

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

***BULK FILL* KOMPOZİTLERİN BİYOUYUMLULUĞUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ayşe Canan Tutku Çelik
UZMANLIK TEZİ

RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

Danışman
Doç. Dr. H. Esra ÜLKER

KONYA-2017

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

***BULK FILL* KOMPOZİTLERİN BİYOUYUMLULUĞUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ayşe Canan Tutku Çelik
UZMANLIK TEZİ

RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. H. Esra ÜLKER

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 15102045 proje numarasıyla desteklenmiştir.

KONYA-2017

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR	iii
ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖNSÖZ	vi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİ.....	2
2. 1. Kompozit Rezinler	2
2. 1. 1. Kompozit Rezinlerin Yapısı	3
2. 1. 2. Kompozit Rezinlerin Sınıflandırılması.....	5
2.2. Biyouyumluluk	13
2. 2. 1. Biyouyumluluğun Değerlendirilmesi	13
2. 3. Amaç	19
2. 4. Hipotez	19
3. 1. L929 hücreleri ve tSPTH Kültürlerinin Hazırlanması	20
3. 2. Test Materyalleri, MTT ve XTT Deneyleri için Materyal Ekstraktlarının Hazırlanması.....	24
3. 3. MTT, XTT ve Canlı/Ölü Hücre Deneyleri İçin Materyal Ekstraktlarının Hazırlanması.	28
3. 4. 1. MTT Deneyinin Uygulanışı.....	30
3. 4. 2. XTT Deneyinin Uygulanışı	31
3. 4. 3. Canlı/Ölü Hücre Deneyinin Uygulanışı	31
4. BULGULAR.....	34
4. 1. Bulk Fill Kompozit Rezinlerin L929 Hücrelerinin Canlılıkları Üzerine Etkileri	34
4. 2. Bulk Fill Kompozit Rezinlerin tSPTH Canlılıkları Üzerine Etkileri	36
4. 3. Canlı/Ölü Hücre Analiziyle Değerlendirme Sonucu Elde Edilen Bulgular	38
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	54
7. KAYNAKLAR	55
8. ÖZGEÇMİŞ	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

BAP	Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
Bis-GMA	Bisfenol A Glisidil Metakrilat
CO ₂	Karbondioksit
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EBPADMA	Etoksillenmiş Bisfenol A Dimetakrilat
EDMA	3,4-Etilendioksi-N-Metilamfetamin
FBS	Fetal Bovine Serum
GPDM	Gliserol Fosfat Dimetakrilat
HEMA	2-Hidroksi-Etil Metakrilat
L929	Fare Fibroblastı Hücresi
MDPB	12-Metakriloiloksidodesil-Piridinyum Bromür
MMA	Metil Metakrilat
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
mL	Mililitre
mm	Milimetre
MEM-Alpha	Minimum Essential Medium Alpha
MTT	3- (4,5-Dimetiltiazol-2-il) -2,5-Difeniltetrazolyum Bromid
N	Örnek Sayısı
nm	Nanometre
PRG	Prereacted Cam Partikülleri
SV 40 Large	Simian Virus 40 Large
TEGDMA	Trietilenglikol Dimetkrilat
tSPTH	SV40 Large T-Antijeni İle Transfekte Edilmiş Sığır Pulpa Hücreleri
XTT	2,3-Bis- (2-Metoksi-4-Nitro-5-Sülfohenil) -2H-Tetrazolyum-5-Karboksanilid Disodyum

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Bulk Fill* Kompozitlerin Biyouyumluluğunun Değerlendirilmesi**

Ayşe Canan Tutku ÇELİK
Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı

UZMANLIK TEZİ / KONYA-2017

Bu çalışmanın amacı, kavite restorasyonunda kullanılan 4 farklı *bulk fill* kompozit rezinin fare fibroblast (L929) ve Klonal SV40 Large T-antijeniyle transfekte edilmiş sığır pulpa hücrelerinin (tSPTH) canlılıkları üzerine etkilerinin değerlendirilmesidir.

Tetric EvoCeram Bulk Fill (Ivoclar-Vivadent, Schaan, Lihtenştayn), SonicFill (KerrCorp, Orange, CA, ABD), everX Posterior (GC Europe, Lueven, Belçika) ve Filtek Bulk Fill (3M ESPE, Seefeld, Almanya) kompozit rezinler üretici firmanın talimatları doğrultusunda standart teflon halkalar içine yerleştirildi ve polimerize edildi. Örnekler 24 saat serum içeren kültür ortamında saklandı. L929 ve Klonal SV 40 Large T-antijeni ile transfekte edilmiş sığır pulpa hücreleri 96 kuyucuklu hücre kültür kaplarına alındı ve 24 saat 37°C'de inkübe edildi. Canlılık değerlendirme testleri için, L929 ve sığır pulpa hücreleri 24 saat materyal ekstraktı içeren kültür ortamına maruz bırakıldı. Hücre canlılığı sırasıyla MTT ve XTT metotlarıyla değerlendirildi. Veriler one-way ANOVA analiziyle istatistiksel olarak değerlendirildi.

L929 hücreleri üzerinde; SonicFill ve Filtek Bulk Fill kompozit rezinlerinin orijinal ekstraktları ve 1:2, 1:4, 1:8 konsantrasyonları ile negatif kontrol grubunun hücre canlılık oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). tSPTH üzerinde ise; Tetric EvoCeram Bulk Fill kompozit rezininin orijinal ekstaktı ve 1:2, 1:4, 1:16, 1:32 konsantrasyonları, SonicFill ve everX Posterior kompozit rezinlerinin sadece orijinal ekstraktı, Filtek Bulk Fill kompozit rezininin orijinal ekstraktı ve 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 konsantrasyonlarıyla negatif kontrol grubunun hücre canlılık oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Filtek Bulk Fill kompozit rezin grubunun her iki hücre üzerinde de en düşük hücre canlılığı gösterdiği ve buna bağlı olarak en fazla sitotoksik etkiyi gösteren materyal olduğu tespit edildi. Bu çalışmada veriler 2 boyutlu *in vitro* hücre kültürü testleri yapılarak elde edilmiştir. Kliniğe daha yakın veriler elde edebilmek için 3 boyutlu hücre kültürü testleri ve *in vivo* çalışmalar da yapılmalıdır.

Anahtar kelimeler: *Bulk fill*, biyouyumluluk, sitotoksisite

SUMMARY

**REPUBLIC OF TURKEY
SELCUK UNIVERSITY
FACULTY OF DENTISTRY**

Biocompatibility Evaluation of Bulk Fill Composites

**Ayşe Canan Tutku ÇELİK
Department of Restorative Dentistry**

THESIS / KONYA-2017

The aim of this study was to evaluate the cytotoxic effects of four bulk fill composites on L929 and transfected bovine pulp derived with SV 40 Large T-antigen cells.

Tetric EvoCeram Bulk Fill (Ivoclar-Vivadent, Schaan, Liechtenstein), SonicFill (Kerr Corp., Orange, CA, USA), everX Posterior (GC Europe, Lueven, Belgium) and Filtek Bulk Fill (3M ESPE, Seefeld, Germany) composite resins specimens were prepared according to manufacturers' with using standard teflon matrix and polymerized. Specimens stored in culture medium with serum for 24 h. L929 and transfected bovine pulp derived with SV 40 Large T-antigen cells were seeded into 96-well plate and incubated for 24 h at 37°C. For evaluation of cell viability, cells were exposed to extracts of materials for 24h. Cell viability was evaluated with in order of MTT and XTT methods. Results were statistically analyzed by one-way ANOVA.

On the L929 cells, the difference between the original extract and 1:2, 1:4, 1:8 concentrations of SonicFill and Filtek Bulk Fill composite resins and the cell viability of the negative control group was statistically significant ($p<0.05$). On transfected bovine pulp derived with SV Large T antigen, the original extract and 1:2, 1:4, 1:16, 1:32 concentrations of the Tetric EvoCeram Bulk Fill composite resin, original extract of the SonicFill and everX Posterior composite resins, original extract and 1: 2, 1: 4, 1: 8, 1:16 of the Filtek Bulk Fill composite resin and cell viability of the negative control group were statistically significant ($p<0.05$).

The Filtek Bulk Fill composite resin group showed the lowest cell viability on both cells and the most cytotoxic effect was also observed in this group. In this study, data were obtained by conducting 2-dimensional in vitro cell culture tests. In order to obtain closer data to the clinic, 3-dimensional cell culture tests and in vivo studies should be performed.

Key words: Bulk fill, biocompatibility, cytotoxicity

ÖNSÖZ

Çalışmam boyunca bilgisini, tecrübesini, ilgisini, emeğini esirgemeyen çok değerli Doç. Dr. Mustafa Ülker ve Arş. Grv. Emine Yavuz'a;

Hayatım boyunca aldığım her kararda yanımda olan, daima desteğini hissettiğim sevgili babam Selcan, annem Benan ve kardeşim Mustafa Can Tözün Atmaca'ya, desteği ve sevgisi için eşim Canberk Çelik'e;

Birlikte geçirdiğimiz süreyi güzelleştiren çok sevgili arkadaşlarım Arş. Grv. Semanur Karagöllü, Arş. Grv. Nuray Günaydın, Arş. Grv. Derya Dinç, Arş. Grv. Hakan Dinç, Arş. Grv. Nurdan Altınbilek ve Arş. Grv. Mehmet Semih Velioglu'na,

Hayatımı varlıklarıyla güzelleştiren dostlarım Mehmet Işiker, Meriç Berkman, Mehmet Fatih Özmen, Esra Özlü ve Ceren Kudunoğlu'na

sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Dental estetiğe ilginin artmasıyla birlikte kompozit rezinlerin ve adeziv sistemlerin yıllar içinde gelişim göstermesi, arka dişlerde de diş renginde estetik restorasyonların uygulanmasını oldukça sık hale getirmiştir. Dental adeziv teknolojisindeki bu gelişmeler günümüzde restoratif tedavi işlemlerini basitleştirme yönünde devam etmektedir. Bu duruma örnek olarak; tek aşamalı adeziv sistemler, kendi bağlanabilen ve *bulk fill* kompozit rezinler verilebilir.

Bulk fill kompozitler 4 mm'ye kadar tek basamakta kütle halinde uygulanabilen, hastaya ve hekime zaman tasarrufu sağlayarak restorasyon sürecini kolaylaştıran, tabakalar arası kontaminasyon oluşması ve hava boşluğu kalma ihtimalini azaltan, oksijen inhibisyonunun azalması sebebiyle polimerizasyonu daha iyi sağlanan kompozitlerdir. Konvansiyonel kompozitlere göre büyük dolduruculara ve düşük doldurucu-matriks oranına sahip olmaları, doldurucu-matriks ara yüz alanın azalarak ışığın daha az saçılması sebebiyle mavi ışığın daha derinlere penetre olmasını sağlar.

İdeal bir kompozit rezin yüksek polimerizasyon derecesi ve düşük polimerizasyon büzülme stres değerine sahip olmalıdır. Işıkla sertleşen kompozit rezinlerin en büyük dezavantajı yetersiz polimerizasyon derinliğine sahip olmaları, artık monomer ve fazla polimerizasyon büzülme stresi oluşturmalarıdır. Tabakalama tekniğiyle uygulanmayan *bulk fill* kompozit rezinlerin fiziksel ve mekanik özelliklerinin iyi olduğunu gösteren birçok çalışma olmasına karşın monomerlerin polimerlere dönüşüm miktarı, artık monomer oluşum derecesi ve biyolojik özellikleriyle ilgili araştırmalar sınırlı sayıdadır. Ortama salınan artık monomerler sitotoksik, mutajenik, genotoksik ve östrojenik etkiler açığa çıkarabilirler. Bu tez çalışmasının amacı 4 farklı *bulk fill* kompozit rezinin sitotoksik etkilerini *in vitro* şartlarda değerlendirmektir.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2. 1. Kompozit Rezinler

Kompozit malzemeler, fiziksel veya kimyasal özellikleri önemli ölçüde farklı, iki veya daha fazla materyalin bileşiminden oluşan ve bir araya getirilmeleriyle bileşenlerinden farklı karakteristik özellikler gösteren materyallerdir. Mine, dentin, kemik, bağ dokusu, kas hatta hücreler de dahil olmak üzere pek çok biyolojik yapı, biyoloji mühendisliğinin geniş kapsamında kompozit olarak sınıflandırılmaktadır (Wikipedia).

Güçlendirilmiş polimerler kompozit sayılır, ama pirinç gibi alaşımlar kompozit değildir. Diş hekimliğinde, “kompozit rezin” terimiyle mine ve dentin gibi sert dokuların restorasyonunda kullanılan güçlendirilmiş polimer sistemi kastedilmektedir. Diş hekimliğinde en yaygın kullanılan kompozitler polimer ve seramik kombinasyonundan oluşur. Polimerler, seramik partiküllerini bağlamak için kullanılır. Dental kompozitlerde matriks fonksiyonu görür ve partiküller materyali destekler. Kompozitlerin özellikleri içeriğindeki bu iki materyalin arasındadır. İki materyal kombinasyonunun avantajı, tek bir materyalle sağlanamayan, ama arzu edilen kullanım özelliklerinin yeni ve tek bir materyalde üretilmiş olmasıdır. Örneğin seramik partikülleri yalnız başına kondanase edilemez ya da tepilemezken, kompozitler polimer ilavesiyle birbirine bağlanarak pat olarak kullanılabilir. Kompozitlerde polimerlerin yalnız başına kullanımıysa yeterli sertliği ve stabiliteyi sağlamayacaktır ki bu özelliklere de seramik partikülleri katkıda bulunur (Sakaguchi ve Powers 2012).

Bu materyallerde elastik modül gibi mekanik özellikler, tek fazlı ya da bileşenli homojen bir materyalle karşılaştırıldığında önemli ölçüde değişmiştir. Bileşenlerin tek tek kontrolüne dayalı makro ölçekli nesnenin özelliklerini değiştirme yeteneği kompozit materyallerin kullanımında önemli bir avantajdır (Craig 1981).

Kompozit rezinler ilk olarak 1960'ların başlarında geliştirilmiş, akrilik ve silikat materyallerden daha iyi mekanik özelliklere, az termal genleşme katsayısına, yapım esnasında az boyutsal değişime, iyi aşınma direncine sahip materyallerdir ve klinik performansları arttırılmıştır. İlk kompozit rezinler, kimyasal olarak aktive olurken, sonraki nesil ultraviyole dalga boylarıyla foto-aktive olabiliyordu. Daha

sonra da bunların yerlerini görünür dalga boylarında aktive olan kompozitler almıştır (Dayangaç 2000).

Amalgamdaki cıvanın sağlığa ve çevreye etkileri üzerine endişeler artarken, kompozit rezinlerin popülerliği artmaya devam etmektedir. Dental kompozitlerde kullanılan Bis-GMA polimerinin bisphenol A ile bir etkileşimi tespit edilmiştir, ki bu durum sağlık riski oluşturabilmesi nedeniyle incelemeye alınmıştır. Bugüne kadar dental kompozitlerde kullanılan Bis-GMA sağlık açısından riskli bulunmamıştır (Schmalz ve Arenholt-Bindslev 2009).

Kompozit rezinler, kaybedilen diş yapılarını yerine koymak, diş rengini ve konturunu değiştirmek; böylece estetiği sağlamak için kullanılır. Ticari kompozit rezinler çeşitli uygulamalar için kullanılabilir. Kompozit rezinler olarak bilinen polimer matriks kompozitler örtücü, kuron içi ve dışı, geçici restorasyon, veneer, yapay diş, siman ve kor materyali olarak kullanılır. Geleneksel olarak bazılarının estetik özellikleri sağlamak için kullanımı uygun olurken, diğerleri yüksek stres taşıyan alanlarda kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Son zamanlarda hem mükemmel estetik hem de stres taşıyan alanlar için iyi mekanik özelliklerin sağlandığı nanokompozitler kullanılır hale gelmiştir (Sakaguchi ve Powers 2012).

Kompozit teknolojisinde devam eden gelişmeler hem mükemmel dayanıklılık hem de iyi aşınma direnci gösteren ve doğal dişleri taklit ederek estetik özellikler sunan modern materyallerle sonuçlanmıştır. Özellikle doldurucu mimarisi kontrolünde nanoteknoloji kullanımı bu materyallere önemli katkı sağlamıştır. Ayrıca bonding ajanların geliştirilmesi de kompozit restorasyonların ömrünü uzatıp performansını iyileştirmiştir (Sakaguchi ve Powers 2012).

2. 1. 1. Kompozit Rezinlerin Yapısı

Kompozit rezinler, farklı yapı ve özelliğe sahip iki veya daha fazla materyalin belirgin fazlar oluşturacak şekilde birleştirilmesiyle oluşan ürünlerdir (Gladwin ve Bagby 2009).

Diş hekimliğinde kullanılan kompozit rezinler organik faz (polimer matriksi), inorganik faz (doldurucu fazı) ve bağlayıcı faz (ara faz-silan) olarak adlandırılan üç farklı fazdan oluşurlar. Kompozit rezinlerin fiziksel, mekanik ve estetik özelliklerini

bu fazlar belirler (Bowen ve Marjenhoff 1992, Dayangaç 2000, Zimmerli ve ark 2009, Ferracane 2011, Goldstein 2014).

Organik Faz

Organik matriks, kompozit rezinlerin kimyasal olarak aktive olup polimerizasyon sonucunda rijit bir polimere dönüşen kısmıdır (Rv 2002). Bowen'ın 1962 yılında geliştirdiği Bis-GMA, organik faz monomerlerinden en fazla kullanılan ve bilinenidir (Bowen ve Marjenhoff 1992). Sık kullanılan bir diğer organik faz monomeriyse UDMA'dır; ki UDMA, Bis-GMA'ya göre daha akışkan bir monomerdir. Bu nedenle de UDMA, kompozitlere kıvam vermek amacıyla eklenir. Fakat molekül ağırlığı Bis-GMA'ya oranla daha küçük olduğu için daha fazla polimerizasyon büzülmesine uğrar (Ferracane 1995, Murchison ve ark 2006).

Bis-GMA ve UDMA molekül ağırlıkları fazla ve viskoz bileşiklerdir (O'Brien 2002 , Ferracane 1995, Rv 2002, Simanlar 2004, Bayne ve ark 2006, Powers ve Wataha 2008, McCabe ve Walls 2013). Organik matriksin viskozitesini azaltıp, akışkanlığı arttırmak için TEGDMA, EDMA, MMA gibi bazı monomerler eklenmiştir (O'Brien 2002 , Ferracane 2001, Rv 2002, Simanlar 2004, Bayne ve ark 2006, García ve ark 2006, Powers ve Wataha 2008, McCabe ve Walls 2013).

İnorganik Faz

Organik matriks içerisine dağılmış farklı büyüklüklerdeki lityum, alüminyum silikat, kuartz, cam partikülleri ve bor silikat gibi inorganik doldurucular inorganik fazı oluştururlar. İnorganik doldurucuların organik matrikse eklenmesi kompozit rezinin mekanik özelliklerinin artırılmasına, rezinin estetik özelliklerinin geliştirilmesine, polimerizasyon büzülmesinin ve termal genişleme katsayısının azaltılmasına katkı sağlar (Ferracane 2001, Kim ve ark 2002, Bayne ve ark 2006, Banerjee ve ark 2011). Ayrıca çinko, yitrium, baryum ve stronsiyum gibi elementler rezine radyoopasite verir (Nicholson 2002). Silika partikülleri rezinin mekanik özelliklerini arttırırken, ışığın geçirilmesini ve yayılmasını sağlar (Dayangaç 2000, Nicholson 2002).

Bağlayıcı Faz

Kompozit rezinlerin mekanik özelliklerinin iyi olabilmesi için organik matriks ile inorganik doldurucular arasında sıkı bir bağlanma gerekmektedir. Organik matriks ile inorganik doldurucular arasında "ara faz" adı da verilen bu

bağlanma ne kadar iyi olursa, kompozit rezinlerin mekanik özellikleri de o kadar iyi olacaktır (O'Brien 2002 , Rv 2002, Gladwin ve Bagby 2009).

Kompozit rezinlerde bu bağlanma, silan olarak adlandırılan organik silisyum bileşikleriyle sağlanır (Bowen ve Marjenhoff 1992). Silanlar çift fonksiyonlu moleküllerdir; hem silika partiküllerinin yüzeyindeki hidroksil grubuyla, hem de organik matriksteki metakrilat gruplarıyla kovalent bağlar yaparlar (Zimmerli ve ark 2009). Kompozit rezinlerde en yaygın kullanılan silan “3-metakriloksipropil trimetoksisilan”dır (Dayangaç 2000, García ve ark 2006, McCabe ve Walls 2013).

2. 1. 2. Kompozit Resinlerin Sınıflandırılması

Kompozit rezinler yıllar boyunca çeşitli özelliklerine göre ve sıklıkla içeriklerindeki doldurucu büyüklüğüne göre sınıflandırılmışlardır. Ancak bu sınıflandırmalar şu anda piyasada var olan kompozit resin gruplarını kapsamaz. Burada sadece piyasada var olan kompozit resin gruplarından bahsedilecektir (Craig 1981, Baum ve ark 1985, Dayangaç 2000, Albers 2002, Lynch ve ark 2008, Mitchell 2008, Sakaguchi ve Powers 2012, Türkün 2015, Van Noort ve Barbour 2013, Heymann ve ark 2014).

2. 1. 2. 1. Akışkan (Flowable) Kompozit Resinler

Akışkan kompozit rezinler ışıqla sertleşen, düşük viskoziteli; servikal lezyonların ve diğer küçük, az veya hiç stres almayan bölgelerin restorasyonlarında kullanımı tavsiye edilen materyallerdir. Dimetakrilat resin ve partikül büyüklüğü 0.4-3.0 µm arasında olan inorganik doldurucular içerirler; hacimce %42-53'ü doldurucu monomerlerden oluşmaktadır. Yeni nesil akışkan kompozit resinlerse hacimce, *universal* veya çok amaçlı kompozitlerden daha az nanofil partikül içerir. Akışkan kompozitler düşük elastik modülüse sahiptir ve bu nedenle de servikal abfraksiyon alanlarında kullanışlıdır. Düşük doldurucu içeriklerinden dolayı, *universal* kompozitlerden daha fazla polimerizasyon büzülmesi ve daha az aşınma direnci gösterirler (Sakaguchi ve Powers 2012).

2. 1. 2. 2. Kondanse Olabilen (Packable) Kompozit Resinler

Kondanse edilebilirlik kavramı yüksek viskozite ve düşük yüzey yapışkanlığına sahip kompozitler için kullanılır. Bu materyaller amalgamlar gibi kondanse edilemez, ancak düz-yüzeyli el aletleriyle akıcılığa zorlanabilir ve sıkıştırılabilirler. Bu kompozitlerin sınıf 1 ve 2 kavite preparasyonlarının restore

edilmesinde kullanılması önerilmiştir. Hacimce %66-70 doldurucu oranına sahip ışıkla aktive olabilen dimetil metakrilat (poröz veya düzensiz partiküller) rezin dolduruculardan oluşurlar. Doldurucu partiküllerin etkileşimi bu kompozitlerin kondanse edilebilir olmasını sağlar. Polimerizasyon derinliklerinin fazla, polimerizasyon büzülmelerinin az, radyoopasitelerinin ve aşınma oranlarının fazla olması (3.5µm/yıl) önemli özelliklerindedir (Sakaguchi ve Powers 2012).

2. 1. 2. 3. Ormoserler (Organik Olarak Modifiye Edilmiş Seramikler)

1998 yılında diş hekimliği piyasasına sürülmüş olan ormoserlerin (organik olarak modifiye edilmiş seramikler) en önemli özelliği, bu materyalin gelişimine kadar kompozit rezinlerin inorganik partikül yapısında, oranında ve boyutunda değişiklikler yapılmaktayken; ormoserlerin geliştirilmesiyle birlikte kompozit rezinlerin organik matriksinde de yapısal değişiklikler yapılmış olmasıdır. Doldurucu partikülleri 1-1,5 µm büyüklüğünde olup, hacimce oranları %61'dir. Ormoserler, silanlanmış inorganik dolduruculara ek olarak inorganik-organik kopolimer yapılar içermektedir. Polimerizasyon büzülmesinin az olması, aşınma direncinin fazla olması, biyouyumlulukları ve çürük önleyici etkileri ormoserlerin avantajları olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak klinik uygulama basamakları, direkt kompozit rezinlerle hemen hemen aynıdır (Dayangaç 2000, Albers 2002, Summitt ve ark 2006, Lynch ve ark 2008, Mitchell 2008, Sakaguchi ve Powers 2012, Van Noort ve Barbour 2013, Heymann ve ark 2014).

2. 1. 2. 4. Antibakteriyel Kompozit Rezinler

Antibakteriyel özellik gösteren kompozit rezinlerin elde edilmesi iki yolla mümkün olmaktadır:

- a. Resin matriks yapısına çözünebilir antibakteriyellerin ilavesiyle,
- b. Antibakteriyel ajanların resin matriksin içinde sabit kalmasıyla.

Birinci yöntemde klorheksidin ilavesi; restorasyon materyalinden salınarak etkinlik gösterir. İkinci yöntemde resin materyallere antibakteriyel aktivite sağlamak için yeni bir monomer olan 12-methacryloyloxydodecyl-pyridinium bromide (MDPB) geliştirilmiştir. Matriks içinde sabit kalan bu monomerin restorasyon dışına salınımı yoktur, ancak bakteri üremesini ve bakteriyel plak birikimini önleyici etki göstermektedir (Imazato 2003, Leprince ve ark 2010, Seitaro ve ark 2010).

2. 1. 2. 5. Nano Partiküllü ve Nanohibrit Kompozit Reziner

Son dönemlerde kompozitlerin dizaynında ve üretiminde nanoteknolojinin kullanılması özelliklerini büyük ölçüde geliştirmiştir. Bu tür kompozitler nanokompozit olarak tanımlanır. Nanoteknoloji çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemlerle 1-100 nm aralığında fonksiyonel materyaller ve yapıların üretilmesidir. Nanoteknoloji, küçük boyutlarda yeni özelliklere ve fonksiyonlara sahip yapılar oluşturmak için cihazlar ve sistemler gerektirir. Nanoteknoloji, yapıların atomik ve moleküler ölçekte kontrol ve manüple edilebilmesi anlamına gelir. Bugüne kadar okside nanopartiküller, dental kompozitlerde kullanılan nanomateryallerin en yaygın türleri olmuştur.

Günümüzde nanopartiküller içeren mevcut dental kompozitlerin iki farklı tipi vardır:

- a) Nanofiller: Resin matriks içerisinde 1-100 nm arasında partiküller içerir. Daha iri temel parçacıklar mevcut değildir.
- b) Nanohibritler: Nano boyutlu partiküllere ek olarak 0,4 ile 5 µ arasında partiküller içeren nanohibrit materyallerdir ve gerçek nanofil değildir. Gerçek nanofil kompozitlerin tüm doldurucu partikülleri nanometre boyutundadır.

Dental kompozitlere nanodoldurucu katılmasının çeşitli amaçları vardır. Bu amaçlardan ilki nanopartiküllerin boyutunun görünür ışığın (400-800 nm) oldukça altında olması sebebiyle saydam materyal oluşturabilmesidir. Diğer amaçsa, nanopartiküllerin yüzey alanı/hacim oranının oldukça geniş olmasıdır.

Bu tür kompozitlerin yapımında iki tip nanopartikül kullanılmıştır. Birinci tip zirkonyum ve seramiğin esansiyel tek fazlı, yığın oluşturmamış nano boyutlu partiküllerini içerir. Nanopartiküllerin yüzeyine silan bağlayıcı ajan uygulanması, kompozit yerleştirilip ışlandıktan sonra resin matriksle bağlanmasına izin verir. Nanomerler, solüsyonlardan sentezlenir ve aynı boyutta partiküller oluşur. Bu nedenle, yüksek dolduruculu kompozitleri üretmek için nanometrik partiküller tek başına kullanılırsa, reolojik özellikler daha zayıf olur. Bu dezavantajın üstesinden gelmek için *nanocluster* diye adlandırılan ikinci tip doldurucu tasarlanmıştır. *Nanoclusterlar*, partikül boyut dağılımı kontrollü kümeler oluşturmak için hafifçe sinterlenen, nano boyutlu oksitler tarafından oluşturulur. *Nanoclusterlar*, tek başına silika çözeltilerinden sentezlenebildiği gibi, silika ve zirkonyum oksitlerinin

karışımından da sentezlenebilir. Primer partikül boyutları 5-75 nm arasında değişen nanomerler, kümeleri oluşturmak için kullanılır. Bir *nanocluster* için partiküllerin bir üzüm salkımı gibi kendi bireysel formlarını koruduklarını hatırlamak önemlidir. Kümeler 100 nm ile submikron seviyede ortalama 0.6 µm arasında değişen oranlarda geniş bir boyut dağılımına sahip olabilir.

Nanodolduruculu kompozitlerin benzersiz yönü, mikrohibritlerin mekanik gücüne sahipken, aynı zamanda mikrofiller gibi yüzeyin polisajını koruyabilmesidir. Çoğu restorasyonun başlangıç parlaklığı oldukça iyidir, fakat hibrit kompozitlerde (mikrohibrit ve nanohibrit) daha büyük doldurucuların kopması parlaklık kaybına neden olur. Aksine nanofil kompozitlerdeki *nanoclusterlar*, abrazyon sırasında çevreleyen matrikse benzer oranda kopar. Uzun süre polisajlı bir yüzey sağlar.

Nanofiller optik özelliklerde de avantajlar sunmaktadır. Genel olarak, pigmente edilmemiş dental kompozitlerde az opaklık sağlanması arzu edilir. Geniş bir yelpazede gölgeler ve opasiteler oluşturulmasına olanak tanır, böylece klinisyen son derece estetik bir restorasyon tasarlayabilir.

Kompozitlerin hibrit tiplerinde doldurucu partiküllerinin büyüklüğü 0,4-3 µm arasındadır. Partiküller ve rezinin kırılma indeksleri uyumsuz olduğunda partiküller ışığı dağıtacak ve opak materyaller oluşacaktır. Nanomerik dolgu partiküllerinin ışığın dalga boyundan çok daha küçük olması nedeniyle indeksleri ölçülemez. Işık geldiğinde, uzun dalga boylu ışık doğrudan geçerek materyallerin yüksek derecede saydam gözükmesine sebep olur. Buna ek olarak, siyah bir arka plana yerleştirildiğinde, nanomerik ve *nanocluster* partiküller öncelikle mavi ışığı yansıtacak, kompozite opalesan etki verecektir. Bu durum, aynı etkiyi gösteren doğal mine ile karşılaştırıldığında gerçeğe daha yakın bir görünüm kazandırır. Çok düşük opasitede nanokompozit oluşturabilmek, insizal kenar için gerekli çok saydam tonlardan, çok tabakalı restorasyonlardaki final tabaka için gereken daha opak tonlara kadar, arzu edilen mine, dentin ve *body* kompoziti tonlarında geniş bir yelpazede ton ve opasite formüle edebilmesini sağlar. Bu durum klinisyene estetik ihtiyaçlara göre tek ya da çok tonlu tabakalama tekniği yapabilme imkanı sağlar. 3 ve 5 yıllık klinik kullanım sonrasında bu materyallerin aşınma direncinin de doğal mineyle benzer olduğu bulunmuştur (Sakaguchi ve Powers 2012).

2. 1. 2. 6. Giomerler

Bu materyal aynı kompomer materyal grubu gibi, cam iyonomer simanların kötü estetik sonuçları ve nemden etkilenmeleri gibi klinik deavantajları en aza indirmek, ancak klinik avantajlarını da kullanmak üzere geliştirilmiştir (Yap ve ark 2002, Itota ve ark 2004). Giomerler rezin esaslı materyallerdir ve içeriklerinde 'prereacted' cam partiküller (PRG) ile beraber, üretan dimetakrilat ve hidroksietil metakrilat bulunmaktadır. Bu cam partiküller, cam iyonomer simanlardaki fluorosilikat camlara çok benzemektedir ve materyale katılmadan önce poliakrilik asitle muamele edilmişlerdir. Bu ön işlem partiküllerin yüzeyini kaplayarak gerçekleştirilebileceği gibi, tüm partiküllerin içine de uygulanabilir.

Giomerler ışıkla sertleşirler, oldukça radyoopaktırlar ve dişe bağlanmak için mutlaka bir bağlayıcı sisteme ihtiyaç duymaktadırlar.

İlk yapılan araştırmalar florür salınımlarıyla ilgili çelişkili raporlar sunmuştur (Forsten 1998, Xu ve Burgess 2003). Itota ve ark. Reactmer'in bir kompomer ve kompozitten çok daha fazla florür salıdığına bildirmelerine karşın (Itota ve ark 2004), Yap ve ark. materyalin başlangıç salınımının olmadığını, salınımın sonradan arttığını ve 28 gün sonrasındaysa bir kompomerden daha düşük olduğunu bulmuşlardır (Yap ve ark 2002).

2. 1. 2. 7. İndirekt Kompozit Rezinler

Fazla miktarda diş dokusu kaybı olduğunda, kavitenin estetik bir materyalle restorasyonu gerektiğinde, direkt kompozit restorasyon yapmak mümkün olmadığında, laboratuvarda yapılıp sonradan ağız içine simante edilen indirekt kompozit rezin restorasyonlar alternatif bir seçim olabilir. Buna karşın yapımının, daha pahalı bir işlem olduğu, zaman aldığı, geçici restorasyonu ve ölçü almayı gerektirdiği bilinmelidir. Ancak direkt restorasyonlara göre polimerizasyon dereceleri daha fazladır, aşınmaya karşı daha dirençlidirler ve mekanik özellikleri de daha iyidir. Bu restorasyonlarda aproksimal kontaklar ve oklüzal anatomiler daha uygun şekilde işlenebilmektedir. Bu materyaller ile *dual-cure* rezinlerle yapıştırılabilen inley, onley, overley veya lamina veneerler yapılabilmektedir. İndirekt kompozit rezin restorasyonlar karşıt dişleri çok az aşındırır. Hem klinikte hem de laboratuvarda yapılabilir ve hibrit kompozitlerle tamir edilebilirler. Hibrit kompozitlerle karşılaştırıldığında, indirekt kompozitlerin fiziksel özellikleri,

polimerizasyon derecesinin %100'e yakın olması sebebiyle çok daha iyidir. Polimerizasyonundaki bu artış laboratuvarında oksijensiz bir ortamda, toplam polimerizasyonu uyaran yüksek basınç, ısı ve çok yoğun ışıkla sağlanmaktadır. Metal ya da porselen indirekt restorasyonlara göre, oklüzal morfolojilerin ve konturların ayarlanması, cilalanmaları ve simantasyonları çok daha kolay yapılmaktadır (Dayangaç 2000, Albers 2002, Summitt ve ark 2006, Lynch ve ark 2008, Mitchell 2008, Sakaguchi ve Powers 2012, Van Noort ve Barbour 2013, Heymann ve ark 2014).

2. 1. 2. 8. Dual-cure Kompozit Rezin Simanlar

Kompozit rezin simanların kullanım özelliklerini kolaylaştırmak için, doldurucu oranları azaltılmıştır; bu nedenle özellikleri akışkan kompozit rezinlere daha yakındır. Birçok ürün setinde, otopolimerizasyonu başlatmak amacıyla farklı viskozitede iki katalizatör bulunur. Fazla viskoziteye sahip bir ürün olarak, daha iyi fiziksel özelliklere, daha az termal genişleme katsayısına sahip olması ve uzun süreli kenar uyumu sağlaması materyalden beklenen özelliklerdir. İndirekt kompozit ya da kompozit veneer restorasyon simante edileceği zaman bu sistemler yaygın olarak kullanılmakta ve ışıkla sertleştirilmektedir. İnley, onley, overley ve veneerler yerleştirildiği zaman, ışığın ulaşamadığı bölgelerde simanın polimerizasyonundan emin olmak için otopolimerizan bir katalizör içermektedirler (Türkün 2015)

2. 1. 2. 9. Kendi Bağlanabilen Kompozit Rezinler

Son yıllarda piyasaya sürülen ve diş dokularına kendiliğinden tutunan, akışkan kıvamda olup adeziv içeren ilk ürün Vertise Flow'dur (Kerr Corp., Orange, CA, ABD). Bu ürünün içinde, işlevsel bir fosfat grubundan oluşan ve özel bir monomer olan gliserol fosfat dimetakrilat (GPDM) bulunmaktadır. Bu materyal diş sert dokusundaki kalsiyumla kimyasal bağ kurmaktadır. Bir taraftan asidik olan fosfat grubu yüzeyi dağlayarak mikroretantif bir alan meydana getirip kimyasal bağ oluştururken; öte yandan molekülün diğer ucunda bulunan metakrilat grupları diğer monomerlerle bir ağ yapısı oluşturabilmektedir. Bir diğer ürün olan Fusio Liquid Dentin (Pentron Clinical) ise 4-MET'i adeziv monomer olarak içermektedir. Cam iyonomer siman ile benzer olarak karboksilat grupları üzerinden diş sert dokularında bir tutuculuk sağlar. Geleneksel akışkan kompozitlerden farklı olarak kendinden adezivli akışkan kompozitler, adezivle ön işlem gerektirmeden kavitelere

uygulanmaktadır. Dentine bağlantısı mineye göre daha yüksek olduğu için kole defektlerinin restorasyonlarında mutlaka bir adeziv sistemle kombine kullanılmaları önerilmektedir. Şimdiye kadar piyasada var olan kendinden adezivli akışkan kompozitler minimal girişimsel kavitelere, dolgu kenarlarının tamirinde, Sınıf II kavitelere liner olarak ve braket yapıştırılmasında kullanılır (Türkün 2015).

2. 1. 2. 10. Tek Kütle Olarak Uygulanan Kompozit Rezinler (*Bulk Fill* Kompozit Rezinler)

Bulk fill kompozit rezinler, 4 mm derinliğe kadar tek tabaka halinde (*bulk* tekniğiyle) uygulanarak polimerize edilebilen, hekime ve hastaya zaman tasarrufu sağlayan kompozitlerdir (Manhart ve ark 2010).

SDR (Dentsply, Konstanz, Almanya) konvansiyonel kompozit rezin altında 4 mm kalınlığında, dentine direkt veya dentini örtmek için uygulanabilen stresi azaltma amacıyla üretilmiş ilk *bulk fill* akışkan kompozit rezindir. Kavite duvarlarına iyi tutunması için akışkanlık özelliği verilmiştir (Jin ve ark 2009). Bunun yanında akışkanlık özelliği farklı avantajlar da getirir; kavitenin ulaşılması zor alanlarına rezinin ulaşmasını sağlar, tabakalama yapılmaması hava kabarcığı oluşma riskini azaltır ve yüksek esneme kabiliyetiyle kavite duvarlarını astarlamak için idealdir (Lassila ve ark 2012). Yapısındaki zayıf mekanik özelliklerden dolayı bitirme aşamasının konvansiyonel kompozit rezinlerle yapılması önerilir (Ilie ve ark 2013).

Bulk fill kompozit rezinler düşük ve yüksek viskoziteli olarak ikiye ayrılır. Günümüzde kullanılan yüksek viskoziteli *bulk fill* kompozit rezinlerin son tabakalarının konvansiyonel kompozit rezinlerle restore edilmesine gerek yoktur (Ilie ve ark 2013).

Akışkan *bulk fill* kompozit rezinlerin kaviteye 4 mm tek tabaka halinde uygulandığında marjinal bütünlük (Roggendorf ve ark 2011), kaspal defleksiyon (Campodonico ve ark 2011), kaspal defleksiyonla ilişkili mikrosızıntı (Cara ve ark 2007) ve kavite tabanına adezyon (Van Ende ve ark 2013) gibi fiziksel özellikleri rapor edilmiştir. Roggendorf ve arkadaşları sınıf 2 kavitelere 4 mm SDR *bulk fill* kaide uygulamışlar ve tabakalama tekniğiyle uygulanan konvansiyonel kompozitlere göre marjinal adaptasyon değerinde bir farklılık gözlemlememişlerdir (Roggendorf ve ark 2011). Moorthy ve arkadaşları standardize edilmiş sınıf 2 kavitelere kaspal defleksiyonun *bulk fill* kompozit rezinlerde, konvansiyonel kompozit rezinlere göre

daha düşük olduğunu görmüşlerdir (Cara ve ark 2007). Kompozitlerin ışınlanması sonucu oluşan polimerizasyon büzülme stresinin *bulk fill* kompozit rezinlerde daha düşük olduğu Ilie ve Hickel tarafından kabul edilmiştir (Ilie ve Hickel 2009). Moorty ve arkadaşlarının akışkan *bulk fill* kompozit rezinlerle (SDR ve x-tra base) restore edilen dişlerde yaptığı servikal mikrosızıntı skorlamasında Roggendorf ve arkadaşlarının bulduğu değerler kabul edilmiştir (Roggendorf ve ark 2011).

Van Ende ve arkadaşları 4 mm derinliğinde uygulanan SDR akışkan *bulk fill* kaide materyaliyle restore edilen dişlerde kavite tabanına uygulanan mikrogerilim bağlantı kuvvetinin yüksek olduğunu görmüşlerdir (Van Ende ve ark 2013).

Bulk fill kompozit rezinlerle kavite restorasyonunun polimerizasyon büzülme stresini (Jin ve ark 2009, Ilie ve Hickel 2011, El-Damanhoury ve Platt 2014) ve standardize edilmiş sınıf 2 kavitelere kaspal defleksiyonu azalttığı (Moorthy ve ark 2012), doldurma tekniği ve kavite konfügrasyonundan bağımsız olarak bağlantı kuvvetini arttırdığı da rapor edilmiştir (Van Ende ve ark 2013).

Bulk fill kompozit rezinlerin restorasyonlarda kullanımıyla ilgili en büyük endişe şüphesiz 4 mm kalınlığında uygulanmaları nedeniyle kavitede oluşturdukları polimerizasyon büzülme stresi ve monomerlerin polimere dönüşüm oranıdır. Bu nedenle, *bulk fill* kompozit rezinler modifiye edilmiş, doldurucu monomer büyüklüğü artırılmış ve monomerin organik matriksteki oranı azaltılmıştır (Ilie ve ark 2013). Konvansiyonel kompozit rezinlere göre büyük dolduruculara (>20 µm) ve düşük doldurucu matriks oranına sahip olmaları doldurucu-matriks arayüz alanının azalarak ışığın daha az saçılmasını ve mavi ışığın daha derinlere penetre olmasına sebep olur (Ilie ve ark 2013). Bu penetrasyonun sağlanması için ya yüksek molekül ağırlıklı monomerler (SureFil SDR flow) ya da yeni bir foto-başlatıcı (ivocerin) sistem (Tetric EvoCeram Bulk Fill) kullanılır. İvocerin germanyum bazlı bir foto başlatıcıdır, kamforokinona ek olarak ilave edilir ve ışığı daha iyi absorbe ederek yüksek fotoaktivite gösterir. Mavi ışığın kavite tabanına kadar penetre olabilmesi için *bulk fill* kompozit rezinlerin translusensi özellikleri artırılmış ve polimerizasyon foto-aktivatörü olarak rezin iskelet yapı içine üretan dimetakrilat eklenmiştir. Bu monomer stresi azaltarak elastik modülüsün yavaş yavaş oluşmasına sebep olur (Moszner ve ark 2008, Jin ve ark 2009, Ilie ve Hickel 2011).

2. 2. BİYOUYUMLULUK

Biyoyuyumluluk “materyalin kendine özgün uygulamaları sonrası, uygun konak doku cevabı oluşturabilme yeteneği” olarak tanımlanabilir. Bu tanım konak, materyal ve materyalin beklenen fonksiyonları arasındaki ilişkiyi kapsar. Materyalin biyoyuyumlu olarak kabul edilebilmesi için öncelikle bu üç faktörün uyum içinde olması gerekir (Wataha 2001). Materyal canlı bir dokuya yerleştirildiğinde, çevresindeki kompleks biyolojik sistemle etkileşimde bulunarak bir tür biyolojik yanıt oluşturur. Materyal konağı, konak ise materyali etkileyecektir. Materyalin etkisizliği etkileşimlerin var olmaması demektir. Bu nedenle çoğu bilim adamı bugün, vücuda tamamen etkisiz bir materyal olmadığı kanısındadır (Lemons 1990).

Her materyal piyasaya sürülüp, hastalar üzerinde uygulanmadan önce olası biyolojik cevapları araştırılmalıdır. Bu analizler materyallerden salınan komponentleri ve çeşitli dokularla lokal ve sistemik ilişkilerini de içermelidir (Schmalz 1994). Diş hekimliğinde de, tıpta olduğu gibi biyoyuyumluluk büyük önem taşır. Bir materyal geliştirildiğinde bağlanma dayanımı, estetik, fonksiyonel özellikleri yanı sıra biyoyuyumlu olması da önemlidir. Biyoyuyumluluk üretici, hekim ve hasta için dikkate alınması gereken bir özelliktir (Sakaguchi ve Powers 2012).

2. 2. 1. Biyoyuyumluluğun Değerlendirilmesi

Dental materyallerin biyolojik olarak incelenmesinde kullanılan bu teknikler:

- *In vitro* deneyler (birincil ya da eleme testleri)
- *In vivo* hayvan deneyleri (ikincil testler)
- İnsanlarda klinik çalışmalar olmak üzere üç basamakta yürütülmektedir.

2. 2. 1. 1. *In Vitro* Deneyler (Birincil ya da Eleme Testleri)

In vitro testler test tüplerinde, hücre kültür plakalarında ve hücreler üzerinde gerçekleştirilir (Wataha 2001). Hücrelerle kontak doğrudan veya dolaylı (hücre ve materyal arasına bariyer konularak) olarak sağlanabilir. Doğrudan testler hücreler ile materyaller veya materyallerden hazırlanan ekstraktlar ile hücrelerin muamelesiyle yapılır (Sakaguchi ve Powers 2012). Bu testlerde genel olarak hücre veya bakteri materyallerle kontaklıdır. Örneğin bakteri türleri materyalin mutasyona sebep olma yeteneğinin değerlendirilmesinde kullanılabilirken (Ames testi), fibroblast türleri kültür kabında geliştirilerek materyalin ekstraktına maruz bırakılır. Materyalin etkisi

genellikle hücrelerin sayısı, büyüme derecesi, metabolik fonksiyonu veya diğer hücresel fonksiyonları, hücrenin genetik materyaline etki (mutajenite deneyleri) ölçümü değerlendirilerek yapılır (Wataha 2001, Sakaguchi ve Powers 2012). Testler sitotoksosite, hemolizis, ağız veya damar yoluyla kullanım sonucu sistemik toksisite, inhalasyon toksisitesi, teratojenite, karsinojenite tahmin testleri, Ames mutajenite testi, Styles hücre transformasyon testi gibi bir dizi yöntemi kapsamaktadır (Hensten-Petersen 1988).

In vitro testlerin diğer testlere göre birçok avantajı vardır; hızlıdır, daha az maliyetlidir, kontrol edilebilir, tekrarlanabilir, standardize edilebilir, daha geniş skalada tarama yapılabilir ve spesifik sorular yanıtlanabilir. Ek olarak test için hayvan ve insanların kullanılması gibi etik ve yasal açıdan sorun oluşturmaz. Dezavantajlarından biriye *in vivo* durumu tam olarak yansıtamamasıdır. Çünkü bu testler vücuttaki biyolojik cevabı oluşturan kompleks etkileşimler olmadan organizmanın bütünü dışında gerçekleşir. Ortamda enflamatuar veya diğer koruyucu mekanizmalar bulunmamaktadır. Sonuç olarak *in vitro* testler materyalin biyolojik cevabıyla ilgili yanıtıcı sonuçlara yol açabilir (Wataha 2001, Sakaguchi ve Powers 2012).

Hayvan veya insan hücrelerinden elde edilen izole hücreler, kültür plakalarında büyütülüp ardından biyouyumluluk testlerinde kullanılır. Bugün, başlıca sürekli olarak büyüyen hücreler (sürekli hücre dizileri) bu amaçla kullanılmaktadır; çünkü bu hücreler kolay çoğaltılabilir, davranışları iyi bilinir, nispeten tutarlı ve süreklidir. Sık sık, sürekli fare fibroblastları (L929, 3T3) veya insan epitelyal hücreleri kullanılır (HeLa). Fakat gingiva ve pulpa fibroblastları gibi doğrudan hedef dokuların eksplantlarından büyütülen diğer hücreler (biyopsiler) de kullanılabilir. Bu hücrelere birincil kültürler adı verilir. Son günlerde, orijinal dokunun (gen ekspresyon modeli) özelliklerini korumak için ve hücreleri kültürde uzun süre (teorik olarak sınırsız) muhafaza edebilmek için birincil hücreler belli virüs partikülleri (onkojenler) tranfekte edilerek immortalize edilir. Ayrıca hücreler *in vivo* şartların daha iyi taklit edilebildiği *in vitro* 3 boyutlu düzeneklerde kullanılabilir (Schmalz ve Arenholt-Bindslev 2009).

Biyolojik dokularda kullanılacak materyalin zararlı etkilerinin araştırılmasında kullanılan yöntemlerin prensibi, materyal ile biyolojik sistemin

teması sonucunda canlıdaki fonksiyonel ve yapısal değişimin niteliğini ve niceliğini belirlemektir. Bir başka deyişle bu etkinin biyolojik sistemin yapısında belirgin bir değişikliğe yol açıp açmadığı ve etkinin geri dönüşümlü olup olmadığını ortaya çıkarmaktır (Schmalz 1994).

Leiskar ve Helgaland (1972) dental materyallerden elde edilen standart boyutlu diskler üzerinde insan epitelyal ve L929 fare hücrelerinin gelişimiyle ilgili ilk çalışmayı yapmışlardır. Gümüş amalgam, yüksek bakırlı amalgam, rezinler, silikat siman ve altın alaşımları araştırmışlardır.

Sitotoksosite testleri

Direkt maddenin veya madde ekstraktının sitotoksik etkilerini araştırmada; çeşitli enzim aktivitelerinin değerlendirilmesi, membran geçirgenliğinin ve hücre metabolizmasının incelenmesi, ışık veya elektron mikroskopuyla hücre morfolojisinin incelenmesi gibi biyolojik hücre fonksiyonları değerlendirilir (Heil ve ark 1996, Schweikl ve ark 2005, Annunziata ve ark 2006). Sitotoksosite testleri, uygulama sonrası ölen hücre sayılarının ölçümüyle veya hücrelerin gelişimine bakılmasıyla gerçekleştirilir. Kontrol materyalleri iyi belirlenmeli, diğer laboratuvar testleriyle karşılaştırılabilir olmalıdır. Membran geçirgenlik testleri, sitotoksositeyi ölçmek için kullanılan testlerdendir. Bu testlerde boya kullanılır ve boyanın membrandan geçmesi hücre ölümüne karşılık gelir (Sakaguchi ve Powers 2012).

Hücre metabolizması ve fonksiyonu testleri

Bazı *in vitro* testler, hücrelerin biyosentetik veya enzimatik aktiviteleri ölçülerek yapılır. DNA veya protein sentezi ölçümü bu tip testlere örnektir. Genellikle kullanılan enzimatik testler; MTT ([3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide]), NBT (Nitro blue tetrazolium, chloride), XTT ([2,3-Bis-(2-Methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide, disodium]) ve WST ([2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium]) testleridir. Bu renksel ölçüm testlerinin hepsi farklı tetrazolyum tuzları içerir. Alamar Blue testi nicel olarak hücre proliferasyonunu ölçer. Floresan indikatör kullanılır ve hücreler sürekli monitörize edilir.

Hücre/materyal kontak testleri

Klinikte dolgu maddeleri, simanlar, adezivler gibi dental materyaller dişeti ve pulpa ile direkt veya indirekt kontak içinde olabilirler. Hücre/materyal kontak

testlerinde; direkt veya indirekt yolla materyalin kendisiyle veya yapısından salınan bileşenleriyle hücre kültürüne kontağı sağlanmaktadır. Direkt kontak testlerinde, hücreler materyalin yanında veya üstünde büyürken (Cao ve ark 2005), indirekt kontak testlerinde hücre ve materyal arasında bir bariyer bulunmaktadır (Schmalz 1988). Hücre/materyal temasını sağlamanın diğer bir yoluysa, dental materyal örneklerinin kültür ortamında bekletilerek elde edilen ekstraktların kullanılmasıdır (Annunziata ve ark 2006). Hücre materyal kontağının sağlanmasında kullanılan diğer bir yöntem materyallerden salınan bileşenlerin kullanımudur. Bu yaklaşımla materyalin hem direkt temasında hem de hücrelerden uzakta meydana getireceği etkiler belirlenebilmektedir (Keiser ve ark 2000, Annunziata ve ark 2006).

Schmalz (1982) dental materyallerin sitotoksitesini test etmek için agar overlay tekniğini ilk kullanan diş hekimliği araştırmacısıdır. Bu teknikte L929 fare hücreleri plastik kültür kaplarında üretilip üzerine agar yerleştirilmiştir. Daha sonra agar üzerine yerleştirilen toksik test materyalleri agar içerisine difüze olarak, hücre membran geçirgenliğinde artışa sebep olur ve vital boya (nötral red) hücre dışına salınır. Schmalz bu tekniği kullanarak bir grup diş dolgu malzemeleri üzerinde çalışmış, daha ucuza ve radyoaktivite olmadan *Cr-release* tekniğine benzer sonuçlar elde etmiştir (Schmalz 1988).

In vivo testlerde genellikle hücrelerle materyal arasında direkt kontak olmadığı için, bazı *in vitro* bariyer testleri *in vivo* koşulları taklit eder. Bu testler agar overlay metodunu içerir, hücrelerle materyal arasında bariyer olarak agar kullanılır. Milipor filtre deneyinde ise hücreler tek tabaka halinde filtre de gelişirler, diğer tarafa materyal konulur. Materyalin difüzyon ürünleri filtreden hücrelere doğru uzanır. Agar difüzyon ve milipor filtre testleri sitotoksite testleri içinde en iyilerindedir (Sakaguchi ve Powers 2012).

Yapılan çalışmalar doğrultusunda dentinin de kalınlığına bağlı olarak pulpayı korumada iyi bir bariyer olduğu belirlenmiştir. Bu deneylerde hücreler ve test materyalleri arasında dentin diskleri kullanılır. Bir alternatif olarak, *in vitro* dentin bariyer testlerinde sığır dentin diskleri kullanılmaya başlanmıştır. Hücrelerin bu disklerin üzerinde gelişmesi ve hidrolitik geçirgenlik açısından insan dentiniyle benzer olması; her zaman istenilen miktarda bulunabilmesi ve insan dentinine göre

geçirgenlik özelliklerinin daha az çeşitlilik göstermesi kullanım avantajlarındandır (Schmalz 1994).

Genotoksisite/mutajenite ve karsinojenite değerlendirme testleri

Mutajenite testleri biyomateryalin hücrenin genetik materyali üzerine etkilerini belirler. Materyalin hücrenin genlerini etkilemesi süreci geniş bir mekanizmayla olur. Genotoksik mutajenler, hücrenin DNA'sını uyararak belli tip mutasyonlara yol açarlar. Her kimyasal, spesifik bir DNA mutasyonu yapabilir. Genotoksik kimyasallar mutajen olabilirler veya mutajen olmaları için aktivasyona, biyotransformasyona ihtiyaç duyarlar. Bu durumda onlara promutajen denir. Epigenetik mutajenler, DNA'yı kendileri uyarmazlar; hücre kimyasını değiştirerek, immün sistemi veya hormonları uyararak tümör gelişimini uyarırlar. Karsinogenez *in vivo* olarak kansere sebep olmalarıdır. Mutajenler karsinojen olabilir veya olmayabilirken, karsinojenler de mutajen olabilir veya olmayabilir.

Ames testi en kapsamlı kullanılan kısa dönemli geçerliliği kanıtlanmış mutajenite testidir. Mutajeniteyi ölçen ikinci test Styles' hücre dönüşüm testidir. Bu test bakteriyel teste (Ames test) alternatiftir, memeli sistemlerinde kullanımı uygun olmayabilir. Ames testi literatürde daha iyi tanımlanmış, teknik olarak uygulanabilirliği daha kolay ve tarama programlarıyla bağlantılı bir testtir (Sakaguchi ve Powers 2012).

2. 2. 1. 2. In vivo Hayvan Deneyleri (İkincil Testler)

Hayvan testleri *in vitro* testlerden farklıdır; çünkü materyal hayvanlara, özellikle memelilere yerleştirilir. Materyal fare, köpek, kedi, koyun, keçi veya maymun dişlerine implante edilir (Wataha 2001). Hayvan testleri genellikle fare, sıçan, hamster ve gine domuzu gibi memeliler üstünde yapılır (Sakaguchi ve Powers 2012).

Materyalin hayvanlarda kullanımıyla biyolojik çevre ve materyal arasında kompleks ilişkiler meydana gelir, tüm biyolojik sistem gerçekleşir. Bu nedenle *in vitro* testlerden elde edilene göre daha kapsamlı ve uygun biyolojik cevap elde edilir. Fakat biyolojik cevaplar çok kompleks olduğu için nicelik yönünden değerlendirmek zordur. Yorumlamanın ve kontrol etmenin zor olması, pahalı olması, zaman alıcı olması, sık sık etik açısından problemlerin ortaya çıkması hayvan testlerinin zorluklarındadır. Ayrıca materyalin hayvanlarda *in vivo* test edilmesiyle insanlarda

kullanım uygunluğu karşılaştırması açık değildir (Wataha 2001, Sakaguchi ve Powers 2012).

Biyoyumluluğu belirlemede çeşitli hayvan testleri vardır. Mukoz membran irritasyon testinde, materyalin inflamasyona sebep olup olmadığı veya deriyi aşındırıp aşındırmadığı belirlenir. Deri duyarlılık testinde, materyaller intradermal olarak enjekte edilerek gelişen reaksiyona bakılır. Bunu adeziv bantların uygulandığı ikincil bir yöntem takip eder. İmplantasyon ise materyallerin subkütan doku veya kemikle kontak reaksiyonun değerlendirmesinde kullanılır. İmplant lokasyonu kemik, bağ doku ve kas içerir. Amalgam, diğer alaşımlar, endodontik ve periodontal materyaller direkt dokularla ilişkili olduğundan subkütan dokular üstünde test edilirler (Sakaguchi ve Powers 2012).

2. 2. 1. 3. Klinik Testler

İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılır. Hayvan testlerinden farklı olarak, uygulama testlerinde materyallerin klinik kullanımını tamamen aynı olmalıdır. Uygulama testlerinde genelde insanlarla benzer oral çevreye sahip daha büyük hayvanlar tercih edilir. İnsanlar kullanıldığındaysa testin adı klinik deneme (*clinical trial*) olur. Materyalin istenilen final kullanımını test etmek için gönüllülere yerleştirilir. Bu testler altın standarttır, materyalin biyoyuyumlu ve klinik kullanıma uygun olup olmadığının kesin sonucunu verirler. Bunun yanı sıra *in vitro* ve hayvan testlerine göre birçok dezavantajı bulunur. Bu testler pahalıdır, çok zaman alır, etik ve yasal açıdan problemler oluşturabilir, kontrolü, yorumu daha zordur ve katılımcılara zarar verebilir; ayrıca istatistiksel analizi de çok zordur. Diş hekimliğinde uygulama testlerinde pulpa, periyodonsiyum, gingival ve mukozal dokular esas hedeflerdir (Wataha 2001, Sakaguchi ve Powers 2012).

2. 3. AMAÇ

Bu çalışmanın amacı, kavite restorasyonunda kullanılan 4 farklı *bulk fill* kompozit rezinin fare fibroblast hücreleri (L929) ve Klonal SV 40 Large T-antijeni ile transfekte edilmiş sığır pulpa hücrelerinin (tSPTH) canlılıkları üzerine etkilerinin değerlendirilmesidir.

2. 4. HİPOTEZ

Bu tez çalışmasındaki sıfır hipotez şudur: *Bulk fill* kompozit rezinlerin L929 ve tSPTH hücrelerinin canlılıkları üzerine etkileri yoktur.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Merkezi ile Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapılmıştır.

Araştırmamız, Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulunun 30/09/2015 tarihinde ve 2014/03 no'lu kararıyla uygun bulunmuş olup Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından 15102045 proje numarasıyla desteklenmiştir.

Çalışmada Tetric EvoCeram Bulk Fill (Ivoclar-Vivadent, Schaan, Lihtenştayn), SonicFill (Kerr Corp., Orange, CA, ABD), everX Posterior (GC Europe, Lueven, Belçika) ve Filtek Bulk Fill (3M ESPE, Seefeld, Almanya) *bulk fill* kompozit rezinlerinin sitotoksik etkileri üç aşamada değerlendirildi.

1. L929 fare fibroblast monolayer kültürlerinde MTT metodu,
2. tSPTH monolayer kültürlerinde XTT metodu,
3. L929 fare fibroblastı üzerinde Canlı/Ölü Hücre boyama metodu ile hücre canlılığı değerlendirildi.

3. 1. L929 hücreleri ve tSPTH kültürlerinin hazırlanması

L929 hücreleri %10 Fetal Bovine Serum (FBS, Gibco Invitrogen, Karlsruhe, Almanya) ve %1 penisilin/streptomisin (Gibco Invitrogen, Karlsruhe, Almanya) içeren Dulbecco's Modified Eagle's (DMEM, Biochrom GmbH, Berlin, Almanya) (Şekil 3.1a) kültür ortamında 37°C'de ve %5'lik CO₂ içeren nemli havada kültüre edildi. Hücreler 100X büyütmede mikroskop (Şekil 3.4) altında incelendi (Şekil 3.5). 96 kuyucuklu plakanın her kuyucuğuna 10⁴ yoğunlukta olacak şekilde hücre ekimi yapıldı ve 24 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi (Şekil 3.3).

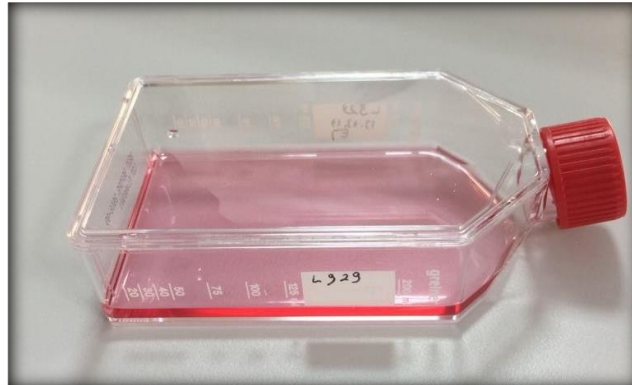
Sığır dişi pulpasından izole edilip, SV 40 Large T-antijeni ile transfekte edilmiş pulpa hücreleri (Thonemann ve Schmalz 2000) %20 FBS, genetisin (Gibco Invitrogen, Karlsruhe, Almanya), penisilin/streptomisin içeren Minimum Essential Medium Alpha (MEM-Alpha, Gibco Invitrogen, Karlsruhe, Almanya) (Şekil 3.1b) kültür ortamında 37°C'de ve %5'lik CO₂ içeren nemli havada kültüre edildi. Hücreler 100X büyütmede mikroskop altında incelendi (Şekil 3.6). 96 kuyucuklu

plakanın her kuyucuğuna 10^4 yoğunlukta olacak şekilde h¼cre ekimi yapıldı ve 24 saat boyunca 37°C 'de ink¼be edildi.

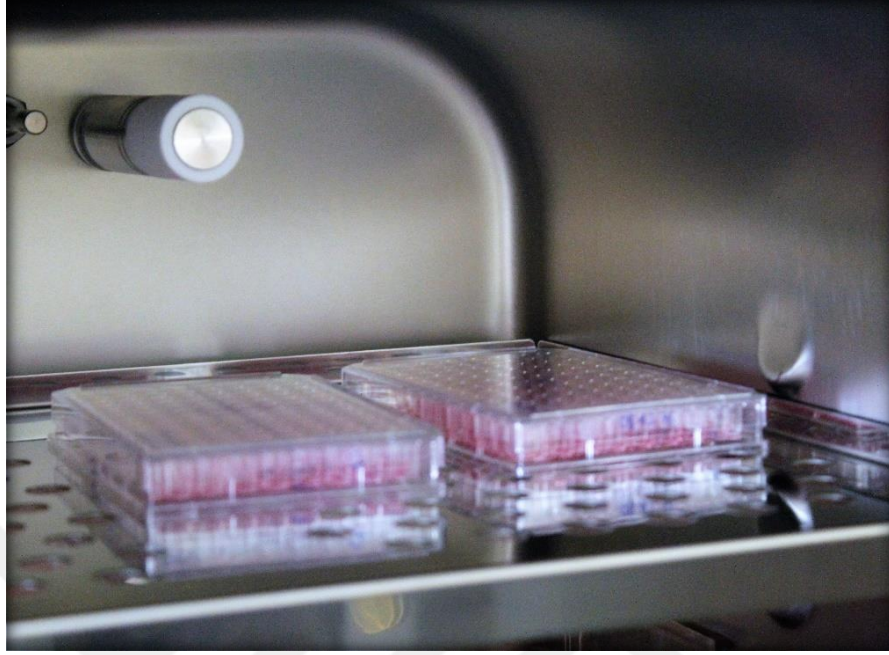
Canlı/¼l¼ H¼cre deneyi i¼in L929 h¼creleri %10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin i¼eren DMEM k¼lt¼r ortamında 37°C 'de ve %5'lik CO_2 i¼eren nemli havada k¼lt¼re edildi. H¼creler 100X b¼y¼tmede mikroskop (Leica microsystems, Almanya) altında incelendi. 24 kuyucuklu plakanın her kuyucuğuna 10^5 yoğunlukta olacak şekilde h¼cre ekimi yapıldı ve 24 saat boyunca 37°C 'de ink¼be edildi.



şekil 3. 1. (a) L929 h¼crelerinin hazırlanmasında kullanılan Dulbecco's Modified Eagle's k¼lt¼r ortamı, (b) tSPTH' nin hazırlanmasında kullanılan MEM-Alpha k¼lt¼r ortamı



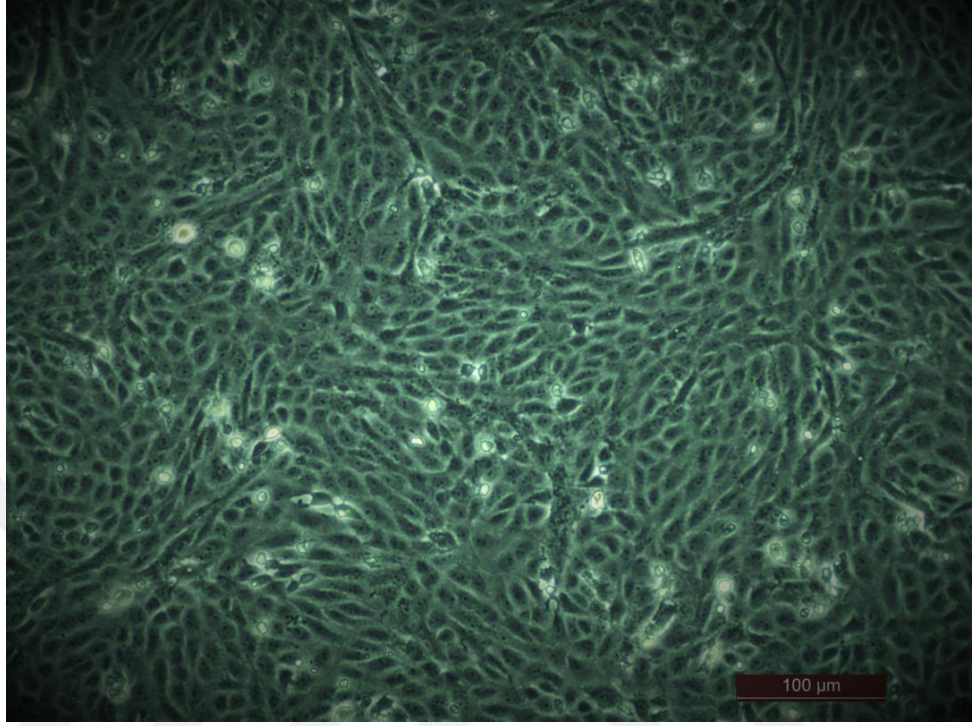
şekil 3. 2. H¼cre k¼lt¼r¼ kabı



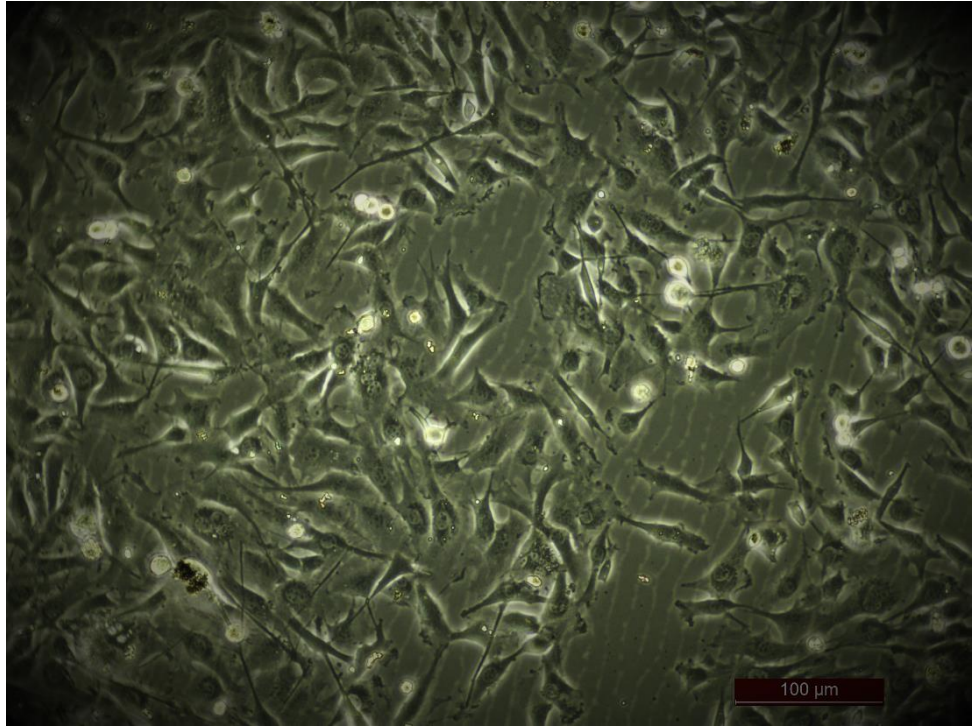
Şekil 3. 3. Hücrelerin inkübe edilmesi



Şekil 3. 4. Hücre incelenmesinde kullanılan mikroskop (Leica microsystems, Almanya)



Şekil 3. 5. L929 hücrelerinin mikroskop altında görüntüsü (100X)



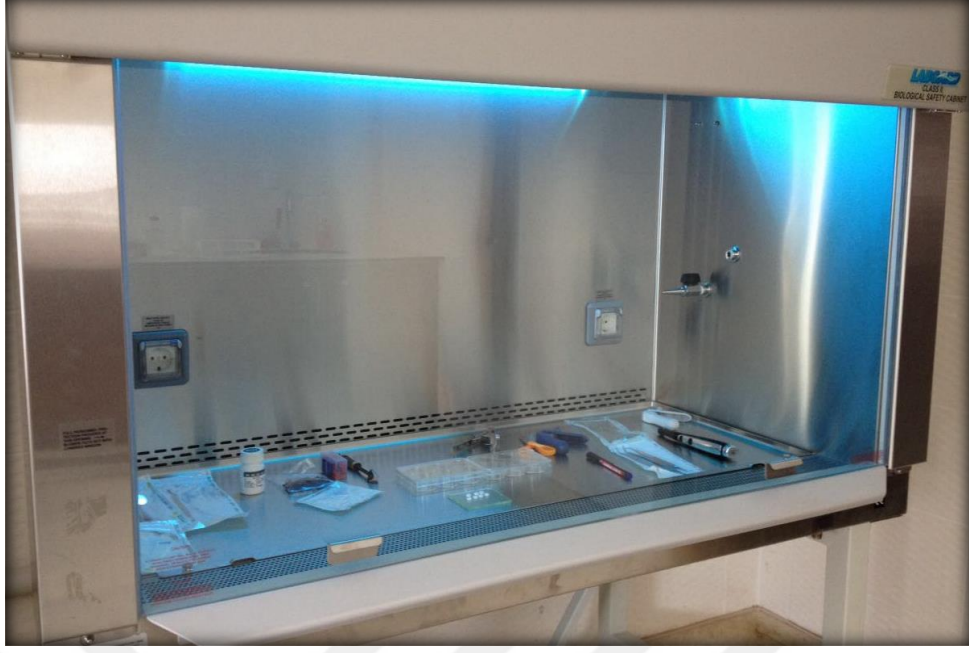
Şekil 3. 6. tSPTH'nin mikroskop altında görüntüsü (100X)

3. 2. Test Materyalleri, MTT ve XTT Deneylei için Materyal Ekstraktlarının Hazırlanması

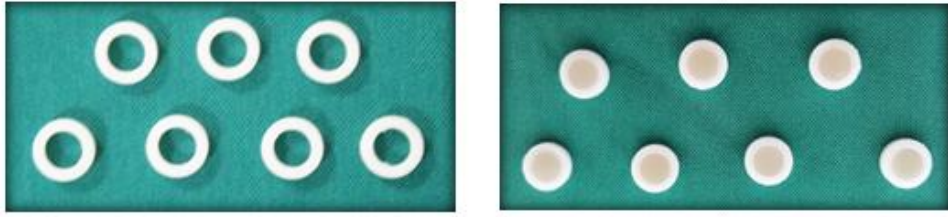
Çalışmada kullanılan *bulk fill* kompozit rezinlerinin üretim numaraları, üretici firmaları ve içerikleri (izelge 3.1) belirtilmiştir. Araştırmada materyaller üretici firmanın talimatları doğrultusunda steril ortamda (şekil 3.7) 5 mm çapında ve 2 mm kalınlığında standart teflon halkalar içinde hazırlandı (şekil 3.8). Örnekleirin polimerizasyonu için dalga boyu 395-480 nm, gücü 1000-3200 mW/cm² LED polimerizasyon cihazı (Valo, Ultradent, ABD) kullanıldı (şekil 3.9).

Çizelge 3. 1. Kullanılan *bulk fill* kompozitlerin üretim numaraları, üretici firmaları ve içerikleri

Bulk Fill Kompozitler	Renk	İçerik	Üretici Firma
Tetric EvoCeram® Bulk Fill	A2	Bis-GMA, UDMA, barium glass, ytterbium trifluoride, mixed oxide prepolymer	Ivoclar-Vivadent, Schaan, Liechtenstein Lot no.U17294
SonicFill®	A2	Bis-GMA, TEGDMA, EBPADMA, silisyum oxide, glass, oxide	Kerr Corp., Orange, CA, ABD Lot no.5478244
everX Posterior®	A2	Bis-GMA, TEGDMA, silicon dioxide, barium glass, glass fiber polymethylmethacrylate, photo initiator	GC Europe, Lueven, Belçika Lot no.1504031
Filtek ®Bulk Fill	A2	Bis-GMA, UDMA, EBPADMA, procrylat resin, silane treated ceramic, ytterbium trifluoride	3M ESPE, Seefeld, Almanya Lot no.N718280



Şekil 3. 7. Materyal örneklerinin ve hücre kültürünün hazırlandığı steril ortam



Şekil 3. 8. Standart materyal örnekleri hazırlamak amacıyla kullanılan teflon halkalar



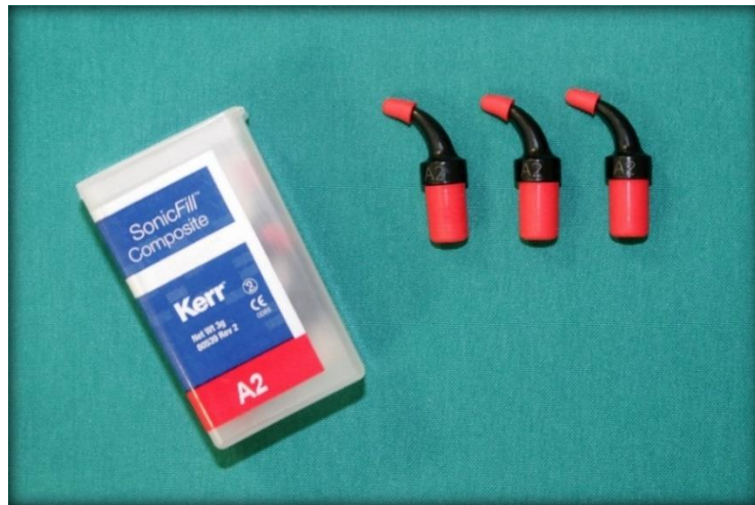
Şekil 3. 9. Materyallerin polimerizasyonunda kullanılan ışık cihazı (Valo, Ultradent, ABD)

Tetric EvoCeram Bulk Fill kompozit rezin (Şekil 3. 10), 400-500 nm dalga boylu mavi ışıkla polimerize edilen, 4 mm'ye kadar horizontal tek tabaka halinde uygulanabilen bir materyaldir. İlk tabakaya opsiyonel olarak akışkan kompozit yerleştirmek tercih edilebilir. Kompozit örnekler aseptik koşullar altında 5 mm çapında 2 mm kalınlığında teflon matriks kullanılarak üretici firma talimatlarına göre tek tabaka halinde 20 saniye boyunca ışınlanarak hazırlandı.



Şekil 3. 10. Tetric EvoCeram Bulk Fill (Ivoclar-Vivadent, Schaan, Lihtenştayn)

SonicFill kompozit rezin (Şekil 3.11), astarlama veya kapaklama materyali gerekmeden 5 mm'ye kadar kadar horizontal tek tabaka halinde uygulanabilen bir materyaldir. Kompozit örnekler aseptik koşullar altında 5 mm çapında 2 mm kalınlığında teflon matriks kullanılarak üretici firma talimatlarına göre tek tabaka halinde 40 saniye boyunca ışınlanarak hazırlandı.



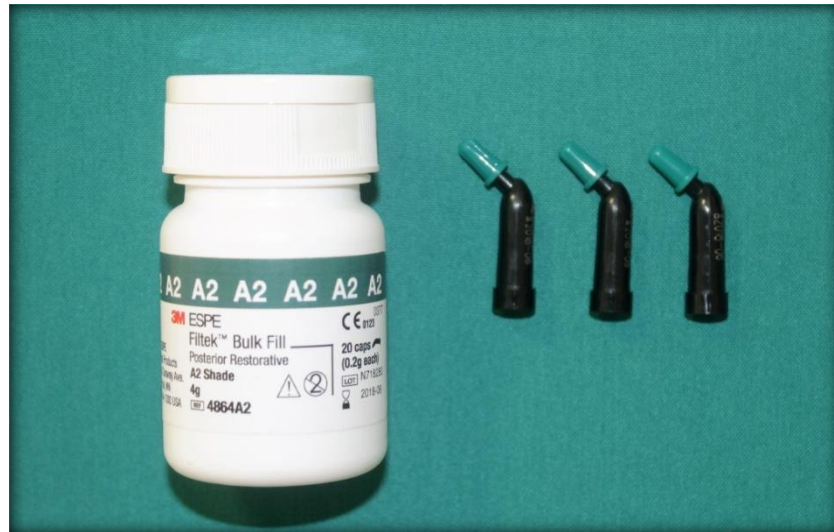
Şekil 3. 11. SonicFill (Kerr Corp., Orange, CA, ABD)

everX Posterior kompozit rezin (Şekil 3.12), 4-5 mm'ye kadar horizontal tek tabaka halinde uygulanabilen yüksek güçlü LED ışınıyla (>1200 mW/c) 10 saniyede polimerize olabilen bir materyaldir. Kompozit örnekler aseptik koşullar altında 5 mm çapında ve 2 mm kalınlığında teflon matriks kullanılarak üretici firma talimatlarına göre tek tabaka halinde 20 saniye boyunca ışınlanarak hazırlandı.



Şekil 3. 12. ever X Posterior (GC Europe, Lueven, Belçika)

Filtek Bulk Fill kompozit rezin (Şekil 3. 13), 5 mm'ye kadar horizontal tek tabaka halinde uygulanabilen, 10 saniyede polimerize olabilen bir materyaldir. Kompozit örnekler aseptik koşullar altında 5 mm çapında ve 2 mm kalınlığında teflon matriks kullanılarak üretici firma talimatlarına göre tek tabaka halinde 20 saniye boyunca ışınlanarak hazırlandı.



Şekil 3. 13. Filtek Bulk Fill (3M ESPE, Seefeld, Almanya)

3. 3. MTT, XTT ve Canlı/Ölü Hücre Deneyleri İçin Materyal Ekstraktlarının Hazırlanması

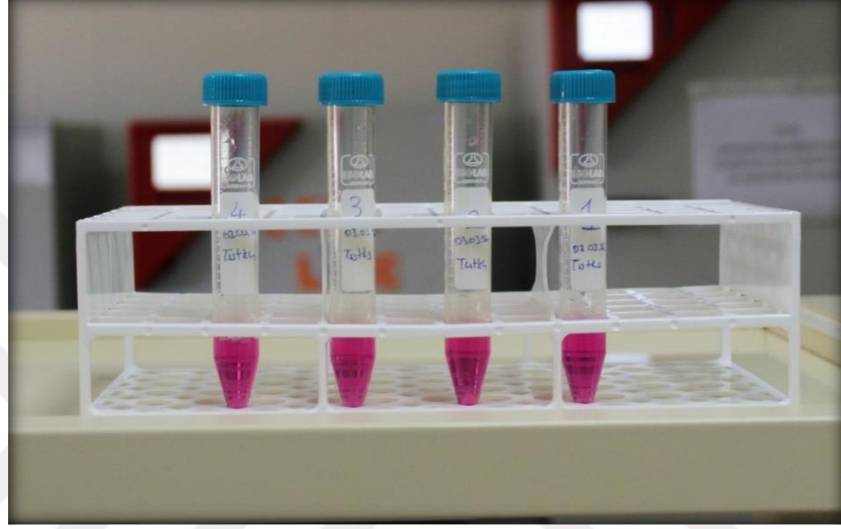
Çalışmamızda sitotoksitenin MTT metoduyla değerlendirilmesi için 6 kuyucuklu plakanın her kuyucuğuna her bir gruptan 7'şer örnek hazırlanarak yerleştirildi (Şekil 3. 14). Her kuyucuğa 3 mL kültür ortamı eklendi (%10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin içeren DMEM), ve 37°C'de 24 saat bekletildi. Ekstraktlar mililitrede 91,6 mm² örnek yüzey alanı/hücre kültür ortamı oranında ISO standartlarına göre hazırlandı (Şekil 3. 15). Ekstraktların DMEM kültür ortamıyla dilüe edilerek 15'lik falkon tüplerinde 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32'lik konsantrasyonlarda dilüsyonları hazırlandı (Şekil 3. 16).

Çalışmamızda sitotoksitenin XTT metoduyla değerlendirilmesi için 6 kuyucuklu plakanın her kuyucuğuna her bir gruptan 7'şer örnek hazırlanarak yerleştirildi. Her kuyucuğa 3 mL kültür ortamı eklendi (%20 FBS, genetisin, penisilin/streptomisin içeren MEM-Alpha) ve 37°C'de 24 saat bekletildi. Ekstraktlar mililitrede 91,6 mm² örnek yüzey alanı/hücre kültür ortamı oranında ISO standartlarına göre hazırlandı. Ekstraktların MEM-Alpha kültür ortamıyla dilüe edilerek 15'lik falkon tüplerinde 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32'lik farklı konsantrasyonlarda dilüsyonları hazırlandı.

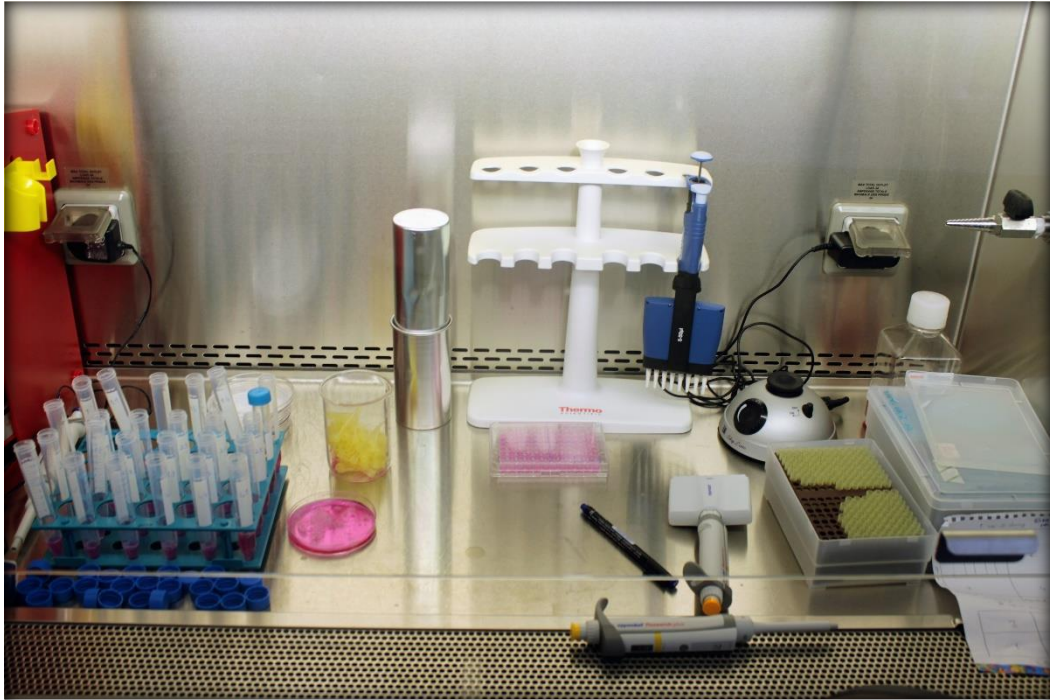


Şekil 3. 14. Materyal örneklerinin medyumda bekletilmesi

Bu çalışmada ayrıca *bulk fill* kompozitlerin sitotoksitesine görsel veri sağlamak amacıyla yapılan Canlı/Ölü Hücre deneyi için 6 kuyucuklu plakanın her kuyucuğuna her bir gruptan 3'er örnek hazırlanarak yerleştirildi. Her kuyucuğa 2 mL kültür ortamı eklendi [%10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin içeren DMEM] ve 37°C'de 24 saat boyunca bekletildi. Ekstraktlar mililitrede 91.6 mm² örnek yüzey alanı/hücre kültür ortamı oranında ISO standartlarına göre hazırlandı. Ekstraktlar sadece 1:1 konsantrasyonda hazırlandı.



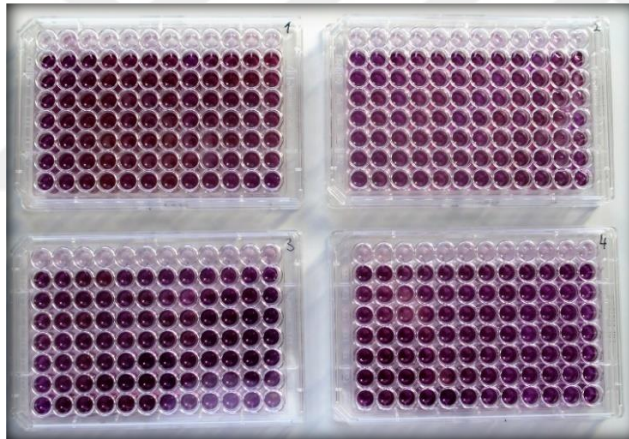
Şekil 3. 15. Materyal ekstraktı içeren kültür ortamlarının steril tüpler içinde toplanması



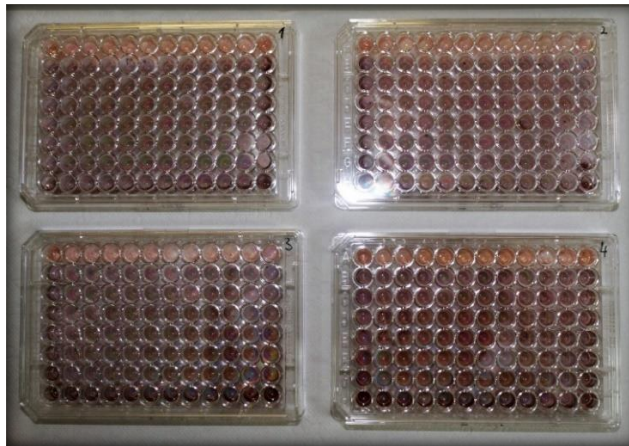
Şekil 3. 16. Materyal ekstraktlarının farklı dilüsyonlarının hazırlanması

3. 4. 1. MTT Deneyinin Uygulanışı

Her deneyde bir materyal konsantrasyonu için 4 kuyucuk kullanıldı (n=12). Hücre kültürü, ekstraktların 100 µL'lik farklı dilüsyonlarına ve negatif kontrol olarak kültür ortamına 37°C'de 24 saat boyunca maruz bırakıldı. Daha sonra ortam uzaklaştırılarak kuyucuklar Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (PBS, Biological Industries, Israel) ile yıkandı. 5 mg/ml oranında hazırlanan 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT, Sigma Aldrich, Steinheim, Almanya) (Şekil 3. 17) karışımından 10 µL solüsyon her kuyucuğa eklendi ve 2 saat boyunca 37 °C'de bekletildi. Kuyucuklardaki ekstraktlar boşaltıldı ve ardından hücre içinde depolanan MTT formazanı açığa çıkarmak için 200µL Dimetil Sülfoksit (DMSO, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) (Şekil 3. 18) her kuyucuğa eklenerek 20 dakika çalkalanma etkisine maruz bırakıldı. Spektrofotometre cihazıyla (Epoch, BioTek Instruments, ABD) 540 nm dalga boyunda yapıldı (Şekil 3.19). Her bir plaka ayrı ayrı değerlendirilerek veriler elde edildi.



Şekil 3. 17. MTT solüsyonunun kuyucuklara eklenmesi



Şekil 3. 18. DMSO solüsyonunun kuyucuklara eklenmesi



Şekil 3. 19. Spektrofotometre cihazı

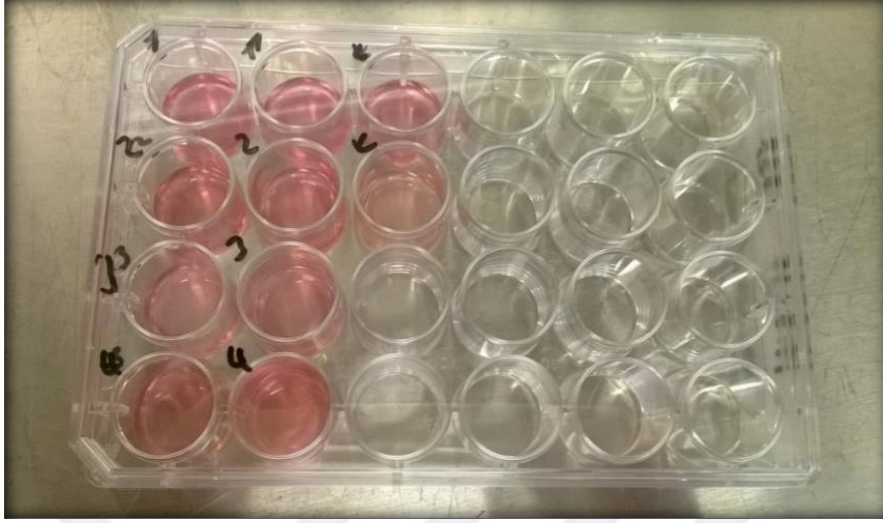
3. 4. 2. XTT Deneyinin Uygulanışı

Her deneyde bir materyal konsantrasyonu için 4 kuyucuk kullanıldı (n=12). Hücre kültürü ekstraktların 100 µL'lik farklı dilüsyonlarına ve negatif kontrol olarak kültür ortamına 37°C'de 24 saat boyunca maruz bırakıldı. 5 ml 2,3-Bis-(2-Methoxy-4-nitro-5-sulpoheynl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide disodium (XTT, Biological Industries, İsrail) solüsyonuna 100 µL aktivatör eklenerek hazırlanan taze karışımdan 50 µL her kuyucuğa eklenerek 15 saat boyunca 37°C'de bekletildi. Renk değişimi gözlemlendi. Spektrofotometre cihazıyla (Epoch, BioTek Instruments, ABD) 460 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı. Her bir plaka ayrı ayrı değerlendirilerek veriler elde edildi.

3. 4. 3. Canlı/Ölü Hücre Deneyinin Uygulanışı

2 kuyucuk kontrol grubu olmak üzere 24 kuyucuklu plakanın 10 kuyucuğu kullanıldı. Hücreler 1 mL'lik madde ekstraktına veya negatif kontrol olarak kültür ortamına 24 saat boyunca 37°C'de maruz bırakıldı (Şekil 3. 20). Daha sonra ortam uzaklaştırılarak Tripsin/EDTA (Biochrom, GmbH, Berlin, Germany) solüsyonuyla yıkandı ve ortam uzaklaştırıldı. Boyama solüsyonu Live/Dead Cell (Live-Dead Cell Staining Kit, Enzo Life Sciences, ABD) (Şekil 3. 21) boyama kiti üretici firma talimatlarına göre hazırlandı. Her kuyucuğa 500 µL solüsyon eklendi. Kuyucuklar aspire edilerek falkon tüplerine alındı ve pipetaj yapıldı. Dilüsyonlar tüplerden lam

üzerine alınarak floresan mikroskop (Nikon, ABD) (Şekil 3. 22) altında 488-615 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.



Şekil 3.20. Hücrelerin 24 kuyucuklu tabakada madde ekstraktına maruz bırakılması



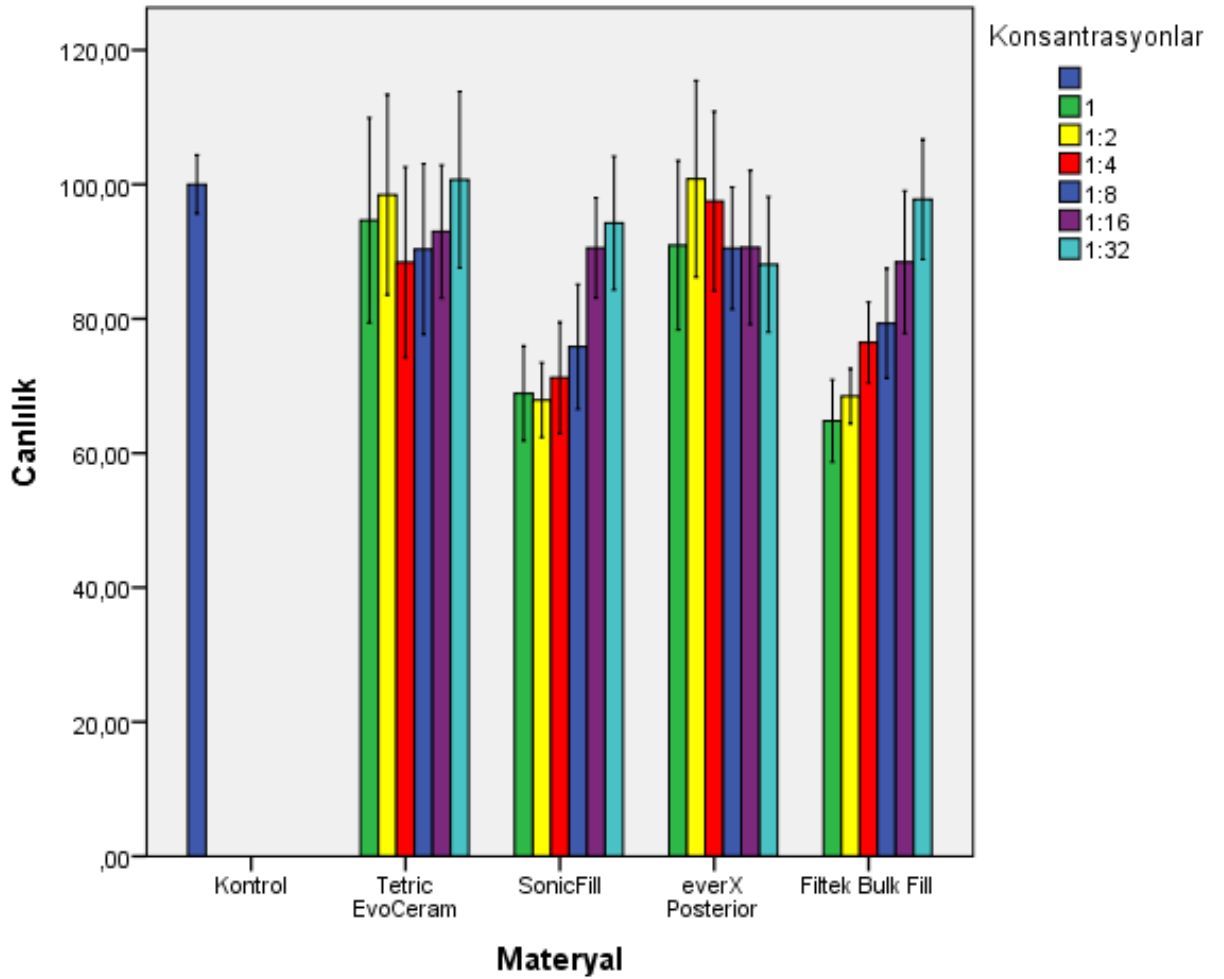
Şekil 3. 21. Canlı/Ölü Hücre boyama kiti (Live-Dead Cell Staining Kit, Enzo Life Sciences, ABD)



Şekil 3. 22. Floresan Mikroskop (Nikon, ABD)

4. BULGULAR

4. 1. *Bulk Fill* Kompozit Rezinlerin L929 Hücrelerinin Canlılıkları Üzerine Etkileri



Grafik 4. 1. Farklı konsantrasyonlardaki Tetric EvoCeram Bulk Fill, SonicFill, everX Posterior, Filtek Bulk Fill kompozitlerinin L929 hücrelerinde canlılık yüzdeleri

Bu çalışmada kullanılan *bulk fill* kompozitlerin orijinal ekstraktı ve konsantrasyonlarının 24 saatlik ekspoz süresi sonunda L929 hücrelerinin canlılığına etkisinin MTT yöntemiyle değerlendirilmesinin yüzde olarak sonuçları karşılaştırıldı. Deneşlerde farklı derecelerde sitotoksisite bulguları tespit edildi.

Tetric EvoCeram Bulk Fill materyalinin ekstraktlarının 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 konsantrasyonlarına 24 saat maruz kalan L929 hücrelerinin canlılık oranları sırasıyla %94,64, %98,46, %88,42, %90,35, %92,97, %100,70'ti. Çalışmamızda L929 hücreleri üzerine Tetric EvoCeram Bulk Fill grubunun verileri

istatistiksel olarak değerlendirildiğinde negatif kontrol grubuyla arasında önemli bir fark gözlenmemiştir.

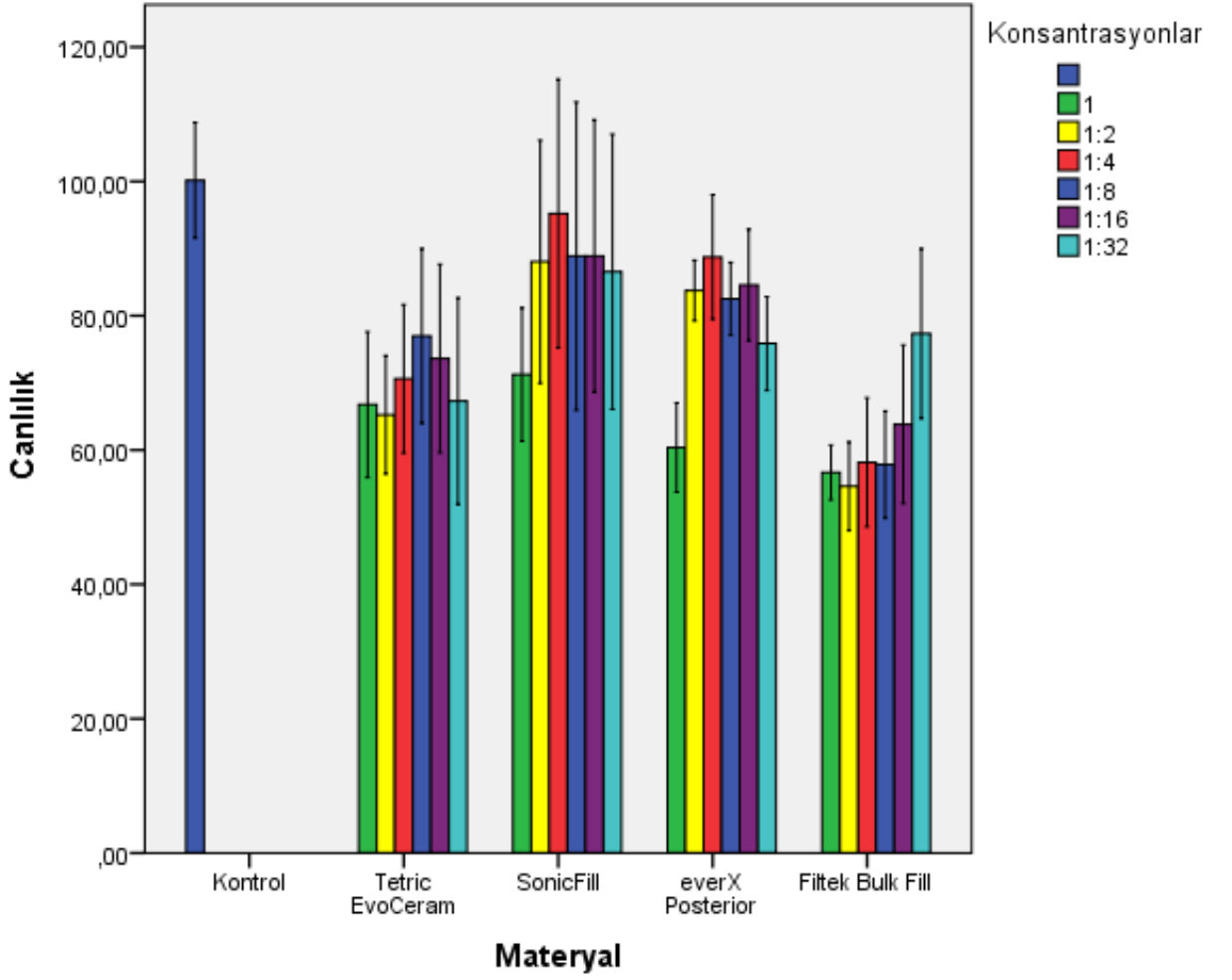
SonicFill materyalinin ekstraktlarının 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 konsantrasyonlarına 24 saat maruz kalan L929 hücrelerinin canlılık oranları sırasıyla %68,89, %67,89, %71,23, %75,83, %90,55, %94,24'tü ve 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 konsantrasyonları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde negatif kontrol grubuyla arasında önemli bir fark olduğu tespit edildi. Diğer konsantrasyonlarla negatif kontrol grubu arasında önemli bir fark gözlenmemiştir.

everX Posterior materyalinin ekstraktlarının 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 konsantrasyonlarına 24 saat maruz kalan L929 hücrelerinin canlılık oranları sırasıyla %90,94, %100,82, %97,49, %90,51, %90,61, %88,08'di. Çalışmamızda L929 hücreleri üzerine everX Posterior grubunun verileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde negatif kontrol grubuyla arasında önemli bir fark gözlenmemiştir.

Filtek Bulk Fill materyalinin ekstraktlarının 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 konsantrasyonlarına 24 saat maruz kalan L929 hücrelerinin canlılık oranları sırasıyla %64,81, %68,48, %76,46, %88,44 %97,79, %94,24'tü ve 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 konsantrasyonları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde negatif kontrol grubuyla arasında önemli bir fark olduğu tespit edildi. Diğer konsantrasyonlarla negatif kontrol grubu arasında önemli bir fark gözlenmemiştir.

Deney materyallerinin ekstraktlarının farklı konsantrasyonları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında SonicFill ve Filtek Bulk Fill kompozit materyallerinin 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 konsantrasyonlarında sitotoksisite gözlenirken, aynı materyallerin 1:16, 1:32 konsantrasyonlarıyla Tetric EvoCeram Bulk Fill ve everX Posterior materyallerinin orijinal ekstraktı ve tüm konsantrasyonlarında sitotoksisite bulguları gözlenmedi. Materyal ekstraktlarının her konsantrasyonu için deneyler üç kez tekrarlandı ve her deneyde bir materyal konsantrasyonu için 4 kuyucuk kullanıldı (n=12).

4. 2. Bulk Fill Kompozit Rezinlerin tSPTH Canlılıkları Üzerine Etkileri



Grafik 4. 2. Farklı konsantrasyonlardaki Tetric EvoCeram Bulk Fill, SonicFill, everX Posterior, Filtek Bulk Fill kompozitlerinin tSPTH üzerinde canlılık yüzdeleri

Tetric EvoCeram Bulk Fill materyalinin ekstraktlarının 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 konsantrasyonlarına 24 saat maruz kalan tSPTH'nin canlılık oranları sırası ile %66,76, %65,22, %70,60, %76,99, %87,78, %67,30'du ve 1:1, 1:2, 1:4, 1:16, 1:32 konsantrasyonları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde negatif kontrol grubuyla arasında önemli bir fark olduğu tespit edildi. 1:8 konsantrasyonu ile negatif kontrol grubu arasında önemli bir fark gözlenmemiştir.

SonicFill materyalinin ekstraktlarının 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 konsantrasyonlarına 24 saat maruz kalan tSPTH'nin canlılık oranları sırasıyla %72,90, %88,03, %95,21, %88,86, %88,89, %86,55'ti ve 1:1 konsantrasyonu istatistiksel olarak değerlendirildiğinde negatif kontrol grubuyla arasında önemli bir

fark olduğu tespit edildi. Diğer konsantrasyonlarla negatif kontrol grubu arasında önemli bir fark gözlenmemiştir.

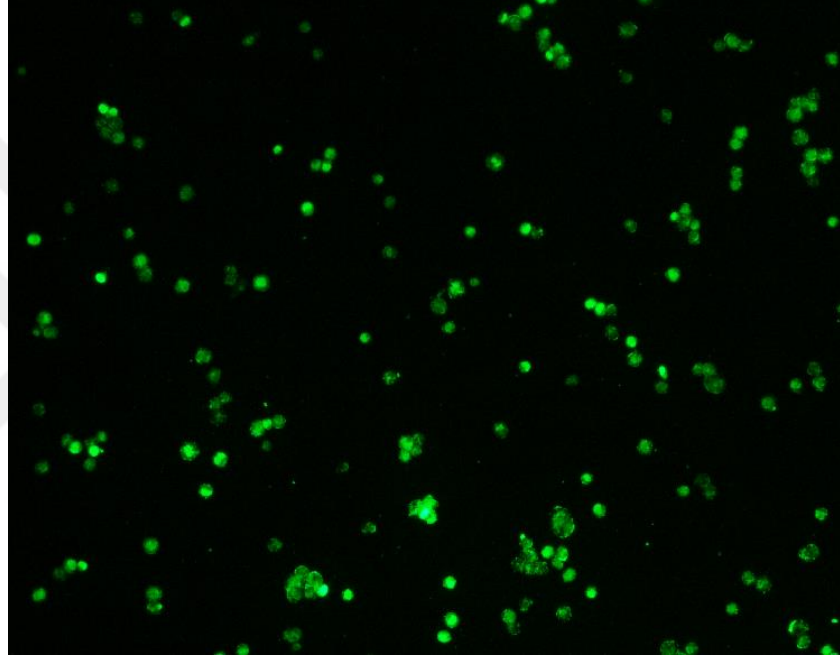
everX Posterior materyalinin ekstraktlarının 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 konsantrasyonlarına 24 saat maruz kalan tSPTH'nin canlılık oranları sırasıyla %58,70, %83,73, %88,73, %82,50, %84,57, %76,09'du ve 1:1 konsantrasyonu istatistiksel olarak değerlendirildiğinde negatif kontrol grubuyla arasında önemli bir fark olduğu tespit edildi. Diğer konsantrasyonlarla negatif kontrol grubu arasında önemli bir fark gözlenmemiştir.

Filtek Bulk Fill materyalinin ekstraktlarının 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 konsantrasyonlarına 24 saat maruz kalan tSPTH'nin canlılık oranları sırasıyla %56,66 %54,60, %58,17, %57,83 %63,82, %77,33'tü ve 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 konsantrasyonları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde negatif kontrol grubuyla arasında önemli bir fark olduğu tespit edildi. 1:32 konsantrasyonuyla negatif kontrol grubu arasında önemli bir fark gözlenmemiştir.

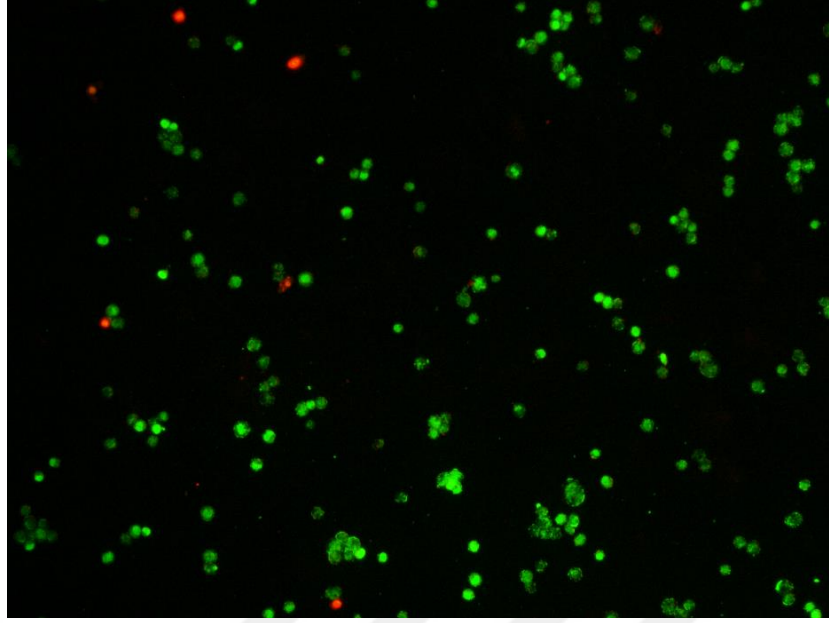
Bu çalışmada kullanılan *bulk fill* kompozitlerin orijinal ekstaktı ve konsantrasyonlarının 24 saatlik ekspoz süresi sonunda tSPTH'nin canlılığına etkisinin XTT yöntemiyle değerlendirilmesinin yüzde olarak sonuçları karşılaştırıldı. Deneysel farklı derecelerde sitotoksosite bulguları tespit edildi. Deneysel materyallerinin ekstraktlarının farklı konsantrasyonları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Tetric EvoCeram Bulk Fill kompozit materyalinin 1:1, 1:2, 1:4, 1:16, 1:32 konsantrasyonlarında, SonicFill ve everX Posterior kompozit materyalinin 1:1 konsantrasyonunda, Filtek Bulk Fill kompozit materyalinin 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 konsantrasyonlarında sitotoksosite bulguları gözlenmektedir. Materyal ekstraktlarının her konsantrasyonu için deneyler üç kez tekrarlandı. Her deneyde bir materyal konsantrasyonu için 4 kuyucuk kullanıldı (n=12).

4. 3. Canlı/Ölü Hücre Analiziyle Değerlendirme Sonucu Elde Edilen Bulgular

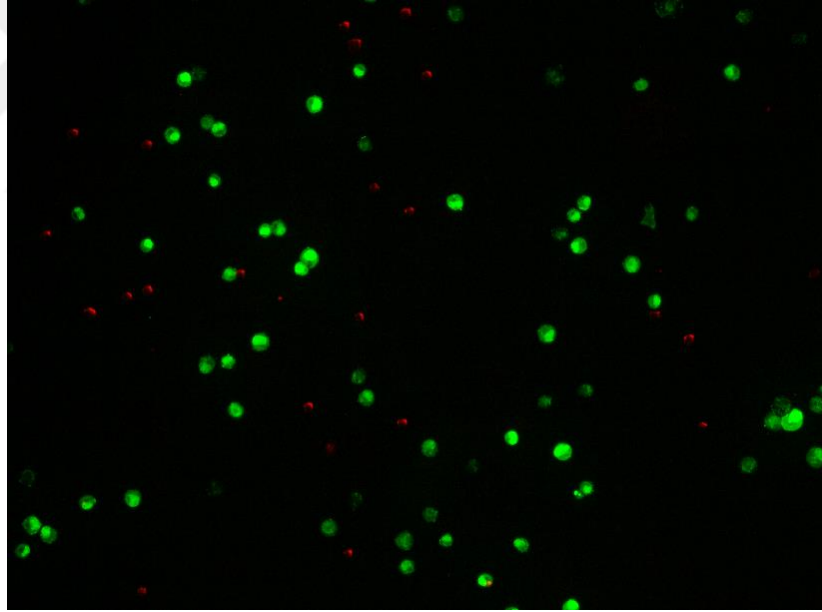
Bu çalışmada Canlı/Ölü Hücre boyama kiti, MTT ve XTT analizlerini görsel verilerle desteklemek için uygulanmıştır. Materyallerin sadece orijinal konsantrasyonları değerlendirilmiştir. SonicFill ve Filtek Bulk Fill gruplarının orijinal ekstraktlarına maruz kalan L929 ölü hücreleri promidyum iyodürü geçirerek kırmızı boyanmışlardır. Kırmızıya boyanan L929 hücrelerini en çok bu iki grupta görülmektedir. Canlılığın göstergesi olarak diğer hücreler yeşile boyanmışlardır.



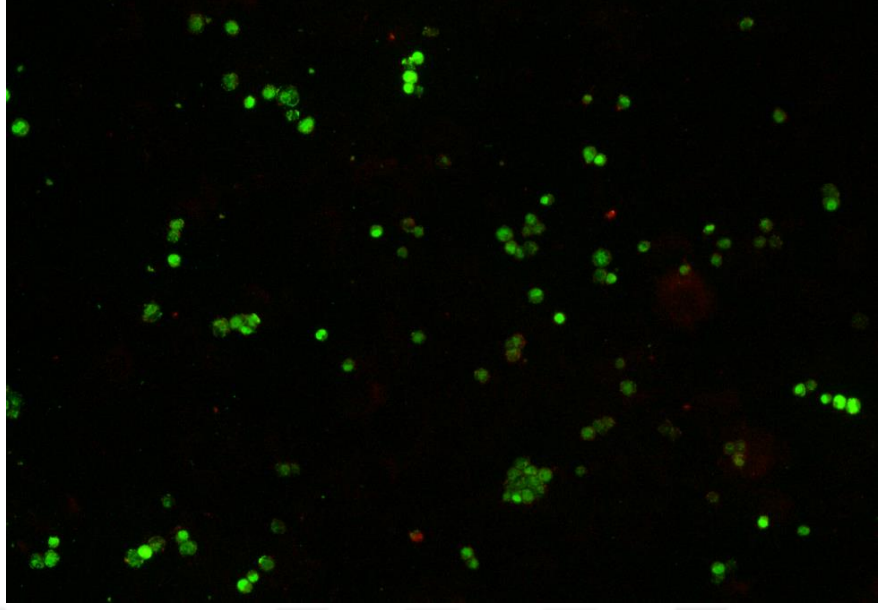
Şekil 4.1. Kontrol grubunun floresan mikroskop altındaki görüntüsü



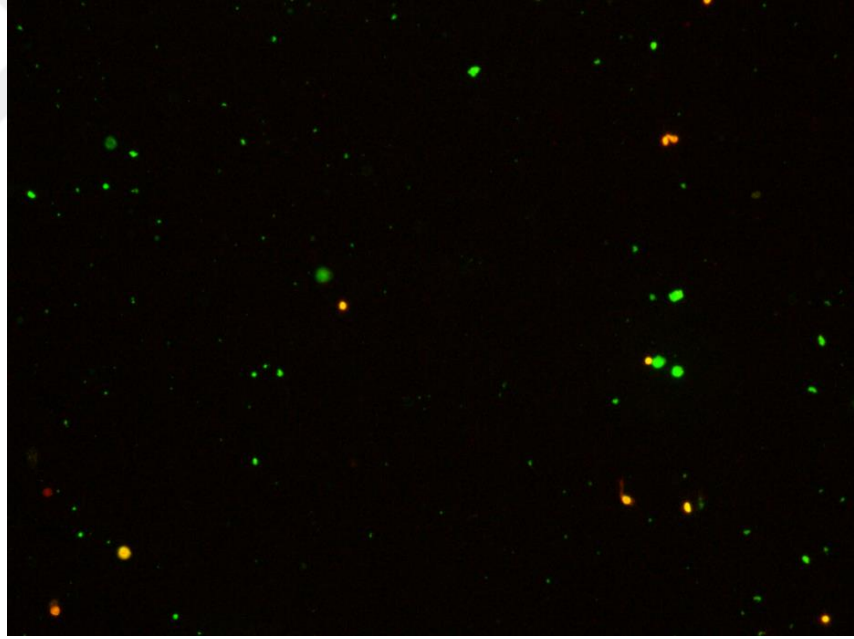
Şekil 4.2. Tetric EvoCeram Bulk Fill grubunun floresan mikroskop altındaki görüntüsü



Şekil 4.3. SonicFill grubunun floresan mikroskop altındaki görüntüsü



Şekil 4.4. everX Posterior grubunun floresan mikroskop altındaki görüntüsü



Şekil 4.5. Filtek Bulk Fill grubunun floresan mikroskop altındaki görüntüsü

5. TARTIŞMA

Dental adeziv teknolojisindeki olumlu gelişmeler günümüzde restoratif tedavi işlemlerini basitleştirme yönünde devam etmektedir. Buna örnek olarak, tek aşamalı adeziv sistemler, kendinden bağlanan kompozit ve *bulk fill* kompozit rezinler verilebilir. *Bulk fill* kompozit rezinler piyasaya sürülmeden önce kompozit rezinlerin kaviteye tabakalama tekniğiyle (inkremental) yerleştirilmesi standart bir uygulama olarak kabul edilmekteydi. İdeal *bulk fill* kompozit rezinler polimerizasyon büzülmesi değerinin az olması (Jin ve ark 2009, Ilie ve Hickel 2011, El-Damanhoury ve Platt 2014), polimerizasyon derinliğinin (Asmussen ve Peutzfeld 2001, Bouschlicher ve ark 2004, Watts 2005, Koch ve ark 2007, Yan ve ark 2010), mekanik özelliklerinin ve monomerlerin polimerlere dönüşüm derecesinin (Al-Ahdal ve ark 2015) iyi olması yanında biyoyumlu olmalıdır. Bu nedenle bu tez çalışmasında farklı *bulk fill* kompozit rezinlerin L929 ve tSPTH canlılıkları üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Sıfır hipotezimiz, çalışma sonucunda elde edilen verilere göre reddedilmiştir. SonicFill ve Filtek Bulk Fill gruplarının L929, diğer tüm test edilen kompozit rezin gruplarının tSPTH üzerinde toksik etkisi olduğu görülmüştür.

Kompozit rezinler, polimerize olabilen dimetakrilat monomerleri içerirler (Knežević ve ark 2001, Tarle ve ark 2002). Metakrilat kompozit rezinlerin polimer ağı “metakrilat monomerlerine karşılık gelen serbest radikal eklenme polimerizasyonu” olarak adlandırılan bir süreçte oluşturulur. Polimerizasyon reaksiyonuyla başlangıç, yayılma ve sonlanma aşamalarından oluşmaktadır. Kimyasal sertleşen kompozit rezinlerin polimerizasyon reaksiyonu, bir peroksit başlatıcı ve amin hızlandırıcıyla oda sıcaklığında başlar. Işıkla sertleşen kompozit rezinlerin polimerizasyon reaksiyonuyla görünür mavi ışıkla tetiklenir. Bu kompozit rezinlerin polimerizasyonu ışığın restorasyondan uzaklığı ve ışığın uygulama süresine göre değişir (Sakaguchi ve Powers 2012). Polimerizasyon sürecinin büyük kısmı ışınlamadan sonra birkaç dakika daha devam eder (Sakaguchi ve ark 1992). *Dual-cure* kompozitlerin polimerizasyon reaksiyonunu gerçekleştirmek için kimyasal ve ışık aktivasyonunun kombinasyonu kullanılır. Başlangıç aşamasını, polimer zincirin büyümesini sağlamak için aktif merkeze diğer monomer moleküllerinin hızlı bir şekilde eklendiği yayılma aşaması izlemektedir. Yayılma reaksiyonunda, serbest radikal artışı sona erene kadar moleküler ağırlık artmaya ve çapraz bağ yoğunluğu oluşmaya devam etmektedir. Sonlanma aşamasında

monomerler alt yapı birimleri oluşturarak polimer molekülünü oluştururlar (Sakaguchi ve Powers 2012).

Serbest radikallerin polimerizasyon süreci erken evrelerde ve çok hızlı olur, monomerler mobildir ve duyarlı bölgelere kolayca bağlanabilirler. Polimer matriks ağı genişledikçe mobil serbest radikallerin matriks içindeki hareketliliği kısıtlanır, polimerizasyon hızı düşerek devam eder (Dickens ve ark 2003). Çift bağların yüzdesi %35-80'e kadar değişebilir. Monomerlerin polimere dönüşüm derecesi, polimerizasyon etkinliğini ve matriksi oluşturan çapraz bağlarla bağlı multifonksiyonel monomerlerin oranını belirlemek için anahtar ölçüttür (Ferracane 1985, Ferracane ve Greener 1986, Hofmann ve ark 2002).

Polimerizasyon derecesi, ısı ve sıcaklığı arttırılarak ışınlama sonrası sertleşme reaksiyonu devam eden laboratuvar kompozitleri için daha yüksektir. Monomer ya da polimer olsun bir molekül türünün serbest hacmi, rastgele dönme ve termal hareketi nedeniyle onun tarafından işgal edilen hacimdir. Monomerler polimere dönüştüğünde, serbest hacimde azalma meydana gelir çünkü polimer zincirin dönüşümü polimerize olmamış monomer moleküllerinden daha kısıtlıdır (Sakaguchi ve Powers 2012). Yapılan bir çalışmada 4 mm *bulk fill* kompozit rezinlerle restore edilmiş kavitelerde 5., 30., 60. dakikalarda ve 24 saat sonunda dönüşüm derecesi ölçülmüş; *bulk fill* kompozit rezinlerin içerdikleri rezin-matriks, doldurucu tipi, boyutu ve miktarına göre bu oranın değişiklik gösterdiği görülmüştür.

Genel olarak maksimum dönüşüm derecelerine 30. dakika sonunda ulaşmışlar, 24 saat sonunda 4 mm kalınlıkta dönüşüm oranları %50-72 arasında olmuştur. SonicFill kompozit rezin örneklerde reaksiyon başlangıcından 5 dakika sonra, Tetric EvoCeram Bulk Fill ve Filtek Bulk Fill örneklerindeyse 24 saat sonra dönüşüm derecelerinde artış görülmemiştir. everX Posterior kompozit rezin örneklerin dönüşüm oranlarınınsa 24 saat sonra arttığı görülmüştür (Al-Ahdal ve ark 2015).

Üreticiler metakrilat kompozit rezinlerde polimerizasyon büzülmesini en aza indirmek için monomer rezinler ile prepolimerize rezinleri doldurma, inorganik doldurucu miktarını maksimize etme ve yüksek moleküler kütleli metakrilat monomeri kullanma gibi metodlar geliştirmişlerdir (Sakaguchi ve Powers 2012). Çoğu kompozit rezinde monomerlerin polimere dönüşüm derecesi halojen ve LED

ışık cihazları kullanılarak polimerizasyon reaksiyonu direkt sağlandığında %55-75 oranında değişmektedir (Sakaguchi ve Berge 1998, Pianelli ve ark 1999, Imazato ve ark 2001, Tarle ve ark 2002, Yoon ve ark 2002, Soh ve ark 2004, Tseng ve ark 2007). Bu oran restorasyonun indirekt yapılması, yüksek yoğunluklu ışık, ısı, basınç, farklı laboratuvar koşullarının kullanılmasıyla %80'e kadar çıkmaktadır (Ferracane ve Condon 1992, Knobloch ve ark 1999, Peutzfeldt ve Asmussen 2000). Ek olarak, metakrilat kompozitlerin diş kavitesine inkremental teknikle yerleştirilmesi polimerizasyon derinliğini sağlayabilmek için gereklidir; böylece büzülme stresleri kontrol edilmiş, klinik başarı arttırılmış olur (Sakaguchi ve Powers 2012). Bu teknik maksimum 2 mm kalınlıkta triangular (Cara ve ark 2007, Fleming ve ark 2007) ya da horizontal tabakalama şeklinde (Versluis ve ark 1996, El-Helali ve ark 2013) mesial aproksimal kavitelere, 3 mm distal aproksimal ve 2 mm oklüzal kavitelere uygulanır. Işınlama süresi her tabaka için 20 ve 40 saniye arasında değişir, bu durum hekimin ve hastanın fazla zaman harcamasına yol açar (Ilie ve Hickel 2009). Bu tekniğin açıkça görülen bir avantajı ışığın penetre olduğu kalınlığı kısıtlamasıdır. Bu nedenle tabakaların kalınlığının kısıtlanması yeterli ışık penetrasyonunu ve ardından polimerizasyonu sağlar. Bu avantajlara rağmen kompozit tabakalar arası hava boşluğu ve kontaminasyon, bağlantı problemleri, küçük kavitelere sınırlı erişim sonucu kompoziti yerleştirme problemleri oluşma ihtimali her tabakayı yerleştirmek, polimerize etmek için gereken süreyi arttırır (Sarrett 2005). Bu dezavantajların üstesinden gelebilmek için ışık geçirgenliği arttırılan ve 4 milimetreye kadar polimerizasyon derinliğine ulaşmayı sağladığı iddia edilen *bulk fill* kompozitler ortaya çıkmıştır (Campodonico ve ark 2011, Van Ende ve ark 2013).

Bulk fill kompozit rezinlerde, konvansiyonel kompozit rezinlere oranla polimerizasyon derinliğini arttırmak için değişiklik öncelikle kompozitin doldurucu içeriğinde yapılmıştır. *Bulk fill* kompozit rezinlerde doldurucu boyutu büyütülmüş ve böylece total hacmi azaltılmıştır. Konvansiyonel kompozit rezinlerle karşılaştırıldığında *bulk fill* kompozit rezinlerde hacimce büyük doldurucular(>20 µ) ve daha az oranda total doldurucu/matriks ara yüzü gözlenmektedir (SonicFill, Kerr, Orange, CA, ABD). Bu durum ışığın daha az saçılarak, derinlere penetre olmasını sağlar (Ilie ve ark 2013). Fakat yapılan bir çalışmaya göre SonicFill örnekleri *bulk fill* rezin kompozitler içinde değerlendirildiğinde ışık geçirgenliği nano ve mikrohibrit kompozitlerle karşılaştırılabilir derecede en azdır (About ve ark 2002).

Reaksiyon başlatıcı yeni sistem (ivocerin) de ışığın daha derinlere penetre olabilmesi amacıyla geliştirilmiştir (Tetric EvoCeram Bulk Fill, Ivoclar-Vivadent, Schaan, Lihtenştayn). Ivocerin, kamforokinona göre 400-450 nm arasında yüksek foto-absorbsiyon değerine, sertleşme aktivitesine sahip bir monomerdır. Ayrıca ko-başlatıcı amin eki olmadan en az iki radikal oluşturarak polimerizasyonu başlatabilir. Sadece bir radikal oluşturarak polimerizasyon başlatan kamforokinon/amin sisteminden daha etkilidir (Moszner ve ark 2008).

Dental kompozitlerden polimerize olmamış monomer salınımı kompozitin kimyası, monomerlerin polimere dönüşüm derecesi, polimer ağında çapraz bağların oluşum derecesi, restorasyon yüzeyine yapılan uygulamalar ve restorasyonun çevresinde bulunan çözücü madde türü gibi faktörlerden etkilenir (Santerre ve ark 2001, Yap ve ark 2004, Sideridou ve Achilias 2005, Ferracane 2006, Tseng ve ark 2007). Polimerizasyon derecesiyle artık monomer miktarı oluşumu arasında ters bir ilişki vardır. Polimerizasyon daha yüksek oranda sağlandığında, daha az artık monomer belirlenebilmiştir (Rueggeberg ve Craig 1988). Birçok çalışma ışıkla polimerize olan kompozit rezin materyallerde açığa çıkan artık monomer miktarının ışınlama süresince alınan enerji tarafından etkilendiğini göstermiştir. Yüksek enerji yoğunluğu sağlandığında çözücülerde daha az artık monomer miktarı tespit edilmiştir (Munksgaard ve ark 2000, Moon ve ark 2004, Benetti ve ark 2009). Bu durum artan enerjiyle birlikte monomerlerin polimere dönüşüm oranının artmasıyla açıklanabilir. Fakat verilen enerji yoğunluğunda, farklı ışınlama süresi kombinasyonları, güç yoğunluğu, ışınlama modu kullanımı artık monomer oluşum sürecini önemli ölçüde etkiler. Salınan maddelerin türü ve miktarı farklı teknikler kullanılarak birçok çalışmada belirlenmiştir. Bu çalışmalarda Ultraviyole (UV), Infrare Radyasyon (IR), Yüksek Performanslı Likit Kromatografi (HPLC), Gaz Kromatografi/Mass Spektroskopisi (GC/MS) gibi farklı ışın cihazları kullanılmıştır (Braden ve Pearson 1981, Wu ve McKinney 1982, Ferracane ve Condon 1990, Ferracane 1994, Hume ve Gerzina 1996, Müller ve ark 1997, Hamid ve ark 1998, Lee ve ark 1998, Spahl ve ark 1998, Geurtsen ve ark 1999, Lygre ve ark 1999, Pelka ve ark 1999, Munksgaard ve ark 2000, Mazzaoui ve ark 2002, Michelsen ve ark 2003, Örtengren ve ark 2004, Michelsen ve ark 2008, Franz ve ark 2009, Polydorou ve ark 2009). Bu çalışmalar ışığında artık monomer oluşumu ve kompozit rezinlerin sitotoksitesinin polimerizasyon sürecine, ışınlama cihazı tipine, total enerji yoğunluğuna, güç

yoğunluğuna, ışınlama süresine ve moduna bağlı olduğu söylenebilir (Yap ve ark 2004, Sigusch ve ark 2007, Tseng ve ark 2007). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda mavi-mor LED ünitesinin emisyon spektrumu kullanılmıştır (Valo, Ultradent, ABD). Dalga boyu 395-480 nm, gücü 1000-3200 mW/cm² aralığında değişmektedir. Bu aralık çalışmamızda kullanılan *bulk fill* materyallerin absorbsiyon spektrumlarına uygun değerdedir. *Bulk fill* kompozit rezin örnekleri ışınlama süreleri üretici firma talimatları doğrultusunda uygulanmıştır.

Biyouyumluluk, materyallerin yaşayan hücrelere zarar vermeden onlarla bir arada varlığını sürdürebilmesidir (Geurtsen 2000). Restorasyon ve oral dokular arası direkt etkileşimler biyoyuyumluluğu etkileyebilir. Örneğin, plak ve gingival indeksler olduğu kadar sondlanabilen cep derinliğinin de 5-6 yıllık direkt kompozit restorasyonlara komşu bölgelerde önemli derecede yüksek bulunduğu rapor edimiştir (Peumans ve ark 1998). Kompozit rezinlerin biyoyuyumluluğunda, monomerlerin polimere dönüşüm derecesindeki azalma fiziksel/meکانik özelliklerinde değişikliğin yanında artık monomer miktarında artışa sebep olur. Önemli miktarda organik bileşenin polimerize olan materyal içinde bağlanmamış, artık monomer olarak kaldığını gösteren birçok çalışma vardır (Cebe ve ark 2015). Dental kompozitler çeşitli derecelerde hidroskopik ve hidrolitik etkilere duyarlı polimer ağı içerirler. Bu etkiler polimerize olmamış monomerlerin kısa süreli salınımına ve restorasyon yıkım ürünlerinin uzun süreli salınımına sebep olur (Göpferich 1996, Hume ve Gerzina 1996, Geurtsen 2000, Ferracane 2006). Yetersiz monomer-polimer dönüşümü nedeniyle, kompozit materyallerden salınan artık monomerler sıvı oral ortama salınarak komşu dokuları etkilerler (Durner ve ark 2010). Bu salınım lokal ve sistemik toksisite, pulpal reaksiyonlar, alerjik ve östrojenik etkiler gibi birçok istenmeyen biyolojik reaksiyonun kaynağıdır (Geurtsen 2000, Bouillaguet 2004, Schweickl ve ark 2006, Schedle ve ark 2007, Anagnostou ve ark 2009, Schmalz ve Arenholt-Bindslev 2009). Sırasıyla istenmeyen lokal ve sistemik etkiler görülebilir (Geurtsen 1998). Klinik olarak kontakt alerjiler gözlenebileceği gibi, polimerize olmamış monomerler direkt pulpa kapaklaması prosedürü sonrası hemen veya dentin tübüllerinden pulpaya diffüze olarak bir süre sonra pulpa gibi oral kavite dokularını da etkileyebilirler (Krifka ve ark 2012). Biyoyumlu olmayan veya sitotoksik restoratif materyaller kısa veya uzun-dönemli post-operatif hassasiyetten, geri-dönüşümsüz pulpa zararına kadar değişebilen reaksiyonlara yol açabilirler (Geurtsen

2000). Gingival ve oral mukozal reaksiyonlara da yol açabilirler. Salınan maddeler sitotoksik, mutajenik, genotoksik, östrojenik etkiler açığa çıkarabilirler (Cebe ve ark 2015).

Kompozit rezinlerin özellikleri değişen oral ortamda stabilitelelerini daha uzun süre korumaları için geliştirilmiştir. Kompozit rezinlerin ideal şartlarda yüksek derecede stabil ve su geçirmez olmaları gerekir, fakat dental polimer ağının dimetakrilat monomerlerinden oluşmasından ötürü nemi hapsederek total kütlesini arttırma eğilimindedirler (Kalachandra ve Turner 1987, Ferracane ve ark 1998). Su emme özelliği kompozitin klinik başarısını belirlemek için kritik bir özelliktir. Bu özellik kompozitin hidrolitik stabilitesinde negatif etkilere yol açarak renklenmeye, mekanik özelliklerde, aşınma dayanımında sorunlara ve rezin-doldurucu ara yüzünde bağlantı problemlerine yol açar (Um ve Ruyter 1991, Göhring ve ark 2002, Yiu ve ark 2004, Ferracane 2006, Yiu ve ark 2006). Su emme, ayrıca materyalde hidroskopik genişmeye ve mikro-kırıklara yol açan hatta dişin kaspının kırılmasına sebep olan hidroskopik strese yol açar (Rüttermann ve ark 2007, Alrahlah ve ark 2014).

Polimerlerin içine su emilimi difüzyonla açıklanan bir olaydır ve iki teoriyle açıklanabilir; serbest hacim teorisine göre su polimer içindeki boşluklara absorbe edilir. Etkileşim teorisine göre polimer zincirindeki iyonik gruplara suya afinitesine göre bağlanır (Wei ve ark 2011, Chaves ve ark 2013). Polimer yapının içine su emilimi monomerlerin polimere dönüşüm derecesinden, çapraz bağların yoğunluğundan ve polimer zincirinin hidrofiliğinden etkilenir. Su emme, şişme ve genişlemeye sebep olur (Ferracane 2006, Yiu ve ark 2006). Çözünürlük, biyoyumulukla ilişkilidir ve polimerin kütlesinin azalarak mekanik özelliklerinin zayıflamasına sebep olur (Wei ve ark 2011). *Bulk fill* kompozit rezinler, polimerizasyon büzülme stresini azaltmak için polimerizasyon modülatörü olarak rezin matriks içinde kimyasal grup ya da plastikleştirici içerirler (Goracci ve ark 2014). Bu tip değişiklikler kimyasal polimer ağının özelliğini ve dolayısıyla nem karşısında dayanıklılığını değiştirir (Alshali ve ark 2013). *Bulk fill* kompozit rezinlerin sıvı ortamdaki uzun dönem dayanıklılığıyla ilgili literatür bilgi kısıtlıdır. Yapılan bir çalışmada, *bulk fill* kompozit rezinler bir yıl su ve yapay tükürük içinde bekletilmiş absorpsiyon ve çözünürlük değerleri ölçülmüştür. BisEMA ve UDMA-BisEMA içerikli rezinler daha hidrofobik, absorpsiyon ve çözünürlük değerleri Bis-

GMA içeriklilere göre daha az bulunmuştur. Her materyalin içeriği uzun dönem klinik performansını etkilemektedir (Alshali ve ark 2015).

Son yıllarda dental kompozitlerin toksik etkilerinin oluşmasının altında yatan moleküler mekanizmanın belirlenmesi için önemli çaba sarf edilmiştir. Çalışmalarda bu kimyasalların canlı dokular üstündeki potansiyel riskini belirlemek için maruz bırakma, direkt ve indirekt kontak testleri, risk belirlenmesi, doz-cevap analizi, doku cevabı, onarımı ve genotoksisite analizini kapsayan sinyal yollarının analizi gibi komplike moleküler biyolojik teknikler klastojenik ve mutajenik potansiyel etkilerin aracı olarak kullanılmıştır (Göpferich 1996, Hume ve Gerzina 1996, Geurtsen 2000, Ferracane 2006). Rezin monomerlerin sitotoksisitesi birçok farklı metotla belirlenmiştir; hücre zarı yapısında, enzim aktivitesi gibi hücre fonksiyonlarında, makromoleküllerin sentezlenmesinde oluşturdukları temel hücre yapısı değişiklikleri bu durumu kanıtlar (Hanks ve ark 1991, Yoshii 1997, Thonemann ve ark 2002). Birçok çalışma rezin bileşiklerin temel hücre fonksiyonlarını etkilemesi, örneğin enzim aktivitesini inhibe etmesi, hücre morfolojisini, zar geçirgenliğini, hücre metabolizmasını (DNA, RNA ve protein sentezi) bozması üstüne odaklanmıştır. Birçok çalışma da dental kompozit rezinlerin saldıkları bileşiklerle önemli derecede (Bis-GMA, UDMA, TEGDMA, DMBZ, DMDTA) veya orta dereceli (HEMA, BEMA, CQ, DMPT, DMAPE) sitotoksisiteye yol açtığını göstermektedir (Hanks ve ark 1991, Geurtsen 1998, Geurtsen ve ark 1999, Geurtsen 2000, Noda ve ark 2002, Thonemann ve ark 2002, Schweickl ve ark 2006). Polimerize olmamış artık monomerlerle beraber, organik rezin matris içindeki foto-başlatıcıyla diğer katkı maddelerinin ve inorganik dolduruculardan metal iyonlarının salınımı nedeniyle de sitotoksisite oluşabilir (Caughman ve ark 1991, Baharav ve ark 1997).

Yapılan çalışmalar kompozit rezinlerden herhangi bir bileşenin salınabileceğini desteklemektedir. Özellikle TEGDMA ve HEMA gibi rezin moleküllerin önemli ölçüde sıvı ortama salındığı görülmüştür. Bis-GMA, UDMA, TEGDMA, DEGDMA, 1,6-hekzandiol di-metakrilat, metil metakrilat, kamforokinon,4-N-N-dietilaminobenzoik asit, etil ester minör konsantrasyonlarda sıvı ekstraktlarda tespit edilmiştir (Geurtsen 1998, Spahl ve ark 1998, Geurtsen ve ark 1999, Lygre ve ark 1999, Geurtsen 2000, Michelsen ve ark 2008). Doldurucu tipine göre stronsiyum, silikon, boron, sodyum ve baryum iyonları da salınabilir (Øysæd ve Ruyter 1986, Zhou ve ark 2005). Kompozit rezinlerin içerdiği monomer

boyutu artık monomerlerin salınımını etkileyen önemli bir faktördür. Küçük moleküller büyüklere göre daha hızlı ve anlamlı derecede yüksek oranda salınırlar (Ferracane 1994). TEGDMA, Bis-GMA'ya göre daha az moleküler ağırlığa sahip daha hareketli bir moleküldür ve artık monomer olarak ortama daha çabuk salındığı gözlenir (Tanaka ve ark 1991). Hidrofilik monomerlerin sıvı ortamda daha çok salındığı, örneğin yapılan çalışmalarda TEGDMA'nın Bis-GMA'ya göre daha yüksek salındığı tespit edilmiştir (Inoue ve Hayashi 1982, Spahl ve ark 1998, Yap ve ark 2004, Schmalz ve Arenholt-Bindslev 2009, Tabatabaee ve ark 2009). Ko-monomer TEGDMA ve hidrofilik monomer HEMA'nın varlığı hidrofilik olduğu kadar hidrofobik çözücülerde de saptanmıştır (Peutzfeldt 1997, Santerre ve ark 2001, Michelsen ve ark 2003).

HEMA ve TEGDMA hidrofilik monomerleri dentinden pulpaya milimolar ölçüsünde, önemli miktarlarda ve yüksek konsantrasyonlarda diffüz olabilirler. Dental adezivlerden pulpaya salınan HEMA 1.5-8 mmol/L, TEGDMA 4 mmol/L konsantrasyonuna ulaşabilir (Bouillaguet ve ark 1996, Noda ve ark 2002, Schweikl ve ark 2006). Bu konsantrasyonlar, pulpanın homeostaz ve tamir mekanizmalarını bozmaya yetebilmektedir (Hume ve Gerzina 1996, Bouillaguet 2004, Schweikl ve ark 2006). Yapılan çalışmalara göre HEMA ve TEGDMA monomerlerinin farklı yollarla (oral, subkütanöz, intravenöz) uygulandıktan sonra 24 saat içinde vücuttan tamamen atıldığı görülmüştür. Hayvan çalışmalarında esas atım yolunun akciğerler, dışkı ve idrar olduğu görülmüştür (Durner ve ark 2009). Verilen konsantrasyonlarda farklı dokularda bu monomerlerin akut toksik etkilere yol açtığı görülmüştür. Fakat birkaç çalışmada bu materyallerin sub-sitotoksik konsantrasyonlarının hücre fonksiyonlarında değişikliğe yol açtığı görülmüştür (About ve ark 2002). Salınan maddeler arasında sitotoksositeye asıl sebep olanların ko-monomerler olduğu belirlenmiştir. Bu materyallerin çeşitli hücre kültürlerinde (3T3, L929 fare fibroblastı, V79 hamster akciğer fibroblastı, HaCaT keratinositi, THP-1 monositi, insan kaynaklı primer hücre dizileri pulpa, periodontal, gingival, deri fibroblastı gibi) TC50 belirlenmiştir. Bu farklara rağmen çoğu çalışmada ana monomerlerin sitotoksiteleri Bis-GMA > UDMA > TEGDMA > HEMA şeklinde sıralanmaktadır (Hanks ve ark 1991, Ratanasathien ve ark 1995, Geurtsen 1998, Schweikl ve ark 2001, Issa ve ark 2004, Becher ve ark 2006, Moharamzadeh ve ark 2007, Reichl ve ark 2008). SonicFill ve everX Posterior *bulk fill* kompozit rezinleri TEGDMA

monomeri, tüm *bulk fill* kompozit rezin gruplarıysa Bis-GMA monomeri içermektedirler.

Tetric EvoCeram Bulk Fill ve Filtek Bulk Fill gruplarının birçok konsantrasyonunun tSPTH' nin hücre canlılığına belirgin etkisi gözlenirken, en düşük hücre canlılığı da Filtek Bulk Fill grubundadır (% 54,60). Filtek Bulk Fill kompozit rezininin L929 hücrelerinin canlılığı üzerine de belirgin etkisi gözlenmektedir ve en düşük hücre canlılığı da yine bu gruptadır (%64,81). UDMA molekülünün insan pulpa hücresi üstüne etkisini inceleyen bir çalışmanın sonuçları, UDMA'nın pulpada iltihaplanma ve toksisite oluşturma potansiyeli olduğunu göstermiştir. UDMA'nın toksisitesi cdc2'de ve siklinB1'deki azalma, cdc25C salınımı, p21'deki artma, hücre döngüsü ve apoptozda indüksiyonla da bağlantılıdır. ROS birikimi, HO-1 ve CES enzim aktivitesi UDMA sitotoksitesini etkileyebilir (Chang ve ark 2014). Bu iki grubun belirgin sitotoksik etkileri içeriklerinde bulunan UDMA molekülünün varlığıyla açıklanabilir.

Klinik uygulamalardan önce tüm kompozit rezin materyalleri standardize edilmiş laboratuvar testlerinden geçirilerek biyouyumluluk açısından değerlendirilmelidir. Bu yaklaşım ilk kez Autian (Autian 1974) tarafından yapılandırılarak açıklanmıştır. Hayvan ve insan kaynaklı hücre kültürleri 30 yıldır kompozit rezin materyallerinin sitotoksik etkilerini belirlemek için kullanılmaktadır. Kültürlerde, oral doku kaynaklı devamlı hücre dizileri ve birincil hücreler kullanılmaktadır (Ratanasathien ve ark 1995, Geurtsen ve ark 1998, 1999). Devamlı hücre dizileri genel olarak yıllar boyunca kültüre edilirler, homojen morfoloji ve fizyoloji gösterirler. Tam aksine primer hücre kültürleri hedef dokulardan kaynak alır, kısıtlı bir ömürleri vardır ve heterojendirler (Hanks ve ark 1988, Schmalz ve ark 1999). 3T3 ve L929 fare fibroblastı gibi devamlı hücre dizileri üretilebilir olmaları, uygun biyolojik cevap oluşturmaları ve hücre kültürünün kontrol edilmesini kolaylaştırmaları sebebiyle dental materyallerin sitotoksik özelliklerinin test edilmesi için rutin olarak kullanılmaktadır (ISO 1999). Birçok çalışmadan elde edilen önemli bir bulguya göre hedef dokulardan elde edilen primer hücrelerle, L929 ve 3T3 fare fibroblastı gibi spesifik olmayan devamlı hücre dizileri kullanılarak yapılan sitotoksikite testlerinde test maddesinin aynı derecede cevap oluşturduğu görülmüştür.

Şimdiye kadar yayınlanmış araştırmalara göre devamlı hücre dizilerinin primer hücelere göre daha duyarlı cevaplar oluşturduğu gözlenmiştir (Schmalz ve ark 1997). Primer hücreleri hedef hücrelerden ayırmak zordur ve zaman gerektirir, devamlı hücre dizileriyle karşılaştırıldığında hücre sayıları düşüktür ve en önemlisi ömürleri kısıtlıdır (Shay ve ark 1991, Schmalz 1994, Hanks ve ark 1998). Primer hücreler *in vitro* birkaç kez sub-kültüre edildikten sonra yaşlanırlar, bu nedenle hücre kültürü deneylerinde kullanımları sınırlıdır (Hayflick ve Moorhead 1961). Hücrelerin yaşlanması çoğalmanın azalması, sitoplazmanın genişlemesi ve ölümle sonlanması anlamına gelmektedir (Shay ve ark 1991). Fakat çeşitli prosedürlerle hücrelerin yaşlanmasının üstesinden gelinerek immortalize edilmiştir. Dental papilladan elde edilen primer hücreler *in vitro* odontoblast benzeri hücelere farklılaşabilir (Andrews ve ark 1993, MacDougall 1996). Hank ve arkadaşları 3T3 protokolü ile fetal fare fibroblastını kullanarak odontoblast benzeri hücre dizilerini elde etmişlerdir (1995). Isıya duyarlı SV40 T antijeni kullanılarak fare odontoblast hücre dizisi başarıyla elde edilmiştir (Macdougall ve ark 1995). Thonemann ve Schmalz dental papilla-kaynaklı sıkı hücrelerine SV40 T antijenini transfekte etmişlerdir. Primer hücrelerin önemli moleküler özelliklerini sürdürmeye devam ettikleri görülmüştür (Thonemann ve Schmalz 2000). Bu hücrelerin primer hücrelerle benzer reaksiyonlar verdiği, devamlı hücre dizilerine göre daha az duyarlı olduğu sonuç olarak dental restorasyon materyalleri için yapılacak sitotoksisite testlerinde kullanılabilceğini öneren bir varsayımında bulunmuşlardır. Dental papilla kaynaklı hücre dizileri dentinogenezin moleküler mekanizmasının değerlendirilmesi açısından proteinleri, MRNA ve DNA gibi dokuya özgü molekülleri büyük miktarda sentezleyerek fenotipik karakteristik özellikleri gösterir. Dental papilla kaynaklı hücreler, dental materyaller gibi ekstrinsik materyallerin sitotoksik ve subtoksik etkilerinin değerlendirilmesi için de kullanılabilirler (MacDougall ve ark 1998). L929 ve gingival fibroblast hücreleri benzer sitotoksisite düzeyine sahiptirler (Schmalz ve Arenholt-Bindslev 2009). Bu yüzden, L929 fibroblast hücreleri dental materyallerin *in vitro* sitotoksisite testleri için faydalı bir tarama modeli sağlar. Mükemmel üreme yeteneğinden dolayı L929 fibroblast hücresi primer gingival fibroblasta tercih edilir (Jonke ve ark 2008).

Bu çalışmada sitotoksisite testleri hem L929 hem de tSPTH üstünde yapılmıştır (Thonemann ve Schmalz 2000). L929 hücrelerine SonicFill ve Filtek Bulk Fill kompozit rezinleri sitotoksik etki gösterirken, tSPTH'ne tüm kompozit

rezin grupları sitotoksik etki göstermiştir. tSPTH, L929 hücrelerine göre daha duyarlı cevap göstermiştir.

Bulk fill kompozit rezinler 4-5 mm derinliğinde kaviterin restorasyonunda kullanılan materyallerdir. Bu nedenle bu materyalin, dentin kalınlığının azaldığı kaviterlerde pulpa dokusu ve arayüz/kole bölgelerindeyse gingival dokularla yakın ilişki içindedir. Ağız ortamında *bulk fill* kompozit rezinlerin pulpa üzerine etkilerini belirleyebilmek güvenilirliği pek çok çalışmayla kanıtlanmış olan sıgır pulpa hücreleri (tSPTH) ve diş eti hücrelerine zararını belirleyebilmek için fare fibroblast hücreleri (L929) tercih edilmiştir. Bir materyalin sitotoksitesisi değerlendirileceğinde hedef hücreler üzerinde materyalin uygulanması kliniğe daha yakın sonuç verebilir.

Test prosedürleri, maruz bırakma şartları, biyolojik sürecin işlenmesi veya kullanılan hücre dizileri dental materyallerin sitotoksitesisinin belirlenmesini etkileyen faktörlerdir (Hanks ve ark 1981, HENSTEN-PETTERSEN ve HELGELAN 1981, Wataha ve ark 1994, Schweikl ve Schmalz 1996, Schmalz ve ark 1997, Geurtsen ve ark 1998). *In vitro* testlerde arada bariyer olmadan materyal hücre sistemiyle temasta olduğunda direkt, arada bir çeşit bariyer varsa indirekt kontakt sağlanmış olur. Direkt kontakt, materyalin veya ekstraktının hücrelerle temasta olması şeklinde ikiye ayrılır (Sakaguchi ve Powers 2012). Materyal ekstraktlarının kullanılarak test yapılması farklı dilüsyonlar yapılabilmesi, doz-cevap ilişkisinden yola çıkarak hücreler üstünde etkili konantrasyonun belirlenebilmesi gibi avantajlar sağlar (Keiser ve ark 2000).

Materyalin hücrelerle temasta olan yüzey alanının klinik koşullara yaklaşması gerekmektedir. Aynı şekilde materyalin yüzey alanı ve kültür ortamının hacmi de klinik koşullara yakın, hedef dokulara uygun olmalıdır (ISO 1999). Dental materyallerin biyouyumluluğu değerlendirilirken sonuçları karşılaştırabilmek için standardizasyon yapılmasının önemli olduğu belirtilmiştir (Schmalz 1994, Schmalz ve ark 1996). Çalışmamızda kullanılan *in vitro* ekstraksiyon testleri ISO 7405:1997 ve ISO 10993:5-1999 maddelerine göre standardize edilerek kullanılmıştır. Çalışmamızda materyaller teflon diskler içinde hazırlandıktan sonra 24 saat boyunca uygun kültür ortamında bekletilmiştir. Daha sonra elde edilen ekstraktlar kültür ortamı ile seyreltilmiş ve 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32'lik konantrasyonlar hazırlanarak hücreler üzerine uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre materyalin farklı

konsantrasyonlarının farklı etkileri olduğu gözlenmiştir. Sonic Fill ve Filtek Bulk Fill materyalinin 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 konsantrasyonları L929 hücreleri üzerine toksikken, Tetric EvoCeram Bulk Fill ve everX Posterior gruplarının hiçbir konsantrasyonunda toksisite görülmemiştir. Tetric EvoCeram Bulk Fill materyalinin 1:1, 1:2, 1:4, 1:16, 1:32, Filtek Bulk Fill materyalinin 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 konsantrasyonları tSPTH üzerine toksikken, Sonic Fill ve everX Posterior gruplarının yalnızca 1:1 konsantrasyonlarının toksik olduğu görülmüştür.

XTT gibi hücre canlılığını belirlemek için kullanılan tetrazolyum-esaslı kolometrik testlerin dental materyallerin sitotoksitesini karşılaştırmak için *in vitro* tarama aracı olarak kullanışlı olduğu belirtilmiştir (Bean ve ark 1995). Dental materyallerin sitotoksitesini değerlendirmede kullanılan MTT hücrelerin mitokondriyal dehidrojenaz aktivitesini ölçerek işlev görür (Keiser ve ark 2000). MTT prosedürü kolaylık, doğruluk, güvenilirlik ve zaman tasarrufu sağlamak gibi avantajlara sahiptir. MTT metodunun küçük kültür hacimlerinde hücre yoğunluğunu belirlemek kullanışlı olduğu kanıtlanmıştır. MTT ile küçük kültür hacimlerinde kültür yapılabilmesi, hassas ölçüm sağlaması sitotoksitesinin belirlenebilmesi için farklı maddelerin değerlendirilebilmesine ve test edilmesine olanak sağlar (Malkoc ve ark 2010). Bu çalışmada MTT ve XTT metodları farklı hücreler üzerinde kullanılmış ve test sonuçları birbirinden farklı çıkmıştır.

Canlı/Ölü Hücre ikili boyama kiti canlı ve ölü hücreleri eşzamanlı floresan boyamasında kullanılır. Kit hücreleri sırasıyla canlılığına göre boyayan kalsein-AM ve promidyum iodid çözeltilerini içerir. Kalsein-AM (kalsein asetoksimetil esteri) yüksek derecede lipofiliktir ve hücre zarından geçebilir. Kalsein-AM'in kendisi floresan bir molekül değildir, canlı hücrelerde kalsein-AM'nin esterazla parçalaması sonucu açığa çıkan kalsein güçlü yeşil floresan ışık yayar (λ_{ex} 490 nm, λ_{em} 515 nm). Bu yüzden kalsein-AM yalnızca canlı hücreleri boyar. Ölü hücrelerin bozulmuş alanlarından geçerek çekirdeklerine ulaşır boyayan promidyum iyodid ise canlı hücrelerin membranından geçemez. DNA'nın çift bağlı yapısının içine sızarak kırmızı floresan yayılmasına yol açar (λ_{ex} 535 nm, λ_{em} 617 nm). 490 nm ölçüm floresan mikroskop altında yapılarak canlı ve ölü hücreler görüntülenir (Sigma Aldrich Live/Dead Cell Staining Kit Product File, 2017).

Bu çalışmada Canlı/Ölü Hücre boyama kiti, MTT ve XTT analizlerini görsel verilerle desteklemek için uygulanmıştır. Materyallerin sadece orijinal konsantrasyonları değerlendirilmiştir. L929 hücreleri üzerinde MTT deneyinde toksik etkiler gösteren SonicFill ve Filtek Bulk Fill gruplarında, Canlı/Ölü hücre boyama kitiyle boyandığında diğer gruplara göre daha çok kırmızı boyanan ölü hücre gözlenmiştir. Bu iki deney birbirini desteklemektedir.

Bu çalışmada ekstraksiyon testi yapılmıştır. *In vitro* testlerin sonuçlarıyla klinik deneylerin sonuçları farklı çıkabilmektedir. Bu durum literatürde çinko oksit öjenol materyaliyle gösterilmiştir. Schmalz ve ark (Schmalz 1994) yaptıkları çalışmada çinko oksit ojenol siman materyalinin ekstraksiyon testleri sonucunda güçlü toksik reaksiyonlar gösterdiği ancak bunun hayvanlar üzerinde yapılan pulpa çalışmalarıyla çelişkili olduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra Schmalz ve ark (Schmalz ve ark 1999) üç boyutlu hücre kültürleri üzerinde aynı materyali denemişler ve toksik reaksiyon oluşmadığını, bulguların *in vivo* verilerle paralel olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda da elde edilen veriler sadece *in vitro* ekstraksiyon testine dayanılarak verilmiştir. *Bulk fill* kompozit rezinlerin sitotoksitesisi *in vitro* üç boyutlu hücre kültürü testleri ve klinik çalışmalarla desteklenmelidir. Bu konuda daha çok çalışma yapılmalıdır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tetric EvoCeram Bulk Fill, SonicFill, everX Posterior ve Filtek Bulk Fill kompozit rezinlerinin sitotoksik etkileri üç aşamada değerlendirildiği bu *in vitro* araştırmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- *Bulk fill* kompozit rezinler L929 fare fibroblast monolayer kültürlerinde MTT metoduyla değerlendirildiğinde, SonicFill ve Filtek Bulk Fill kompozit rezin gruplarının ve tSPTH monolayer kültürlerinde XTT metoduyla değerlendirildiğinde, tüm *bulk fill* kompozit rezin gruplarının sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. tSPTH, L929 hücrelerine göre daha duyarlı cevap göstermiştir.

- L929 fare fibroblastı üzerinde Canlı/Ölü Hücre boyama metoduyla materyallerin sadece orijinal konsantrasyonlarının hücre canlılığı değerlendirildiğinde; SonicFill ve Filtek Bulk Fill gruplarının orijinal ekstraktlarına maruz kalarak kırmızıya boyanan ölü hücreler en çok bu iki grupta görülmüştür. Canlılığın göstergesi olarak diğer hücrelerin yeşile boyandığı görülmüştür.

- Filtek Bulk Fill kompozit rezin grubunun her iki hücre üzerinde de sitotoksik etkisi görülürken, aynı zamanda her iki hücrede en düşük hücre canlılığı da bu grupta görülmüştür.

Bu çalışmada veriler *in vitro* ekstraksiyon testi yapılarak elde edilmiştir. *Bulk fill* kompozit rezinlerin sitotoksik değerlendirmesinin tam anlamıyla yapılabilmesi için bu çalışmanın, 3 boyutlu hücre kültürü testleri ve klinik çalışmalarla da desteklenmesi gerekir.

7. KAYNAKLAR

- About I, Camps J, Mitsiadis TA, Bottero MJ, Butler W, Franquin JC, 2002. Influence of resinous monomers on the differentiation *in vitro* of human pulp cells into odontoblasts. *Journal of biomedical materials research*, 63, 4, 418-23.
- Al-Ahdal K, Ilie N, Silikas N, Watts DC, 2015. Polymerization kinetics and impact of post polymerization on the Degree of Conversion of bulk-fill resin-composite at clinically relevant depth. *Dental Materials*, 31, 10, 1207-13.
- Albers HF, 2002. Tooth-colored restoratives: principles and techniques, PMPH-USA, p.
- Alrahlah A, Silikas N, Watts D, 2014. Hygroscopic expansion kinetics of dental resin-composites. *Dental Materials*, 30, 2, 143-8.
- Alshali RZ, Salim NA, Satterthwaite JD, Silikas N, 2015. Long-term sorption and solubility of bulk-fill and conventional resin-composites in water and artificial saliva. *Journal of dentistry*, 43, 12, 1511-8.
- Alshali RZ, Silikas N, Satterthwaite JD, 2013. Degree of conversion of bulk-fill compared to conventional resin-composites at two time intervals. *Dental Materials*, 29, 9, e213-e7.
- Anagnostou M, Chatziagianni E, Doucoudakis S, Potamianou A, Tesseromatis C, 2009. Biocompatibility of resin composites subcutaneously implanted in rats with experimentally induced arthritis. *dental materials*, 25, 7, 863-7.
- Andrews P, Tencate A, Davies J, 1993. MINERALIZED MATRIX SYNTHESIS BY ISOLATED MOUSE ODONTOBLAST-LIKE CELLS-INVITRO. *Cells and Materials*, 3, 1, 67-82.
- Annunziata M, Aversa R, Apicella A, Annunziata A, Apicella D, Buonaiuto C, Guida L, 2006. *In vitro* biological response to a light-cured composite when used for cementation of composite inlays. *dental materials*, 22, 12, 1081-5.
- Asmussen E, Peutzfeld A, 2001. Influence of pulse-delay curing on softening of polymer structures. *Journal of Dental Research*, 80, 6, 1570-3.
- Autian J, 1974. General toxicity and screening tests for dental materials. *International dental journal*, 24, 2, 235-50.
- Baharav H, Brosh T, Pilo R, Cardash H, 1997. Effect of irradiation time on tensile properties of stiffness and strength of composites. *The Journal of prosthetic dentistry*, 77, 5, 471-4.
- Banerjee A, Pickard HM, Watson TF, 2011. *Pickard's manual of operative dentistry*, Oxford university press, p.
- Baum L, Phillips RW, Lund MR, 1985. *Textbook of operative dentistry*, WB Saunders Company, p.
- Bayne SC, Thompson JY, Roberson T, Heymann H, Ritter A, 2006. *Sturdevant's art and science of operative dentistry*. United States of America, Mosby, 203-11.
- Bean TA, Zhuang WC, Tong PY, Eick JD, Chappelow CC, Yourtee DM, 1995. Comparison of tetrazolium colorimetric and 51 Cr release assays for cytotoxicity determination of dental biomaterials. *Dental Materials*, 11, 5, 327-31.
- Becher R, Kopperud HM, Al RH, Samuelsen JT, Morisbak E, Dahlman HJ, Lilleaas EM, Dahl JE, 2006. Pattern of cell death after *in vitro* exposure to GDMA, TEGDMA, HEMA and two compomer extracts. *Dental Materials*, 22, 7, 630-40.
- Benetti AR, Asmussen E, Munksgaard EC, Dewaele M, Peutzfeldt A, Leloup G, Devaux J, 2009. Softening and elution of monomers in ethanol. *dental materials*, 25, 8, 1007-13.
- Bouillaguet S, 2004. Biological risks of resin-based materials to the dentin-pulp complex. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 15, 1, 47-60.
- Bouillaguet S, Wataha JC, Hanks CT, Ciucchi B, Holz J, 1996. *In vitro* cytotoxicity and dentin permeability of HEMA. *Journal of endodontics*, 22, 5, 244-8.

- Bouschlicher M, Rueggeberg F, Wilson B, 2004. Correlation of bottom-to-top surface microhardness and conversion ratios for a variety of resin composite compositions. *Oper Dent*, 29, 6, 698-704.
- Bowen RL, Marjenhoff WA, 1992. Dental composites/glass ionomers: the materials. *Advances in dental research*, 6, 1, 44-9.
- Braden M, Pearson G, 1981. Analysis of aqueous extract from filled resins. *Journal of dentistry*, 9, 2, 141-3.
- Campodonico CE, Tantbirojn D, Olin PS, Versluis A, 2011. Cuspal deflection and depth of cure in resin-based composite restorations filled by using bulk, incremental and transtooth-illumination techniques. *The Journal of the American Dental Association*, 142, 10, 1176-82.
- Cao T, Saw TY, Heng BC, Liu H, Yap AUJ, Ng ML, 2005. Comparison of different test models for the assessment of cytotoxicity of composite resins. *Journal of Applied Toxicology*, 25, 2, 101-8.
- Cara R, Fleming G, Palin W, Walmsley A, Burke F, 2007. Cuspal deflection and microleakage in premolar teeth restored with resin-based composites with and without an intermediary flowable layer. *Journal of dentistry*, 35, 6, 482-9.
- Caughman WF, Caughman GB, Shiflett RA, Rueggeberg F, Schuster GS, 1991. Correlation of cytotoxicity, filler loading and curing time of dental composites. *Biomaterials*, 12, 8, 737-40.
- Cebe MA, Cebes F, Cengiz MF, Cetin AR, Arpag OF, Ozturk B, 2015. Elution of monomer from different bulk fill dental composite resins. *Dental Materials*, 31, 7, e141-e9.
- Chang H-H, Chang M-C, Wang H-H, Huang G-F, Lee Y-L, Wang Y-L, Chan C-P, Yeung S-Y, Tseng S-K, Jeng J-H, 2014. Urethane dimethacrylate induces cytotoxicity and regulates cyclooxygenase-2, hemeoxygenase and carboxylesterase expression in human dental pulp cells. *Acta biomaterialia*, 10, 2, 722-31.
- Chaves LP, Graciano FMO, Júnior OB, do Vale Pedreira APR, Manso AP, Wang L, 2013. Water interaction with dental luting cements by means of sorption and solubility. *Brazilian Dental Science*, 15, 4, 29-35.
- Craig RG, 1981. Chemistry, composition, and properties of composite resins. *Dental Clinics of North America*, 25, 2, 219.
- Dayangaç B, 2000. Kompozit rezin restorasyonlar, Güneş Kitabevi, p.
- Dickens SH, Stansbury J, Choi K, Floyd C, 2003. Photopolymerization kinetics of methacrylate dental resins. *Macromolecules*, 36, 16, 6043-53.
- Durner J, Kreppel H, Zaspel J, Schweikl H, Hickel R, Reichl FX, 2009. The toxicokinetics and distribution of 2-hydroxyethyl methacrylate in mice. *Biomaterials*, 30, 11, 2066-71.
- Durner J, Spahl W, Zaspel J, Schweikl H, Hickel R, Reichl F-X, 2010. Eluted substances from unpolymerized and polymerized dental restorative materials and their Nernst partition coefficient. *Dental Materials*, 26, 1, 91-9.
- El-Damanhoury H, Platt J, 2014. Polymerization shrinkage stress kinetics and related properties of bulk-fill resin composites. *Operative dentistry*, 39, 4, 374-82.
- El-Helali R, Dowling AH, McGinley EL, Duncan HF, Fleming GJ, 2013. Influence of resin-based composite restoration technique and endodontic access on cuspal deflection and cervical microleakage scores. *Journal of dentistry*, 41, 3, 216-22.
- Ferracane J, 1994. Elution of leachable components from composites. *Journal of oral rehabilitation*, 21, 4, 441-52.
- Ferracane J, Berge H, Condon J, 1998. In vitro aging of dental composites in water—effect of degree of conversion, filler volume, and filler/matrix coupling. *Journal of biomedical materials research*, 42, 3, 465-72.
- Ferracane J, Condon J, 1990. Rate of elution of leachable components from composite. *Dental Materials*, 6, 4, 282-7.
- Ferracane J, Condon J, 1992. Post-cure heat treatments for composites: properties and fractography. *Dental Materials*, 8, 5, 290-5.

- Ferracane J, Greener E, 1986. The effect of resin formulation on the degree of conversion and mechanical properties of dental restorative resins. *Journal of biomedical materials research*, 20, 1, 121-31.
- Ferracane JL, 1985. Correlation between hardness and degree of conversion during the setting reaction of unfilled dental restorative resins. *Dental Materials*, 1, 1, 11-4.
- Ferracane JL, 1995. Current trends in dental composites. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 6, 4, 302-18.
- Ferracane JL, 2001. *Materials in dentistry: principles and applications*, Lippincott Williams & Wilkins, p.
- Ferracane JL, 2006. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dental Materials*, 22, 3, 211-22.
- Ferracane JL, 2011. Resin composite—state of the art. *Dental materials*, 27, 1, 29-38.
- Fleming G, Khan S, Afzal O, Palin W, Burke F, 2007. Investigation of polymerisation shrinkage strain, associated cuspal movement and microleakage of MOD cavities restored incrementally with resin-based composite using an LED light curing unit. *Journal of Dentistry*, 35, 2, 97-103.
- Forsten L, 1998. Fluoride release and uptake by glass-ionomers and related materials and its clinical effect. *Biomaterials*, 19, 6, 503-8.
- Franz A, König F, Lucas T, Watts DC, Schedle A, 2009. Cytotoxic effects of dental bonding substances as a function of degree of conversion. *Dental materials*, 25, 2, 232-9.
- García AH, Lozano MAM, Vila JC, Escribano AB, Galve PF, 2006. Composite resins. A review of the materials and clinical indications. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 11, 2, E215-20.
- Geurtsen W, 1998. Substances released from dental resin composites and glass ionomer cements. *European journal of oral sciences*, 106, 2p2, 687-95.
- Geurtsen W, 2000. Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 11, 3, 333-55.
- Geurtsen W, Lehmann F, Spahl W, Leyhausen G, 1998. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. *Journal of biomedical materials research*, 41, 3, 474-80.
- Geurtsen W, Spahl W, Leyhausen G, 1998. Residual monomer/additive release and variability in cytotoxicity of light-curing glass-ionomer cements and compomers. *Journal of dental research*, 77, 12, 2012-9.
- Geurtsen W, Spahl W, Leyhausen G, 1999. Variability of cytotoxicity and leaching of substances from four light-curing pit and fissure sealants. *Journal of biomedical materials research*, 44, 1, 73-7.
- Geurtsen W, Spahl W, Müller K, Leyhausen G, 1999. Aqueous extracts from dentin adhesives contain cytotoxic chemicals. *Journal of biomedical materials research*, 48, 6, 772-7.
- Gladwin M, Bagby M, 2009. *Clinical aspects of dental materials: theory, practice, and cases*, Wolters Kluwer business, p.
- Goldstein RE, 2014. *Esthetics in dentistry*, PMPH-USA, p.
- Goracci C, Cadenaro M, Fontanive L, Giangrosso G, Juloski J, Vichi A, Ferrari M, 2014. Polymerization efficiency and flexural strength of low-stress restorative composites. *Dental materials*, 30, 6, 688-94.
- Göhring T, Besek M, Schmidlin P, 2002. Attritional wear and abrasive surface alterations of composite resin materials in vitro. *Journal of dentistry*, 30, 2, 119-27.
- Göpferich A, 1996. Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomaterials*, 17, 2, 103-14.
- Hamid A, Okamoto A, Iwaku M, Hume W, 1998. Component release from light-activated glass ionomer and compomer cements. *Journal of oral rehabilitation*, 25, 2, 94-9.

- Hanks C, Craig R, Diehl M, Pashley DH, 1988. Cytotoxicity of dental composites and other materials in a new in vitro device. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 17, 8, 396-403.
- Hanks C, Strawn S, Watahai J, Craig R, 1991. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *Journal of dental research*, 70, 11, 1450-5.
- Hanks C, Sun Z, Fang D, Edwards C, Wataha J, Ritchie H, Butler W, 1998. Cloned 3T6 cell line from CD-1 mouse fetal molar dental papillae. *Connective tissue research*, 37, 3-4, 233-49.
- Hanks CT, Anderson M, Craig RG, 1981. Cytotoxic effects of dental cements on two cell culture systems. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 10, 2, 101-12.
- Hayflick L, Moorhead PS, 1961. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Experimental cell research*, 25, 3, 585-621.
- Heil J, Reifferscheid G, Waldmann P, Leyhausen G, Geurtsen W, 1996. Genotoxicity of dental materials. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 368, 3-4, 181-94.
- Hensten-Pettersen A, 1988. Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. *International endodontic journal*, 21, 2, 89-99.
- HENSTEN-PETTERSEN A, HELGELAN K, 1981. Sensitivity of different human cell lines in the biologic evaluation of dental resin-based restorative materials. *European Journal of Oral Sciences*, 89, 1, 102-7.
- Heymann HO, Swift Jr EJ, Ritter AV, 2014. *Sturdevant's art & science of operative dentistry*, Elsevier Health Sciences, p.
- Hofmann N, Renner J, Hugo B, Klaiber B, 2002. Elution of leachable components from resin composites after plasma arc vs. standard or soft-start halogen light irradiation. *Journal of dentistry*, 30, 5, 223-32.
- Hume W, Gerzina T, 1996. Bioavailability of components of resin-based materials which are applied to teeth. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 7, 2, 172-9.
- Ilie N, Bucuta S, Draenert M, 2013. Bulk-fill resin-based composites: an in vitro assessment of their mechanical performance. *Operative Dentistry*, 38, 6, 618-25.
- Ilie N, Hickel R, 2009. Investigations on mechanical behaviour of dental composites. *Clinical oral investigations*, 13, 4, 427.
- Ilie N, Hickel R, 2011. Investigations on a methacrylate-based flowable composite based on the SDR™ technology. *Dental Materials*, 27, 4, 348-55.
- Imazato S, 2003. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. *Dental Materials*, 19, 6, 449-57.
- Imazato S, McCabe J, Tarumi H, Ehara A, Ebisu S, 2001. Degree of conversion of composites measured by DTA and FTIR. *Dental Materials*, 17, 2, 178-83.
- Inoue K, Hayashi I, 1982. Residual monomer (Bis-GMA) of composite resins. *Journal of oral rehabilitation*, 9, 6, 493-7.
- ISO B, 1999. 10993-5: Biological evaluation of medical devices. Tests for in vitro cytotoxicity.
- Issa Y, Watts D, Brunton P, Waters C, Duxbury A, 2004. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dental Materials*, 20, 1, 12-20.
- Itota T, Carrick TE, Yoshiyama M, McCabe JF, 2004. Fluoride release and recharge in giomer, compomer and resin composite. *Dental Materials*, 20, 9, 789-95.
- Jin X, Bertrand S, Hammesfahr P, 2009. New radically polymerizable resins with remarkably low curing stress. *J Dent Res*, 88, Spec Iss A, 1651.
- Jonke E, Franz A, Freudenthaler J, König F, Bantleon H-P, Schedle A, 2008. Cytotoxicity and shear bond strength of four orthodontic adhesive systems. *The European Journal of Orthodontics*, 30, 5, 495-502.
- Kalachandra S, Turner D, 1987. Water sorption of polymethacrylate networks: Bis-GMA/TEGDM copolymers. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 21, 3, 329-38.
- Keiser K, Johnson CC, Tipton DA, 2000. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *Journal of Endodontics*, 26, 5, 288-91.

- Kim K-H, Ong JL, Okuno O, 2002. The effect of filler loading and morphology on the mechanical properties of contemporary composites. *The Journal of prosthetic dentistry*, 87, 6, 642-9.
- Knežević A, Tarle Z, Meniga A, Šutalo J, Pichler G, Ristić M, 2001. Degree of conversion and temperature rise during polymerization of composite resin samples with blue diodes. *Journal of Oral Rehabilitation*, 28, 6, 586-91.
- Knobloch LA, Kerby RE, Seghi R, van Putten M, 1999. Two-body wear resistance and degree of conversion of laboratory-processed composite materials. *International Journal of Prosthodontics*, 12, 5.
- Koch A, Kroeger M, Hartung M, Manetsberger I, Hiller K-A, Schmalz G, Friedl K-H, 2007. Influence of ceramic translucency on curing efficacy of different light-curing units. *Journal of Adhesive Dentistry*, 9, 5.
- Krifka S, Hiller K-A, Spagnuolo G, Jewett A, Schmalz G, Schweikl H, 2012. The influence of glutathione on redox regulation by antioxidant proteins and apoptosis in macrophages exposed to 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA). *Biomaterials*, 33, 21, 5177-86.
- Lassila LV, Nagas E, Vallittu PK, Garoushi S, 2012. Translucency of flowable bulk-filling composites of various thicknesses. *Chinese Journal of Dental Research*, 15, 1, 31.
- Lee S-Y, Huang H-M, Lin C, Shih Y-H, 1998. Leached components from dental composites in oral simulating fluids and the resultant composite strengths. *Journal of Oral Rehabilitation*, 25, 575-88.
- Lemons JE, 1990. Dental implant biomaterials. *The Journal of the American Dental Association*, 121, 6, 716-9.
- Leprince J, Palin W, Mullier T, Devaux J, Vreven J, Leloup G, 2010. Investigating filler morphology and mechanical properties of new low-shrinkage resin composite types. *Journal of oral rehabilitation*, 37, 5, 364-76.
- Lygre H, Høl PJ, Solheim E, Moe G, 1999. Organic leachables from polymer-based dental filling materials. *European journal of oral sciences*, 107, 5, 378-83.
- Lynch CD, Wilson NH, Blum IR, 2008. Successful posterior composites, Quintessence, p.
- MacDougall M. Odontoblast cytodifferentiation in monolayer cell cultures: establishment of immortalized odontoblast cell lines. *Dentin/Pulp Complex Proceedings of the International Conference on Dentin/Pulp Complex 1995 and the International Meeting on Clinical Topics of Dentin/Pulp Complex*. Tokyo, Quintessence Publishing Co, 116-23.
- MacDougall M, Selden J, Nydegger J, Carnes D, 1998. Immortalized mouse odontoblast cell line MO6-G3 application for in vitro biocompatibility testing. *American journal of dentistry*, 11, S11-6.
- MacDougall M, Thiemann F, Ta H, Hsu P, Chen LS, Snead ML, 1995. Temperature sensitive simian virus 40 large T antigen immortalization of murine odontoblast cell cultures: establishment of clonal odontoblast cell line. *Connective tissue research*, 33, 1-3, 97-103.
- Malkoc S, Corekci B, Ulker HE, Yalçin M, Sengün A, 2010. Cytotoxic effects of orthodontic composites. *The Angle orthodontist*, 80, 4, 759-64.
- Manhart J, Chen H-Y, Hickel R, 2010. Clinical evaluation of the posterior composite Quixfil in class I and II cavities: 4-year follow-up of a randomized controlled trial. *Journal of Adhesive Dentistry*, 12, 3.
- Mazzaoui S, Burrow M, Tyas M, Rooney F, Capon R, 2002. Long-term quantification of the release of monomers from dental resin composites and a resin-modified glass ionomer cement. *Journal of biomedical materials research*, 63, 3, 299-305.
- McCabe JF, Walls AW, 2013. *Applied dental materials*, John Wiley & Sons, p.
- Michelsen VB, Lygre H, Skålevik R, Tveit AB, Solheim E, 2003. Identification of organic eluates from four polymer-based dental filling materials. *European journal of oral sciences*, 111, 3, 263-71.

- Michelsen VB, Moe G, Strøm MB, Jensen E, Lygre H, 2008. Quantitative analysis of TEGDMA and HEMA eluted into saliva from two dental composites by use of GC/MS and tailor-made internal standards. *dental materials*, 24, 6, 724-31.
- Mitchell C, 2008. *Dental materials in operative dentistry*.
- Moharamzadeh K, Van Noort R, Brook IM, Scutt AM, 2007. Cytotoxicity of resin monomers on human gingival fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *dental materials*, 23, 1, 40-4.
- Moon HJ, Lee YK, Lim BS, Kim CW, 2004. Effects of various light curing methods on the leachability of uncured substances and hardness of a composite resin. *Journal of Oral Rehabilitation*, 31, 3, 258-64.
- Moorthy A, Hogg C, Dowling A, Grufferty B, Benetti AR, Fleming G, 2012. Cuspal deflection and microleakage in premolar teeth restored with bulk-fill flowable resin-based composite base materials. *Journal of Dentistry*, 40, 6, 500-5.
- Moszner N, Fischer UK, Ganster B, Liska R, Rheinberger V, 2008. Benzoyl germanium derivatives as novel visible light photoinitiators for dental materials. *Dental Materials*, 24, 7, 901-7.
- Munksgaard EC, Peutzfeldt A, Asmussen E, 2000. Elution of TEGDMA and BisGMA from a resin and a resin composite cured with halogen or plasma light. *European journal of oral sciences*, 108, 4, 341-5.
- Murchison DF, Roeters J, Vargas MA, Chan D, 2006. Direct anterior restorations. *Fundamentals of Operative Dentistry: A Contemporary Approach*. 3rd ed. Chicago: Quintessence, 274-9.
- Müller H, Olsson S, Söderholm KJ, 1997. The effect of comonomer composition, silane heating, and filler type on aqueous TEGDMA leachability in model resin composites. *European journal of oral sciences*, 105, 4, 362-5.
- Nicholson JW, 2002. *The chemistry of medical and dental materials*, Royal Society of Chemistry, p.
- Noda M, Wataha J, Kaga M, Lockwood P, Volkmann K, Sano H, 2002. Components of dentinal adhesives modulate heat shock protein 72 expression in heat-stressed THP-1 human monocytes at sublethal concentrations. *Journal of dental research*, 81, 4, 265-9.
- O'Brien WJ, *Dental materials and their selection*, 2002. Quintessence.
- Øysæd H, Ruyter I, 1986. Water sorption and filler characteristics of composites for use in posterior teeth. *Journal of Dental Research*, 65, 11, 1315-8.
- Örtengren U, Langer S, Göransson A, Lundgren T, 2004. Influence of pH and time on organic substance release from a model dental composite: a fluorescence spectrophotometry and gas chromatography/mass spectrometry analysis. *European journal of oral sciences*, 112, 6, 530-7.
- Pelka M, Distler W, Petschelt A, 1999. Elution parameters and HPLC-detection of single components from resin composite. *Clinical oral investigations*, 3, 4, 194-200.
- Peumans M, Van Meerbeek B, Lambrechts P, Vanherle G, Quirynen M, 1998. The influence of direct composite additions for the correction of tooth form and/or position on periodontal health. A retrospective study. *Journal of periodontology*, 69, 4, 422-7.
- Peutzfeldt A, 1997. Resin composites in dentistry: the monomer systems. *European journal of oral sciences*, 105, 2, 97-116.
- Peutzfeldt A, Asmussen E, 2000. The effect of postcuring on quantity of remaining double bonds, mechanical properties, and in vitro wear of two resin composites. *Journal of dentistry*, 28, 6, 447-52.
- Pianelli C, Devaux J, Bebelman S, Leloup G, 1999. The micro-Raman spectroscopy, a useful tool to determine the degree of conversion of light-activated composite resins. *Journal of biomedical materials research*, 48, 5, 675-81.
- Polydorou O, Hammad M, König A, Hellwig E, Kümmerer K, 2009. Release of monomers from different core build-up materials. *dental materials*, 25, 9, 1090-5.
- Powers J, Wataha J, 2008. *Dental materials: properties and manipulation* Mosby Elsevier. United States of America.

- Ratanasathien S, Wataha JC, Hanks C, Dennison J, 1995. Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. *Journal of Dental Research*, 74, 9, 1602-6.
- Reichl F-X, Seiss M, Marquardt W, Kleinsasser N, Schweikl H, Kehe K, Hickel R, 2008. Toxicity potentiation by H₂O₂ with components of dental restorative materials on human oral cells. *Archives of toxicology*, 82, 1, 21-8.
- Roggendorf MJ, Krämer N, Appelt A, Naumann M, Frankenberger R, 2011. Marginal quality of flowable 4-mm base vs. conventionally layered resin composite. *Journal of Dentistry*, 39, 10, 643-7.
- Rueggeberg F, Craig R, 1988. Correlation of parameters used to estimate monomer conversion in a light-cured composite. *Journal of Dental Research*, 67, 6, 932-7.
- Rüttermann S, Krüger S, Raab WH-M, Janda R, 2007. Polymerization shrinkage and hygroscopic expansion of contemporary posterior resin-based filling materials—a comparative study. *Journal of dentistry*, 35, 10, 806-13.
- Rv N, 2002. Introduction to dental materials. Edinburgh: Mosby.
- Sakaguchi R, Douglas W, Peters M, 1992. Curing light performance and polymerization of composite restorative materials. *Journal of Dentistry*, 20, 3, 183-8.
- Sakaguchi RL, Berge HX, 1998. Reduced light energy density decreases post-gel contraction while maintaining degree of conversion in composites. *Journal of dentistry*, 26, 8, 695-700.
- Sakaguchi RL, Powers JM, 2012. Craig's restorative dental materials, Elsevier Health Sciences, p.
- Santerre J, Shajii L, Leung B, 2001. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 12, 2, 136-51.
- Sarrett DC, 2005. Clinical challenges and the relevance of materials testing for posterior composite restorations. *Dental Materials*, 21, 1, 9-20.
- Schedle A, Örtengren U, Eidler N, Gabauer M, Hensten A, 2007. Do adverse effects of dental materials exist? What are the consequences, and how can they be diagnosed and treated? *Clinical oral implants research*, 18, s3, 232-56.
- Schmalz G, 1988. Agar overlay method. *International endodontic journal*, 21, 2, 59-66.
- Schmalz G, 1994. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials—advantages and limitations. *Journal of Dentistry*, 22, S6-S11.
- Schmalz G, Arenholt-Bindslev D, 2009. Biocompatibility of dental materials, Springer, p.
- Schmalz G, Bindslev DA, Pfüller S, Schweikl H, 1997. Cytotoxicity of metal cations used in dental cast alloys. *Alternatives To Laboratory Animals*.
- Schmalz G, Garhammer P, Schweiki H, 1996. A commercially available cell culture device modified for dentin barrier tests. *Journal of endodontics*, 22, 5, 249-52.
- Schmalz G, Schuster U, Nuetzel K, Schweikl H, 1999. An in vitro pulp chamber with three-dimensional cell cultures. *Journal of endodontics*, 25, 1, 24-9.
- Schweikl H, Hiller K-A, Bolay C, Kreissl M, Kreismann W, Nusser A, Steinhauser S, Wiczorek J, Vasold R, Schmalz G, 2005. Cytotoxic and mutagenic effects of dental composite materials. *Biomaterials*, 26, 14, 1713-9.
- Schweikl H, Schmalz G, 1996. Toxicity parameters for cytotoxicity testing of dental materials in two different mammalian cell lines. *European journal of oral sciences*, 104, 3, 292-9.
- Schweikl H, Schmalz G, Spruss T, 2001. The induction of micronuclei in vitro by unpolymerized resin monomers. *Journal of dental research*, 80, 7, 1615-20.
- Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G, 2006. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *Journal of dental research*, 85, 10, 870-7.
- Seitaro S, Kotake H, Scougall-Vilchis RJ, Ohashi S, Hotta M, Horiuchi S, Hamada K, Asaoka K, Tanaka E, Yamamoto K, 2010. Antibacterial activity of composite resin with glass-ionomer filler particles. *Dental materials journal*, 29, 2, 193-8.
- Shay JW, Pereira-Smith OM, Wright WE, 1991. A role for both RB and p53 in the regulation of human cellular senescence. *Experimental cell research*, 196, 1, 33-9.

- Shay JW, Wright WE, Werbin H, 1991. Defining the molecular mechanisms of human cell immortalization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1072, 1, 1-7.
- Sideridou ID, Achilias DS, 2005. Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 74, 1, 617-26.
- Sigma Aldrich Live/Dead Cell Staining Kit Product File, 2017. Erişim tarihi 10 Eylül 2017. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/04511?lang=en®ion=TR>
- Sigusch BW, Völpel A, Braun I, Uhl A, Jandt KD, 2007. Influence of different light curing units on the cytotoxicity of various dental composites. *Dental Materials*, 23, 11, 1342-8.
- Simanlar ÖB, 2004. Restoratif Diş Hekimliğinde Maddeler ve Uygulamaları, İzmir: Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Yayınları.
- Soh M, Yap A, Yu T, Shen Z, 2004. Analysis of the degree of conversion of LED and halogen lights using micro-Raman spectroscopy. *OPERATIVE DENTISTRY-UNIVERSITY OF WASHINGTON-*, 29, 571-7.
- Spahl W, Budzikiewicz H, Geurtsen W, 1998. Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of dentistry*, 26, 2, 137-45.
- Summitt JB, Robbins JW, Hilton TJ, Schwartz RS, 2006. Fundamentals of operative dentistry: a contemporary approach, Quintessence Pub., p.
- Tabatabaee MH, Mahdavi H, Zandi S, Kharrazi M, 2009. HPLC analysis of eluted monomers from two composite resins cured with LED and halogen curing lights. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 88, 1, 191-6.
- Tanaka K, Taira M, Shintani H, Wakasa K, Yamaki M, 1991. Residual monomers (TEGDMA and Bis-GMA) of a set visible-light-cured dental composite resin when immersed in water. *Journal of oral rehabilitation*, 18, 4, 353-62.
- Tarle Z, Meniga A, Knežević A, Šutalo J, Ristić M, Pichler G, 2002. Composite conversion and temperature rise using a conventional, plasma arc, and an experimental blue LED curing unit. *Journal of oral rehabilitation*, 29, 7, 662-7.
- Thonemann B, Schmalz G, 2000. Bovine dental papilla-derived cells immortalized with HPV 18 E6/E7. *European journal of oral sciences*, 108, 5, 432-41.
- Thonemann B, Schmalz G, 2000. Immortalization of bovine dental papilla cells with simian virus 40 large t antigen. *Archives of oral biology*, 45, 10, 857-69.
- Thonemann B, Schmalz G, Hiller K-A, Schweikl H, 2002. Responses of L929 mouse fibroblasts, primary and immortalized bovine dental papilla-derived cell lines to dental resin components. *Dental Materials*, 18, 4, 318-23.
- Tseng WY, Huang CH, Chen RS, Lee MS, Chen YJ, Rueggeberg FA, Chen MH, 2007. Monomer conversion and cytotoxicity of dental composites irradiated with different modes of photoactivated curing. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 83, 1, 85-90.
- Türkün 2015, Dünden Bugüne Kompozit Rezinler, Erişim tarihi, 4 Kasım 2016. Erişim adresi, <https://www.slideshare.net/sebnemturkun/kompozit-rezinler-gmag-51931136>).
- Um CM, Ruyter I, 1991. Staining of resin-based veneering materials with coffee and tea. *Quintessence international*, 22, 5.
- Van Ende A, De Munck J, Van Landuyt KL, Poitevin A, Peumans M, Van Meerbeek B, 2013. Bulk-filling of high C-factor posterior cavities: effect on adhesion to cavity-bottom dentin. *Dental materials*, 29, 3, 269-77.
- Van Noort R, Barbour ME, 2013. Introduction to Dental Materials4: Introduction to Dental Materials, Elsevier Health Sciences, p.
- Versluis A, Douglas W, Cross M, Sakaguchi R, 1996. Does an incremental filling technique reduce polymerization shrinkage stresses? *Journal of Dental Research*, 75, 3, 871-8.

- Wataha JC, 2001. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *The Journal of prosthetic dentistry*, 86, 2, 203-9.
- Wataha JC, Hanks CT, Sun Z, 1994. Effect of cell line on in vitro metal ion cytotoxicity. *Dental Materials*, 10, 3, 156-61.
- Watts DC, 2005. Reaction kinetics and mechanics in photo-polymerised networks. *Dental Materials*, 21, 1, 27-35.
- Wei Y-j, Silikas N, Zhang Z-t, Watts DC, 2011. Diffusion and concurrent solubility of self-adhering and new resin–matrix composites during water sorption/desorption cycles. *dental materials*, 27, 2, 197-205.
- Wikipedia, Composite Materials, Erişim tarihi,4 Kasım 2016. Erişim adresi, https://en.wikipedia.org/wiki/Composite_material
- Wu W, McKinney J, 1982. Influence of chemicals on wear of dental composites. *Journal of Dental Research*, 61, 10, 1180-3.
- Xu X, Burgess JO, 2003. Compressive strength, fluoride release and recharge of fluoride-releasing materials. *Biomaterials*, 24, 14, 2451-61.
- Yan Y, Kim Y, Kim K, Kwon T, 2010. Changes in degree of conversion and microhardness of dental resin cements. *Operative dentistry*, 35, 2, 203-10.
- Yap A, Han V, Soh M, Siow K, 2004. Elution of leachable components from composites after LED and halogen light irradiation. *OPERATIVE DENTISTRY-UNIVERSITY OF WASHINGTON*-. 29, 4, 448-53.
- Yap A, Tham S, Zhu L, Lee H, 2002. Short-term fluoride release from various aesthetic restorative materials. *Operative dentistry*, 27, 3, 259-65.
- Yiu C, King N, Pashley DH, Suh B, Carvalho R, Carrilho M, Tay F, 2004. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. *Biomaterials*, 25, 26, 5789-96.
- Yiu CK, King NM, Carrilho MR, Sauro S, Rueggeberg FA, Prati C, Carvalho RM, Pashley DH, Tay FR, 2006. Effect of resin hydrophilicity and temperature on water sorption of dental adhesive resins. *Biomaterials*, 27, 9, 1695-703.
- Yoon TH, Lee YK, Lim BS, Kim CW, 2002. Degree of polymerization of resin composites by different light sources. *Journal of oral rehabilitation*, 29, 12, 1165-73.
- Yoshii E, 1997. Cytotoxic effects of acrylates and methacrylates: relationships of monomer structures and cytotoxicity. *Journal of biomedical materials research*, 37, 4, 517-24.
- Zhou M, Drummond JL, Hanley L, 2005. Barium and strontium leaching from aged glass particle/resin matrix dental composites. *Dental Materials*, 21, 2, 145-55.
- Zimmerli B, Strub M, Jeger F, Stadler O, Lussi A, 2009. Composite materials: composition, properties and clinical applications. A literature review. *Schweizer Monatsschrift fur Zahnmedizin= Revue mensuelle suisse d'odonto-stomatologie= Rivista mensile svizzera di odontologia e stomatologia/SSO*, 120, 11, 972-86.

8. ÖZGEÇMİŞ

19. 02. 1989 yılında Trabzon'da doğdu. İlk öğrenimini Trabzon Cudibey İlköğretim Okulu'nda, orta öğrenimini Trabzon Yomra Fen Lisesi'nde tamamladı. 2007 yılında başladığı Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden 2013 yılında mezun oldu. 2014 Haziran ayında DUS ile kazandığı Selçuk Üniversitesi Restoratif Diş Tedavisi Ana Bilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.