlendirilmektedir (Pilathadka ve Vahalova 2007, Beuer ve ark 2009).

### **Membran geçirgenliği testleri:**

Materyallerin sitotoksitelerinin değerlendirilmesinde kullanılan diğer bir yöntem de hücre membran geçirgenliğinin ölçülmesidir. Hücre zarı geçirgenliği, zarı geçebilen bir boya ile oldukça kolay belirlenebilir. Bu yöntem, ölmeye yakın olan bir hücrenin, hücre zarındaki geçirgenliğinin de artmış olması prensibine dayanmaktadır. Kullanılan bu boyaların hücre zarını geçip geçememesine göre zar geçirgenliği dolayısıyla da canlı ve ölü hücreler tespit edilmektedir. Bu test yöntemi için iki tip boya kullanılmaktadır. Vital boyalar, aktif transport ile canlı hücre içine taşınır ve hücrenin lizozomlarında birikirler. Sitotoksik etkiyle hücre zarı geçirgenliği artmadığı sürece hücre içinde tutulurlar. Pek çok tip vital boya vardır, ancak en çok kullanılanlar, nötral kırmızı ve Na<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>'tur. Non-vital boyalar, sitotoksik etki ile hücre ölümü gerçekleştiğinde zarı geçerek hücre içine taşınabilmektedir. Non-vital boyalara örnek, tripan mavisi ve propidiumiodiddir (Stanford 1980, Hensten-Pettersen 1988, Ekwall ve ark 1990, Freshney 1992, Schmalz ve Schmalz 1996, Weyermann ve ark 2005, Murray ve ark 2007).

### **Hücre sayısı ve büyüme testleri**

Malzeme ile temas sonrasında hücre sayısının veya büyümesinin ölçülmesi ile sitotoksiteyi belirler. Hücrelerin kültür kaplarına ekilerek yapışmaları sağlanır, daha sonra test malzemesi yerleştirilir. Test edilen malzeme sitotoksik değilse hücreler kültür kabında yapışık kalacak ve zamanla çoğalacaktır. Ancak malzeme toksik ise



hücreler çoğalmayacak, ya sitopatik oluşumlar sergileyeceklerdir ya da kültür kabından ayrılacaklardır. Test malzemesi katı madde ise, malzeme çevresindeki hücre yoğunluğu (birim alandaki hücre sayısı) farklılık gösterebilir ve hücre büyümesinin bozulduğu bir alan (zone) tanımlanır. Hücre yoğunluğu kalitatif, semikantitatif ve kantitatif olarak belirtilebilir. Malzeme çevresindeki hücrelerin canlılığı, DNA içeriğinin biyokimyasal yollarla ölçülmesi gibi yöntemlerle belirlenmektedir (Ekwall ve ark 1990, Schweikl ve Schmalz 1996).

#### **1.4.3 xCELLigence gerçek zamanlı hücre analiz sistemi (xCELLigence Real time cell analysis system RTCA)**

xCELLigence sistemi, hücre proliferasyonlarını gerçek zamanlı ölçüm (real-time cell analyzer; RTCA) yaparak izleme imkânı sunmaktadır. Bu sistem empedans direnç sistemini baz alarak belirlenen zaman aralıklarında (saniye, dakika, saat) hücre proliferasyonunun hem grafiksel hem de kantitatif olarak belirlenebilmesini sağlayan bir sistemdir. Sistem RTCA analizör, RTCA SP istasyon, yazılım programı içeren RTCA bilgisayar ve tek kullanımlık *view-plate* olmak üzere dört temel parçadan oluşmaktadır. Bunlardan RTCA SP istasyon, hücre kültürü inkübatörü içerisinde yer alırken RTCA analizör ve yazılım içeren bilgisayar inkübatör dışarıdadır. *View-plate*, tabanında yer alan özel tasarım altın hücre sensörleri ve kuyucuklarda yer alan elektrodlar aracılığıyla kuyucuk içerisindeki hücre miktarını ve ortam değişikliklerinin hücre üzerindeki etkisini eş zamanlı olarak görüntüleyebilmektedir. Hücre proliferasyonunu ve morfoloji değişimini, işaretçi kullanmadan saptama, fizyolojik temas gerektirmeksizin gerçek zamanlı izleme ile otomatik ölçümler yapabilme, yüksek duyarlılık ve doğrulukta görüntüleme için kullanılan bir sistemdir. Geleneksel hücre tabanlı testlerin zaman ve iş gücü yoğunluğunu ortadan kaldırarak büyük ölçüde verimlilik sağlamaktadır. Geleneksel yöntemler, kullanılan boyaların penetrasyon zorlukları, toksisite ve uygulama zorluğu gibi dezavantajlar taşır. Gerçek Zamanlı Hücre Analizi (real time cell analyzer-RTCA) yöntemi bu alanda hızlı ve güvenilir sonuçlar verebilecek, kolay uygulanan bir yöntem olarak dikkat çekmektedir.

Çalışma Prensipleri: Sistemin merkezi özel üretilmiş 96 kuyucuklu plakaların (E-plaka 96) alt kısmına entegre edilmiş mikroelektronik hücre sensörü dizisidir. Bu sensör, elektrotlarının elektronik empedansının ölçülmesi, elektrodlar üzerindeki

değişikliklerin saptanması ve izlenmesini sağlar. Birimsiz olarak ifade edilen hücre indeksi (cell index; CI), hücre durumunu gösteren elektrik empedansındaki göreceli değişikliği gösterir.

Hücre indeksinin artışı ve azalışına bağlı olarak sistemin elde ettiği veriler otomatik olarak değerlendirilir. Bu yöntemde yüzeyi altın mikroelektrotlarla kaplanmış özel mikropaklar kullanılır. Hücrelerin hücre kültür kabının tabanına tutunması ile elektrik akımına karşı direnç olarak tanımlanan impedansta değişim olur ve bu değişim de hücre sayısı ve biyofilm oluşumu ile orantılıdır (Valdes ve ark 2015). Başka bir söylemle, impedans değişimi ölçümüne dayalı bu yöntemde mikroelektrot taşıyan mikropakalar kullanılarak biyofilm oluşumu gerçek zamanlı olarak izlenebilmekte ve farklı maddelerin biyofilm oluşumu üzerine etkinlikleri değerlendirilebilmektedir. Ayrıca bu yöntemle elde edilen sonuçların klasik yöntemlerle uyumlu olduğu da belirtilmiştir (Gutierrez ve ark 2016).

Kullanım amacı ve kullanım yerleri:

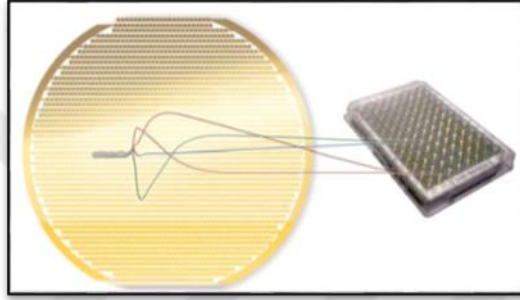
- Hücre karakterizasyonu-Kalite Kontrol
- Proliferasyon-Sitotoksiste
- Adezyon
- Reseptör Sinyalleme için hücre kültürü laboratuvarları

Yapılan Analizler:

- Hücre çoğalması ve farklılaşması (proliferasyon)
- Hücrelerde kalite kontrol
- Madde aracılı sitotoksiste
- Hücre aracılı sitotoksiste
- Virüs aracılı sitopatojenite
- Hücre yapışması (adezyon) ve yayılımı
- Hücre aracılı sitoliz
- Reseptör aracılı sinyal iletimi ve fonksiyonel görüntülenmesi



Şekil 1.12. Dizüstü bilgisayar ve RTCA SP istasyonu



Şekil 1.13. Kuyucuk tabanındaki altın plağın hücrelerin elektrik yük empedanslarını ölçmesi



Şekil 1.14. e plate-96

#### 1.4.4 *Real time- polymerase chain reaction (RT-PCR)*

DNA'nın spesifik bir bölümünün laboratuvar koşullarında hızlı bir şekilde çoğaltılmasını sağlayan teknik PCR olarak tanımlanmıştır (Gibson ve ark 1996). PCR tekniğinin çalışma prensibi, izole edilen veya patolojik materyallerde bulunan hedef genetik materyallerin (DNA veya RNA), spesifik kısa zincirli oligonükleotitprimerler

yardımıyla enzimatik olarak sayısal çoğaltılması (amplifikasyon) olarak da ifade edilebilir. PCR' ın uygulama alanları:

- Kalıtsal hastalıkların teşhisi, (örn; hemofili) PCR ile gen dizileri çoğaltılır ve hasta genlerindeki bozukluk tespit edilir. Taşıyıcılarda da erken teşhis sağlanır.
- Kanser araştırmalarında, onkogen ve tümör supresör genlerdeki mutasyonlar PCR temelli stratejiler kullanarak aydınlatılır.
- Adli tıp çalışmalarında, DNA'daki tekrar dizilerinin PCR ile çoğaltılarak suçlu kişilere ait ya da babalık testi için gerekli olan DNA analizleri yapılabilir.
- Biyoteknolojik alanda PCR, rekombinant proteinlerin (insulin ya da büyüme hormonu) ve rekombinant aşuların geliştirilmesinde kullanılır.
- Bakteri ve virüslerin tespitinde, geliştirilmiş özel PCR yöntemleriyle karışımdan dahi türe spesifik bir seçim yapılmasına olanak sağlar. Bu da hastalıkların teşhisinde hız ve duyarlılık kazandırır (Okutucu ve Pehlivan 2003).

Son yıllarda PCR reaksiyonlarında sıcaklık döngüleri sağlamak için kullanılan cihazların hassas ölçüm aletleriyle birleştirilmesi, gerçek zamanlı PCR (real-time PCR) olarak adlandırılan yeni bir yöntemin gelişmesini sağlamıştır. Gerçek zamanlı PCR teknolojisinin, reaksiyon boyunca verinin toplanıp anında analiz edilebilmesi, spesifik olmayan amplifikasyonlardan etkilenmemesi, duyarlılığının yüksek olması, PCR sonrası ikincil bir işlem gerektirmemesi sayesinde yüksek verimlilik ve düşük kontaminasyon riski olması sebebiyle klasik PCR yöntemine göre birçok avantaja sahiptir. Ayrıca gen ekspresyonunun kantitasyonunda, DNA hasarlarının tespitinde ve genotiplemede kullanılan güvenilir bir yöntemdir. Son yıllarda RT-PCR, İnsan Genom Projesi'yle kullanım amaçları giderek artan bir tekniktir. Ayrıca sistemin hassasiyeti ve güvenilirliği de kullanım oranını artmaktadır (Souaze ve ark 1996). Gelecekte de yoğun biçimde kullanılan moleküler genetik yöntemler arasında yerini koruyacağı düşünülmektedir.

## **1.5 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)**

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), katı maddelerin yüzeylerindeki mikro yapıları incelemek amacıyla kullanılır. Temel prensip, bir elektron demeti kullanılarak ilgili yüzeyin taranmasıdır. Örnek yüzeyleri, hassas bir inceleme yapılabilmesi için

önce ince bir altın tabaka ile kaplanır. Ardından örneğe gittikçe genişleyen elektron demetleri gönderilir. Bu elektronlar belli bir yüzeye çarptığında, yüzeydeki atomlar sekonder elektronlar yayar. Sekonder elektronlar özel bir dedektör tarafından yakalanır ve elektrik akımına çevrilir. Daha sonra seçilen oranlarda büyütme yapılır ve oluşturulan elektriksel sinyal bilgisayar ekranı üzerinde görüntü olarak kaydedilir (Koga ve ark 2015).



## 2. MATERYAL METOD

### 2.1 Örneklerin Hazırlanması

Çalışmamızda, kullandığımız CAD-CAM tam seramiklerle temasta olan insan gingival fibroblast hücrelerinin (İGF), proliferasyonu, hücrelerin materyal yüzeylerine ataçmanları ve oksidatif stres enzimlerinden superoksitdismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPX), proenflamatuar sitokinlerden interlökin1- $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), tümör nekrosis faktör alfa (TNF-alfa), IL-6, IL-8, antiinflamatuvar sitokin IL-10, ekstraselüler matriks enzimlerinden matriksmetalloproteinaz-1 (MMP-1), MMP-2, MMP-3, MMP-9 ve onların doku inhibitörleri TIMP-1, TIMP-2 genlerinin ekspresyon düzeyleri incelendi.

Kullandığımız seramik bloklar tablo 2.1 'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.1.** Çalışmada kullanılan materyaller

TEST MATERYALİ	GRUP	KISALTMA	LOT NO	MATERYAL TİPİ	İÇERİK	ÜRETİCİ FİRMA
IPS Empress CAD LT	CAD/CAM	EC	W89703	Lösit cam seramik	60-65% SiO <sub>2</sub> , 16-20% Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , 10-14% K <sub>2</sub> O, 3.5-6.5% Na <sub>2</sub> O, 0.5-7% diğer oksitler, 0.2-1% pigmentler	Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
Vita mark II	CAD/CAM	VM	49490	Feldspatik seramik	56-64% SiO <sub>2</sub> , 20-23% Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , 6-9 %Na <sub>2</sub> O, 6-8% K <sub>2</sub> O, 0.3-0.6% CaO, 0-0.1% TiO <sub>2</sub>	Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Almanya
IPS e-max CAD LT	CAD/CAM	EM	W96414	Lityum disilikat cam seramik	57-80% SiO <sub>2</sub> , 11-19% Li <sub>2</sub> O, 0-13 % K <sub>2</sub> O, 0-11% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , 0-8% ZrO <sub>2</sub> , 0-8% ZnO, 0-5% Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , 0-5% MgO, 0-8% renk pigmentleri	Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
Vita Suprinity T	CAD/CAM	VS	63200	Zirkonya ile güçlendirilmiş lityum silikat cam seramik	56-64% SiO <sub>2</sub> , 15-21% Li <sub>2</sub> O, 8-12% ZrO <sub>2</sub> , 3-8% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , 1-4% K <sub>2</sub> O, 0-4% CeO <sub>2</sub>	Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Almanya
Vita Enamic T	CAD/CAM	VE	60250	Polimer infiltre resin seramik	%58-63 SiO <sub>2</sub> , %20-23 Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , %9-11 Na <sub>2</sub> O, %4-6 K <sub>2</sub> O, % 0.5-2 B <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , %1'in altında ZrO <sub>2</sub> , ve %1'in altında CaO	Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Almanya
Lava Ultimate LT	CAD/CAM	LU	N721602	Resin nanoseramik	Matriks: Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA, TEGDMA Doldurucu :20nm çapında silica nanomer, 4 -11 nm çapında zirkonya nanomer (SiO <sub>2</sub> , ZrO <sub>2</sub> , ZrO <sub>2</sub> / SiO <sub>2</sub> )	3M ESPE, Seefeld, Almanya

Proje kapsamında yer alan proliferasyon, gen ekspresyonu hücre ataçmanı deneylerinde kullanılmak üzere her bir tam seramik materyalinden Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda hassas kesme cihazı (ISOMET 1000 precision saw; Buehler, Dusseldorf, Almanya) kullanılarak ISO standardı 10993-5 (yüzey alanı-örneklerin bekletileceği hücre kültürü medyası hacmi, 3 cm<sup>2</sup>/ml)'e göre 48 adet kesit alındı (Şekil 2.1). Alınan bu kesitlerden proliferasyon ve gen ekspresyonu deneyleri için 3 tanesini 3 gün, 3 tanesini ise 10 gün boyunca hücre kültürü ortamında bekletmek amacıyla 6 adet kesit, hücre ataçmanı deneyi için ise 1 tanesi 3. gün fiksasyon, 1 tanesi 10. gün fiksasyon olmak üzere 2 adet olmak üzere her bir seramik

materyalden toplam 8 adet kesit elde edildi. Kesitlerin eldesinde ISO standardı 10993-5 (yüzey alanı-örneklerin bekletileceği hücre kültürü medyası hacmi, 3 cm<sup>2</sup>/ml) göz önüne alınarak proliferasyon deneyleri ve mRNA ekspresyon deneyleri için; Lava ultimate (15x15x4 mm), diğer materyaller (14x12x5 mm), hücre ataçmanı deneyleri için ise Lava Ultimate grubundan (15x15x2 mm), diğer materyallerden ise (14x12x2 mm) boyutlarında kesitler alındı.

Her bir seramik materyalden deney planı doğrultusunda kesitler alındıktan sonra materyallerin ağız ortamındaki uygulamalarını taklit etmek amacıyla Vita Suprinity ve IPS e-max CAD seramik örneklere Programat EP5000 (Ivoclar Vivadent) ve Vita Vacumat 6000MP (Vita Zahnfabrik) sinterizasyon fırınlarında üretici firmanın talimatları doğrultusunda sinterizasyon işlemi uygulandı (Tablo 2.2). Bunu takiben bütün materyallere üretici firmanın talimatlarına sadık kalınarak Özel Akademik Dental Estetik Laboratuvarı'nda polisaj işlemleri yapıldı. Bu amaçla EC, VM, EM, VS, örneklere elmas aşındırıcı polisaj diskleri (Acurata, Thurmansbang, Almanya) ile üretici firmanın talimatları doğrultusunda, mavi, gri, beyaz sıralamasıyla, dakikada 10000 devirde 15 sn süre susuz olarak; VE, LU örneklere ise Vita Enamic seramik blokların kendi sisteminde bulunan iki aşamalı laboratuvar bitirme kiti (Technical Kit, VITA Zahnfabrik, Bad Sackingen, Almanya) kullanılarak bitirme ve polisaj işlemi yapıldı. Bu bağlamda ilk olarak set içerisinde bulunan pembe renkli ön polisaj frezleri dakikada 7500 devirde, sonrasında gri renkli son polisaj frezi dakikada 5000 devirde çalışan elektrikli mikromotor cihazı (KaVo Dental GmbH) kullanılarak bitirme ve polisaj işlemleri tamamlandı.



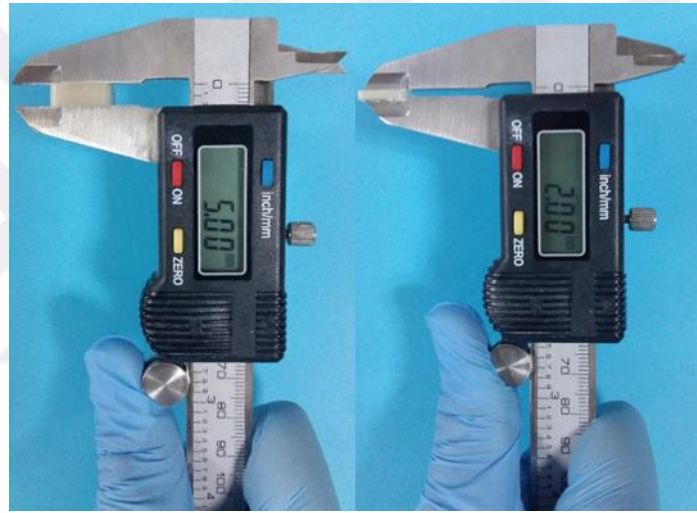
**Şekil 2.1.** a) IPS Empress CAD Örnekler. b) Vita Mark II Örnekler. c) IPS e.max CAD Örnekler. d) Vita Suprinity Örnekler. e) Vita Enamic Örnekler. f) Lava Ultimate Örnekler. g) Sinterizasyon öncesi Vita Suprinity ve IPS e.max CAD örnekler. h) CAD-CAM tam seramik örnekler



**Tablo 2.2.** Vita Suprinity ve IPS e-max CAD seramik blokların sinterizasyon döngüsü

	Vita Suprinity	IPS e-max CAD
Başlangıç Sıcaklığı (°C)	400	403
Başlangıç Sıcaklığında Bekleme zamanı (dk.)	8.00	6.00
Sıcaklık artış oranı (°C/dk)	55	90
Kristalizasyon sıcaklığı (°C)	840	820
Bekleme zamanı (dk.)	8.00	7.00
Bitim sıcaklığı (°C)	680	700

Örneklerin kalınlıkları 0,01 mm doğruluk ve tekrarlanabilirliğe sahip dijital mikrometre (Astor, Digital Caliper) ile ölçüldü (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2.** Dijital mikrometre ile örnek kalınlıklarının ölçümü

### 2.1.1 Materyallerin sterilizasyonu

Araştırma kapsamında hazırlanan seramik materyaller, hücre kültürü deneylerinde kullanılabilir hale gelmeleri için distile su ile yapılan ön temizleme işlemi sonrasında standart basınçlı buhar otoklavı ile (134°C, 2 atm basınç altında) steril edildi. Steril edilen materyallerin her bir yüzeyi deney öncesinde 15 saniye laminar flow kabin altında UV ışığa maruz bırakıldı.

### 2.1.2 Materyallerin deneyler için hazırlanması

Araştırma kapsamında ISO standardı 10993-5 (yüzey alanı-örneklerin bekletileceği hücre kültürü medyası hacmi, 3 cm<sup>2</sup>/ml)'e göre kesilip steril hale getirilen

seramik materyaller, proliferasyon ve gen ekspresyonu deneyleri için hazırlandı. Bu amaçla her bir gruptan 14x12x5 mm boyutlarında 3'er adet seramik materyal kullanılarak 18 cm<sup>2</sup>' lik yüzey alanı elde edildi. Elde edilen materyaller 6 ml % 10 fetal bovine serum (FBS, Gibco, Waltham, USA), Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM, Gibco, Waltham, USA) (Şeki 2.2.b) içeren tüpler içerisinde 3 gün boyunca % 5 CO<sub>2</sub>'li hücre kültürü inkübatöründe bekletildi. Böylece materyallerden 3 gün boyunca salınanları içeren hücre kültürü ortamı (3-HKO) elde edildi. Aynı işlem 10 gün boyunca tekrarlanarak materyallerden 10 gün boyunca salınanları içeren hücre kültürü ortamı (10-HKO) elde edildi (Şekil 2.3, a, c).

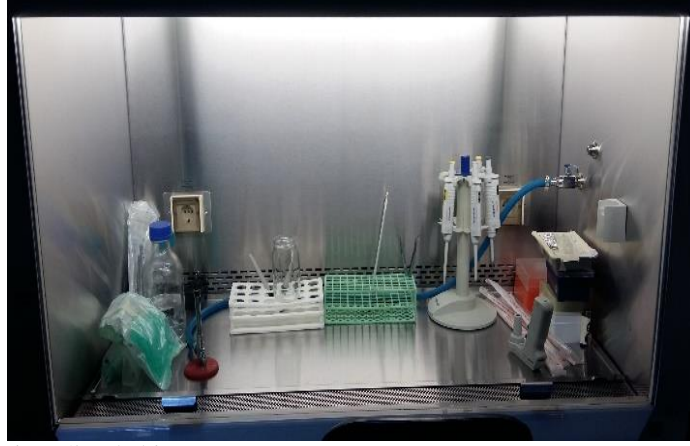


**Şekil 2.3.** a) Materyallerin DMEM içerisinde 3 ve 10 gün bekletilmesi. b) Fetal bovine serum, DMEM. c) Materyallerin İnkübatörde Bekletilmesi

## 2.2 İnsan Gingival Fibroblast Hücrelerinin Eldesi

Deneylerde kullanılan insan gingival fibroblast (İGF) hücreleri önceki araştırmalar kapsamında sağlıklı dişeti dokusundan izole edilip pasaj 3 aşamasında stoklarda muhafaza edildi. Deney başlangıcı öncesinde, dondurulmuş hücreler laminar flow kabin (Şekil 2.4) altında % 10 FBS, *penicillin streptomycin glutamine* (PSG, Gibco, Waltham, USA ) içeren DMEM ile çözümlenerek %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatöre kaldırıldı. Gün aşırı hücrelerin ortamı %10 FBS DMEM ile değiştirilerek İGF'lerin deney için uygun proliferasyona ulaşması sağlandı. Deneyler öncesinde İGF

hücrelerinin morfolojisi faz kontrast mikroskobu (Nikon Eclipse TS100, Japan) ile incelendi (Şekil 2.5).



Şekil 2.4. Laminar *flow* kabin



Şekil 2.5. Faz kontrast mikroskobu

### 2.3 Hücre Proliferasyon Deneyleri

Proliferasyon deneylerinde *xCELLigence* monitarizasyon sistemi kullanılarak, İGF hücrelerinin 3 ve 10 HKO ile muamele edilmesi sonucundaki proliferasyon düzeyleri gerçek zamanlı olarak değerlendirildi. Deney kapsamında her bir grup 6 kuyu içerecek (n=6) ve her bir kuyuda 10.000 İGF hücresi olacak şekilde gruplar oluşturuldu (Tablo 2. 3).

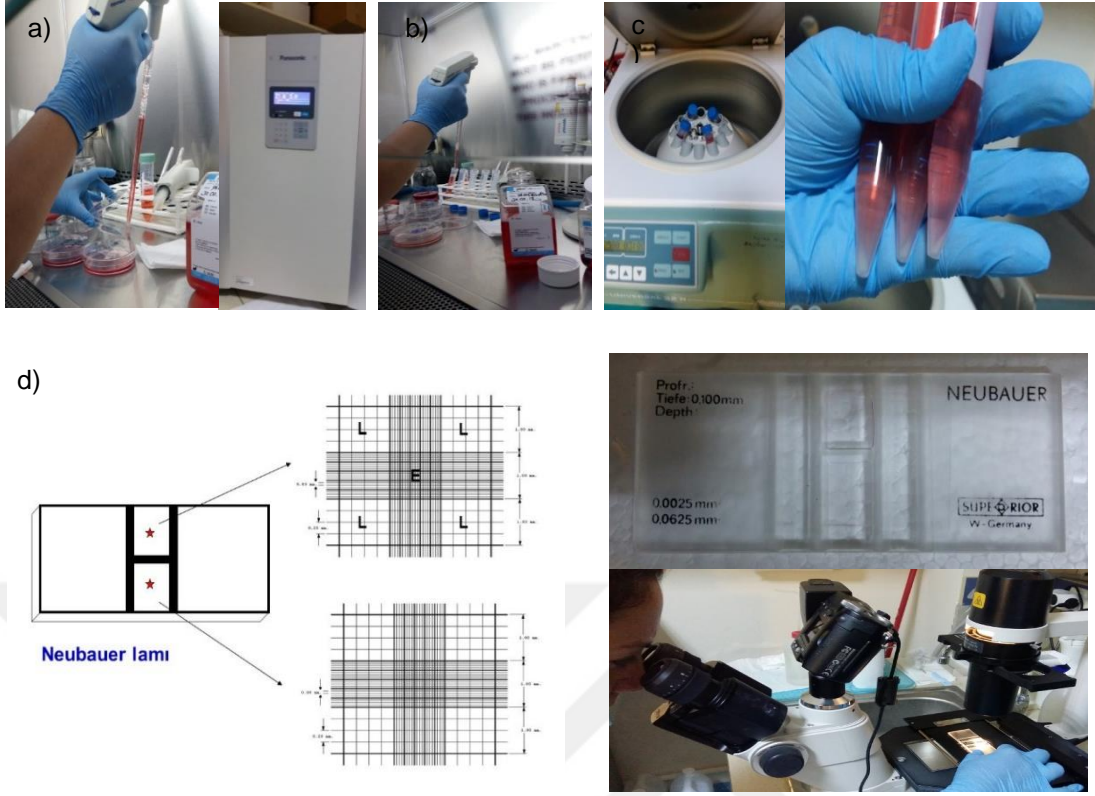
**Tablo 2.3.** Deney gruplarının *view plate* yerleşimi

DENEY GRUPLARI	
Kontrol-3. Gün	Kontrol-10. Gün
IPS Empress CAD-3. Gün	IPS Empress CAD-10. Gün
Vita Mark 2- 3. Gün	Vita Mark 2- 10.Gün
IPS e-max CAD-3. Gün	IPS e-max CAD- 10.Gün
Vita Suprinity-3. Gün	Vita Suprinity-10. Gün
Vita Enamic-3. Gün	Vita Enamic-10. Gün
Lava Ultimate-3. Gün	Lava Ultimate-10. Gün
Negatif Kontrol-Hücretsiz	Negatif Kontrol-Hücretsiz



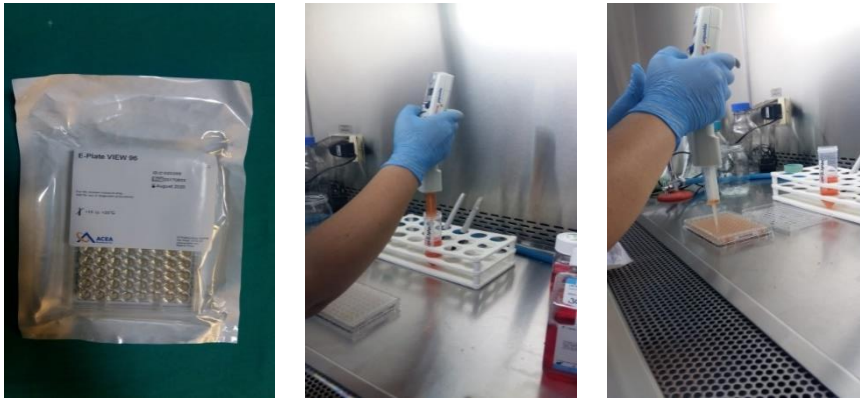
Proliferasyon deneyi için inkübatörde idame edilen İGF (pasaj 3) hücrelerinin DMEM'leri aspire edilip *phosphate buffer salin* (PBS, Biological Industries, Kibbutz Beik Haemek, Israel) ile yıkandı. Sonrasında üzerlerine 3'er ml tripsin enzimi (Gibco, Waltham, USA) eklenerek 5 dakika inkübe edilerek (ETÜV, 37 °C, %5) hücrelerin adherent hallerinden süspansiyon hallerine dönmeleri sağlandı (Şekil 2.6.a). Sonrasında inkübatörden çıkarılan tripsin enzimi içeren İGF hücreleri üzerine 5 ml %10 FBS DMEM eklenerek enzimin çalışması inhibe edildi. Devamında süspansiyon haline gelen İGF hücreleri serolojik pipetle (Costar, NY, USA) 15 ml' lik *falcon* tüplere toplanarak (Şekil 2.6.b) oda ısısında 2500 rpm'de 3 dk santrifüj edilip hücrelerin tüpün tabanında pellet oluşturmaları sağlandı (Şekil 2.6.c.). Santrifüj sonrasında hücre peleti üzerindeki DMEM-tripsin karışımı uzaklaştırılıp İGF hücreleri %10 FBS içeren DMEM ile süspanse edilip *neubauer* lamında belirlenen alanlar sayıldı. Böylece elimizdeki hücre süspansiyonunun 1 ml'sindeki İGF sayısı belirlendi (Şekil 2.6.d).



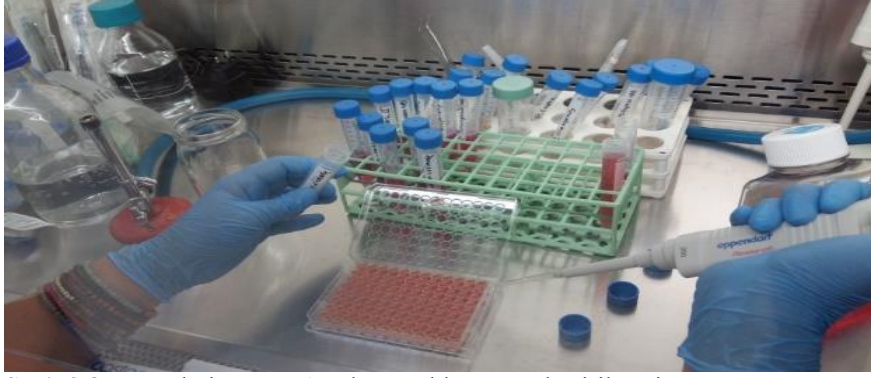


**Şekil 2.6.** a) İnsan gingival fibroblast hücrelerinin tripsin enzimi ile muamele edilmesi ve inkübatörde bekletilmesi. b) Çözeltinin *falcon* tüplerine yerleştirilmesi. c) *Falcon* tüplerinin santrifüje edilip hücre pelletlerinin elde edilmesi. d) *Neubauer* lamında hücre sayımı

Bu işlem sonrasında 96 yuvalı *view plate* (Acea, San Diego, USA)'in her bir kuyusuna 100  $\mu$ L %10 FBS DMEM eklenip (Şekil 2.7) 30 dakika oda ısısında bekletilip hücresiz olarak *background* ölçümü yapıldı. Böylece *xcelligence* cihazının ön işlemi tamamlandı. Devamında *view plate*'in her bir kuyusuna içerisinde 10.000 İGF olacak şekilde 100  $\mu$ L İGF süspansiyonu eklenerek (Şekil 2.8) 15 dakika inkübatör içerisinde bekletildi.

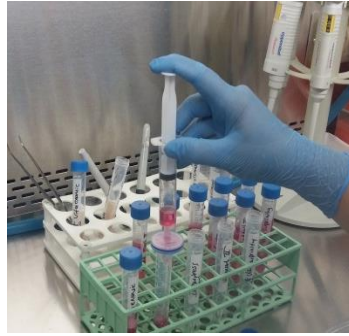


**Şekil 2.7.** DMEM, FBS çözeltisinin *view plate* kuyucuklarına yerleştirilmesi

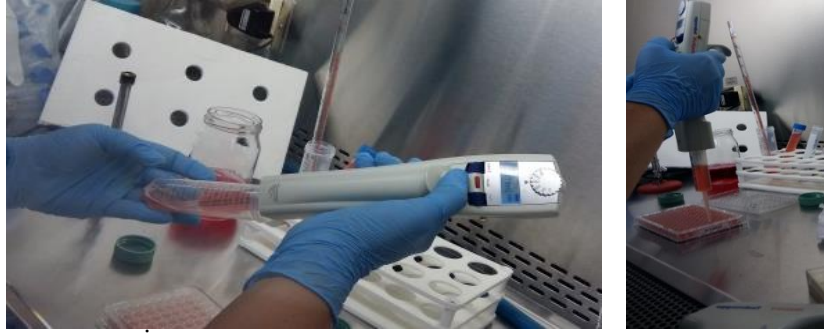


Şekil 2.8. Hücrelerin *view plate* kuyucuklarına yerleştirilmesi

Sonrasında her bir kuyuda 10.000 İGF hücresi bulunan *view plate* xcelligence cihazına yerleştirilerek hücrelerin proliferasyonu her 15 dakikada bir ölçüm alınarak 24 saat boyunca kantitatif olarak takip edildi. Deneyin kurulmasını takip eden 24 saat sonrasında 3 ve 10 gün boyunca inkübatörde bekletilen seramik materyallerin üzerlerindeki DMEM, 0.20 µm'lık filtre (Sartorius, Göttingen, Germany) (Şekil 2.9.) ile süzülerek steril hale getirildi. Bu işlemin devamında materyallerden elde edilen ekstratlar *view plate* içerisindeki İGF hücrelerine uygun gruplar doğrultusunda uygulanarak (Şekil 2.10.) *view plate* tekrar xcelligence cihazına yerleştirildi. Her 15 dakikada ölçüm alınarak 200 saat boyunca hücre proliferasyonları belirlendi.



Şekil 2.9. Ekstratların filtre edilmesi



Şekil 2.10. Ekstratların İGF hücreleri ile muamele edilmesi

## 2.4 mRNA Ekspresyon Deneşleri

Farklı CAD/CAM tam seramik materyallerden elde edilen 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilen İGF hücrelerinin; SOD, GPX, IL-1 $\beta$ , TNF-alfa, IL-6, IL-8, IL-10, MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 genlerinin mRNA ekspresyon düzeylerine etkisini belirlemek amacıyla *real-time polymerase chain reaction* (RT-PCR) deneşleri yapıldı.

### 2.4.1 İnsan gingival fibroblast hücrelerinden RNA izolasyonu

Hücrelerin, seramik materyallerden salınan maddeleri içeren DMEM ile muamele edilmeleri sonrasındaki RNA izolasyonları aşağıdaki grupları içerecek şekilde yapıldı (Şekil 2.11).

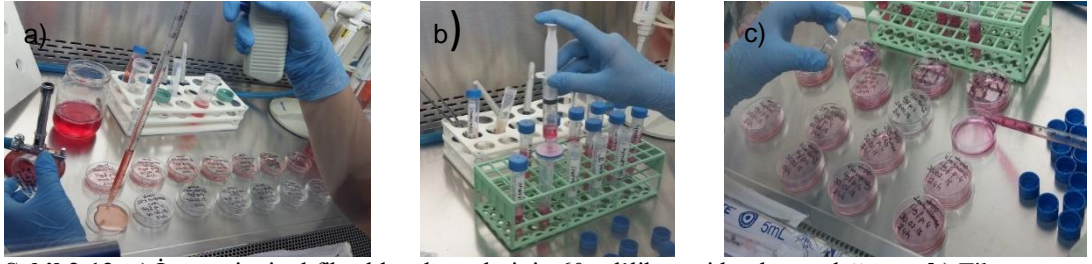


Şekil 2.11. RNA izolasyonu gruplarının şeması

Bu amaçla İGF (pasaj 3) hücreleri cm<sup>2</sup>'de 25.000 hücre olacak şekilde 60 mm'lik hücre kültürü petrilere dağıtılıp (Şekil 2.12.a) inkübatöre yerleştirildi. Devam eden 24 saat sonrasında hücrelerin morfolojileri faz-kontrast mikroskopunda kontrol edilip her bir deney grubuna 3 ve 10 gün sonunda elde edilmiş ekstratlar ilave



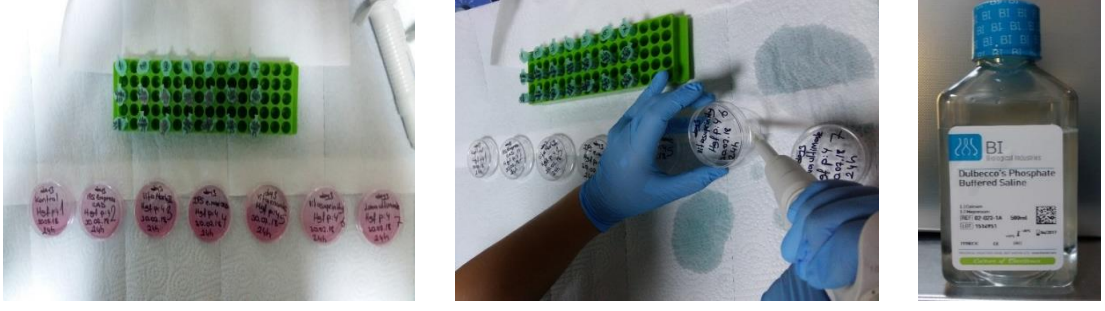
edilip tekrar inkübe edildi (Şekil 2.12.b,c). Hücrelerin ekstratlar ile muamele edilmesini takip eden 24. saatte RNA izolasyonları gerçekleştirildi.



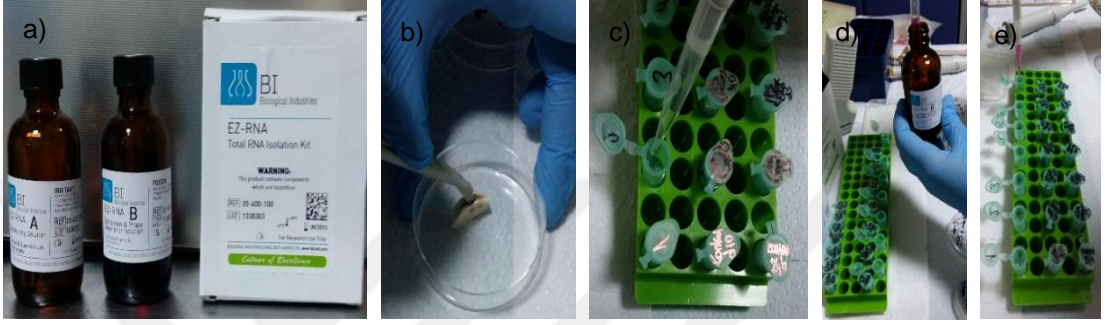
**Şekil 2.12.** a) İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 60 ml'lik petri kaplarına dağıtımı. b) Filtrasyon. c) Filtre edilen ekstratın İGF hücreleri ile muamele edilmesi

Hücrelerden RNA izolasyonları öncesinde her bir gruptan *inverted* mikroskop altında fotoğraf alındı. Sonrasında kullanmış olduğumuz RNA izolasyon kitinin (Biological Industries, Kibbutz Beik Haemek, Israel) protokolü takip edildi. Bu amaçla hücreler üzerindeki DMEM aspire edilip hücreler 1 ml PBS ile yıkandı (Şekil 2.13). Ardından her bir petriye RNA izolasyon kitinin EZ-RNA-A (guanidinium thiocyanate) solüsyonundan 500 µl ilave edilip Diethyl pyrocarbonate (DEPC, Amresco, Cochran Road Solon, USA) içeren su ile yıkayıp RNase Zap12 ile temizlenen hücre kazıyıcılarıyla bütün yüzeyde gezilerek hücrelerin lize edilmesi sağlandı. Sonrasında elde edilen hücre karışımı *RNAase-DNAase free* polipropilen tüplere toplandı (Şekil 2.14 a,b,c,d). Bu işlemin ardından tüplere izolasyon kitinin diğer bileşeni olan EZ-RNA-B solüsyonundan 500 µl ilave edildi (şekil 2.14,e). Tüplerin aynı süre vortekslenmesiyle elde edilen homojen karışım 4°C 12.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Böylece tüplerin içerisindeki karışımın altta protein ortada DNA en üstte RNA olmak üzere 3 faza ayrılması sağlandı. Bunlardan en üstteki RNA fazları diğerleriyle karıştırılmadan dikkatli bir şekilde farklı tüplere toplandı. Devamında RNA'ların degrade olmasını engellemek amacıyla her bir tüp içerisine 500 µl isopropanol alkol (Amresco, Cochran Road Solon, USA) ilave edilip vortekslenerek 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi (Şekil 15 a,b,c,d,e) Ardından tüpler tekrar 4°C 12.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Böylece tüplerin tabanında RNA peleti oluştuğu görüldü. Bu aşamada RNA'ların üzerindeki isopropanol aspire edilip yerine -20°C'de muhafaza ettiğimiz %75 EtOH, %25 DEPC oluşan karışımın 250 µl'si ilave edildi. Aynı işlemler 10 günlük ekstratlara da uygulandıktan sonra RNA örnekleri absorbanlarının ölçüleceği zamana kadar -80°C'de muhafaza edildiler (Şekil 2.15,f,g).

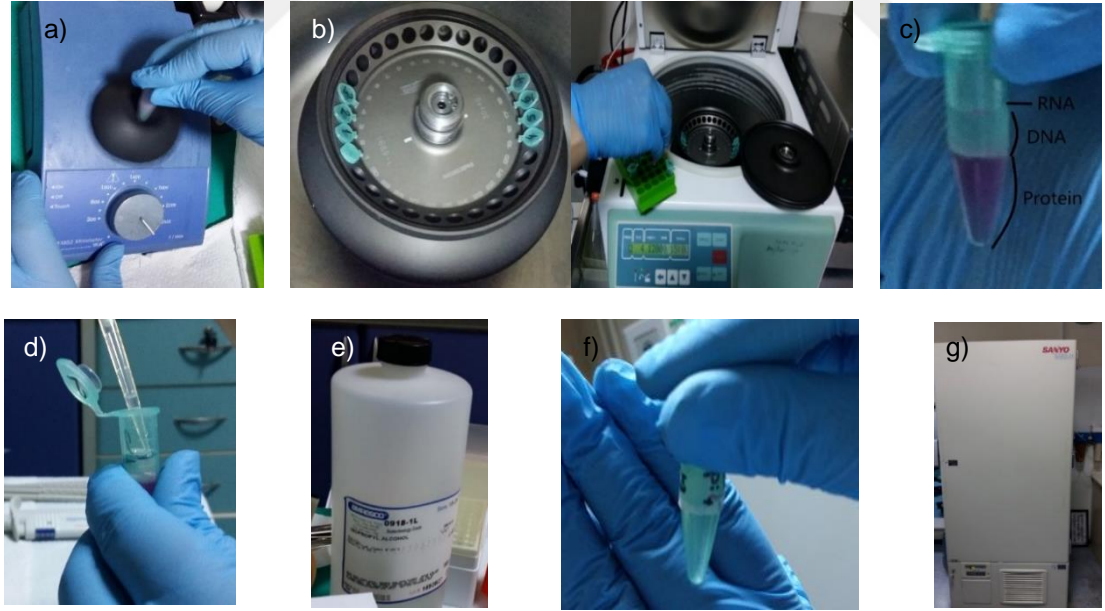




Şekil 2.13. PBS solüsyonu uygulanması



Şekil 2.14. a) RNA İzolasyon Kiti. b) Kazıyıcı. c) Propilen tüplere aktarma işlemi. d) B solüsyonu. e) Propilen tüplere B solüsyonu ilavesi



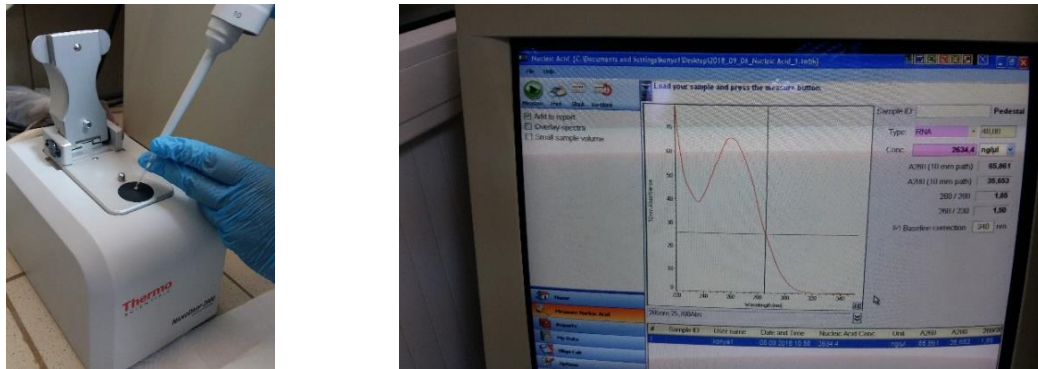
Şekil 2.15. a) Vorteksleme işlemi. b) Santrifüj işlemi. c) En alta protein, ortada DNA, en üstte RNA olmak üzere 3 faz. d) RNA fazlarının farklı tüplere aktarımı. e) İsopropil alkol ilavesi. f) İkinci santrifüj sonrası oluşan RNA peleti. g)  $-80^{\circ}\text{C}$  'de muhafaza edilmesi

## 2.4.2 RNA örneklerinin absorbanlarının ölçülmesi

Elde edilen RNA örnekleri muhafaza edildikleri  $-80^{\circ}\text{C}$ 'den çıkarıldıktan sonra  $4^{\circ}\text{C}$  12000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden çıkan örneklerin üzerindeki EtOH-DEPC dH<sub>2</sub>O karışımı dipteki RNA peletleri hareket ettirilmeden pipetman ile toplandı. Örneklerin ağzı açık bırakılarak içlerindeki alkol karışımının tamamen uçması sağlandı. RNA peletlerinin bulunduğu tüpler kapakları açık olarak *heat block* cihazında (Eppendorf Thermostat plus, Hamburg, Germany)  $65^{\circ}\text{C}$ 'de 5 dakika ısıtma işlemine tabi tutuldu (Şekil 2.16.a.b). Bu işlemin ardından RNA peletleri 20  $\mu\text{l}$  DEPC dH<sub>2</sub>O içerisinde pipetaj yapılarak homojenize edildi. Homojenize edilen RNA örneklerinin 1  $\mu\text{l}$ 'si spektrofotometrede (Thermo scientific, Nanodrop 2000, Wilmington, USA) okunarak her bir gruptan elde edilen total RNA miktarları ve saflık oranları elde edildi (Şekil 2.17). Deney gruplarından elde edilen RNA konsantrasyonları ve saflık oranları aşağıdaki tabloda gösterildi (Tablo 2.4).



Şekil 2.16. a) EtOH-DEPC dH<sub>2</sub>O karışımının toplanması. b) *Heat block* cihazında ısı ile muamele edilmesi



Şekil 2.17. RNA miktarları ve saflık oranlarının elde edilmesi

**Tablo 2.4.** RNA Örneklerinin Konsantrasyon ve Saflık Oranları

Deney grupları	Konsantrasyon(ng/uL)	260/280	260/230
Kontrol g3	2634	1.85	1.50
Vita Enamic g3	1989	1.89	1.49
IPS e-max CAD g3	1978	1.85	1.46
Lava Ultimate g3	1679	1.89	1.42
Vita Mark 2 g3	1912	1.90	1.36
Vita Suprinity g3	1986	1.91	1.41
IPS Empress CAD g3	1994	1.92	1.45
Kontrol g10	1996	1.92	1.44
Vita Enamic g10	1989	1.91	1.36
IPS e-max CAD g10	1914	1.90	1.37
Lava Ultimate g10	1945	1.91	1.36
Vita Mark 2 g10	1912	1.92	1.34
Vita Suprinity g10	1944	1.91	1.35
IPS Empress CAD g10	1956	1.89	1.34

### 2.4.3 Complementary DNA (cDNA) sentezi

Complementary DNA (cDNA) sentezi, cDNA sentez kitinin (Thermo scientific Wilmington, USA) protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. Bu işlem için her bir RNA örneğinden içerisinde 1 µg RNA bulunacak miktar hesaplanarak (Tablo 2.5) üzerlerine 1'er µl Oligo DT ve distile su (dH<sub>2</sub>O) eklenmesiyle 12 µl karışım elde edildi. Sonrasında karışım üzerine Tablo 2.6'daki bileşenler eklenerek son hacim 20 µl'ye tamamlandı.

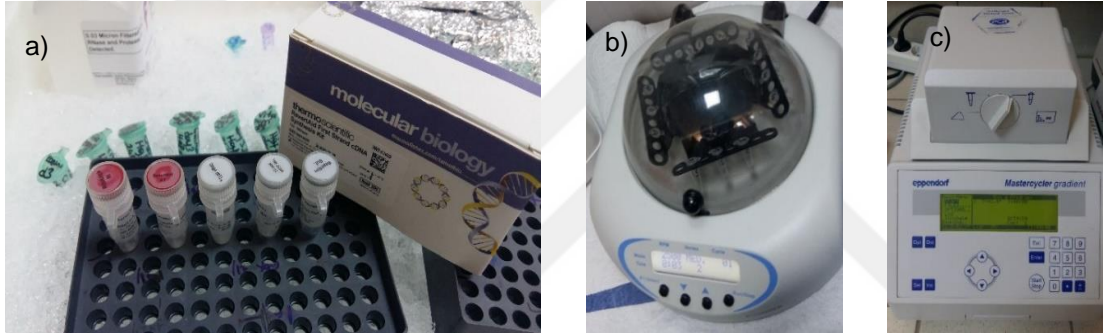
**Tablo 2.5.** 1 µg RNA için gerekli çözelti miktarları

Deney grupları	1 µg RNA	Oligo DT µl	ddH <sub>2</sub> O µl	Toplam µl
Kontrol g3	0.5	1	10.5	12 µl
Vita Enamic g3	0.5	1	10.5	12 µl
IPS e-max CAD g3	0.5	1	10.5	12 µl
Lava Ultimate g3	0.9	1	10.1	12 µl
Vita Mark 2 g3	0.7	1	10.3	12 µl
Vita Suprinity g3	0.6	1	10.4	12 µl
IPS Empress CAD g3	0.6	1	10.4	12 µl
Kontrol g10	0.8	1	10.2	12 µl
Vita Enamic g10	0.7	1	10.3	12 µl
IPS e-max CAD g10	0.6	1	10.4	12 µl
Lava Ultimate g10	0.5	1	10.5	12 µl
Vita Mark 2 g10	0.5	1	10.5	12 µl
Vita Suprinity g10	0.7	1	10.3	12 µl
IPS Empress CAD g10	0.8	1	10.2	12 µl

**Tablo 2.6.** Complementary DNA sentezi için gerekli bileşenler ve miktarları

5x Reaction Buffer	4 µl
Ribolock RNase inhibitor	1 µl
10 mm DNTP Mix	2 µl
RM reverse Transcriptase:	1 µl
<b>Toplam</b>	20 µl

Tüplerin santrifüje edilip karışmaları sağlandıktan sonra Polymerase chain reaction (PCR) cihazına yerleştirilip 42 °C’de 60 dakika, 70 °C’de 5 dakika, 4 °C’de 151 döngülerine maruz bırakıldı. Elde edilen cDNA’lar RT-PCR deneylerinde kullanılacakları zamana kadar -20°C ‘de muhafaza edildi (Şekil 2.18.a.b.c).



Şekil 2.18. a) cDNA sentez kiti. b) Santrifüj. c) Polymerase chain reaction (PCR) cihazı

## 2.4.4 RT-PCR deneyleri

Deneylerimizde protetik tam seramik materyallerinden iki farklı zamanda (3. gün ve 10.gün) elde edilen ekstratın İGF hücrelerindeki SOD, GPX, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-10, MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, Tip I Col genlerinin ekspresyon düzeyleri incelendi. Normalizasyon amacı ile GAPDH (house keeping gene) kullanıldı.

### 2.4.4.1 Primerlerin tasarım ve dizilimleri

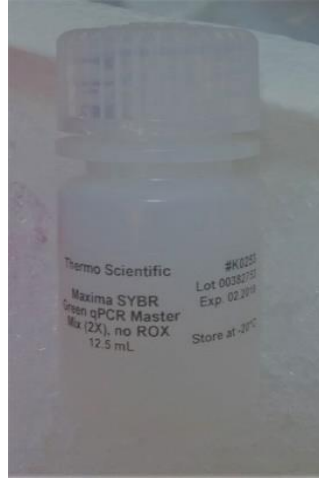
Hedef genlerin ekspresyonlarının tespiti amacıyla yapılan RT-PCR deneylerinde kullanılan insan primerleri ve sekansları tablo 2.7’de belirtildi.

**Tablo 2.7.** mRNA ekspresyonları incelenecek primerler (insan orijinli)

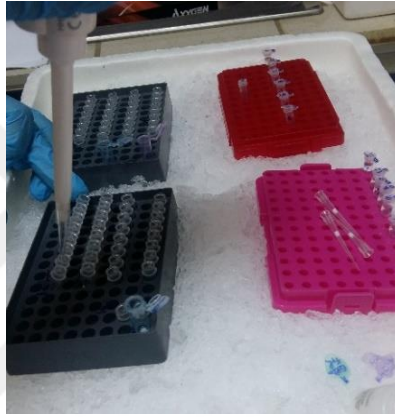
Primerler	Forward (5'-3')	Reverse (3'-5')
<b>SOD</b>	GTGTGGCCGATGTGTCTATTG	GCGTTTCCTGTCTTTGTA CTTTC
<b>GPX</b>	CGCTTATGACCGACCCCAAG	AGCAGGGCTTCGATGTCAGG
<b>IL-1 B</b>	CTGATGGCCCTAAACAGATGAA	TCGGAGATTTCGTAGCTGGAT
<b>TNF-a</b>	CCCAGGGACCTCTCTCTAATC	ATGGGCTACAGGCTTG TCACT
<b>IL-6</b>	GGTACATCCTCGACGGCATCT	GTGCCTCTTTGCTGCTTT CAC
<b>IL-8</b>	ACTGAGAGTGATTGAGAGTGGAC	AACCCTCTGCACCCAGTTTTC
<b>IL-10</b>	CATCGATTTCTTCCCTGTGAA	TCTTGGAGCTTATTAAAGGCATTC
<b>MMP-1</b>	CCTCGTTGGACCAAAACACA	GCGATGGCATCTTCCACAA
<b>MMP-2</b>	AACTTTGAGAAGGATGGCAAGT	TGCCACCCATGGTAAACAA
<b>MMP-3</b>	GGATTAATGGAGATGCTCACTTTG	GCAACCAGGAATAGGTTGGTA
<b>MMP-9</b>	GCCTCAAGTGGGACCATCAT	CTCGCGGCAAGTCTTCAGA
<b>TIMP-1</b>	GCAACTCGGACCTGGTCATAA	CTGGTATAAGGTGGTCTCGTTGATT
<b>TIMP-2</b>	GAGCCTGAACCACAGGTACCA	TCTGTGACCCAGTCCATCCA
<b>Col I</b>	GCGGCTCCCCATTTTTATACC	GCTCTCCTCCCATGTTAAATAGCAC
<b>GAPDH</b>	TGCACCACCAACTGCTTAG	GATGCAGGGATGATGTTCTG

Yapılan deneylerde SOD, GPX, IL-1B, TNF-alfa, IL-6, IL-8, IL-10, MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 genlerinin ekspresyon düzeyleri RT-PCR için gerekli tüm materyali içeren SYBR *Green Master Mix* uygulanarak incelendi. Bu amaçla Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix ile çalışıldı (Şekil 2.19). Deneylerde ekspresyonu incelenecek primerlerin tablo 2.8'deki reaksiyon bileşenlerine eklenmesiyle, reaksiyon hacmi her bir örnek için toplam 25 µl olarak hazırlandı (Şekil 2.20).





Şekil 2.19. SYBR Green Master Mix



Şekil 2.20. SYBR green miksle hazırlanan 25 µl reaksiyon hacmi bileşenleri oluşturulması

**Tablo 2.8.** SYBR Green Miksle Hazırlanan 25 µl Reaksiyon Hacmi Bileşenleri

Forward primer (50 pmol/µl)	0.5 µl
Reverse primer (50 pmol/µl)	0.5 µl
SYBR green master mix	12.5 µl
cDNA	2 µl
ddH <sub>2</sub> O	9.5 µl
<b>Toplam</b>	<b>25 µl</b>

Optik kapaklı tüpler içerisinde hazırlanan örnekler RT-PCR cihazına belirlenen düzen ile yerleştirildi (Şekil 2.21). Elde edilen bu karışımlar ile RT-PCR cihazında MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 için 95°C 10 dakika (1 döngü), 95°C 15 saniye, 55°C 1 dakika (40 döngü); SOD, GPX için 95°C 10 dakika (1 döngü), 95°C 15 saniye 59°C 1 dakika (40 döngü); IL-1 β, TNF-α için 95°C 10 dakika (1 döngü), 95°C 15 saniye 59°C 1 dakika (40 döngü); Col için 95°C 10 dakika (1 döngü), 95°C 15 saniye 59°C 1 dakika (40 döngü); IL-6, IL-8, IL-10 için 95°C 10 dakika (1 döngü), 95°C 15 saniye 59°C 1 dakika (40 döngü) olacak şekilde SYBR Green

boyasını okuması için FAM filtresini bulunduran Stratagene MX3000P *real-time* PCR cihazında çalışıldı. Her bir reaksiyon içerisinde 95°C’de 1 dakika, 55°C’de 30 saniye, 95°C’de 30 saniye (1 döngü) olarak *melting curve* analizleri yapıldı.



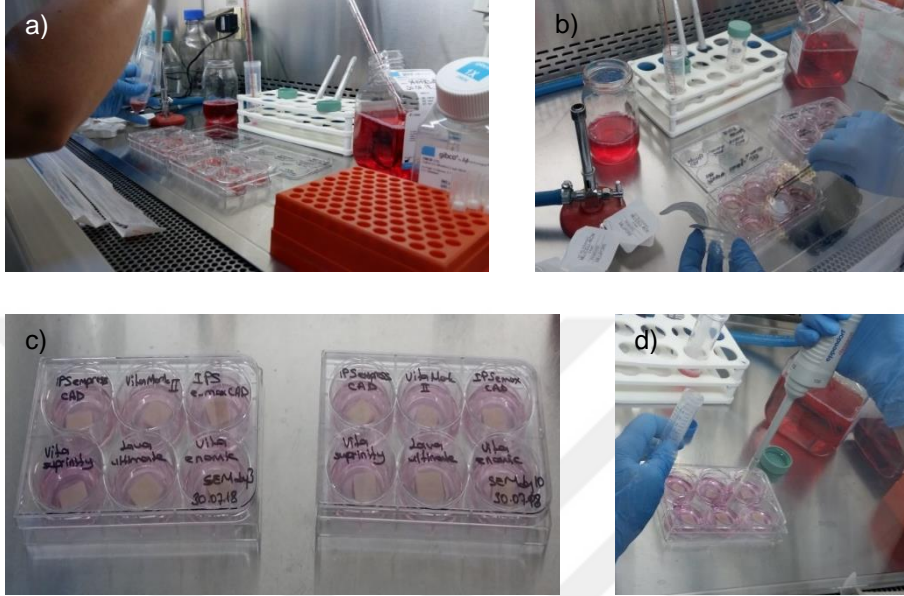
Şekil 2.21. RT-PCR cihazı

RT-PCR ile yapılan deneylerde başlangıçta ortamda tek zincirli cDNA molekülü, primerler ve reaksiyon tampon çözeltisi içinde SYBR *Green* boyası bulunmaktadır. Serbest cDNA molekülü tek zincirli olması sebebiyle az miktarda floresan ışımaya yapmaktadır. Primerler bağlanıp uzama başladığında ise SYBR *Green*, çift zincirli cDNA’nın arasına girerek floresan ışımaya yapmaktadır. İlk döngülerde az olan floresan ışımaya, oluşan ekspresyona bağlı olarak ilerleyen döngülerde hızla artmaktadır.

## 2.5 Hücre Ataçmanı Deneyleri

Hücrelerin CAD/CAM tam seramik materyallerinin yüzeylerine olan ataçman potansiyelleri, 14x12x2 mm boyutlarındaki yüzeyler üzerine 100.000 İGF hücresi eklendikten sonra 3. ve 10. günde fikse edilip SEM analizi ile değerlendirildi. Deney öncesinde İGF hücrelerinin tripsin enzimi ile muamele edilip deney için uygun hücre sayısı belirlendikten sonra 12 *well plate*’in her bir kuyusuna 1.25 ml % 10 FBS DMEM eklendi. Bu işlemi takiben her bir kuyuya *insert* yerleştirilip üzerlerine seramik materyaller konuldu (Şekil 2.22.a,b,c). Bu işlemin sonrasında her bir seramik materyal üzerine 100.000 İGF hücresi/25 µl eklenip gün aşırı DMEM’leri değiştirilerek planlanan deney süresince idame edildi (Şekil 2.22. d). Deneyin 3. gününde kuyucuklar içindeki DMEM aspire edildi. Ortamı yıkamak amacıyla her bir kuyuya 1’er ml PBS eklenerek yıkandı. Sonrasında her bir kuyuya 2 ml gluteraldehit (Merck,

Darmstadt, Almanya) eklenerek fikse edildi. *Plate* 1 saat oda sıcaklığında bekletilip parafin ile sarılarak analiz yapılacakları güne kadar 4°C’de saklandı. Deneyin 10. gün örnekleri için de aynı işlemler tekrarlandı. SEM incelemesi aşamasında örnekler liyofizitör ile kurutuldu. Hassas bir inceleme yapılabilmesi için önce yüzeyler ince bir altın tabaka ile kaplandı. Sonrasında SEM incelemesi yapıldı (Şekil 2.23. a, b, c).



Şekil 2.22. a) *Well plate* içerisine DMEM aktarımı. b) İnsertlerin *plate* içerisine yerleştirilmesi. c) Örneklerin *plate* içerisine yerleşimi. d) İnsan gingival fibroblast hücrelerinin örnekler üzerine yayımı



Şekil 2.23. a) Örneklerin liyofizitör cihazında kurutulması. b) Örneklerin altın yüzey kaplaması. c) SEM cihazı.



## 2.6 İstatistiksel Analiz

Proliferasyon deneyinde, materyaller arasında farklılık olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Yapılan değerlendirme sonucunda materyallerin kontrol grubuna göre karşılaştırması Dunnet Testi ile materyallerin kendi aralarındaki kıyaslamaları ise Tukey HSD Testi ile analiz edildi. *Real Time* PCR ile elde edilen sonuçların değerlendirmesinde karşılaştırmalı Ct yöntemi kullanıldı (Giuletti ve ark 2001, Livak ve Schmittgen 2001, Pfaffl 2001). Gruplardaki gen ekspresyonunun GAPDH'e göre artış ya da azalışları grafiklerle gösterildi.

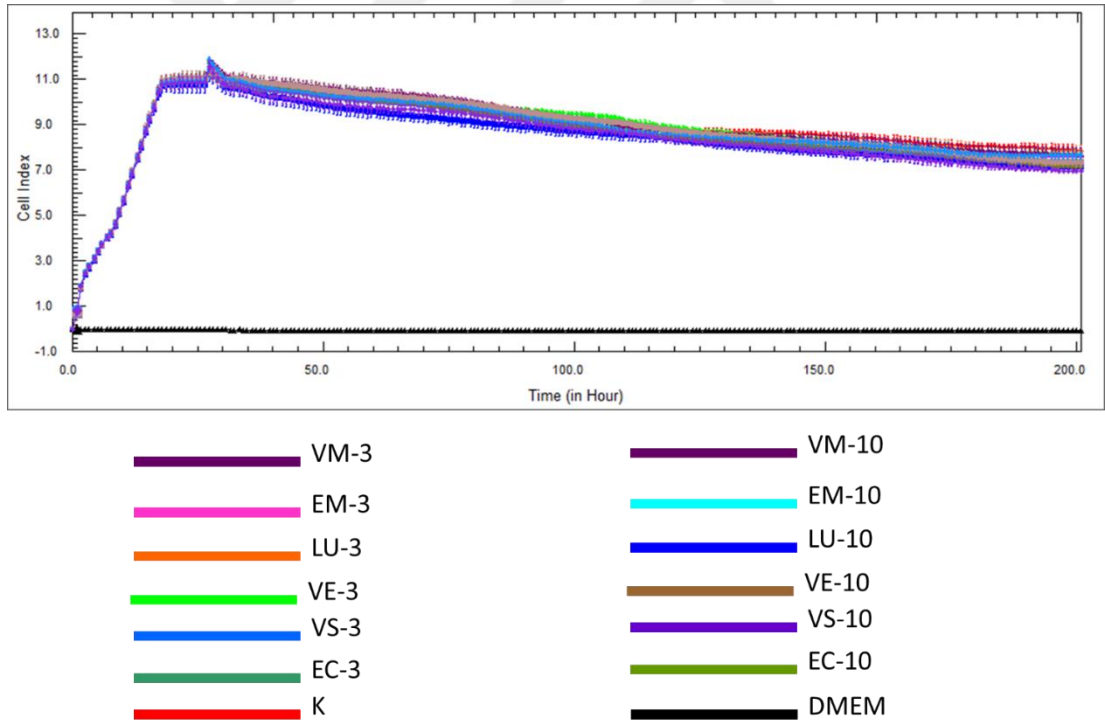


### 3. BULGULAR

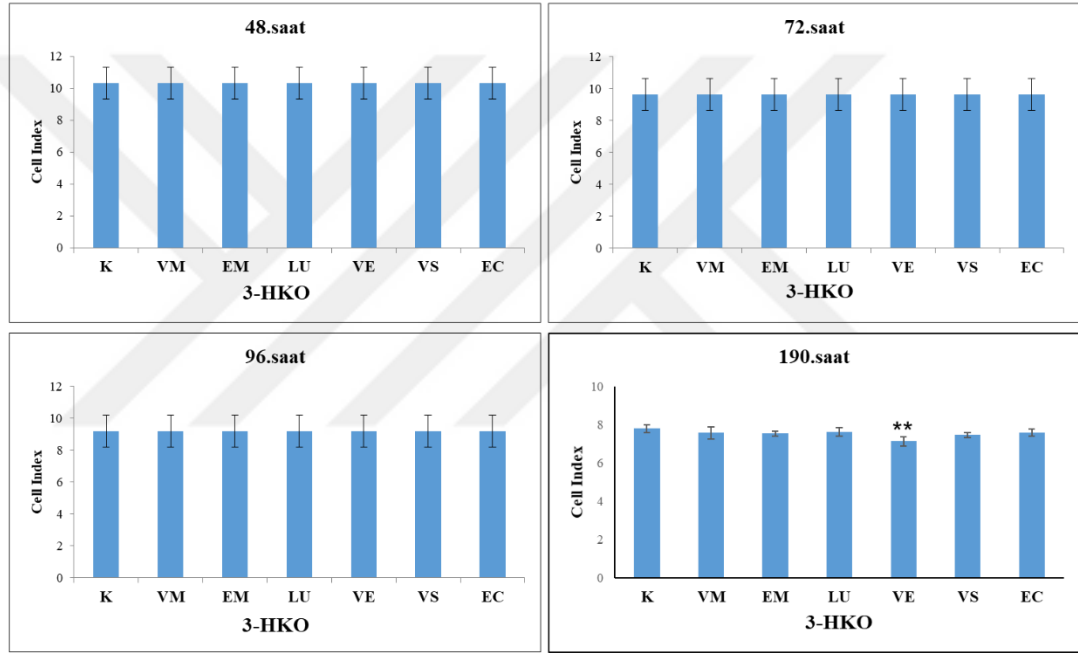
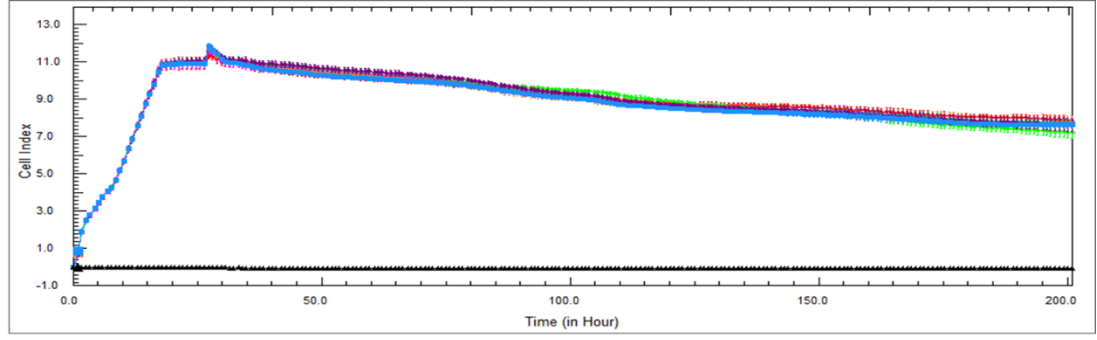
#### 3.1 Proliferasyon Deneyi Sonuçları

Proliferasyon deneylerinde *xCELLigence* monitarizasyon sistemi ile İGF hücrelerinin 3 ve 10 HKO ile muamelesi sonucundaki proliferasyon düzeyleri gerçek zamanlı olarak değerlendirildi. Deney kapsamında her bir grup 6 kuyu içerecek (n=6) ve her bir kuyuda 10.000 İGF hücresi olacak şekilde gruplar oluşturuldu.

Elde edilen sonuçlara göre, materyallerin 3. gün yaşlandırmalarının İGF hücrelerinin, hücre indekslerine olan etkileri arasında kontrol grubuna göre 48, 72 ve 96. saatlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ( $p>0.05$ ). Bununla birlikte aynı deney gruplarında (3. gün yaşlandırma) 190. saatte Vita Enamic grubunun İGF hücrelerinin proliferasyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı belirlendi ( $p<0.01$ )(Şekil 3.1)(Şekil 3.2).



Şekil 3.1. İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ve 10-HKO ile muamelesi sonucu proliferasyon grafiği



\*\* P<0.01 : Anlamli azalış

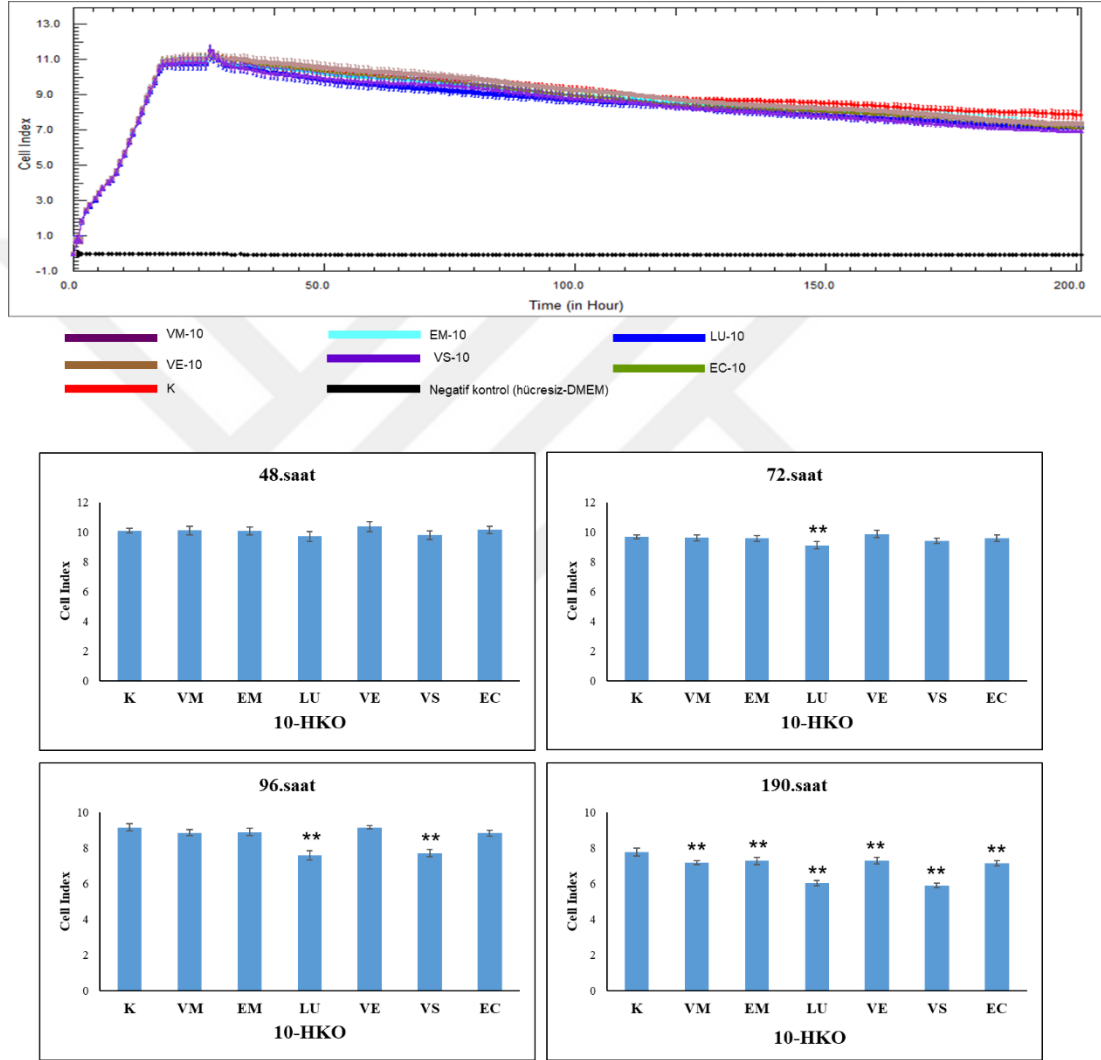
Şekil 3.2. İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamelesi sonucu proliferasyon grafiği

Diğer deney parametresi olan seramik materyallerinin 10 gün boyunca salınanları içeren hücre kültür ortamının İGF hücre proliferasyonuna olan etkisi de 3. gün gruplarıyla beraber aynı deney ortamında xcelligence ile analiz edildi. Elde edilen bulgulara göre; deneyin 48. saatinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ( $p>0.05$ ).

Deneyin 72. saatinde Lava Ultimate grubunun İGF hücrelerinin proliferasyonunu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü ( $p<0.01$ ).

Deneyin 96. saatinde ise, Lava Ultimate ve Vita Suprinity gruplarının kontrol grubuna göre İGF hücrelerinin proliferasyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı tespit edildi ( $p<0.01$ ).

Son olarak deneyin 190. saatinde deneyimizde kullandığımız bütün materyallerin, İGF hücrelerinin proliferasyonunu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü ( $p<0.01$ )(Şekil 3.1)(Şekil 3.3).



\*\*  $P<0.01$  : Anlamlı azalış

Şekil 3.3. İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 10-HKO ile muamelesi sonucu proliferasyon grafiği

Elde edilen sonuçlar ışığında, deney materyallerinden elde edilen DMEM'lerin hücrelere uygulanmasını takiben yaşayabilen hücre oranlarının, sitotoksosite derecelendirilmesi değerlerine (sitotoksosite skalası) göre değerlendirilmesi yapıldı.

Mosmann (1983), deney materyali uygulandıktan sonraki hücre canlılığı oranına göre sitotoksik etkiyi aşağıdaki skala ile derecelendirmiştir.

- %90 ve üzeri hücre canlılığı varlığı: sitotoksik değil
- %60-90 arası hücre canlılığı varlığı: hafif derecede sitotoksik
- %30-59 arası hücre canlılığı varlığı: orta derecede sitotoksik
- %30 ve altı hücre canlılığı varlığı: şiddetli derecede sitotoksik

Yukarıdaki skalaya göre; deney materyallerinden salınan DMEM'lerin uygulandığı hücre gruplarının yaşama oranları, tablodaki gibidir (Tablo 3.1). Buradan çalışmamızda kullandığımız bütün materyallerden LU ve VS'nin hafif derecede sitotoksik olduğu, diğer materyallerin ise sitotoksik olmadığı sonucuna ulaşabiliriz.

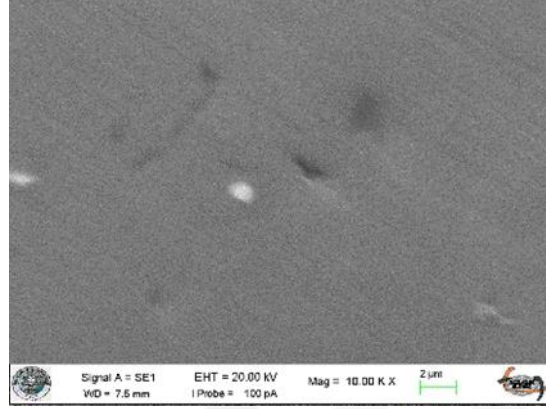
**Tablo 3.1.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, CAD/CAM tam seramik materyallerinden 3 ve 10 gün boyunca salınanları içeren hücre kültür ortamı ile muamele edilmesini takiben yaşama yüzdeleri

YÜZDE % TABLOSU	3-HKO				10-HKO			
	48 saat	72 saat	96 saat	190 saat	48 saat	72 saat	96 saat	190 saat
Kontrol	100	100	100	100	100	100	100	100
Vita Mark 2	100	100	100	97.2	100,01	100	96.7	92,1
Ips e-max CAD	100	100	100	96.7	100	100	97.0	93,6
Lava Ultimate	100	100	100	97.8	96,01	94,16	82.6	77,4
Vita Enamic	100	100	100	91.4	100,22	100	99.98	93,5
Vita Suprinity	100	100	100	95.7	97,02	97,20	84,13	75,6
IPS Empress CAD	100	100	100	97.3	100	100	96.41	91,7

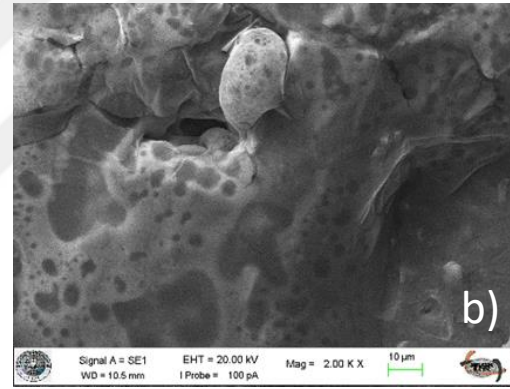
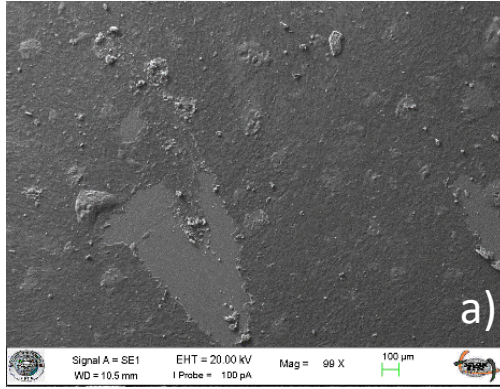
### 3.2 SEM Sonuçları

Hücrelerin CAD/CAM tam seramik materyallerinin yüzeylerine olan ataçman potansiyelleri 14x12x2 mm boyutlarındaki yüzeyler üzerine 100.000 İGF/25 µl hücresi eklendikten sonra 3. ve 10. günde fikse edilip SEM analizi ile değerlendirildi. Elde edilen sonuçlara göre; IPS Empress CAD materyalinde, kontrol grubunda pürüzsüz yüzeyler izlendi (Şekil 3.4). Hücre ekilmiş yüzeylerin morfolojileri incelendiğinde 3. gün fikse edilen örnek yüzeylerinde igf hücre atake olmamış yüzeylere rastlanırken (Şekil 3.5.a), 10 gün fikse edilen örneklerdeki boş alanların

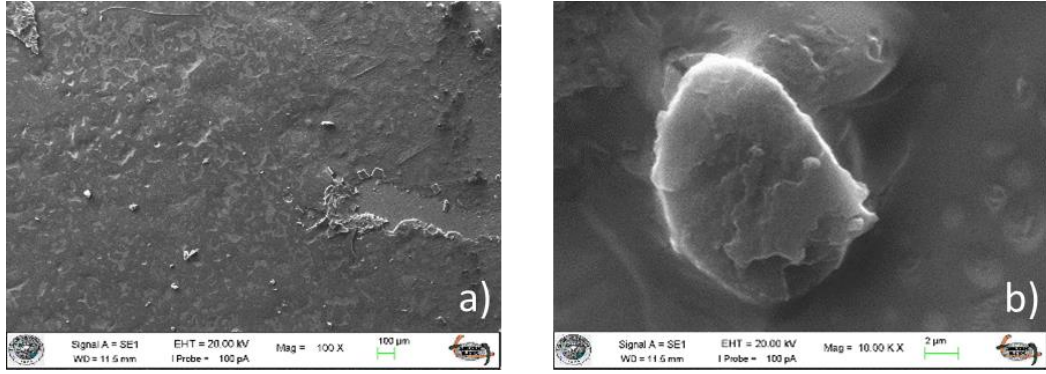
daha az olduğu saptandı (Şekil 3. 6.a). Bununla birlikte 10. gün fikse edilen örneklerde ise materyal ile fibroblast hücrelerinin temas sürelerinin uzatılmasıyla birlikte, hücre proliferasyonu ile ilgili tabakalaşma gözlemlendi (Şekil 3.6 a.b).



**Şekil 3.4.** IPS Empress CAD grubunun hücre ekilmemiş örneğinin yüzeyinin KX 1000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 2µm.

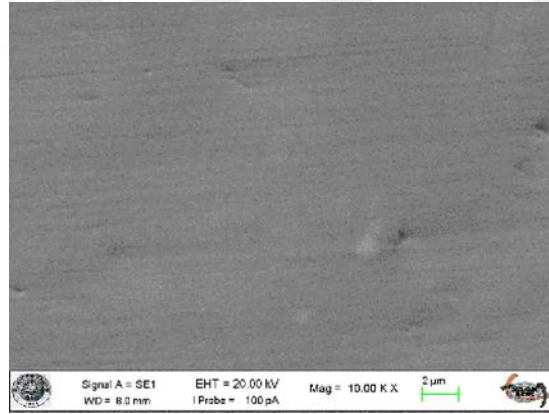


**Şekil 3.5.a.** IPS Empress CAD grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X99 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. **b.** IPS Empress CAD grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X200 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm



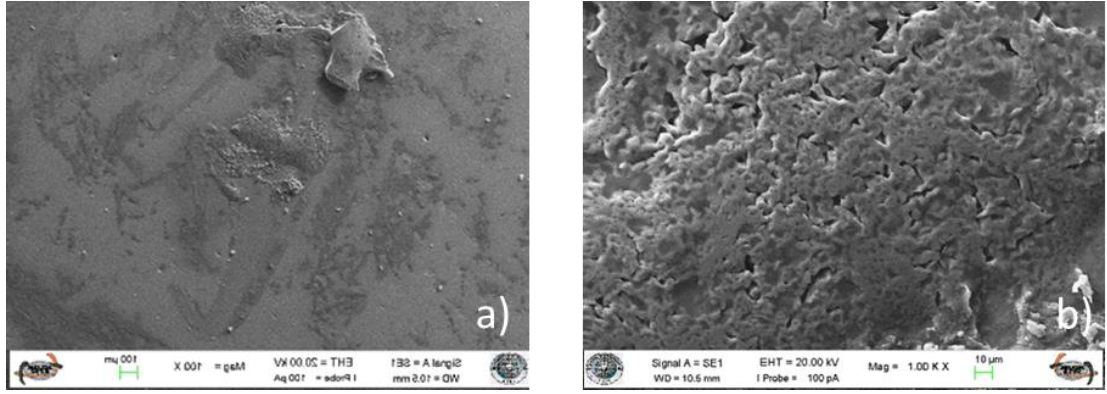
**Şekil 3.6. a.** IPS Empress CAD grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. **b.** IPS Empress CAD grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX1000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 2µm

Vita Mark II materyalinin kontrol grubunda materyalin yüzey morfolojisine uygun pürüzsüz bir yüzey görüldü (Şekil 3.7). Üçüncü gün fikse edilen örneklerde yüzey morfolojisi incelendiğinde fibroblast hücrelerinin 10. gün örneklerine göre daha az yüzey alanına atake olduğu gözlemlendi (Şekil 3.8.a). Ayrıca 10. gün örnek yüzeylerinde hücre katmanının kalınlaştığı izlendi (Şekil 3.9.a) Daha büyük büyütmelerde 3. ve 10. gün fikse edilen örneklerde ise hücrelerin sıkı interselüler matrikslerle birbirlerine bağlı oldukları gözlemlendi (Şekil 3.8.b, Şekil 3.9.b).

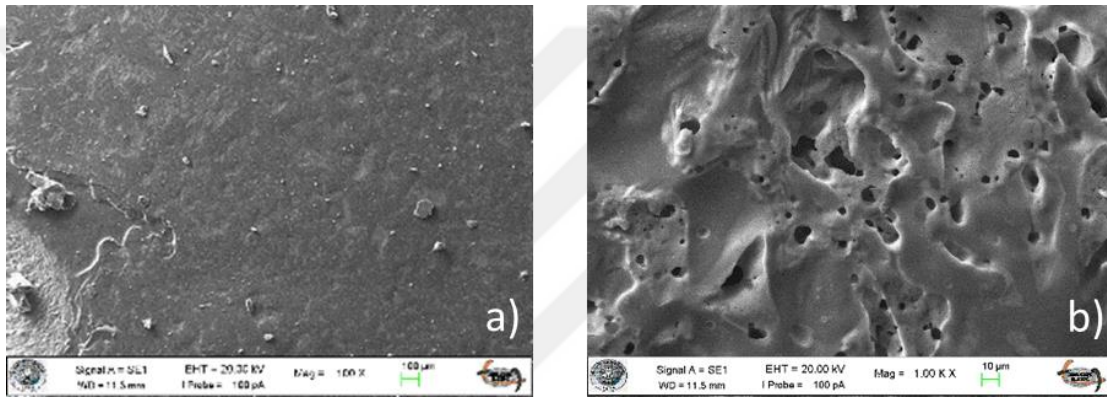


**Şekil 3.7.** Vita Mark II grubunun hücre ekilmemiş örneğinin yüzeyinin KX 1000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 2µm





**Şekil 3.8. a.** Vita Mark II grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. **b.** Vita Mark II grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

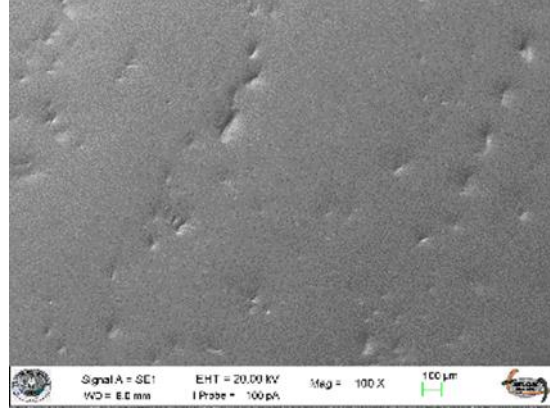


**Şekil 3.9. a.** Vita Mark II grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. **b.** Vita Mark II grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

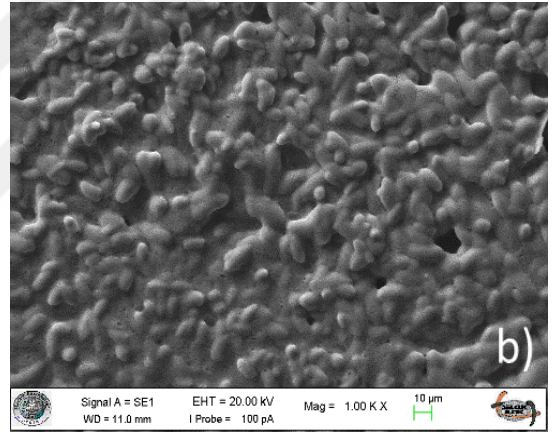
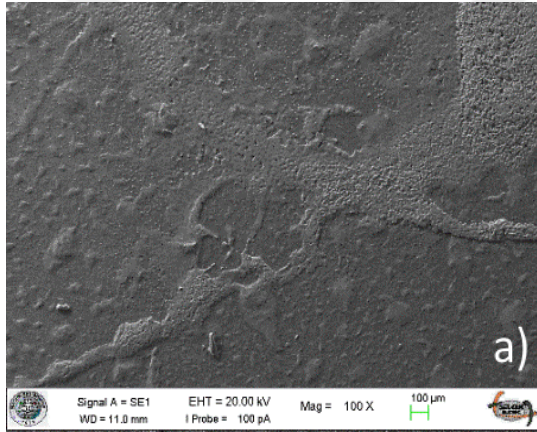
IPS e-max CAD grubunda hücre eklenmemiş kontrol grubunda düzgün yüzeyler görüldü (Şekil 3.10). Üçüncü gün fikse edilmiş materyal yüzeyinde diğer gruplara göre daha yoğun hücre popülasyonu olduğu belirlendi. Yer yer hücre katmanlarında yükselme gözlemlendi. Daha büyük büyütme ölçeklerinde ise hücrelerin yoğun ekstraselüler matriks üretimi gösterdiği gözlemlendi (Şekil 11 a,b). Onuncu gün fikse edilen örneklerde ise yoğun proliferasyonun devam ettiği ve intraselüler bağlantıların belirgin şekilde kalınlaştığı, yoğun hücre ağının kurulduğu saptandı (Şekil 3. 12 a,b).



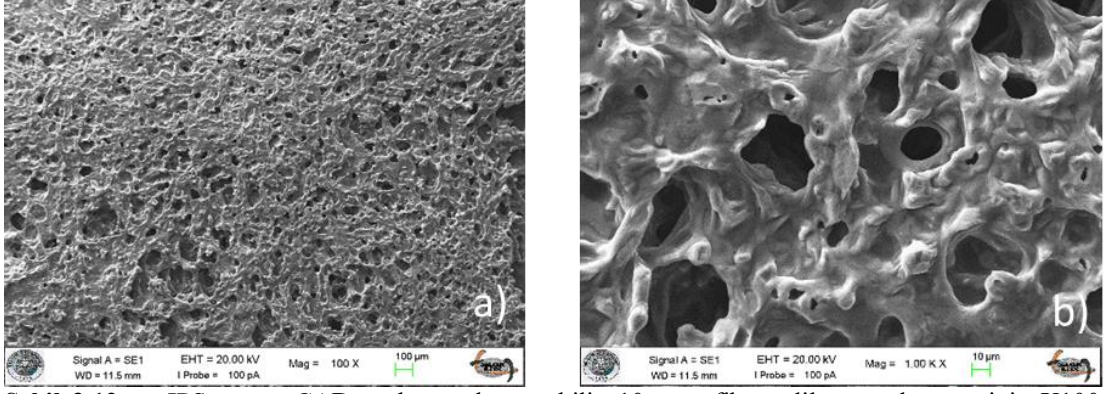
Böylelikle bütün deney materyalleri arasında EM grubunun hücre ataçmanı yönünden en uyumlu materyal olduğu düşünüldü.



**Şekil 3.10.** IPS e-max CAD grubunun hücre ekilmemiş örneğinin yüzeyinin X 100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm

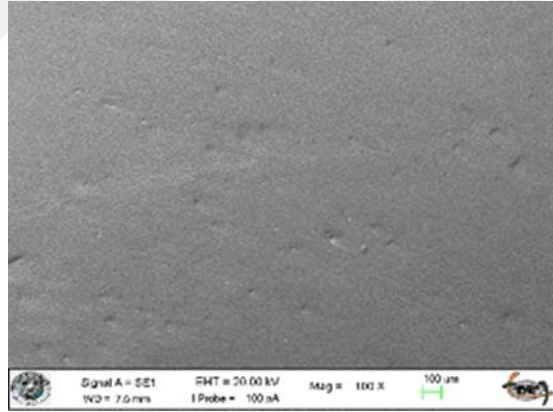


**Şekil 3.11. a.** IPS e-max CAD grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. **b.** IPS e-max CAD grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

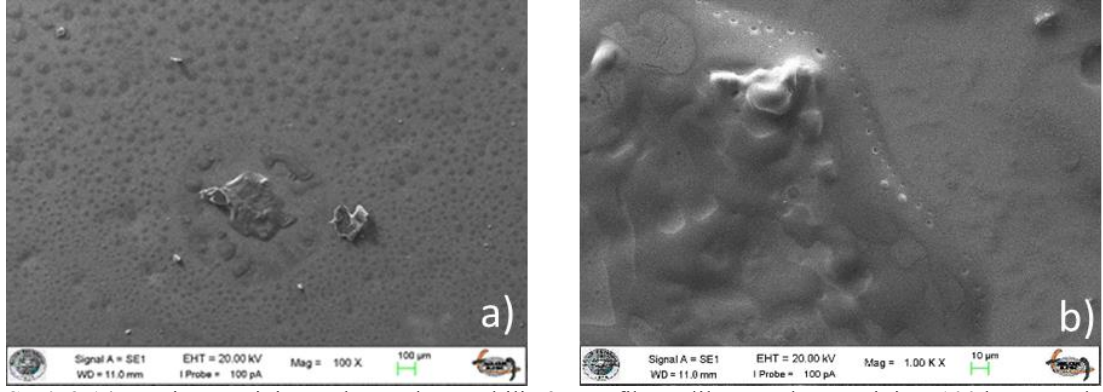


**Şekil 3.12. a.** IPS e-max CAD grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. **b.** IPS e-max CAD grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

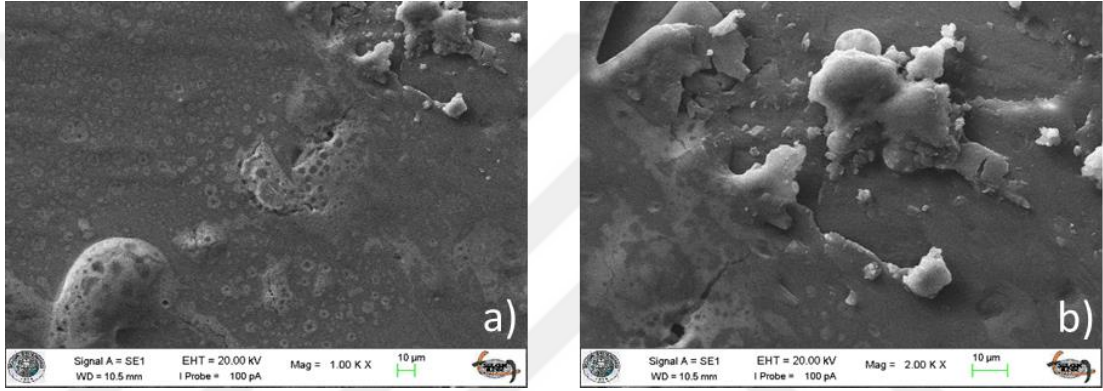
Vita Suprinity grubunda kontrol grubunun pürüzsüz düzgün morfolojide olduğu gözlemlendi (Şekil 3.13). Bu materyal üzerine ekilen ve 3. günde fikse edilen örneklerin İGF hücreleri incelendiğinde diğer materyallere göre birbirinden uzak hücre kümecikleri izlendi (şekil 3.14,a,b). Bununla birlikte hücre atake olan yüzeylerin atake olmayan yüzeylere oranının oldukça az olduğu saptandı. Onuncu gün fikse edilen örneklerde ise hücre proliferasyonunun arttığı gözlemlendi (şekil 3.15.a,b).



**Şekil 3.13.** Vita Suprinity grubunun hücre ekilmemiş örneğinin yüzeyinin X 100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm

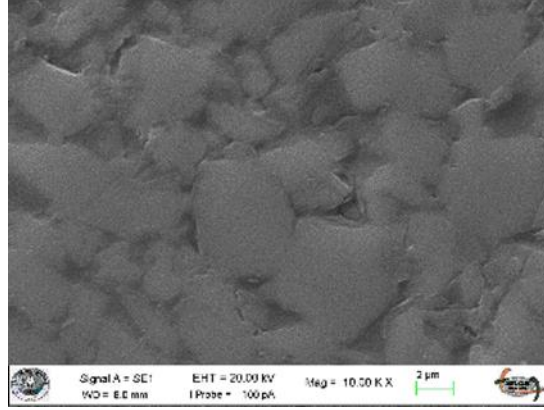


**Şekil 3.14. a.** Vita Suprinity grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. **b.** Vita Suprinity grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

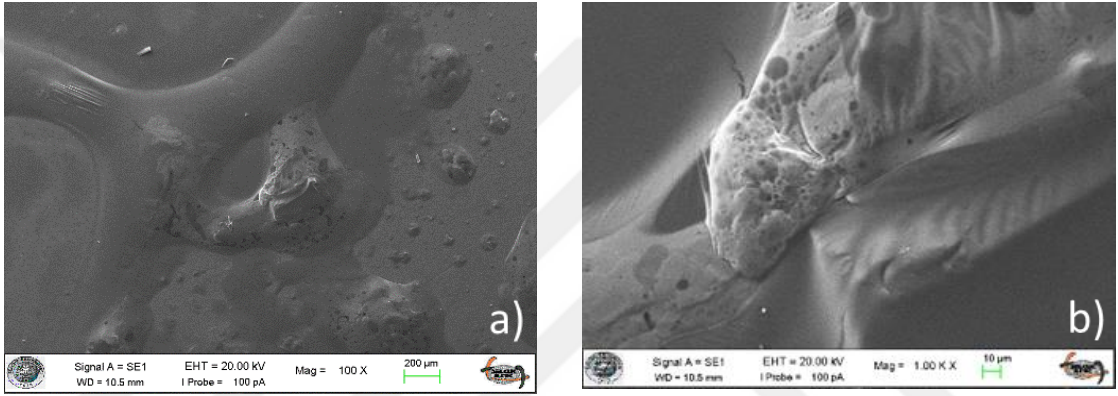


**Şekil 3.15.a.** Vita Suprinity grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm. **b.** Vita Suprinity grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX200 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

Vita Enamic grubunda kontrol grubunun polimer infiltre ağ seramiği morfolojisine uygun olarak farklı çaptaki yapıtaşlarından oluştuğu gözlemlendi (Şekil 3.16). 3. gün fikse edilen örnekler üzerindeki fibroblastların varlığı tespit edilmekle birlikte (Şekil 3. 17,a,b), 10. gün fikse edilen materyallerde ise daha fazla hücre olduğu belirlendi (şekil 3. 18, a,b).

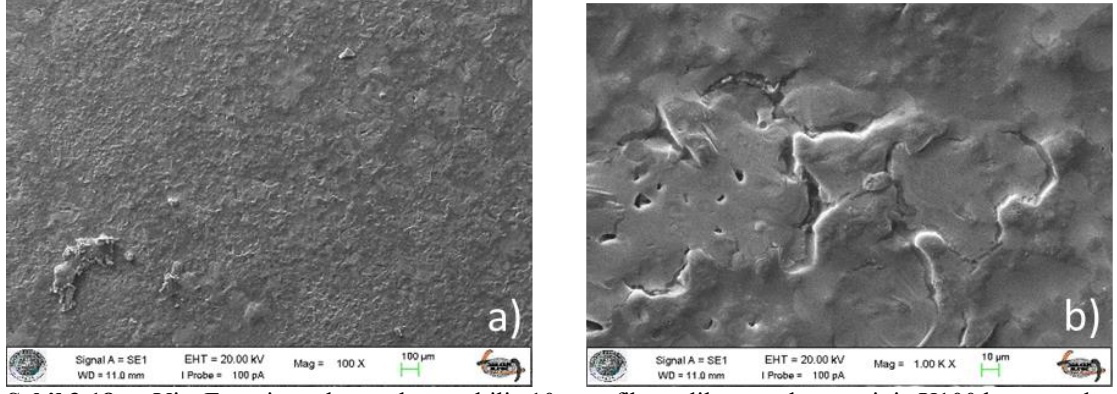


**Şekil 3.16.** Vita Enamic grubunun hücre ekilmemiş örneğinin yüzeyinin KX 1000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 2µm



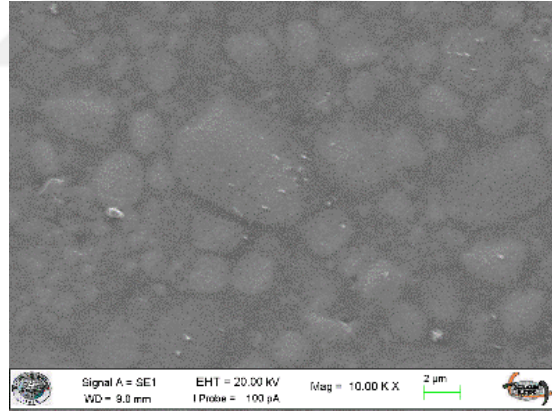
**Şekil 3.17. a.** Vita Enamic grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 200µm. **b.** Vita Enamic grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µ



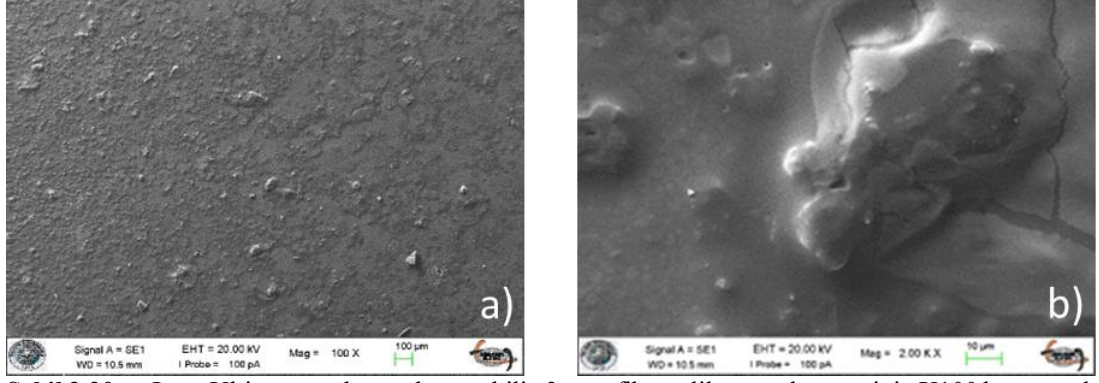


**Şekil 3.18. a.** Vita Enamic grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. **b.** Vita Enamic grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µ

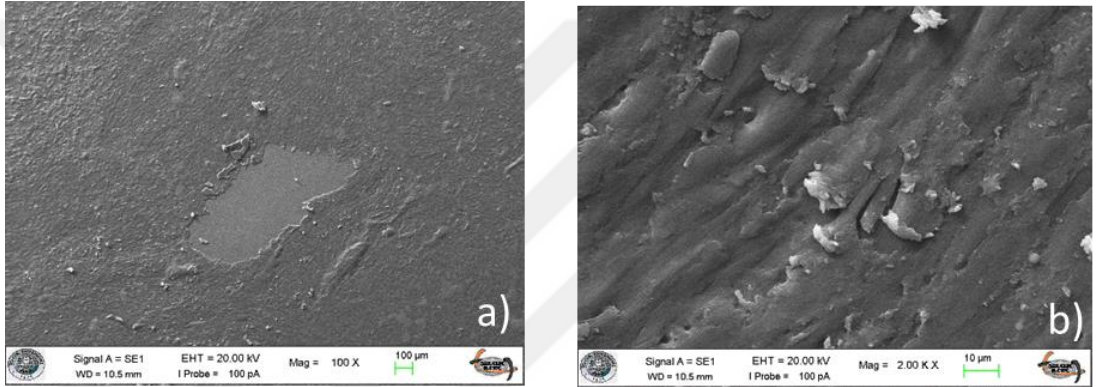
Lava Ultimate grubunda kontrol grubunun resin nanoseramik materyal morfolojisine uygun olarak farklı çaptaki yapıtaşlarından oluştuğu gözlemlendi (Şekil 3. 19). Üçüncü gün fikse edilen örnekler üzerindeki hücresiz alanların 10. güne göre daha fazla olduğu belirlendi. Devamında (Şekil 20.a),(Şekil 21.a.) hücre proliferasyonunun artmasıyla birlikte hücresel tabakanın kalınlaştığı ve düzenli hücre sıralarının olduğu gözlemlendi (Şekil 3. 21.a,b).



**Şekil 3.19.** Lava Ultimate grubunun hücre ekilmemiş örneğinin yüzeyinin KX 1000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 2µm



**Şekil 3.20. a.** Lava Ultimate grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. **b.** Vita Enamic grubunun hücre ekilip 3. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX200 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm



**Şekil 3.21. a.** Lava Ultimate grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin X100 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 100µm. **b.** Lava Ultimate grubunun hücre ekilip 10. gün fikse edilen örnek yüzeyinin KX200 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10µm

### 3.3 mRNA Ekspresyon Deneyleri Sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, CAD/CAM tam seramik materyallerinden 3 ve 10 gün boyunca salınanları içeren hücre kültür ortamı (3-HKO, 10-HKO) ile muamele edilmesini takip eden 24. saatteki RNA izolasyonları yapıldı. İzolasyon öncesinde hücrelerin morfolojileri inverted mikroskop ile izlendi (Şekil 3.22).





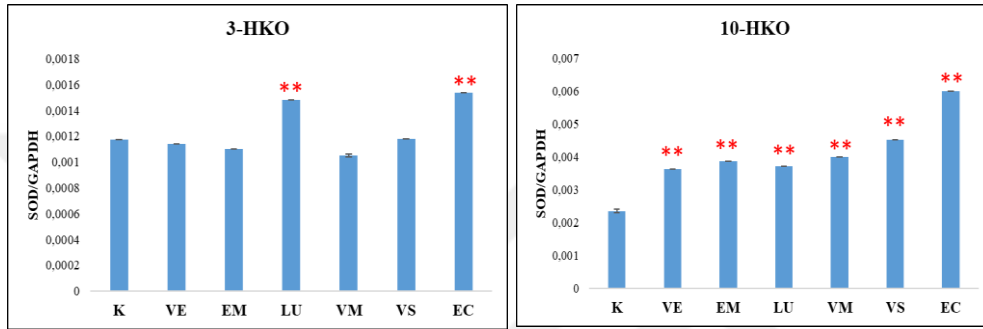
**Şekil 3.22.** RNA izolasyonu öncesinde 3-HKO, 10-HKO ile muamele edilen hücrelerin *inverted* mikroskoptaki görüntüleri

Denelerimizde, İGF hücrelerinin 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında elde edilen total RNA'ları ile SOD, GPX, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-10, MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 ve TIMP-1, TIMP-2 genlerinin ekspresyon düzeyleri RT-PCR ile incelendi. Normalizasyon amacı ile GAPDH (house keeping gene) kullanıldı.

### 3.3.1 Superoksit dismutaz (SOD) ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ile muamele edilmesi sonrasında LU ve EC gruplarında kontrol grubuna göre SOD ekspresyon düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı belirlendi ( $p<0.01$ )(Şekil 3.23).

Bununla birlikte İGF hücrelerinin, 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında ise bütün materyallerin kontrol grubuna göre SOD ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0.01$ )(Şekil 3.23).



\*\* $p<0.01$  anlamlı artış; \*\* $p<0.01$  anlamlı azalış

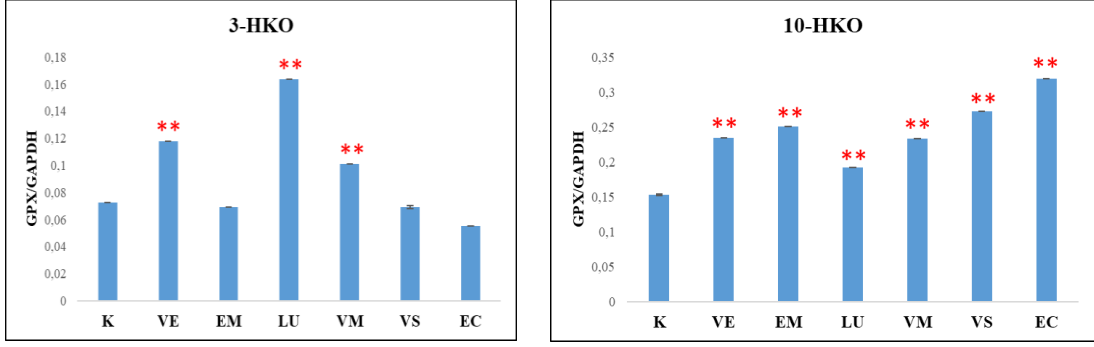
**Şekil 3.23.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında SOD ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.2 Glutasyon peroksidaz (GPX) ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamele edilmesi sonrasında VE, LU, VM materyallerinin kontrol grubuna göre GPX ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0.01$ ) (Şekil 3.24).

Devamında İGF hücrelerinin 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında tüm grupların kontrol grubuna göre GPX geni ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0,01$ )(Şekil 3.24).





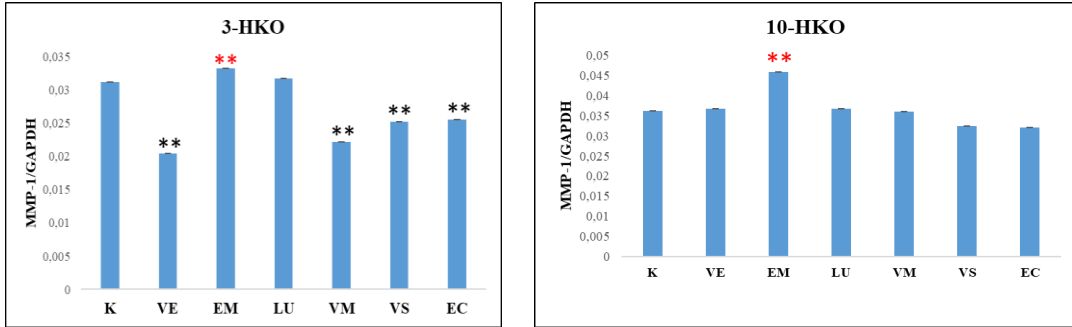
\*\*p<0.01 anlamlı artış; \*\*p<0.01 anlamlı azalış

**Şekil 3.24.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında GPX ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.3 Matriks metalloproteinaz-1 (MMP-1) ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamele edilmesi sonrasında VE, VM, VS, EC gruplarında kontrol grubuna göre MMP-1 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı, EM grubunda ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı belirlendi (p<0.01)(Şekil 3.25).

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında ise sadece EM grubunun kontrol grubuna göre MMP-1 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı tespit edildi (p<0.01)(Şekil 3.25).



\*\*p<0.01 anlamlı artış; \*\*p<0.01 anlamlı azalış

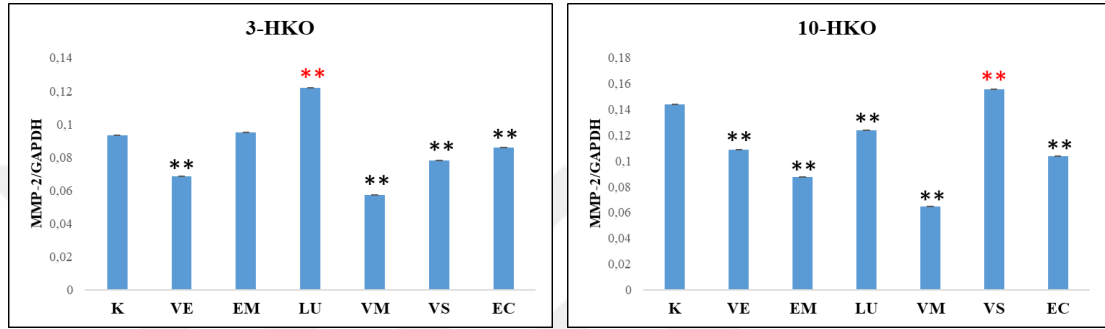
**Şekil 3.25.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında MMP-1 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.4 Matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2) ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamele edilmesi sonrasında VE, VM, VS, EC gruplarının kontrol grubuna göre MMP-2 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü (p<0.01). Bununla birlikte LU grubunun ise

kontrol grubuna göre MMP-2 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0.01$ )(Şekil 3.26).

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında VE, EM, LU, VM, EC, gruplarının kontrol grubuna göre MMP-2 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltırken VS grubunda ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı belirlendi ( $p<0.01$ )(Şekil 3.26).



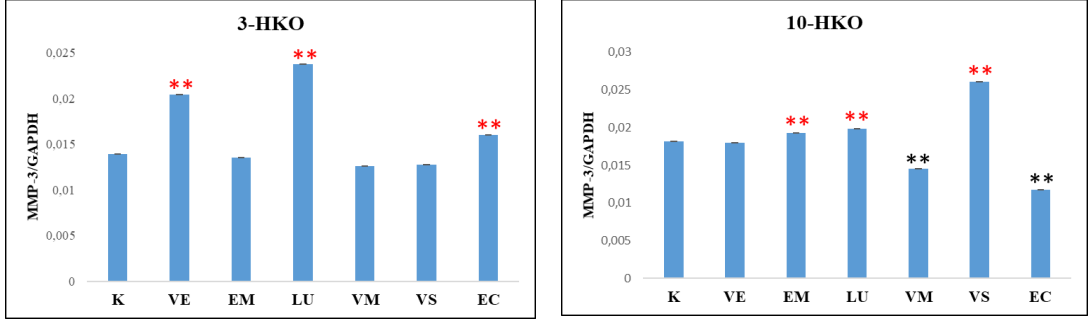
\*\* $p<0.01$  anlamlı artış; \*\* $p<0.01$  anlamlı azalış

**Şekil 3.26.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında MMP-2 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.5 Matriks metalloproteinaz-3 (MMP-3) ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamele edilmesi sonucunda LU, VE, EC gruplarının kontrol grubuna göre MMP-3 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0,01$ )(Şekil 3.27).

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin CAD/CAM tam seramik materyallerinden 10 gün boyunca salınanları içeren hücre kültür ortamı ile muamele edilmesi sonucunda VM, EC gruplarının kontrol grubuna göre MMP-3 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü ( $p<0,01$ ). VS, LU, EM gruplarının ise kontrol grubuna göre MMP-3 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0,01$ )(Şekil 3.27).



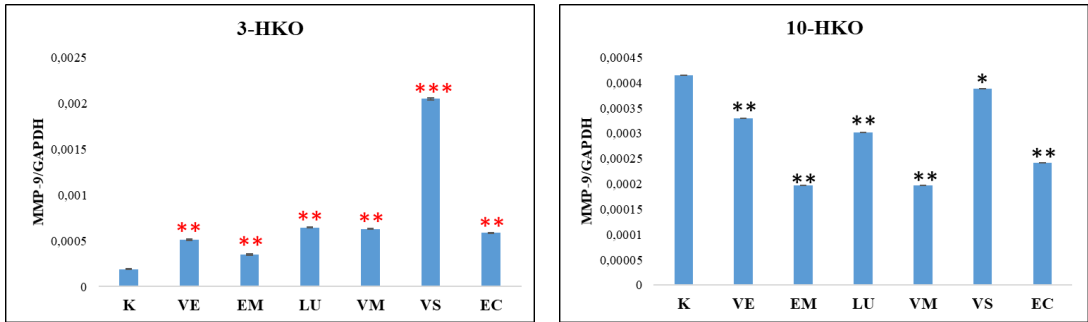
\*\*p<0.01 anlamlı artış; \*\*p<0.01 anlamlı azalış

**Şekil 3.27.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında MMP-3 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.6 Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamele edilmesi sonucunda VS grubunun daha fazla olmak üzere bütün materyallerin kontrol grubuna göre MMP-9 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0,01$ )(Şekil 3.28).

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin CAD/CAM tam seramik materyallerinden 10-HKO ile muamele edilmesi sonucunda VS materyali hariç bütün grupların kontrol grubuna göre MMP-9 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü ( $p<0,01$ )(Şekil 3.28).



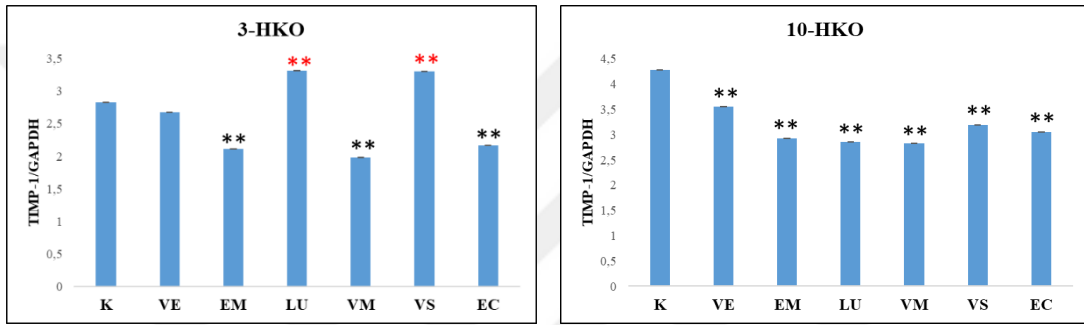
\*\*p<0.01 anlamlı artış, \*\*\*p<0.001 anlamlı artış, \*p<0.05 anlamlı azalış \*\*p<0.01

**Şekil 3.28.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında MMP-9 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita Mark II; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.7 TIMP-1 ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamele edilmesi sonucunda EM, VM, EC gruplarının kontrol grubuna göre TIMP-1 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü ( $p<0,01$ ). LU, VS gruplarının ise kontrol grubuna göre TIMP-1 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0,01$ )(Şekil 3.29).

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 10-HKO ile muamele edilmesi sonucunda bütün grupların kontrol grubuna göre TIMP-1 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü ( $p<0,01$ )(Şekil 3.29).



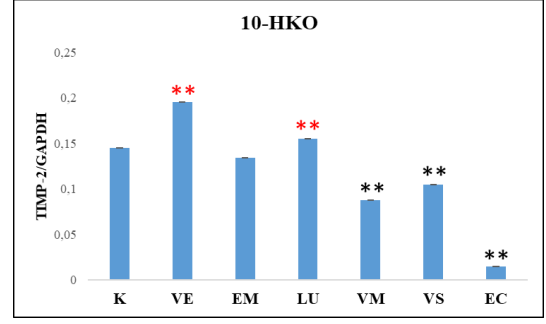
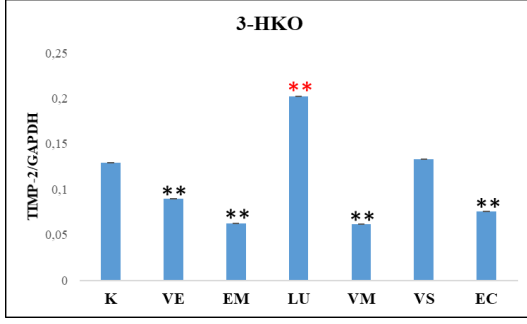
\*\* $p<0.01$  anlamlı artış; \*\* $p<0.01$  anlamlı azalış

**Şekil 3.29.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında TIMP-1 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.8 TIMP-2 ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamele edilmesi sonucunda VE, EM, VM, EC gruplarının kontrol grubuna göre TIMP-2 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü ( $p<0,01$ ). LU, grubunun ise kontrol grubuna göre TIMP-2 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0,01$ )(Şekil 3.30).

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin CAD-CAM tam seramik materyallerinden 10 gün boyunca salınanları içeren hücre kültür ortamı ile muamele edilmesi sonucunda VM, VS, EC gruplarının kontrol grubuna göre TIMP-2 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü ( $p<0,01$ ). LU ve VE gruplarının ise kontrol grubuna göre TIMP-2 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0,01$ )(Şekil 3.30).

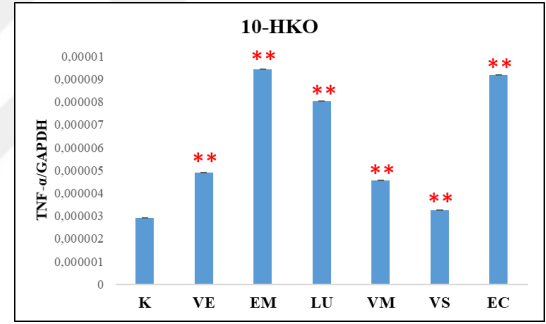
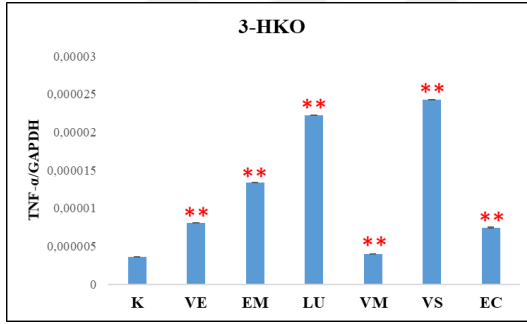


\*\*p<0.01 anlamlı artış; \*\*p<0.01 anlamlı azalış

**Şekil 3.30.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında Timp-2 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.9 TNF-α ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonucunda bütün grupların kontrol grubuna göre TNF-α ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü (p<0,01)(Şekil 3.31).



\*\*p<0.01 anlamlı artış; \*\*p<0.01 anlamlı azalış

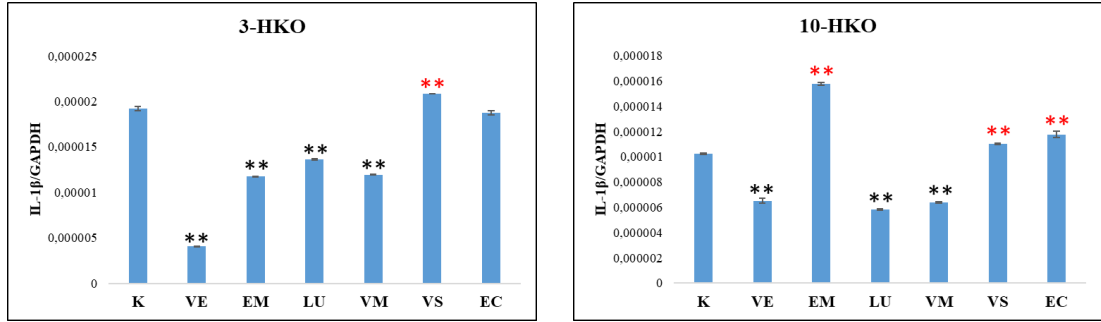
**Şekil 3.31.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında TNF-α ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.10 IL-1 β ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamele edilmesi sonucunda VE, EM, LU, VM gruplarının kontrol grubuna göre IL-1 β geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü (p<0,01). VS gruplarının ise kontrol grubuna göre IL-1 β geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü (p<0,01) (Şekil 3.32)

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 10-HKO ile muamele edilmesi sonucunda VE, LU, VM gruplarının kontrol grubuna göre IL-1 β geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı, EM, VS, EC gruplarının kontrol grubuna

göre IL-1  $\beta$  geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0,01$ ) (Şekil 3.32).



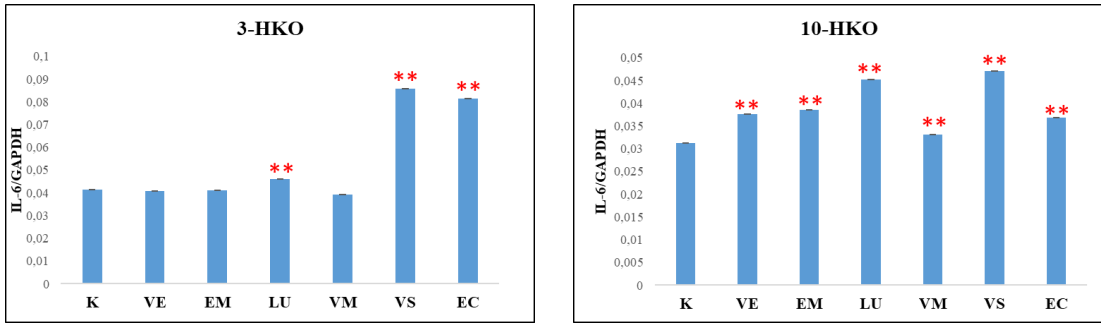
\*\*p<0.01 anlamlı artış; \*\*p<0.01 anlamlı azalış

**Şekil 3.32.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında IL-1  $\beta$  ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.11 İnterlökin-6 (IL-6) ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamele edilmesi sonucunda LU, VS, EC gruplarının kontrol grubuna göre IL-6 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0,01$ ) (Şekil 3.33).

Bununla birlikte İGF hücrelerinin 10-HKO ile muamele edilmesi sonucunda bütün grupların kontrol grubuna göre IL-6 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0,01$ )(Şekil 3.33).

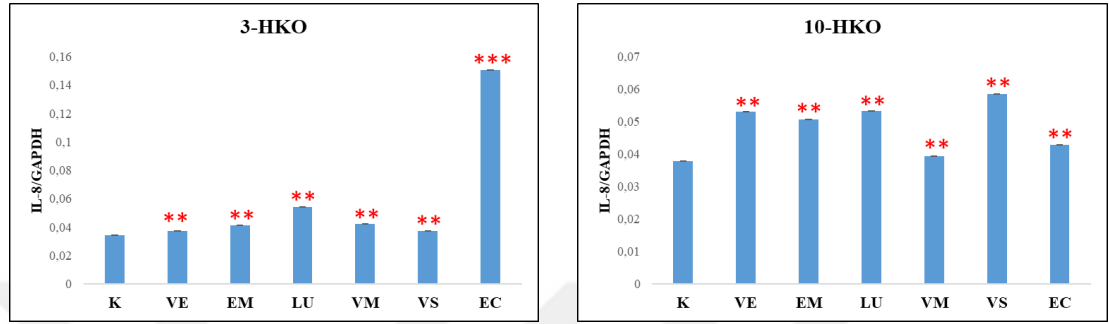


\*\*p<0.01 anlamlı artış; \*\*p<0.01 anlamlı azalış

**Şekil 3.33.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında IL-6 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.12 İnterlökin-8 (IL-8) ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında tüm grupların kontrol grubuna göre IL-8 ekspresyonunu 3-HKO zaman periyodunda, VS grubunda daha fazla olmak üzere ( $p<0.001$ ) istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığı görüldü ( $p<0.01$ )(Şekil 3.34).



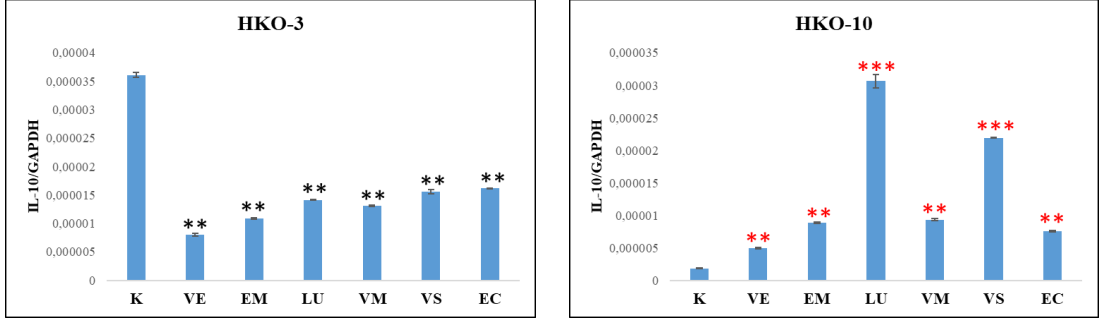
\*\* $p<0.01$  anlamlı artış, \*\*\* $p<0.001$  anlamlı artış, \*\* $p<0.01$  anlamlı azalış

**Şekil 3.34.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında IL-8 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava ultimate; VM: Vita MarkII; VS: Vita suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.13 İnterlökin-10 (IL-10) ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamele edilmesi sonucunda tüm materyallerin kontrol grubuna göre IL-10 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü ( $p<0,01$ )(Şekil 3.35).

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 10-HKO ile muamele edilmesi sonucunda tüm materyallerin LU ve VS materyallerinde daha fazla olmak üzere ( $p<0.001$ ) kontrol grubuna göre IL-10 geni ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü ( $p<0,01$ )(Şekil 3.35).



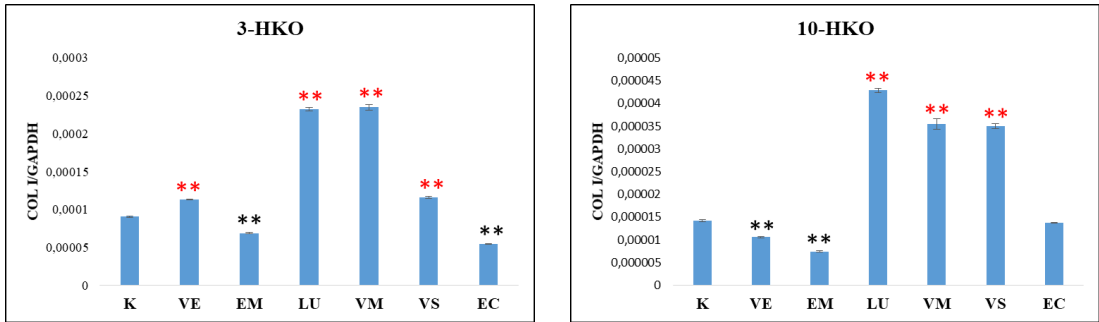
\*\*p<0.01 anlamlı artış, \*\*\*p<0.001 anlamlı artış, \*\*p<0.01 anlamlı azalış

**Şekil 3.35.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10 HKO ile muamele edilmesi sonrasında IL-10 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava Ultimate; VM: Vita Mark II; VS: Vita Suprinity; EC: IPS Empress CAD

### 3.3.14 Kollojen-1 (Col-1) ekspresyonu sonuçları

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 3-HKO ile muamele edilmesi sonucunda EM ve EC gruplarının kontrol grubuna göre Col-1 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı VE, LU, VM ve VS materyallerinin ise istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü (p<0,01)(Şekil 3.36).

İnsan gingival fibroblast hücrelerinin 10-HKO ile muamele edilmesi sonucunda VE ve EM materyallerinin kontrol grubuna göre Col-1 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı, LU, VM ve VS materyallerinin ise istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı görüldü (p<0,01)(Şekil 3.36).



\*\*p<0.01 anlamlı artış, \*\*p<0.01 anlamlı azalış

**Şekil 3.36.** İnsan gingival fibroblast hücrelerinin, 3-HKO ve 10 HKO ile muamele edilmesi sonrasında Col-1 ekspresyon düzeyleri. K: Kontrol VE: Vita Enamic; EM: IPS e-max CAD; LU: Lava Ultimate; VM: Vita Mark II; VS: Vita Suprinity; EC: IPS Empress CAD



#### 4. TARTIŞMA

Günümüzde estetik restoratif materyal olarak kullanabilecek çok sayıda malzeme bulunmaktadır. Bu materyaller, üretildikleri ilk günden bugüne kadar fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri bakımından gelişim göstermektedirler (Deliaga 2002). Son 30 yılda gelişen CAD/CAM teknolojileri ile birlikte klinikte protetik tedavilerin tek seansta bitirilmesi ve böylece uzun zaman alan laboratuvar aşamalarının elimine edilmesi amaçlanmıştır. Öyleki, CAD/CAM tedavisinin geniş kullanım alanı bulmasıyla birlikte güncel materyallerin üretimi de hız kazanmıştır. Yapılan protetik tedaviler ile hastanın estetik, fonksiyon ve fonasyonunun optimal düzeyde olması amaçlanır. Bununla birlikte bu restorasyonlar ağız içi dokularla uzun süre temas halindedir ve intraoral dokularla uyum içerisinde olmaları gerekir (Kawai ve ark 2000).

Genel olarak bir malzemenin, dental materyal olarak sunulmasında daha çok fiziksel ve mekanik özellikleri ön planda tutulurken biyolojik özellikleri geri planda kalmaktadır. Ancak bu durum farklı içeriklere sahip yeni nesil materyallerin artmasıyla birlikte biyoyumluluk değerlendirilmesinin de oldukça önemli olduğunu ortaya koymuştur (Schmalz 1997).

Organizma yabancı materyallere karşı toksisite ve alerji olmak üzere iki temel tepki verir. Her iki durumun da ortaya çıkabilmesi için malzemedeki biyolojik olarak aktif komponentlerin salınması gerekmektedir. Sıklıkla kullanılan bu materyallerin sistemik toksisite oluşturma olasılıkları oldukça azdır, çünkü sızıntı ürünlerinin miktarı vücutta yaygın reaksiyon oluşturacak kadar fazla değildir. Ancak bu miktar diş pulpası, periodontal ve periapikal dokular ve ağız mukozasında toksisite oluşturabilecek potansiyele sahip olabilir. Çünkü başta restoratif materyaller olmak üzere, pek çok dental materyal; bu dokularla uzun zaman periyotları boyunca temasta kalmaktadırlar (Browne 1988).

Literatürde geleneksel dental protetik materyaller ile ilgili biyoyumluluk çalışmalarını gösteren araştırma sonuçları bulunmakla birlikte (Sjogren ve ark 2000, Elshahawy 2009) CAD/CAM tam seramik materyallerinin İGF hücreleri ile biyoyumluluklarını gösteren çalışmalar sınırlıdır. Özellikle kullanım alanları benzer, içerikleri farklı olan ve son yıllarda klinikte hasta protetik tedavi planlarında yer alan

CAD/CAM tam seramik materyallerin İGF hücreleri ile yakın temasta olması sebebiyle materyal-hücre kontakının hedef hücre üzerindeki hem kısa dönem hem de uzun dönem etkilerinin ortaya konması önemlidir. Bu sebeple çalışmamızda aktif olarak kullanım imkanı bulan farklı içeriğe sahip 6 CAD/CAM tam seramik protetik materyal (Feldspatik cam seramik, lösit kristalleri ile güçlendirilmiş cam seramik, lityum disilikat kristalleri ile güçlendirilmiş cam seramik, zirkonya ile güçlendirilmiş lityum silikat seramik, hibrid seramik, resin nanoseramik)'in İGF hücrelerinin proliferatif etkileri, ataçman potansiyelleri, IL-6, IL-8, IL-10, MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, SOD, GPX genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri analiz edildi.

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin dokular üzerindeki toksik etkilerinin belirlenmesinde in vitro ve in vivo testler kullanılmaktadır (Kleinsasser ve ark 2004). Güncel materyallerin sayısının artması ile birlikte etkin ve biyouyumlu olanı elde etmek önemlidir. Bu amaçla ulusal ve uluslararası çeşitli standardizasyonları yapan kuruluşlar tarafından geliştirilmiş yönergeler bulunmaktadır (Türkcan ve Nalbant 2013). Özellikle de in vivo koşulları sağlamak için hayvan deneyleri yapılmakla birlikte bu deneylerin maliyeti, hayvanların beslenme ve bakımındaki zorluklar gibi limitasyonlar bulunmaktadır (Browne 1988). Bu nedenlerle in vivo şartlarda biyouyumlulukları incelenecek olan materyallerin vücut dokuları üzerindeki toksik etkilerini değerlendirmek için daha çok in vitro testler tercih edilmektedir. Öyleki in vitro koşullar kontrol edilebilir ortamlar olması ve dental materyalin biyolojik fonksiyonlar üzerine olan etkilerini hücresel düzeyde belirleme imkanı sunması bakımından birçok araştırmacı tarafından tercih edilmektedir (Dirxen ve ark 2013).

In vitro sitotoksikite testlerinde primer ve immortal hücre hatları [fare fibroblast (L-929) BALB/3T3 fare embriyo fibroblast, fare odontoblast (MDPC-23), insan embriyonik akciğer hücresi (WI-38), HeLa insan epiteliyal hücresi, insan endotelial hücresi (ECV-304)] kullanılmaktadır (Yıldırım ve ark 2017). Var olan araştırmalarda hayvan veya insan orijinli hücre hatları tercih edilmektedir. Aslında her ne kadar hayvan ve insan fizyolojisi birbirine benzese de hayvanlara bağlı yapısal faktörler nedeniyle çalışmanın sonuçları ve güvenilirliği etkilenebilmektedir. Bu durumda ortaya çıkabilecek biyolojik etkileşimler sonucunda anlamlı sonuçlar elde edilememektedir (Urcan ve ark 2010, Tete ve ark 2014, Kim ve ark 2015, Rutkunas

ve ark 2015, Grenade ve ark 2016). Öyleki literatürde yer alan araştırma sonuçlarının bazılarında hayvan orijinli hücre hattının kullanılması, deneyin limitasyonu olarak gösterilmektedir (Atay ve ark 2018).

Projemizde, hücre seçimindeki bu sınırlayıcı koşullar da göz önünde bulundurularak CAD/CAM tam seramik materyallerin ağız içinde en fazla ve en uzun süre temasta olduğu hücre hattı olması, yara iyileşmesi ve doku tamirinde önemli bir rol üstlenmesi sebebiyle, insan gingival fibroblast hücreleri tercih edildi.

Öte yandan deneylerde kullanılan materyallerin de yüzey alanı, kompozisyonu ve hedef dokuları bakımından klinik koşullara yaklaştırılması gerekmektedir (Özdemir 2007). Biz de tüm bu parametreleri baz alarak projemizde CAD/CAM tam seramik materyalleri ISO standartı 10993-5 referansına göre hazırladık.

Farklı CAD/CAM tam seramik materyallerden elde edilen ekstratlarla muamele edilen İGF hücre proliferasyonları xCELLigence sistem ile değerlendirildi. Sistem, hücrelerinin proliferasyonunu empedans direnç sistemini baz alarak gerçek zamanlı olarak ölçmektedir. Bununla birlikte hücre proliferasyonunu belirlenen zaman aralıklarında (saniye, dakika, saat) hem grafiksel hem de kantitatif olarak tespit edip her bir kuyucuktaki hücre miktarının ve ortam değişikliklerinin hücre üzerindeki etkisinin eş zamanlı olarak görüntülenebilmesini sağlamaktadır. Tüm bu özellikler göz önünde bulundurularak; xcelligence sistemi ile materyallerin İGF proliferasyonu üzerindeki etkisinin saptanması, hücrelerin fizyolojik değişimlerinin başlangıç ve bitiş anlarının tespitini sağlaması ve güncel bir sistem olması sebepleriyle çalışmamızda bu yöntem tercih edildi (Xing ve ark 2005, Urcan ve ark 2010, Ozturk ve ark 2011, Hakki ve Bozkurt 2012, Toy ve ark 2014 ).

Proliferasyon deneyinde İGF hücreleri 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilip her 15 dakikada bir ölçüm alınarak 190 saat boyunca izlendi. Deney sonunda hücrelerden hem proliferatif grafik, hem de kantitatif hücre sayıları elde edildi. Elde edilen kantitatif hücre sayılarına göre hem 3-HKO hem de 10-HKO grupları için 48, 72, 96 ve 190. saatlerde yüzde sitotoksosite değerleri belirlendi. Bu yüzden sitotoksosite sonuçlarına göre 3-HKO grubunda hiçbir materyalin herhangi bir zaman aralığında İGF hücreleri için toksik olmadığı tespit edildi. Bununla birlikte 10-HKO grubunda yalnızca LU ve VS materyallerinin İGF proliferasyonunu 190.saatte kontrol grubuna

göre %90'ın altına düşürdüğü görüldü. Elde ettiğimiz bu sonuçlar çalışmamızda kullandığımız materyallerden LU ve VS' nin hafif derecede sitotoksik olduğunu, diğer materyallerin ise hücre canlılığını azaltmalarına rağmen sitotoksik olmadıklarını ortaya koydu.

Atay ve ark (2018), yeni nesil tam seramik Lava Ultimate, Vita mark II, IPS e-max CAD, Vita Suprinity, IPS Empress CAD, Cerasmart ve geçici CAD/CAM materyallerinin 1 ve 7 günlük hücre kültürü ortamının fare fibroblastları üzerindeki sitotoksik etkilerini XTT testi ile değerlendirmişlerdir. Araştırma sonucunda Lava Ultimate ve Vita Mark II grubunun 7 günlük uygulama sonunda hücre canlılığını %90'ın altına düşürmezken, IPS Empress CAD grubunun en düşük hücre canlılığı ve en yüksek apoptotik orana sahip olduğunu belirlediler. Araştırmacıların 7 günlük hücre kültürü ortamının fare fibroblast proliferasyonu üzerindeki IPS Empress CAD materyali ile elde ettikleri sitotoksik etki, bizim araştırmamızın 10 günlük hücre kültürü ortamının İGF hücreleri üzerindeki 190. saatteki sitotoksik etkisine benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte yine 10 günlük hücre kültürü ortamının LU materyalinde 72, 96 ve 190. saatlerindeki sitotoksikite sonuçlarından farklıdır. Bu farklılığın hedef hücre hatlarının değişik orijinli olması ve kullanılan sitotoksikite yöntemlerinin farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca toksik olduğu bilinen monomerler içeren rezin nano-seramik materyal olan LU'nun bizim çalışmamızda hücre canlılığını azaltması beklenen doğrultuda bir sonuçtur. Bununla birlikte aynı araştırmada hücre sitotoksikitesi açısından en uyumlu olarak belirlenen Vita Mark II materyalinin bizim çalışmamızın hem 3-HKO hem de 10-HKO periyotlarında da hücre proliferasyonu ile uyumlu olması bakımından diğer araştırmacıların sonuçlarını desteklemektedir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre deneyde kullandığımız yeni nesil tam seramik materyallerin İGF proliferasyonuna ve canlılığına etkisi kabul edilebilir sınırlar içinde olması ve bu sonuçların Atay ve ark (2018)'nin sonuçları ile benzerlik göstermesi deneyin güçlü yanındır. Bununla birlikte bizim çalışmamızdan farklı olarak elde ettikleri sonuçların, daha çok kullandıkları fare fibroblastlarından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Bu durum araştırmacılar tarafından da çalışmanın limitasyonu olarak belirtilmiş olup ileri çalışmaların gerçek ağız içi ortamı daha iyi mimik etmesi sebebiyle gingival fibroblastlarda yapılması gerektiği vurgulanmıştır (Atay ve ark 2018).

Diğer bir araştırma grubu da E-max CAD LT, E-max CAD HT, Empress CAD, Vita Mark II olmak üzere 4 farklı CAD/CAM tam seramik materyalin insan gingival fibroblastları ve insan oral keratinositlerin canlılığına olan etkisini 3, 6, 9 ve 12. günlerde MTT testi, migrasyon yeteneklerini yara iyileşmesi deneyi ile, bütün materyallerin hücrelerden adenilat kinaz enzimi üretimi üzerindeki etkilerini ise ToxiLight assay ile inceledikleri çalışma sonucunda tüm materyallerin İGF hücrelerinin canlılığını tüm deney zamanlarında istatistiksel olarak anlamlı oranda azaltmadığını göstermişlerdir. Elde ettikleri bu sonuçlar, bizim erken dönem sonuçlarımızı güçlendirmesi bakımından önemlidir. Ayrıca araştırmacılar materyallerin İGF hücreleri üzerindeki etkilerinin moleküler düzeyde incelenmesi gerektiğini savunmuşlardır (Pabst ve ark 2014).

Literatür araştırması yapıldığında daha çok geleneksel protetik materyallerle ilgili biyouyumluluk çalışmaları görülürken, yeni nesil CAD/CAM tam seramik materyalleriyle ilgili sitotoksosite çalışmaları oldukça azdır.

Messer ve ark (2003), 2 farklı geleneksel feldspatik porselen, 2 farklı lityum disilikat içerikli preslenebilir seramik ve 1 adet lösit içerikli preslenebilir seramik olmak üzere 5 farklı seramik materyalin polisajlı ve polisajsız modellerinin hücre canlılığı üzerindeki etkisini MTT testi ile analiz etmişlerdir. Bizim de çalışmamızda kullandığımız lösit içerikli IPS empress CAD, feldspatik içerikli Vita Mark II ve lityum disilikat içerikli IPS E-max CAD materyaller ile bahsi geçen çalışmadaki grupların kimyasal bileşenler bakımından ortak olması sebebiyle bu çalışmayla benzerlik görülmüştür. Araştırma sonucunda bütün materyallerin polisajlı ve polisajsız hallerinin hücre canlılığını azalttığını özellikle de lityum disilikat içerikli IPS Empress II'nin istatistiksel olarak önemli derecede hücresel toksisite sergilediği gösterildi. Elde edilen bu sonuçlar bizim araştırmamızda kullandığımız lösit içerikli IPS empress CAD, feldspatik içerikli Vita Mark II ve lityum disilikat içerikli IPS e-max CAD sitotoksosite sonuçları ile uyumlu değildir. Bizim çalışmamızda bu materyallerin hem 3-HKO hem de 10-HKO gruplarının İGF hücreleri üzerinde tüm deney zamanlarında sitotoksik etkisi olmadığı belirlendi. Elde edilmiş bu farklılığın, kullanılan materyallerin içeriklerinin benzer olmasına rağmen üretim şekillerinin farklı olmasından kaynaklı olduğu düşünülebilir (Messer ve ark 2003).

Brackett ve ark (2007), lityum disilikat içerikli 2 farklı kazınabilir ve 3 farklı preslenebilir seramiğin fare fibroblastları üzerine kısa ve uzun dönem etkilerini MTT testi ile değerlendirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da lityum disilikat içerikli IPS e-max CAD seramik kullanılmıştır. Araştırmacılar, kullandıkları materyallerin mitokondriyal aktiviteyi ilk dönemde baskıladığını uzun dönemde ise sitotoksik etki göstermediklerini tespit etmişler ve lityum disilikat molekülünün sitotoksik etkisinin olduğunu ileri süren bazı çalışmaların aksine klinik uygulamalarda güvenle kullanılabilir oldukları sonucuna varmışlardır. Bizim deney planımızda yer alan lityum disilikat içerikli IPS e-max CAD seramik materyali ile de hem 3-HKO hem de 10-HKO periyotlarında İGF hücre toksisitesi açısından benzer sonuçlar elde edilmiştir (Brackett ve ark 2008).

Contreras ve ark (2018), farklı şekillerde üretilen ve farklı yüzey bitimlerinin yapıldığı feldspatik seramiklerin (Vita Mark II) yüzey topografilerinin, biyofilm oluşumlarının ve İGF hücrelerinin canlılığına olan etkisinin MTT test yöntemi ile incelenmiştir. Bu çalışmada, İGF hücrelerinde herhangi bir sitotoksik yanıt gözlenmemiştir. Bu da çalışmamızla paralel bir sonuç olması bakımından önemlidir (Contreras ve ark 2018).

Ayrıca deney materyallerimiz arasında bulunan hibrit materyal VE ve resin nanoseramik materyal olan LU'nun içeriklerinde farklı oranlarda Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA, TEDGMA monomerleri bulunmaktadır. Literatürde kompozit materyallerin sitotoksik etkilerinin bu monomerlerden kaynaklanabileceğini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Schwengberg ve ark 2005, Altıntaş ve Usumez 2008, Nguyen ve ark 2014). Araştırmamızda İGF hücrelerine 3-HKO uygulaması sonrasında VE grubunun 190. saatte ve 10-HKO uygulaması sonrasında LU grubunun 72. 96. ve 190. saatlerde sergilemiş olduğu hücre canlılığını azaltıcı etkisini desteklemektedir.

Hücresel fonksiyonun ilk fazı fibroblastların materyal yüzeyine adezyonu ve yayılmasıdır. Alanezi ve ark (2010), bir materyalin yüzeyine hücre adezyonunun ve yayılmasının, materyalin biyouyumluluğu hakkında bilgi verebileceğini belirtmiştir.

Bu çalışmada da İGF hücrelerinin CAD/CAM tam seramik materyallerine olan ataçman potansiyelleri, yayılım durumları ve morfolojileri, 14x12x2 mm boyutlarındaki yüzeyler üzerine 100.000 İGF hücresi eklendikten sonra 3. ve 10. günde

fikse edilip SEM analizi ile değerlendirildi. Tüm tam seramik materyallerinin 3. ve 10. gün fikse edilen örnekleri, proliferasyon yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında, 3. gün fikse edilen örneklerde fibroblast hücrelerinin 10. Gün örneklerine göre daha az yüzey alanına atake olduğu gözlemlendi. Aynı zamanda 10. gün örneklerinde farklı oranlarda olmak üzere, proliferasyonla ilintili tabakalaşma tespit edildi. Bununla birlikte EM materyalinde 3. gün fikse edilmiş materyal yüzeyinde diğer gruplara göre daha yoğun hücre popülasyonu olması, yer yer hücre katmanlarında yükselme gözlenmesi, daha büyük büyütmelerde ise hücrelerin yoğun ekstraselüler matriks üretimi gösterdiğinin görülmesi, onuncu gün fikse edilen örneklerde ise yoğun proliferasyonun devam etmesi, intraselüler bağlantıların belirgin şekilde kalınlaşması, yoğun hücre ağının kurulmuş olması, bütün deney materyalleri arasında EM grubunun hücre ataçmanı yönünden en uyumlu materyal olduğunu düşündürdü.

Pabst ve ark (2013), IPS e-max CAD LT, IPS e-max CAD HT, IPS Empress CAD ve Vita Mark II materyallerinin yüzeylerinde oluşturdukları yara modeliyle İGF ve insan oral keratinosit hücrelerinin migrasyon kapasitelerini değerlendirmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre İGF hücrelerinin migrasyon kapasitelerinin IPS e-max CAD HT, IPS Empress CAD ve Vita Mark II materyallerinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığını belirtmişlerdir. İnsan oral keratinosit (HOK) hücrelerinin davranışları incelendiğinde ise, bütün materyallerin migrasyon yeteneklerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığını göstermişlerdir ( $p < 0.001$ ). Bu materyallerin İGF hücreleri üzerindeki pozitif etkisi bakımından çalışmamızla paralellik göstermektedir. Bütün bunların yanısıra, HOK hücrelerinin olumsuz davranışları, farklı hücre hatlarında farklı sonuçların elde edilebileceğini ve hücre tipleri değiştirilerek yeni yüzey ataçmanı çalışmaları yapılmasının literatüre büyük katkı sağlayacağını ortaya koymaktadır. Bu çalışmada yapılan SEM yüzey analizi sonuçları göstermiştir ki; materyallerin yüzey özellikleri ve kimyasal içeriği İGF hücrelerinin ataçmanının niteliğini ve niceliğini etkilemektedir.

Hücre çekirdeği içerisindeki kromozomlarda yer alan DNA genetik bilginin depolandığı birimdir. Bununla birlikte “gen” olarak isimlendirilen DNA parçası, protein sentezi için gerekli olan polipeptid zincirindeki aminoasit dizisini içeren kodonu ve ekspresyonda gerekli olan regülatör dizileri taşıyan fonksiyonel RNA molekülüdür (Nussbaum ve ark 2005).

Organizmada protein sentezlemek için genin indüklenmesi olayına “gen ekspresyonu” denilmektedir. Bu mekanizma, DNA kalıbı üzerinden tek iplikçiğin bir kopyası olan mesajcı “messenger” RNA (mRNA)’nın sentezlendiği “transkripsiyon” ve mRNA’dan protein sentezlendiği aşama olan “translasyon” olarak iki temel basamaktan oluşur. Bu durum sitokin ve enzimlerin de arasında bulunduğu tüm fonksiyonel protein sentezlerinde geçerlidir. Sitokin ve enzimler, enflamasyonun ilerleme sürecinin ve şiddetinin belirlenmesinde görevli olan düşük molekül ağırlığına sahip protein yapılarıdır. Sitokinler, immün sistem tarafından yönetilen enflamatuar yanıtın çeşitli safhalarında nötrofiller, lenfositler, epitel hücreleri, fibroblastlar, makrofajlar tarafından üretilir. Bu hedef odaklı proteinler, enflamasyon prosesinde hedef hücrelerin yüzey reseptörleri ile etkileşime girerek, proenflamatuar ve anti-enflamatuar gruplarındaki görevlerine göre immün cevabın başlamasında ve oluşan enflamasyonun ilerleyip sonlandırılmasında görev alırlar (Genco 1992, Kinane ve ark 2001). Bu süreçte proenflamatuar ve anti-enflamatuar sitokinlerin salgılanması arasındaki hassas denge oluşan enflamatuar yanıtın derecesinde etkin rol alır.

Bunların yanısıra birçok hastalık patogenezinde etkin rol oynayan mekanizmalardan biri de serbest radikallerin oluşumudur. Serbest radikaller, çok sayıda eşleşmemiş elektronu olan, fiziksel olarak stabilitesi olmayan reaktif moleküllerdir. Bu moleküllerin antioksidan savunma sistemi tarafından elimine edilmesi gerekir, edilmediği durumda ise çevre dokulardaki protein, karbonhidrat ve hücrelerdeki DNA ve RNA molekülleri ile etkileşime girerek fonksiyonlarının bozulmasına sebep olabilir.

Bilinen tüm bu bilgiler ışığında biz de araştırmamızda ağız içi ortamda tam seramik materyallerle temasta olan İGF hücrelerinin sitokin, oksidatif stres enzimleri, doku yapım ve yıkım enzimlerinin mRNA ekspresyon düzeylerini RT-PCR yöntemi ile değerlendirdik. Real-time PCR in-vitro koşullarda, hedef genin ekspresyon düzeyini hızlı bir şekilde gösteren ve devam eden reaksiyon boyunca verinin toplanıp anında analiz edilebilmesini sağlayan bir sistemdir. Bununla birlikte sistemin spesifik olmayan amplifikasyonlardan etkilenmemesi, duyarlılığının yüksek olması, yüksek verimlilik ve düşük kontaminasyon riski olması sebepleriyle araştırmamızda tercih edildi.



Araştırmamızda incelediğimiz oksidatif stres enzimleri (antioksidan) olan süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPX) hastalık patogenezinde hücre hasarını önleyerek hücre yapısını korumayı ve hastalığın ilerlemesini engellemeyi hedefler. Öyleki, organizma içerisindeki oksidatif dengenin, serbest radikaller lehine değişmesi hücrenin yapısal ve fonksiyonel bozukluğuna sebep olur. Bu durum ise oksidatif stres olarak tanımlanır. Literatürde yeralan birçok çalışma enflamatuvar hastalık patogenezinde, serbest radikallerin rol oynadığı ve SOD, GPX gibi antioksidan enzim seviyelerinin doku yıkımı ile ilintili olduğunu göstermiştir (Leitao ve ark 2004, Di Paola 2005, Sodhi ve ark 2008).

Bilinen tüm bu bilgiler doğrultusunda bizim de araştırmamızda İGF hücrelerinin CAD/CAM tam seramik materyallerinin 3-HKO ve 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasındaki 24. saatte izole edilen RNA'ları ile hedef antioksidan enzimlerimiz olan SOD ve GPX ekspresyon düzeyleri RT-PCR yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlara göre LU ve EC materyallerinin, 3-HKO ile muamele edilen İGF hücrelerinde SOD ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığı belirlendi ( $p < 0.01$ ). Bununla birlikte aynı zaman periyotunda LU, VE, VM materyallerinin ise diğer bir antioksidan enzim olan GPX ekspresyon düzeyini istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığı tespit edildi ( $p < 0.01$ ). Aynı zamanda tüm materyallerin 10-HKO ile muamele edilen İGF hücrelerinde hem SOD hem de GPX ekspresyonlarını istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığı görüldü ( $p < 0.01$ ). Tüm bu veriler İGF hücrelerinde erken dönemde (3-HKO) LU, VE, EC, VM materyallerinin antioksidatif etkiyi başlattığı, uzun dönemde ise oluşan bu antioksidatif etkinin tüm materyallerde artarak devam ettiğini düşündürdü. Mevcut literatürde CAD/CAM tam seramik materyallerin İGF hücrelerinin oksidatif stres enzimlerinin ekspresyon düzeylerinin değerlendirildiği herhangi bir çalışma bulunmadığından antioksidatif hücre cevabı açısından bir kıyaslama yapılamadı.

Ağız içi ortamda CAD/CAM tam seramik materyallerle direkt etkileşimde olan İGF hücreleri gingiva içerisinde yeralan bağ dokunun temel hücresidir. Öyle ki klinikte kullanılan birçok protetik materyal ilişkili olduğu dokulardaki hücreler üzerinde toksik ve alerjik etki yaratarak enflamasyon süreciyle başlayan periodontal hasara sebep olabilir. Oluşabilecek bu periodontal hasar sürecinde ise doku yıkımının stimülasyonuna (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9) ve inhibisyonuna (TIMP-1,

TIMP-2) neden olan sitokin cevabı (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-10), bu dengenin dokudaki yapım ya da dokudaki yıkımın kontrol edilmesi yönünde değişebilir (Seymour ve Gemmell 2001).

Bu etkileşimlerin etki mekanizmasının önemi göz önüne alınarak projemizde İGF hücrelerinin hem 3-HKO hem de 10-HKO ile muamele edilmesini takip eden günde izole edilen RNA'lar ile pro-enflamatuar (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8) ve anti-enflamatuar (IL-10) sitokin ekspresyon seviyeleri RT-PCR ile incelendi.

Araştırmamızda İGF hücrelerinin hem erken dönem (3-HKO) hem de uzun dönem (10-HKO) ile etkileşimi sonucundaki IL 1- $\beta$  mRNA ekspresyon düzeyi RT-PCR ile değerlendirildi. Elde edilen sonuçlara göre İGF hücrelerinin 3-HKO uygulaması sonrasında IL 1- $\beta$  ekspresyonu VE, EM, LU, VM gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel oranda anlamlı şekilde azalırken ( $p < 0.01$ ) VS grubunda ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı belirlendi ( $p < 0.01$ ). Bununla birlikte İGF hücrelerinin 10-HKO ile muamele edilmesi sonrasında IL 1- $\beta$  ekspresyon seviyesi VE, LU, VM gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalırken ( $p < 0.01$ ); EM, VS, EC gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı belirlendi ( $p < 0.01$ ). Özellikle gruplar arasında İGF hücrelerinin 3-HKO uygulaması sonrasında IL 1- $\beta$  ekspresyonunun EM materyalinde kontrol grubuna göre azalma yönünde olduğu görülürken, hücrelerin 10-HKO ile muamelesi sonrasında bu paterni artan IL 1- $\beta$  ekspresyonu olarak sonuca yansıttığı görüldü. Bununla birlikte İGF hücrelerin 3-HKO sonrasındaki IL 1- $\beta$  ekspresyon seviyesini VS materyalinde 10-HKO sonrasında da koruduğu tespit edildi. Belirlenen diğer bir farklı tutumda ise İGF hücrelerin 3-HKO sonrasında IL 1- $\beta$  düzeyinin EC materyalinde değişmezken, bu durumun 10-HKO sonrasında artan IL 1- $\beta$  ekspresyon seviyesi şeklinde değiştiği görüldü.

Araştırmamızda İGF hücrelerinin hem erken dönem (3-HKO) hem de uzun dönem (10-HKO) ile etkileşimi sonucundaki TNF- $\alpha$  mRNA ekspresyon düzeyi RT-PCR ile değerlendirildi. Bulgulara göre bütün materyallerin tüm zaman aralıklarında TNF- $\alpha$  ekspresyon düzeyini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı belirlendi ( $p < 0.01$ ). Elde edilen bu sonuçlar tüm materyallerin erken ve geç dönemlerde İGF hücrelerini farklı düzeylerde enflamatuvar yanıtı indüklediğini

gösterebilir. Literatürde yeralan bilgilere göre TNF- $\alpha$ 'nın İGF hücrelerini kollajenaz enzimi salınımı yönünde tetikleyerek doku yıkımını başlatıp kemik rezorpsiyonunu stimüle ettiği bilinmektedir (Garlet ve ark 2004, Boyce ve ark 2005). Bizim sonuçlarımızın da İGF hücrelerinin bütün materyallerle etkileşimin hücrel proenflamatuar yanıtta başlatıcı rol üstlenen sitokinlerden olan TNF- $\alpha$  seviyelerinde değişkenlik oluşturması önemlidir.

Projemizde diğer önemli proenflamatuar sitokinler olan IL-6 ve IL-8 mRNA ekspresyon seviyeleri RT-PCR ile çalışıldı. Bunun için İGF hücrelerinin 3-HKO ve 10-HKO uygulamaları sonrasında devam eden günde RNA izolasyonlarını takiben RT-PCR deneyleri yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre IL-6 ve IL-8 ekspresyon düzeylerinin 3-HKO ve 10-HKO zaman dilimlerinde kendi aralarında birbirlerine benzer sonuçlar gösterdikleri belirlendi. Bununla birlikte IL-6 ekspresyon düzeyi 3-HKO ile muamele edilen İGF hücrelerinde VS ve EC gruplarında daha fazla olmak üzere LU grubunda da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede artış gösterdi ( $p<0.01$ ). Deneyin devamında IL-6 ekspresyon düzeyi, 10-HKO ile muamele edilen İGF hücrelerinde tüm materyallerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede artış gösterdi ( $p<0.01$ ). Sonuçlar incelendiği zaman 3-HKO uygulaması sonrasında istatistiksel olarak anlamlı seviyede IL-6 ekspresyonu göstermeyen VE, EM, VM materyallerinin de İGF hücrelerinin 10-HKO uygulaması sonrasında IL-6 seviyesini istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükselttiği görüldü. Bu durum VE, EM ve VM materyallerinin daha geç dönemde İGF hücreleri üzerinde proenflamatuar yanıtı tetiklediğini gösterebilir. Ayrıca İGF hücrelerine 3-HKO uygulaması sonrasında IL-6 ekspresyon düzeyinde VS, EC gruplarında LU grubuna göre daha fazla olmak üzere kontrol grubuna kıyasla artan ekspresyon düzeylerini İGF hücrelerine 10-HKO uygulaması sonrasında VS grubunda korurken, LU'da artan EC'de ise azalan yönde tavır sergiledi. Elde edilen veriler VS materyalinin İGF hücreleri üzerinde erken dönemde başlattığı enflamatuar yanıtı geç dönemde de yönünde korurken, LU'nun ise erken dönem sonucunu geç dönemde artırdığını ortaya koydu. Bunlardan farklı olarak EC'nin erken dönemdeki kontrol grubuna kıyasla yine artış yönünde olmakla birlikte geç dönemde de artış yönünde ama erken dönemden daha düşük seviyede olduğu belirlendi. Tespit edilen bu durumla birlikte İGF

hücrelerinde EC materyaline karşı erken dönemde başlayan proenflamatuar yanıtın geç dönemde yerini antienflamatuar yönüne değiştirdiği düşünüldü.

Araştırmamızda bir diğer proenflamatuar sitokin olan IL-8'in ekspresyon düzeyleri analiz edildi. Bunun için İGF hücreleri hem 3-HKO hem de 10-HKO ile muamele edilerek bu işlemin devamındaki günde izole edilen RNA'ları üzerinden RT-PCR ile değerlendirme yapıldı. Elde edilen sonuçlar tüm materyallerin 3-HKO uygulaması sonrasında İGF hücrelerinde IL-8 ekspresyon seviyesini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırırken ( $p<0.01$ ), bu artışın EC grubunda diğer materyallere göre daha fazla olduğunu gösterdi ( $p<0.001$ ). Diğer yandan İGF hücrelerinin 10-HKO uygulaması sonrasında IL-8 ekspresyon seviyesini tüm materyallerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığını gösterdi ( $p<0.01$ ). Özellikle 10-HKO uygulaması sonrasında VE, EM, LU, VS gruplarının VM ve EC gruplarına göre daha fazla olmak üzere IL-8 düzeyini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede artırdığı belirlendi ( $p<0.01$ ). Ayrıca EC materyalinin erken dönem (3-HKO) uygulaması sonrasında kontrol grubuna göre artan IL-8 düzeyi geç dönem (10-HKO) sonrasında yine artış yönünde olmak üzere fakat erken döneme göre daha düşük seviyede ekspresyon sergilediği belirlendi. Bu durum aynı materyalin IL-6 ekspresyon paterni ile de benzerlik göstermesi bakımından önemlidir. Tüm materyallerin İGF hücreleri üzerinde IL-8 ifadesi üzerinden sergilemiş olduğu bu tavır hücrenin TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 proenflamatuar sitokin salınımları ile başlatmış olduğu enflamatuar yanıtı nötrofil kemotaktik faktör salınımına yönlendirdiğini düşündürdü.

Mevcut literatür içerisinde CAD/CAM tam seramik materyallerin İGF hücrelerin ekspresyon düzeyleri ile ilgili bir araştırma sonucuna ulaşılamamış olmakla birlikte, Atay ve ark (2018), yedi farklı CAD/CAM tam seramik materyallerden 1. ve 7. gün elde edilen ekstraktların L929 fare fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik ve apoptotik etkilerini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda seramik materyallerin farklı inkübasyon periyotlarının (1.gün ve 7.gün) hücrelerin apoptotik oranlarını değiştirdiğini ortaya koymuşlardır. Buna göre erken dönem (1.gün) EM ve EC materyallerin hücrelerin apoptozisini indüklediğini geç dönemde (7. gün) ise en yüksek apoptotik oranı EC seramik materyalin sergilediğini belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da elde ettiğimiz sonuçlar EC materyalinin erken dönemdeki

proenflamatuar etkisini göstermektedir ve bahsi geçen çalışma ile paralellik göstermektedir. Araştırmacıların ortaya koyduğu EC materyalinin 7. gündeki proenflamatuar yanıtının karşılığı olarak çalışmamızla karşılaştırabileceğimiz bir zaman aralığı bulunmamaktadır. Fakat 10 günlük örneklerimizden aldığımız sonuçlarla, EC materyalinin erken dönemde başlayan enflamatuar etkisinin uzun dönemde azaldığı şeklinde kıyaslama yapılabilir.

Araştırmamızda İGF hücrelerine CAD/CAM tam seramik materyallerinden 3-HKO ve 10-HKO uygulanması sonrasında hücrelerin IL-10 mRNA ekspresyon düzeyi RT-PCR ile çalışıldı. Elde edilen veriler erken dönem (3-HKO) uygulamasının İGF hücrelerinde IL-10'un tüm materyallerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede azaldığını gösterdi ( $p<0.01$ ). Öte yandan hücrelerin uzun dönem (10-HKO) uygulaması sonrasında tüm materyallerde IL-10 seviyesini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artırmakla birlikte ( $p<0.01$ ), bu artışın LU ve VS gruplarında daha fazla olduğu tespit edildi ( $p<0.001$ ). Özellikle LU ve VS gruplarındaki bu IL-10 yanıtının diğer gruplara göre daha yüksek olması, antienflamatuar etkinin bu iki materyalde daha erken devreye girdiğini gösterdi. Buna ilaveten seramik materyallerin uzun dönem (10-HKO) uygulaması sonrasında İGF proliferasyonunun 96. saatindeki hücre canlılığını azaltması yönündeki etkisi üzerinden, IL-10 seviyesindeki artışın enflamasyonun daha erken süreçte başlamış olabileceğini desteklemektedir. Deney sonunda elde edilen bu verilerin enflamatuar yolaktaki IL-10 salınımıyla başlayan antienflamatuar etkinin İGF hücrelerinin erken dönem (3-HKO) sonrasında ortaya çıkmazken geç dönem (10-HKO) sonrasında artan düzeyde devreye girdiğine işaret etmektedir.

Ekstrasellüler matriks, bağ dokusundaki hücrelerin bir arada tutunmasını sağlayan hücre büyümesi ve farklılaşmasında etkili olan hormonları bünyesinde bulunduran dinamik bir yapıdır. Bu dinamik içerisinde özellikle bağ dokusu hücreleri ile ekstrasellüler matriks arasındaki sinyal yolları organizmanın normal gelişimi ve fonksiyonu için kritiktir. Özellikle dişetinde bulunan ekstrasellülermatriksin İGF hücreleri arasında dinamik bir yapı oluşturduğu ve matriksin bütünlüğünün MMP'ler ve TIMP'lar arasındaki denge ile düzenlendiği bilinmektedir. Bu görev ise dişeti bağ dokusu hücreleri olan gingival fibroblastlar tarafından yürütülmektedir. Gingival fibroblastlar, çeşitli enflamatuar sitokinleri ve büyüme faktörlerini sentezlemekten

aynı zamanda ekstraselülmatriksin yapımı ve yıkımı arasındaki dengenin sağlanmasından sorumludurlar. Bu dengenin MMP'ler yönünde bozulması periodontal dokularda yıkıma neden olurken, MMP'lerin aktivasyonu TIMP'lar ile inhibe edilerek doku bütünlüğünün korunması sağlanır (Kinane ve ark 2001, Emecen 2005).

Araştırmamızda İGF hücrelerinin erken dönem (3-HKO) ve geç dönem (10-HKO) uygulaması sonrasında 24. saatte izole edilen RNA örnekleri ile MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 mRNA ekspresyonları RT-PCR ile değerlendirildi. Elde edilen sonuçlara göre İGF hücrelerinin 3-HKO uygulaması sonrasında MMP-1 ekspresyonunun VE, VM, VS, EC gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalırken, EM grubunda artış olarak belirlendi ( $p<0.01$ ). Bununla birlikte İGF hücrelerinin 10-HKO uygulaması sonrasında MMP-1 ekspresyonunun EM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edildi ( $p<0.01$ ). Bu sonuçlara göre deney parametrelerimiz arasında bulunan EM grubunun MMP-1 ekspresyonunu hem 3-HKO hem de 10-HKO uygulamaları sonrasında kontrol grubuna göre artan yönde koruduğu görüldü.

Araştırmamızda yeralan diğer bir enzim olan MMP-2 seviyesi incelendiğinde ise, İGF hücrelerinin 3-HKO uygulaması sonrasında MMP-2 düzeyinin VE, VM, VS, EC gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalırken ( $p<0.01$ ); LU materyalinde ise kontrol grubuna göre artış gözlemlendi ( $p<0.01$ ). Hücrelerin 10-HKO uygulaması sonrasında MMP-2 ekspresyon miktarını analiz ettiğimiz zaman 3-HKO sonuç paternini hemen hemen bütün materyallerde korurken, LU grubunda azalan yönde, VS grubunda ise artış şeklinde olduğu belirlendi.

Çalışmamızdaki bir diğer enzim olan MMP-3 ekspresyon sonuçlarında İGF hücrelerinin 3-HKO uygulaması sonrasında VE, LU, EC materyallerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığı belirlendi ( $p<0.01$ ). Hücrelere 10-HKO uygulaması sonrasında ise EM, LU, VS materyallerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artarken, VM ve EC gruplarında kontrol grubuna göre azaldığı belirlendi ( $p<0.01$ ). Sonuçlar incelendiği zaman VE materyalinin erken dönemde artış gösteren MMP-3 düzeyi geç dönemde kontrolle aynı seviyede olurken, EM grubunda ise kısa dönemde kontrol seviyesinde olan düzey geç

dönemde artış şeklinde izlenmiştir. Bu iki materyalin birbirinin tersi yönünde sergilemiş olduğu bu tutum VE materyalinin İGF hücreleri üzerindeki olası doku yıkımında EM materyaline göre daha erken dönemde etkin rol alabileceğini düşündürdü. Bunlara ilaveten özellikle LU materyalinin her iki deney periyodunda da MMP-3 ekspresyonunu artış şeklinde koruması, bu materyalin doku hasarında diğerlerine göre daha baskın olabileceğine işaret etti.

Periodontal hastalık ilerleme ve tedavi sürecinde iyi bir takip göstergesi olan MMP-9 polimorfonükleer lökosit, makrofaj, plazma hücreleri ile periodontal doku ilişkili fibroblast, endotel, keratinosit ve kemik hücrelerinden salgılanır (Franco ve ark 2017). Matriks metalloproteinaz ailesinden olan MMP-9 ekspresyon düzeyi İGF hücrelerinin 3-HKO ve 10-HKO uygulamaları sonrasında ekspresyon seviyeleri RT-PCR ile çalışıldı. Elde edilen araştırma sonuçlarına göre MMP-9 ekspresyon seviyesi erken dönem (3-HKO) sonrasında bütün gruplarda kontrol grubuna göre artmakla birlikte, VS materyalinde bu artışın daha fazla olduğu görüldü ( $p<0.01$ ). Devamında hücrelerin 10-HKO sonrasında MMP-9 düzeyinin bütün gruplarda daha fazla VS materyalinde ise daha düşük düzeyde azalma olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ). Literatürde *in vitro* çalışmalarda MMP-9'un proMMP-2'yi aktive edebileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Franco ve ark 2017). Bizim çalışmamızda da LU materyalinin 3-HKO uygulaması sonrasında İGF hücrelerinde MMP-9'un kontrol grubuna göre artan seviyesi MMP-2 düzeyinde de benzer şekilde görüldü. Aslında MMP-9'un MMP-2 üzerindeki beklenen bu etkisi İGF hücrelerinin 10-HKO uygulaması sonrasında, VS dışında tüm materyallerde azalan MMP-9 seviyesine paralel olarak azalan MMP-2 düzeyi olarak sonuçlara yansdı.

Ekstraselüler matriksin yıkım enzimleri olan matriks metalloproteinaz aktivitesi birçok patolojik durumda orantısal olarak artış gösterirken, dokuda bu duruma sebep olan etkenin ortadan kaldırılmaması halinde süreç doku yıkımına doğru yönelebilmektedir. Özellikle bu durumun dengeli bir şekilde yönetilmesinde matriks metalloproteinazların özelleşmiş inhibitörleri olan TIMP'lar etkin rol oynar. Bilinen bu MMP-TIMP dengesine CAD/CAM tam seramik materyallerin İGF hücreleri üzerinden etki düzeylerini belirlemek amacıyla hücrelerin 3-HKO ve 10-HKO uygulaması sonrasında TIMP-1 ve TIMP-2 düzeyleri RT-PCR ile değerlendirildi.

Sonuçlara bakıldığı zaman LU ve VS gruplarının 3-HKO uygulamasını takiben TIMP-1 ekspresyonunu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırırken ( $p<0.01$ ); EM, VM, EC gruplarında ise anlamlı düzeyde azalış olduğu görüldü ( $p<0.01$ ). Belirlenen bu etki, hücrelerin 10-HKO ile muamelesi sonrasında ise kontrol grubuna göre tüm materyallerde azalan bir profil sergiledi ( $p<0.01$ ).

Bir diğer TIMP ailesi üyesi olan TIMP-2 düzeyinin de 3-HKO ve 10-HKO uygulaması sonrasında İGF hücrelerindeki seviyesi RT-PCR ile analiz edildi. Buna göre 3-HKO uygulaması sonrasında İGF hücrelerinde LU materyalinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artışı ( $p<0.01$ ), diğer materyallerin ise anlamlı azalışı görüldü ( $p<0.01$ ). Bu sonuçlara ek olarak, hücrelerin 10-HKO uygulamasını takiben LU materyalinde erken dönem (3-HKO) uygulama sonrasında görülen artan TIMP-2 ekspresyon seviyesi bu zaman diliminde de korundu. Aynı zamanda VE materyalinde erken dönemde düşük seyreden TIMP-2 düzeyinin uzun dönemle birlikte artışa geçtiği belirlendi. Geri kalan diğer materyaller olan VM, VS, EC'nin ise hem kısa dönem hem de uzun dönemde kontrol grubuna göre düşük seyreden TIMP-2 düzeyini koruduğu gözlemlendi.

Ekstraselülmatriks idamesinde görev alan MMP ve TIMP ekspresyon düzeyleri birlikte ele alındığında, LU materyalinde özellikle erken dönemde (3-HKO) MMP-2, MMP-3, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 düzeylerindeki artış, test edilen diğer materyallere göre İGF hücrelerinde daha erken ve etkili olarak doku hasarına sebep olabileceğini düşündürdü. Bunu destekler nitelikte uzun dönem (10-HKO) sonuçlarda da diğer materyallere kıyasla hemen hemen kontrol grubuna göre daha düşük seviyede olması doku hasarı yönündeki etkisinin daha erken dönemde görülebileceğini vurguladı.

Bilgilerimiz dâhilinde, direkt olarak CAD/CAM tam seramik materyallerin İGF hücreleri üzerindeki oksidatif stres enzimleri, proenflamatuar ve antiinflamatuvar sitokin düzeyleri ile ekstraselüler matriks yıkım ve onların inhibitör enzimlerinin mRNA ekspresyonlarının etkisine yönelik araştırma sonuçlarına rastlanmamıştır. Bu nedenle genel olarak RT-PCR sonuçlarında kıyaslama olanağı bulunamamıştır.

Elde edilen sonuçlar; altı farklı CAD/CAM tam seramik materyalinin hem erken dönem (3-HKO) hem de geç dönem (10-HKO) uygulamaları sonrasında dişeti



dokusunun bütünlüğünde önemli rol oynayan İGF hücrelerinin proliferasyonu, yüzey ataçmanı, sitokin ve enzim profilini etkilediğini, aynı zamanda oksidatif stres enzimlerinin salınımını indükleyebildiğini göstermektedir. Bunun yanında araştırmaya dahil olan yeni nesil materyallerin hücre canlılığı ve yüzey ataçmanı sonuçları, bunların klinikte güvenli kullanılabilirliğini desteklemekle birlikte; moleküler düzeyde sitokin ve enzim sonuçları bu kanıyı daha fazla araştırma yapma gereksinimine yönlendirmektedir.



## 5. SONUÇLAR

Bu çalışmada; altı farklı CAD/CAM tam seramik materyalin İGF hücrelerine olan etkisi incelenmiştir;

Erken dönem (3-HKO) uygulaması sonrasında tüm materyallerin 48, 72 ve 96. saatlerde hücre proliferasyonunu istatistiksel olarak anlamlı biçimde etkilemediği ( $p>0.05$ ), sadece VE materyalinin 190. saatte İGF proliferasyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde ( $p<0.05$ ) azaltmasına rağmen Mossman skalasına göre canlı hücre oranı %90 altına düşmediği için sitotoksik olmadığı gözlemlendi.

Geç dönem (10-HKO) uygulaması sonrasında tüm materyallerin 48. saatte hücre proliferasyonunu istatistiksel olarak anlamlı biçimde etkilemediği ( $p>0.05$ ), bununla birlikte 72. saatte LU ile başlayan etkiye 96. saatte VS'nin 190. saatte ise bütün materyallerin katılması ile İGF proliferasyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde ( $p<0.05$ ) azalttığı belirlendi. Elde edilen bu veriler Mossman skalasına göre değerlendirildiğinde LU(%77) ve VS(%75) gruplarının hafif sitotoksik oldukları diğer materyallerin ise canlı hücre oranının %90 altına düşmediği için sitotoksik olmadıkları sonucuna ulaşıldı.

SEM analizi sonuçlarına göre ise CAD/CAM tam seramik materyallerinin yüzeylerinde EM grubunda en fazla olmakla beraber zamanla artan İGF proliferasyonu ve ataşmanı gözlemlendi. Bu durum çalışmamızda incelenen seramik materyallerinin üzerine yumuşak doku ataşmasının olabileceğinin in vitro ortamdaki kanıtıdır.

RT-PCR sonuçlarına göre:

Tüm materyaller İGF hücrelerini hem 3-HKO hem de 10-HKO olmak üzere erken ve geç dönemde sitokin, ekstraselüler matriks yıkım-inhibitör ve oksidatif stres enzimlerini moleküler seviyede farklı düzeylerde etkilemektedir.

Elde edilen verilere göre özellikle LU, VS, EC materyallerinin diğer materyallere göre araştırmamızda yer alan hedef gen ekspresyonları üzerinden İGF hücrelerinde farklı düzeylerde enflamatuvar yanıtı tetikleme potansiyeli olduğunu gösterdi.

Bunun yanında bütün materyallerin SOD, GPX, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-10 mRNA ekspresyonlarını artırdığı, IL-1 $\beta$ , MMP-1, 2, 3, 9 TIMP-1 ve TIMP-2'de ise 3 ve 10 günlük ekstratlarda farklı mRNA ekspresyonları olduğu tespit edildi. Bu durum çalışmamızda kullandığımız bütün materyallerin İGF hücrelerinde proenflamatuar yanıtı indüklediğini göstermektedir.

Bu sonuçlar ışığında hücre proliferasyonu ve yüzey ataçmanı bulgularımız, değerlendirmeye alınan altı farklı CAD/CAM tam seramik materyalin mevcut klinik kullanımlarının güvenilirliğini desteklerken moleküler düzeydeki sonuçlarımız bu materyaller ile daha fazla *in vitro* testler yapılması gerekliliğini ortaya koymuştur.

Bundan sonra yapılacak çalışmalar:

Yapmış olduğumuz literatür araştırmasında daha çok CAD/CAM materyallerin biyouyumluluklarını test etmek için kısa döneme dayalı toksisite testleri yapıldığı görüldü. Elde edilen sonuçlarınsa limitasyonlara sahip olup materyallerin hücreler üzerinde uzun dönem ve moleküler seviyelerde etkinliğinin belirlenmesi gerekliliği vurgulanmıştı. Bizim çalışmamızın bu konuda çalışan araştırmacılara yol gösterici olacağını düşünmekteyiz. Mevcut sonuçlarımızın bu materyallerin ağız içi ortamda kontakta bulunduğu diğer hücre gruplarıyla da tekrar edilmesi önemlidir.

Araştırmada yer alan CAD/CAM tam seramik materyaller klinik kullanımda yer alan polisajlama işlemi sonrasında elde edilen örnekler üzerinden deneylere dahil edildi. Bundan sonraki çalışmalarda materyallere glaze uygulaması yapılarak deneylerin tekrarlanması ile klinik uygulamada hayat bulan bir diğer işlemin de sonuçlara etkisinin değerlendirilmesi mümkündür.

Ayrıca bu materyallerin sahip olduğu monomer bileşenler kullanılarak yapılacak *in vitro* testler ile biyouyumlulukları test edilmelidir.

Çalışmamızda RT-PCR deneyleri yürütülürken test materyallerinden salınanları içeren hücre kültür ortamı ile muamele edilen İGF hücrelerinden mRNA izolasyonları yapılmış ve indirekt yöntemle ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. Farklı bir bakış açısıyla ise bu yöntem İGF hücrelerinin materyal yüzeyine ekilip mRNA

izolasyonları direkt olarak gerçekleştirilebilir. Araştırmamızda uyguladığımız yüzey ataçmanı deneylerine göre tüm materyallerin ataçman yeteneğinin yüksek olmasının tespiti, bahsedilen yöntemin uygulanabilirliği açısından olanak sağlamaktadır.

Yaptığımız *in vitro* araştırma sonuçlarına ek olarak kimyasal yüzey analiz teknikleri, element salınımının ölçülmesi ve fiziksel yüzey karakterizasyonu ile mikroyapı ve pörözitenin incelenmesi CAD/CAM tam seramik materyallerinin biyolojik yanıtının daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir.

Elde edilen *in vitro* test sonuçlarını ağız içi ortamdaki sonuçlarına yaklaştırmak için *in vivo* takipler ile desteklenmelidir.



## 6. KAYNAKLAR

3M ESPE, 2011. 3M ESPE Product Brochure

Akgungor G, Akkayan B, Gaucher H, 2005. Influence of ceramic thickness and polymerization mode of a resin luting agent on early bond strength and durability with a lithium disilicate-based ceramic system. *The Journal of prosthetic dentistry*, 94(3), 234-241

Akın E, 1999. Diş hekimliğinde porselen. *Ü. Dişhekimliği Fakültesi Yayın lan*, (43), 2, 1-26

AlAnezi AZ, Jiang J, Safavi KE, Spangberg LS, Zhu Q, 2010. Cytotoxicity evaluation of endosequence root repair material. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 109(3), e122-e125

Albakry M, Guazzato M, Vincent Swain M, 2004. Biaxial flexural strength and microstructure changes of two recycled pressable glass ceramics. *Journal of Prosthodontics: Implant, Esthetic and Reconstructive Dentistry*, 13(3), 141-149

Altintas SH, Usumez A, 2008. Evaluation of monomer leaching from a dual cured resin cement. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 86(2), 523-529

Andersson M, Carlsson L, Persson M, Bergman B, 1996. Accuracy of machine milling and spark erosion with a CAD/CAM system. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 76(2), 187-193

Anusavice KJ, Schmalz G, 2013. *Biocompatibility. Phillips' Science of Dental Materials*. St. Louis: Elsevier Saunders, 111-47

Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR, 2013b. *Dental Ceramics*. In: *Phillips' Science of Dental Materials*. St. Louis, Missouri: by Saunders, an imprint of Elsevier Inc, p.418-473

Anusavice KJ, 2003. *Phillips' Science of Dental Materials*. Missouri: Elsevier Science

Asavapanumas C, Leevailoj C, 2013. The influence of finish line curvature on the marginal gap width of ceramic copings. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 109(4), 227-233

Atay A, Gürdal I, Bozok Çetintas V, Üşümez A, Cal E, 2018. Effects of new generation all-ceramic and provisional materials on fibroblast cells. *Journal of Prosthodontics*

Awad D, Stawarczyk B, Liebermann A, Ilie N, 2015. Translucency of esthetic dental restorative CAD/CAM materials and composite resins with respect to thickness and surface roughness. *The Journal of prosthetic dentistry*, 113(6), 534-540

Awada A, Nathanson D, 2015. Mechanical properties of resin-ceramic CAD/CAM restorative materials. *The Journal of prosthetic dentistry*, 114(4), 587-593

Batson ER, Cooper LF, Duqum I, Mendonça G, 2014. Clinical outcomes of three different crown systems with CAD/CAM technology. *The Journal of prosthetic dentistry*, 112(4), 770-777

Bendich A, 1990. Antioxidant nutrients and immune functions-introduction. In: *Antioxidant Nutrients and Immune Functions*. Eds: Springer, p. 1-12

Berthelsen CL, Stille KR, 2000. Automated personal health inventory for dentistry: a pilot study. *The Journal of the American Dental Association*, 131(1), 59-66

- Beuer F, Schweiger J, Eichberger M, Kappert HF, Gernet W, Edelhoff D, 2009. High-strength CAD/CAM-fabricated veneering material sintered to zirconia copings—a new fabrication mode for all-ceramic restorations. *Dental Materials*, 25(1), 121-128
- Bilginer C, 2017. Farklı tek seans tam seramik CAD-CAM bloklardan hazırlanan kuron protezlerinin kırılma dayanımının incelenmesi. İstanbul Üni Diş Hek Fak Doktora Tezi
- Bindl A, Luthy H, Mormann WH, 2003. Fracture load of CAD/CAM-generated slot-inlay FPDs. *International Journal of Prosthodontics*, 16, p.653-660
- Bopp SK, Lettieri T, 2008. Comparison of four different colorimetric and fluorometric cytotoxicity assays in a zebrafish liver cell line. *BMC pharmacology*, 8(1), 8
- Borges G, Faria J, Agarwal P, Spohr A, Correr-Sobrinho L, Miranzi B, 2012. In vitro marginal fit of three all-ceramic crown systems before and after cementation. *Operative Dentistry*, 37 (6), 641-649
- Boyce BE, Li P, Yao Z, Zhang Q, Badell IR, Schwarz EM, O’Keefe RJ, Xing L, 2005. TNF $\alpha$  and pathologic bone resorption. *The Keio journal of medicine*, 54(3), 127-31
- Brackett MG, Lockwood PE, Messer RL, Lewis JB, Bouillaguet S, Wataha JC, 2008. In vitro cytotoxic response to lithium disilicate dental ceramics. *dental materials*, 24(4), 450-456
- Brinckerhoff CE, Matrisian LM, 2002. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nature reviews Molecular cell biology*, 3, 3, 207-14
- Brochu JF, El-Mowafy O, 2002. Longevity and clinical performance of IPS-Empress ceramic restorations-a literature review. *Journal-Canadian Dental Association*, 68(4), 233-238
- Browne RM, 1988. The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials—does it have a role?. *International endodontic journal*, 21(2), 50-58
- Brunton PA, Smith P, McCord JF, Wilson NHF, 1999. Restorative dentistry: Procera all-ceramic crowns: a new approach to an old problem?. *British dental journal*, 186(9), 430-434
- Christensen GJ, 2001. Computerized restorative dentistry: state of the art. *The Journal of the American Dental Association*, 132(9), 1301-1303
- Coşkun A, Yaluğ S, 2002. Metal desteksiz porselen sistemleri. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 5(2),97-102
- Coldea A, Swain MV, Thiel N, 2013. Mechanical properties of polymer-infiltrated-ceramic-network materials. *Dental Materials*, 29(4), 419-426
- Conrad HJ, Seong WJ, Pesun IJ, 2007. Current ceramic materials and systems with clinical recommendations: a systematic review. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 98 (5), 389-404
- Contreras LPC, Dal Piva AMO, Ribeiro FC, Anami LC, Camargo SEA, Jorge AOC, Bottino MA, 2018. Effects of manufacturing and finishing techniques of feldspathic ceramics on surface topography, biofilm formation, and cell viability for human gingival fibroblasts. *Operative dentistry*
- Craig RG, Powers JM(Eds.), 1989. Restorative dental materials
- Çetindağ MT, Meşe A, 2016. Diş hekimliğinde kullanılan cad/cam (bilgisayar destekli tasarım/bilgisayar destekli üretim) sistemleri ve materyaller. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 26(3) 524-533
- D’Arcangelo C, Vanini L, Rondoni GD, De Angelis F, 2016. Wear properties of dental ceramics and porcelains compared with human enamel. *The Journal of prosthetic dentistry*, 115(3), 350-355

- Davis J, 1994. Basic cell culture. Oxford Uni. Press, 85
- Deliaga N, 2002. Farklı estetik materyallerle hazırlanan protetik restorasyonların hücre kültüründe sitotoksik etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir 2002
- Della Bona A, Corazza PH, Zhang Y, 2014. Characterization of a polymer-infiltrated ceramic-network material. *Dental Materials*, 30(5), 564-569
- Denry IL, Kelly JR, 2008. State of the art of zirconia for dental applications. *Dental Materials* 24(3), 299-307
- Desmoulière A, Darby IA, Gabbiani G, 2003. Normal and pathologic soft tissue remodeling: role of the myofibroblast, with special emphasis on liver and kidney fibrosis. *Laboratory investigation*, 83(12), 1689
- Deville S, Chevalier J, Fantozzi G, Bartolomé JF, Requena J, Moya JS, Díaz LA, 2003. Low-temperature ageing of zirconia-toughened alumina ceramics and its implication in biomedical implants. *Journal of the European Ceramic Society*, 23(15), 2975-2982
- de Waal Malefyt R, Hans Y, Roncarolo M-G, Spits H, de Vries JE, 1992. Interleukin-10. *Current opinion in immunology*, 4, 3, 314-20
- Dinarello CA, 2011. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*, 117, 14, 3720-32
- Di Paola R, Mazzon E, Zito D, Maiere D, Britti D, Genovese T, Cuzzocrea S, 2005. Effects of Tempol, a membrane-permeable radical scavenger, in a rodent model periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 32, 10, 1062-8
- Dirxen C, Blunck U, Preissner S, 2013. Clinical performance of a new biomimetic double network material. *Open Dent J*, 7, 118-122
- Donovan TE, 2008. Factors essential for successful all-ceramic restorations. *J Am Dent Assoc*, 139 Suppl: 14S-18S
- Persaud SJ 1999. Cell and tissue culture: laboratory procedures in biotechnology. A. Doyle and JB Griffiths (Eds), John Wiley & Sons Ltd, 332 pp, *Cell Biochemistry and Function*, 17(4), 289-289
- Eidenbentz S, Lehner CR, Schaerer P, 1994. Copy milling ceramics inlays from resin analogs. *The Int Journal of Prosthodontics*, 7,134-139
- Ekwall B, Silano V, Paganuzzi-StammatiA, Zucco F, 1990. Short-term toxicity tests for non-genotoxic effects. Bourdeau P: John Wiley & Sons, 75-97
- Elshahawy WM, Watanabe I, Kramer P, 2009. In vitro cytotoxicity evaluation of elemental ions released from different prosthodontic materials. *Dental materials*, 25(12), 1551-1555
- Emecen P, 2005. Periodontal hastalıkta interlökin-1A, interlökin-1B ve interlökin- 1RN gen polimorfizmlerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Fasbinder DJ, 2002. Restorative material options for CAD/CAM restorations, *Compend Contin Educ Dent*, 23, 911-16, 918-20
- Fasbinder DJ, 2010. Materials for chairside CAD/CAM restorations. *Compend Contin Educ Dent*, 31(9), 702-4

- Feng J, Aboyoussef H, Weiner S, Singh S, Jandinski J, 2006. The effect of gingival retraction procedures on periodontal indices and crevicular fluid cytokine levels: a pilot study. *Journal of Prosthodontics*, 15(2), 108-12
- Feuerstein P, 2004. Can technology help dentists deliver better patient care?. *The Journal of the American Dental Association*, 135, 11S-16S
- Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann T, Howard M, O'garra A, 1991. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *The Journal of Immunology*, 147, 11, 3815-22.
- Fotakis G, Timbrell JA, 2006. In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicology letters*, 160(2), 171-177
- Fradeani M, Redemagni M, 2002. An 11-year clinical evaluation of leucite-reinforced glass-ceramic crowns: a retrospective study. *Quintessence Int*, 33, 503-510
- Franco C, Patricia HR, Timo S, Claudia B, Marcela H, 2017. Matrix metalloproteinases as regulators of periodontal inflammation. *International journal of molecular sciences*, 18(2), 440
- Freshney RI, 1992. *Animal cell culture: a practical approach*. Oxford University Press, New York, 17-168
- Garlet GP, Martins W, Fonseca BA, Ferreira BR, Silva JS, 2004. Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*, 31(8), 671-9
- Gainet J, Dang PM, Chollet-Martin S, Brion M, Sixou M, Hakim J, Gougerot-Pocidal MA, Elbim C, 1999. Neutrophil dysfunctions, IL-8, and soluble L-selectin plasma levels in rapidly progressive versus adult and localized juvenile periodontitis: variations according to disease severity and microbial flora. *Journal of immunology*, 163, 9, 5013-9.
- Genco RJ, 1992. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *Journal of periodontology*, 63(4s), 338-355
- Gibson UE, Heid CA, Williams PM, 1996. A novel method for real time quantitative RT-PCR. *Genome research*, 6(10), 995-1001
- Giordano R, 2006. Materials for chairside CAD/CAM-produced restorations. *JADA*, 137, 14-21
- Giordano RA, 1996. Dental ceramic restorative systems, *Compend Contin Educ Dent*, 17, 779-82
- Giulietti A, Overbergh L, Valckx D, Decallonne B, Bouillon R, Mathieu C, 2001. An overview of real-time quantitative PCR: Applications to quantify cytokine gene expression. *Methods* 25; 386-401
- Gladys S, Van Meerbeek B, Inokoshi S, Willems G, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G, 1995. Clinical and semiquantitative marginal analysis of four tooth-coloured inlay systems at 3 years. *Journal of dentistry*, 23(6), 329-338
- Grenade C, De Pauw-Gillet MC, Gailly P, Vanheusden A, Mainjot A, 2016. Biocompatibility of polymer-infiltrated-ceramic-network (PICN) materials with human gingival fibroblasts (HGFs). *Dental Materials*, 32(9), 1152-1164
- Griggs JA 2007. Recent advances in materials for all-ceramic restorations. *Dental Clinics of North America*, 51(3), 713-727



- Guazzato M, Albakry M, Ringer SP, Swain MV, 2004. Strength, fracture toughness and microstructure of a selection of all-ceramic materials. Part II. Zirconia-based dental ceramics. *Dental materials*, 20(5), 449-456
- Guedez L, Courtemanch L, Stetler-Stevenson M, 1998. Tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1 induces differentiation and an antiapoptotic phenotype in germinal center B cells. *Blood*, 92, 4, 1342-9
- Guess PC, Zavanelli RA, Silva NR, Bonfante EA, Coelho PG, Thompson VP, 2010. Monolithic CAD/CAM lithium disilicate versus veneered Y-TZP crowns: comparison of failure modes and reliability after fatigue. *International Journal of Prosthodontics*, 23(5), 434-42
- Gueth J, Zuch T, Zwinge S, 2013. Optical properties of manually and CAD/CAM-fabricated polymers. *Dent Mater*, 6, 865-871
- Gutiérrez D, Hidalgo-Cantabrana C, Rodríguez A, García P, Ruas-Madiedo P, 2016. Monitoring in real time the formation and removal of biofilms from clinical related pathogens using an impedance-based technology. *PLoS One*, 11(10), 1-17
- Hager B, Odén A, Andersson B, Andersson L, 2001. Procera AllCeram laminates: a clinical report. *The Journal of prosthetic dentistry*, 85(3), 231-232
- Hakki SS, Foster BL, Nagatomo KJ, Bozkurt SB, Hakki EE, Somerman MJ, Nohutcu RM, 2010. Bone morphogenetic protein-7 enhances cementoblast function in vitro. *Journal of periodontology*, 81(11), 1663-1674
- Hakki SS, Bozkurt SB, 2012. Effects of different setting of diode laser on the mRNA expression of growth factors and type I collagen of human gingival fibroblasts. *Lasers in medical science*, 27(2), 325-331
- Hamid A, Okamoto A, Iwaku M, Hume WR, 1998. Component release from light-activated glass ionomer and compomer cements. *Journal of oral rehabilitation*, 25(2), 94-99
- Hanks CT, Wataha JC, Sun Z, 1996. In vitro models of biocompatibility: A review. *Dent Mater*, 12, 186-193
- Hassell TM, 1993. Tissues and cells of the periodontium. *Periodontology 2000*, Vol 3, 9-38
- Hayakawa T, Yamashita K, Ohuchi E, Shinagawa A, 1994. Cell growth-promoting activity of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 (TIMP-2). *Journal of Cell Science*, 107, 9, 2373-9
- Hayakawa T, Yamashita K, Tanzawa K, Uchijima E, Iwata K, 1992. Growth-promoting activity of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) for a wide range of cells A possible new growth factor in serum. *FEBS letters*, 298, 1, 29-32
- Heffernan MJ, Aquilino SA, Diaz-Arnold AM, Haselton DR, Stanford CM, Vargas MA, 2002. Relative translucency of six all-ceramic systems, part I: core materials. *J Prosthet Dent*, 88, 4-9
- Heffernan MJ, Aquilino SA, Diaz-Arnold AM, Haselton DR, Stanford CM, Vargas MA, 2002. Relative translucency of six all-ceramic systems, part II: core and veneer materials. *J Prosthet Dent*, 88(1), 10-15
- Helfrich MH, Ralston SH, 2003. Bone research protocols. Humana Press Inc, Totowa
- Hensten-Pettersen A, 1988. Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. *International endodontic journal*, 21(2), 89-99

- Hondrum SO, 1992. A review of the strength properties of dental ceramics. *J Prosthet Dent*, 67, 859-865
- ISO-7405, 1997. Dentistry-preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry test methods for dental materials
- Issa Y, Watts DC, Brunton PA, Waters CM, Duxbury AJ, 2004. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dent Mater* 20, 12-20
- Jones DW, 1985. Development of dental ceramics, an historical perspective. *Dental Clinics of North America*, 29(4), 621-644
- Karaalioglu AGDOF, Duymuş ZY, 2008. Diş hekimliğinde uygulanan CAD/CAM sistemleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 18(1), 25-32
- Kardeşler L, Buduneli N, Çetinkalp Ş, Kinane DF, 2010. Adipokines and inflammatory mediators after initial periodontal treatment in patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *Journal of periodontology*, 81(1), 24-33
- Kassotakis EM, Stavridakis M, Bortolotto T, Ardu S, Krejci I, 2015. Evaluation of the effect of different surface treatments on luting CAD/CAM composite resin overlay workpieces. *Journal of Adhesive Dentistry*, 17(6)
- Kawai K, Urano M, Ebisu S, 2000. Effect of surface roughness of porcelain on adhesion of bacteria and their synthesizing glucans. *The Journal of prosthetic dentistry*, 83(6), 664-667
- Kelly JR, Benetti P, 2011. Ceramic materials in dentistry: historical evolution and current practice. *Aust Dent J*, 56, 84-96
- Kelly JR, Nishimura I, Campbell SD, 1996. Ceramics in dentistry: historical roots and current perspectives, *J Prosthet Dent*, 75, 18-32
- Kelly JR, 2004. Dental ceramics: current thinking and trends. *Dental Clinics*, 48(2), 513-530
- Khattak SF, Spataro M, Roberts L, Roberts SC, 2006. Application of colorimetric assays to assess viability, growth and metabolism of hydrogel-encapsulated cells. *Biotechnol Lett* 28, 1361-1370
- Kim YS, Shin SY, Moon SK, Yang SM, 2015. Surface properties correlated with the human gingival fibroblasts attachment on various materials for implant abutments: a multiple regression analysis. *Acta Odontologica Scandinavica*, 73(1), 38-47
- Kinane DF, Podmore M, Murray MC, Hodge PJ, Ebersole J, 2001. Etiopathogenesis of periodontitis in children and adolescents. *Periodontology* 2000, 26, 54-91
- Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW, 2003. The mechanical properties of human dentin: a critical review and re-evaluation of the dental literature. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 14(1), 13-29
- Kishimoto T, 1989. The biology of interleukin-6. *Blood*, 74, 1, 1-10
- Kleinsasser NH, Wallner BC, Harréus UA, Kleinjung T, Folwaczny M, Hickel R, Reichl FX, 2004. Genotoxicity and cytotoxicity of dental materials in human lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (comet) assay. *Journal of dentistry*, 32(3), 229-234
- Koga D, Kusumi S, Shodo R, Dan Y, Ushiki T, 2015. High-resolution imaging by scanning electron microscopy of semithin sections in correlation with light microscopy. *Journal of Electron Microscopy*, 64(6), 387-94

- Krüger S, Deubener J, Ritzberger C, Höland W, 2013. Nucleation kinetics of lithium metasilicate in zro2-bearing lithium disilicate glasses for dental application. *International Journal of Applied Glass Science*, 4(1), 9-19
- Lauvahutanon S, Takahashi H, Shiozawa M, Iwasaki N, Asakawa Y, Oki M, Arksornnukit M, 2014. Mechanical properties of composite resin blocks for CAD/CAM. *Dental materials journal*, 33(5), 705-710
- Lehner CR, Scharer P, 1992. All ceramic crowns. *Current Opinion in Dentistry*, 2, 42-45
- Leitão R, Rocha F, Chaves H, Lima V, Cunha F, Ribeiro R, Brito G, 2004. Locally applied isosorbide decreases bone resorption in experimental periodontitis in rats. *Journal of periodontology*, 75, 9, 1227-32
- Li RWK, Chow TW, Matinlinna JP, 2014. Ceramic dental biomaterials and CAD/CAM technology: state of the art. *Journal of prosthodontic research*, 58(4), 208-216
- Lim HN, Yu B, Lee YK, 2010. Spectroradiometric and spectrophotometric translucency of ceramic materials. *The Journal of prosthetic dentistry*, 104(4), 239-246
- Liu PR, Essig ME, 2008. Panorama of dental CAD/CAM restorative systems. *Compend Contin Educ Dent Suppl*, 29, 486-488
- Livak KJ, Schmittgen TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-Delta Ct method. *Methods* 25; 402-408
- Luthardt RG, Holzhüter MS, Rudolph H, Herold V, Walter MH, 2004. CAD/CAM-machining effects on Y-TZP zirconia. *Dental Materials*, 20(7), 655-662
- Magne P, Belser U, 1997. Esthetic improvements and in vitro testing of In-Ceram Alumina and Spinell ceramic. *International Journal of Prosthodontics*, 10(5), 459-466
- Manicone PF, Iommetti PR, Raffaelli L, 2007. An overview of zirconia ceramics: basic properties and clinical applications. *Journal of dentistry*, 35(11), 819-826
- Marchack BW, Sato S, Marchack CB, White SN, 2011. Complete and partial contour zirconia designs for crowns and fixed dental prostheses: a clinical report. *J Prosthet Dent*, 106(3), 145-152
- McLean JW, 1979. *The Science and Art of Dental Ceramics. Volume 1, The Nature of Dental Ceramics and their Clinical Use.* Quintessence Publishing Co, Inc. Chicago
- Messer RL, Doeller JE, Kraus DW, Lucas LC, 2000. An investigation of fibroblast mitochondria enzyme activity and respiration in response to metallic ions released from dental alloys. *Journal of biomedical materials research*, 50(4), 598-604
- Messer RL, Lockwood PE, Wataha JC, Lewis JB, Norris S, Bouillaguet S, 2003. In vitro cytotoxicity of traditional versus contemporary dental ceramics. *The Journal of prosthetic dentistry*, 90(5), 452-458
- Miyazaki T, Hotta Y, 2011. CAD/CAM systems available for the fabrication of crown and bridge restorations. *Aust Dent J*, 56, 97-106
- Miyazaki T, Hotta Y, Kunii J, Kuriyama S, Tamaki Y, 2009. A review of dental CAD/CAM: Current status and future perspectives from 20 years of experience. *Dent. Mater. J*, 28(1), 44-56
- Mosmann T, 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65(1-2), 55-63

- Murray PE, García Godoy C, García Godoy F, 2007. How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated?. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet)*, 12(3), 258-266
- Nakamura T, Dei N, Kojima T, Wakabayashi K, 2003. Marginal and internal fit of Cerec 3 CAD/CAM all-ceramic crowns. *International Journal of Prosthodontics*, 16(3)
- Nguyen JF, Migonney V, Ruse ND, Sadoun M, 2012. Resin composite blocks via high-pressure high-temperature polymerization. *Dental materials*, 28(5), 529-534
- Nguyen JF, Ruse D, Phan AC, Sadoun MJ, 2014. High-temperature-pressure polymerized resin-infiltrated ceramic networks. *Journal of dental research*, 93(1), 62-67
- Nussbaum L, McInnes R, Willard H, 2005b. İnsan Genomu: Genlerin ve kromozomların yapısı ve fonksiyonu. In: H. Yurter, editors. *Thompson & Thompson Tıbbi Genetik*. 6. İstanbul: Güneş Kitabevi
- O'Brien WJ, 2002. *Dental Materials and their Selection*. 3rd ed. Chicago, Quintessence Int
- Okutucu B, Pehlivan S, 2003. Reverz-transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (rt-pcr) ve uygulama alanları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 12(2)
- Ozkan EA, 2008. Ağrı kontrolünde kullanılan benzidamin hı'ün osteoblast hücreleri üzerindeki etkilerinin hücre kültürü çalışmaları ile değerlendirilmesi. *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü Ortodonti Doktora Programı Doktora Tezi: 62*
- Özcan M, Dündar M, Erhan Çömlekoğlu M, 2012. Adhesion concepts in dentistry: tooth and material aspects. *Journal of adhesion science and technology*, 26(24), 2661-2681
- Özdemir GK, 2007. Farklı yumusak astar materyellerinin sitotoksitelerinin fare fibroblastları üzerinde hücre kültürü yöntemi ile in vitro olarak değerlendirilmesi. *Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara*
- Öztürk F, Malkoc S, Ersöz M, Hakkı SS, Bozkurt BS, 2011. Real-time cell analysis of the cytotoxicity of the components of orthodontic acrylic materials on gingival fibroblasts. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 140(5), e243-e249
- Pabst AM, Walter C, Grassmann L, Weyhrauch M, Brüllmann DD, Ziebart T, Lehmann KM, 2014. Influence of CAD/CAM all-ceramic materials on cell viability, migration ability and adenylate kinase release of human gingival fibroblasts and oral keratinocytes. *Clinical oral investigations*, 18(4), 1111-18
- Pagniano RP, Seghi RR, Rosenstiel SF, Wang R, Katsube N, 2005. The affect of a layer of resin luting agent on the biaxial flexural strenght of two all-ceramic systems. *J Prosthet Dent*, 93, 459-66
- Pallesen U, Van Dijken JW, 2000. An 8-year evaluation of sintered ceramic and glass ceramic inlays processed by the Cerec CAD/CAM system. *European journal of oral sciences*, 108(3), 239-246
- Peumans M, Hikita K, De Munck J, Van Landuyt K, Poitevin A, Lambrechts P, Van Meerbeek B, 2007. Effects of ceramic surface treatments on the bond strength of an adhesive luting agent to CAD-CAM ceramic. *Journal of dentistry*, 35(4), 282-288
- Pfaffl M, 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*, 29, 900
- Pilathadka S, Vahalová D, 2007. Contemporary All-ceramic materials-Part 1. *Acta medica-Hradec Kralove*, 50(2), 101

- Pivodova V, Frankova J, Ulrichova J, 2011. Osteoblast and gingival fibroblast markers in dental implant studies. *Biomedical Papers*, 155, 2, 109-16
- Pjetursson BE, Sailer I, Zwahlen M, Hämmerle CH, 2007. A systematic review of the survival and complication rates of all-ceramic and metal–ceramic reconstructions after an observation period of at least 3 years. Part I: single crowns. *Clinical Oral Implants Research*, 18, 73-85
- Polyzois GL, Hensten-Pettersen A, Kullmann A, 1994. An assessment of the physical properties and biocompatibility of three silicone elastomers. *J Prosthet Dent*, 71, 500–504
- Preis V, Behr M, Hahnel S, Rosentritt M, 2015. Influence of cementation on in vitro performance, marginal adaptation and fracture resistance of CAD/CAM-fabricated ZLS molar crowns. *Dental Materials*, 31(11), 1363-1369
- Pröbster L, Geis-Gerstorfer J, Kirchner E, Kanjantra P, 1997. In vitro evaluation of a glass–ceramic restorative material. *Journal of oral rehabilitation*, 24(9), 636-645
- Putnam KP, Bombick DW, Doolittle DJ, 2002. Evaluation of eight in vitro assays for assessing the cytotoxicity of cigarette smoke condensate. *Toxicol In Vitro*, 16, 599-607
- Quinn JB, Quinn GD, 2010. Material properties and fractography of an indirect dental resin composite. *dental materials*, 26(6), 589-599
- Raigrodski AJ, 2004. Contemporary materials and technologies for all-ceramic fixed partial dentures: a review of the literature. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 92 (6), 557-562
- Reich S, Hornberger H, 2002. The effect of multicolored machinable ceramics on the esthetics of all-ceramic crowns. *J Prosthet Dent*, 88, 44-9
- Rinke S, Pabel AK, Rödiger M, Ziebolz D, 2016. chairside fabrication of an all-ceramic partial crown using a zirconia-reinforced lithium silicate ceramic. *Case reports in dentistry*
- Ritzberger C, Apel E, Höland W, Perschke A, Rheinberger VM, 2010. Properties and clinical application of three types of dental glass-ceramics and ceramics for CAD/CAM Technologies. *Metaterials*, 33, 700-13
- Rocca GT, Saratti CM, Cattani-Lorente M, Feilzer AJ, Scherrer S, Krejci I, 2015. The effect of a fiber reinforced cavity configuration on load bearing capacity and failure mode of endodontically treated molars restored with CAD/CAM resin composite overlay restorations. *Journal of dentistry*, 43(9), 1106-1115
- Rohr N, Coldea A, Zitzmann NU, Fischer J, 2015. Loading capacity of zirconia implant supported hybrid ceramic crowns. *Dental Materials*, 31(12), e279-e288
- Rosenstiel SF, Land MF, Fujimoto J, 2006. *Contemporary fixed prosthodontics*, 4th ed, St Louis: Mosby Elsevier
- Ruse ND, Sadoun MJ, 2014. Resin-composite blocks for dental CAD/CAM applications. *J Dent Res*, 93, 1232-1234
- Rutkunas V, Bukelskiene V, Sabaliauskas V, Balciunas E, Malinauskas M, Baltriukiene D, 2015. Assessment of human gingival fibroblast interaction with dental implant abutment materials. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 26(4), 169
- Sahafi A, Peutzfeldt A, Asmussen E, Gotfredsen K, 2003. Bond strength of resin cement to dentin and to surface-treated posts of titanium alloy, glass fiber, and zirconia. *Journal of Adhesive Dentistry*, 5(2)

- Sakaguchi RL, Powers JM, 2012. Craig's restorative dental materials-e-book. Elsevier Health Sciences.
- Schillingburg HT, Hobo S, Whitsett LD, Jacobi R, Brackett SE, 1997. Fundamentals of fixed prosthodontics. Carol Stream: Quintessence Publishing
- Schlichting LH, Maia HP, Baratieri LN, Magne P, 2011. Novel-design ultra-thin CAD/CAM composite resin and ceramic occlusal veneers for the treatment of severe dental erosion. *The Journal of prosthetic dentistry*, 105(4), 217-226
- Schmalz G, 1997. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Investig*, 1, 154-162
- Schweikl H, Schmalz G, 1996. Toxicity parameters for cytotoxicity testing of dental materials in two different mammalian cell lines. *Eur J Oral Sci*, 104, 292-299
- Schwengberg S, Bohlen H, Kleinsasser N, Kehe K, Seiss M, Walther UI, Reichl FX, 2005. In vitro embryotoxicity assessment with dental restorative materials. *Journal of dentistry*, 33(1), 49-55
- Seghi RR, Sorensen JA, 1995. Relative flexural strength of six new ceramic materials. *Int J Prosthodont*, 8, 239-246
- Sen BH, Kazemi RB, Spangberg LSW, 1998. Morphological effects on 1929 fibroblasts of titanium tetrafluoride application. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 86, 341-346
- Seymour GJ, Gemmell E, 2001. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontologica Scandinavica*, 59, 3, 167-73
- Sies H, Stahl W, Sundquist AR, 1992. Antioxidant functions of vitamins. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 669, 1, 7-20
- Sjogren G, Molin M, van Dijken JW, 2004. A 10-year prospective evaluation of CAD/CAM-manufactured (Cerec) ceramic inlays cemented with a chemically cured or dual-cured resin composite. *Int J Prosthodont*, 17, 241-246
- Sjogren G, Sletten G, Dahl JE, 2000. Cytotoxicity of dental alloys, metals, and ceramics assessed by millipore filter, agar overlay, and MTT tests. *J Prosthet Dent*, 84, 229-236
- Sjögren G, Sletten G, Dahl JE, 2000. Cytotoxicity of dental alloys, metals, and ceramics assessed by millipore filter, agar overlay, and MTT tests. *The Journal of prosthetic dentistry*, 84(2), 229-236
- Smith DC, 1982. Tissue reaction to noble and base metal alloys. CRC Press Inc, *Biocompatibility of Dental Materials*, 4, 51-77
- Sodhi S, Sharma A, Brar A, Brar R, 2008. Effect of  $\alpha$  tocopherol and selenium on antioxidant status, lipid peroxidation and hepatopathy induced by malathion in chicks. *Pesticide biochemistry and physiology*, 90(2), 82-6
- Soga Y, Nishimura F, Ohyama H, Maeda H, Takashiba S, Murayama Y, 2003. Tumor necrosis factor-alpha gene (TNF- $\alpha$ )- 1031/- 863,- 857 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) are associated with severe adult periodontitis in Japanese. *Journal of clinical periodontology*, 30, 6, 524-31
- Sorensen JA, Kang SK, Avera SP, 1991. Porcelain-composite interface microleakage with various porcelain surface treatments. *Dent Mater*, 7, 118-23
- Sorensen JA, Munksgaard EC, 1995. Ceramic inlay movement during polymerization of resin luting cements. *European journal of oral sciences*, 103(3), 186-189
- Sorensen JA, Torres TJ, 1992. In-Ceram ceramic bridge technology. *Quint Dent Technol*, 15, 41-46

- Souaze F, Ntodou-Thome A, Tran CY, Rostene W, Forgez P, 1996. Quantitative RT-PCR: limits and accuracy. *Biotechniques*, 21(2), 280-285
- Sripetchdanond J, Leevailoj C, 2014. Wear of human enamel opposing monolithic zirconia, glass ceramic, and composite resin: an in vitro study. *The Journal of prosthetic dentistry*, 112(5), 1141-1150
- Stanford JW, 1980. Recommended standard practices for cytotoxicity testing. FDI World Dental Federation in conjunction with International Standards Organization. *Dent J*, 30, 141-73
- Stawarczyk B, Basler T, Ender A, Roos M, Ozcan M, Hammerle C, 2012. Effect of surface conditioning with airborne-particle abrasion on the tensile strength of polymeric CAD/CAM crowns luted with self-adhesive and conventional resin cements. *J Prosthet Dent*, 107, 94-101
- Takashiba S, Naruishi K, Murayama Y, 2003. Perspective of cytokine regulation for periodontal treatment: fibroblast biology. *Journal of periodontology*, 74, 1, 103-10
- Tanrikulu ŞH, 2006. Demineralize sığır kemiği grefti(bbp®) ile B-tricalsiyum fosfat kemik greftinin(fortos® resorb) osteoblast hücre kültürü üzerine etkilerinin in vitro incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul
- Taskonak B, Mecholsky Jr JJ, Anusavice KJ, 2005. Residual stresses in bilayer dental ceramics. *Biomaterials*, 26(16), 3235-3241
- Tete S, Zizzari VL, Borelli B, De Colli M, Zara S, Sorrentino R, Zarone F. (2014). Proliferation and adhesion capability of human gingival fibroblasts onto zirconia, lithium disilicate and feldspathic veneering ceramic in vitro. *Dental materials journal*, 33(1), 7-15
- Tinschert J, Zvez D, Marx R, Anusavice KJ, 2000. Structural reliability of alumina-feldspar-leucite-mica and zirconia-based ceramics. *Journal of dentistry*, 28(7), 529-535
- Türkcan İ, Nalbant AD, 2016. Dental protetik materyallerin biyolojik uyumluluğu ve test yöntemleri. *Acta Odontologica Turcica*, 33(3), 145-52
- Toksavul S, Artunç C, Ulusoy M, Toman M, 2002. Tüm seramik kronlar. *Ege Üniv. Diş Hek. Fak. Protetik Diş Tedavisi Ana Bilim Dalı*
- Torabinejad M, Hong CU, Lee SJ, Monsef M, Ford TRP, 1995. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. *Journal of Endodontics*, 21(12), 603-608
- Toy E, Malkoc S, Corekci B, Bozkurt BS, Hakki SS, 2014. Real-time cell analysis of the cytotoxicity of orthodontic brackets on gingival fibroblasts. *Journal of applied biomaterials & functional materials*, 12(3), 248-255
- Triwatana P, Nagaviroj N, Tulapornchai C, 2012. Clinical performance and failures of zirconia-based fixed partial dentures: a review literature. *The journal of advanced prosthodontics*, 4(2), 76-83
- Tsai CC, Ho YP, Chen CC, 1995. Levels of interleukin-1 $\beta$  and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *Journal of periodontology*, 66(10), 852-859
- Tsitrou EA, Northeast SE, van Noort R, 2007. Brittleness index of machinable dental materials and its relation to the marginal chipping factor. *Journal of dentistry*, 35(12), 897-902
- Tunçel A, 2005. Sabit protetik restorasyonlarda kullanılan farklı fiberle güçlendirilmiş kompozit yapıların yüzey sertliği, yüzey pürüzlülüğü ve sitoksisitelerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas

- Tutal Z, Şener Yamaner ID, Tuncer EB, 2015. Dental seramiklerin tarihsel gelişimi. Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg, 10, 157-166
- Türkcan İ, Nalbant AD, 2016. Dental protetik materyallerin biyolojik uyumluluğu ve test yöntemleri. Acta Odontologica Turcica, 33(3), 145-52
- Tyas MJ, 1977. A method for the in vitro toxicity testing of dental restorative materials. Journal of Dental Research, 56(10), 1285-1290
- Ulu H, Bayındır F, 2016. Monolitik zirkonyum restorasyonlar. Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg, 67-72
- Ural Ç, 2011. Diş hekimliği pratiğinde tamamı seramik ve CAD-CAM uygulamaları
- Urcan E, Haertel U, Styllou M, Hickel R, Scherthan H, Reichl FX, 2010. Real-time xCELLigence impedance analysis of the cytotoxicity of dental composite components on human gingival fibroblasts. dental materials, 26(1), 51-58
- Vagkopoulou T, Koutayas SO, Koidis P, Strub JR, 2009. Zirconia in dentistry: Part 1. Discovering the nature of an upcoming bioceramic. Eur J Esthet Dent, 4(2), 130-51
- Valdes L, Gueimonde M, Ruas-Madiedo P, 2015. Monitoring in real time the cytotoxic effect of Clostridium difficile upon the intestinal epithelial cell line HT29. J Microbiol Methods, 119, 66-73
- Van Dijken JW, 1999. All-ceramic restorations: classification and clinical evaluations. Compend Contin Educ Dent, 20, 1115-1124
- Vita Zahnfabrik, 2013. Vita Enamic Product Brochure
- Wall GJ, Cipra DL, 1992. Alternative crown systems. Dental Clinics of North America, 36, 765-79
- Wataha JC, 2001. Principles of biocompatibility for dental practitioners. J Prosthet Dent, 86, 203-209
- Weyermann J, Lochmann D, Zimmer A, 2005. A practical note on the use of cytotoxicity assays. Int J Pharm, 288, 369-376
- Weyhrauch M, Wentaschack S, Igiel C, Scheller H, Lehmann KM, 2015. Influence of abutment-configuration on fracture strength of CAD/CAM-fabricated ceramic crowns. Journal of Restorative Dentistry, 3(3)
- Xible AA, de Jesus Tavaréz RR, de Araujo CRP, Bonachela WC, 2006. Effect of silica coating and silanization on flexural and composite-resin bond strengths of zirconia posts: An in vitro study. J Prosthet Dent, 95, 224-229
- Xing JZ, Zhu L, Jackson JA, Gabos S, Sun XJ, Wang XB, Xu X, 2005. Dynamic monitoring of cytotoxicity on microelectronic sensors. Chemical research in toxicology, 18(2), 154-161
- Yaka E, Eğrilmez MY, Keskinöglü P, Cavdar Z, Genç Ş, Genç K, İyilikçi L, Yener GG, 2006. Biochemical markers in cerebrospinal fluid (csf) and evaluation of the effect of csf on pc12 cell line viability in alzheimer's disease. Turkish Journal of Geriatrics, 9(1), 1-7
- Yavuzylmaz H, Turhan B, Bavbek B, Kurt E, 2005. Tam porselen sistemleri I. Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 22(1), 41-48
- Yıldırım ZS, Bakır EP, Bakır Ş, Aydın MS, 2017. Diş hekimliğinde biyouyumluluk ve değerlendirme yöntemleri. Selcuk Dental Journal, 4(3), 162-169
- Zaimoğlu A, Can G, Ersoy A, Aksu L, 1993. Diş hekimliğinde maddeler bilgisi, A.Ü. Basımevi, Ankara



- Zan T, 1999. Çeşitli yüzey şartlandırma işlemlerinin konvansiyonel dental porselenlerin eğilme dayanıklılığı üzerine etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara
- Zarone F, Russo S, Sorrentino R, 2011. From porcelain-fused-to-metal to zirconia: clinical and experimental considerations. *Dental materials*, 27(1), 83-96
- Zhang Y, Lee JJ, Srikanth R, Lawn BR, 2013. Edge chipping and flexural resistance of monolithic ceramics. *Dent Mater J*, 29, 1201-1208
- Zhi L, Bortolotto T, Krejci I, 2016. Comparative in vitro wear resistance of CAD/CAM composite resin and ceramic materials. *The Journal of prosthetic dentistry*, 115(2), 199-202
- Zimmer S, Gohlich O, Ruttermann S, Lang H, Raab WH, Barthel CR, 2008. Long-term survival of Cerec restorations: a 10-year study. *Oper Dent*, 33, 484-487
- Zimmermann M, Mehl A, Reich S, 2012. New CAD/CAM materials and blocks for chairside procedures. *International journal of computerized dentistry*, 16(2), 173-181



## 7. EKLER

EK-A. Selçuk Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



### GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KOMİSYONU

Sayı: 04

17.04.2018

Konu: 2018/04 sayılı komisyon kararları

Sayın, Prof.Dr.İsa YÖNDEM

Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'nun 12.04.2018 tarihinde yapılan 2018/04 sayılı toplantısında yürütücüsü olduğunuz **"FARKLI CAD-CAM TAM SERAMİK MATERYALLERİNİN İNSAN GİNGİVAL FİBROBLASTLARI ÜZERİNE ETKİLERİ"** konu başlıklı projenin, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Yönergesi İlkelerine uygun olduğundan **"kabulüne"** oybirliği ile karar verildi.

Gereğini bilgilerinize saygılarımla rica ederim.

Prof.Dr.Nimet ÜNLÜ  
Komisyon Başkanı

EK-A. Selçuk Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (devamı)



**GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR  
DEĞERLENDİRME KOMİSYONU**

Toplantı Sayısı : 4	Toplantı Tarihi : 12.04.2018
---------------------	------------------------------

Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalından Prof.Dr.İsa YÖNDEM aynı anabilim dalından Dt.Gökçen ÖZTÜRK, Periodontoloji Anabilim Dalından Prof.Dr. Sema HAKKI ve Biyolog Dr. Ş.Buket BOZKURT tarafından sunulan “**Farklı CAD-CAM Tam Seramik Materyallerinin İnsan Gingival Fibroblastları Üzerine Etkileri**” araştırma projesi 10 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Değerlendirme sonucunda, Projenin, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Yönergesi İlkelerine uygun olduğundan “**kabulüne**” oybirliği ile karar verildi.

Prof.Dr.Nimet ÜNLÜ  
Başkan

Prof.Dr.İsa YÖNDEM  
Katılmadı

Doç.Dr.Nevin ÇOBANOĞLU  
Üye

Prof.Dr.Doğan DOLANMAZ  
İzinli

Prof.Dr.Sema S.HAKKI  
Katılmadı

Prof.Dr.Duygu FINDIK  
Üye

Prof.Dr.Ender ERDOĞAN  
Üye

Prof.Dr.Hale AKRI AYDINBELGE  
Üye

Doç.Dr.Füsun YAŞAR  
Üye

Prof.Dr.Sibel YILDIRIM  
Üye

Doç.Dr.Mehmet AKIN  
Üye

Doç.Dr.Hüsamettin VATANSEV  
Üye

Prof.Dr.K.Hakan DOĞAN  
Üye

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Ankara’da dünyaya geldi. İlk ve orta öğrenimini Ankara’ da tamamladıktan sonra 2010 yılında Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nde lisans eğitime başladı. 2015 yılında Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nde diş hekimi ünvanı aldı. 2016 yılında Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı’nda uzmanlık eğitime başladı. Halen aynı bölümde uzmanlık öğrencisi olarak çalışmaktadır. Evlidir. Yabancı dili İngilizce’dir.

