



T. C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**FARKLI ÜNİVERSAL BOND SİSTEMLERİNİN ZAMANA BAĞLI  
SİTOTOKSİSİTELERİNİN XCELLIGENCE YÖNTEMİ İLE  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Sevim ATILAN YAVUZ

UZMANLIK TEZİ

RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

DANIŐMAN

Dr. Öğr. Üyesi Derya SÜRMELEOĞLU

Gaziantep


2020

T.C.  
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

**FARKLI ÜNİVERSAL BOND SİSTEMLERİNİN ZAMANA BAĞLI  
SİTOTOKSİSİTELERİNİN XCELLİGENCE YÖNTEMİ İLE  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

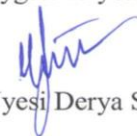
Sevim ATILAN YAVUZ

Tez Savunma Tarihi : 21.02.2020  
Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı Onayı

  
Prof. Dr. Kamile ERCİYAS  
Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı

Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığına;

Bu çalışmanın bir “Diş Hekimliğinde Uzmanlık” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

  
Dr. Öğr. Üyesi Derya Sürmelioglu  
Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Diş Hekimliğinde Uzmanlık” tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Dr. Öğr. Üyesi Derya Sürmelioglu  
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Diş Hekimliğinde Uzmanlık” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Esra CAN EROĞLU

Prof. Dr. İhsan HUBBEZOĞLU

Dr. Öğr. Üyesi Derya SÜRMEİİOĞLU

İmza



## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurullar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

21.02.2020

Sevim ATILAN YAVUZ

## TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimimde ve tezimin hazırlanmasında destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, hem bilgisini hem de tecrübelerini tüm içtenliğiyle paylaşan, fikirlerine önem verdiğim, kapısının bana daima açık olduğunu bildiğim canım hocam Dr. Öğr. Üyesi Derya SÜRMEİİOĞLU'na,

Tezimin laboratuvar aşamasında bana her türlü desteği veren, sabırla zaman ayıran, bilgisiyle çalışmamıza büyük katkısı olan Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğr. Üyesi Ceylan HEPOKUR'a,

Uzmanlık tez sunumuma büyük bir özveride bulunarak gelen ve beni onurlandıran çok değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Esra CAN EROĞLU'na ve Prof. Dr. İhsan HUBBEZOĞLU'na

Uzmanlık eğitimim boyunca hep yanımda olan, yardımcı olabilmek için elinden gelenin fazlasını yapan Dt. Zeyneb Merve ÖZDEMİR başta olmak üzere uzmanlık eğitimimi güzelleştiren Dt. Ezgi YENİÇERİ'ye, Dt. Halime KOLSUZ ÖZÇETİN'e, Dt. Ayşenur GÜNGÖR BORSÖKEN'e ve sonradan aramıza katılmış olmalarına rağmen iyi ki tanımışım dediğim Dt. Zeynep ÇİFÇİ'ye ve Dt. Mehmet DURDU'ya,

Hayatım boyunca hep arkamda olan, her konuda bana güvenen canım anneme, babama, ablama, Halil abime ve meslektaşım kardeşime,

Her zaman destek olan, varlığıyla bana güç veren sevgili eşim Barışcan YAVUZ'a sonsuz teşekkürü bir borç bilir, saygı ve sevgilerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

BEYAN .....	
TEŞEKKÜRLER.....	i
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	v
RESİMLER LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	ix
TABLolar LİSTESİ .....	x
ÖZET .....	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	3
2. GENEL BİLGİLER .....	5
2.1 Dişhekimliğinde Adezyon.....	5
2.2 Mine Dokusunun Adezyondaki Rolü.....	6
2.3 Dentinin Yapısal Özellikleri .....	7
2.3.1 Dentinin Histolojik Yapısı .....	7
2.3.2 Dentinin Kimyasal Yapısı.....	7
2.3.3 Dentinin Fiziksel Yapısı .....	7
2.3.4 Dentine Adezyonu Etkileyen Diğer Faktörler .....	8
2.3.4.1 Dentinin Nemli Yapısı.....	9
2.3.4.2 Smear Tabakası .....	9
2.3.4.3 Yüzey Pürüzlülüğü .....	10
2.3.4.4 Islanabilirlik ve Değme Açısı.....	10
2.3.4.5 Rezinlerin Polimerizasyon Büzülmesi .....	11
2.3.4.6 Hibrit Tabaka.....	11
2.3.5 Dentin Dokusunun Adezyondaki Rolü .....	12
2.3.5.1 Dentine Adezyonu Güçlendirmek İçin Yapılan Farklı Yüzey Uygulamaları .....	13
2.3.5.1.A Dentini Asit ile Pürüzlendirme .....	13
2.3.5.1.B Dentini Lazer ile Pürüzlendirme.....	13
2.4 Adeziv Sistemler .....	14
2.4.1 Adeziv Sistemlerin Sınıflandırılması.....	14
2.4.1.1 Adeziv Sistemlerin Kronolojik Gelişim Sıralamalarına Göre Sınıflandırma: .....	14

2.4.1.2	Adeziv Sistemlerin Smear Tabakası Üzerine Etkisine Göre Sınıflandırma: .....	16
2.4.1.3	Adeziv Sistemleri Klinik Uygulama Basamaklarına Göre Sınıflandırma: .....	16
2.4.1.3.A	Etch-rinse Adeziv Sistemler .....	16
2.4.1.3.B	Self-etch Adeziv Sistemler .....	17
2.4.1.3.C	Cam İyonomer Adeziv Sistemler.....	18
2.4.2	Üniversal Adezivler .....	18
2.5	Işıkla Sertleşen Adeziv Sistemlerin Polimerizasyonunda Kullanılan Işık Kaynakları .....	20
2.5.1	Kuartz- Tungsten- Halojen Işık Kaynakları (QTH).....	20
2.5.2	Light Emitting Diodes Işık Kaynakları (LED) .....	20
2.5.3	Plazma Ark Işıkları (PAC).....	20
2.5.4	Argon Lazer Işık Kaynakları .....	20
2.6	Biyouyumluluk.....	20
2.6.1	Biyolojik Uyumluluğun Değerlendirilmesi .....	21
2.6.1.1	İn-Vitro Testler (birincil veya eleme testleri).....	22
2.6.1.1.A	LD 50 Ağız İçi Testi .....	23
2.6.1.1.B	LD 50 Karın İçi Testi.....	23
2.6.1.1.C	Soluma Testi .....	23
2.6.1.1.D	Hemoliz Testi .....	23
2.6.1.1.E	Ames Testi .....	23
2.6.1.1.F	Styles Testi .....	23
2.6.1.1.G	Dominant Letal Testi .....	23
2.6.1.1.H	Sitotoksisite Testleri .....	23
2.6.1.2	İkincil Testler (Hayvan Deneyleri).....	25
2.6.1.2.A	Kemik İmplantasyon Testi.....	25
2.6.1.2.B	Oral Mukoza Membran Testi.....	25
2.6.1.2.C	Sentisizasyon Testi .....	25
2.6.1.2.D	Subkutanöz İmplantasyon Testi.....	26
2.6.1.3	Kullanım Testleri.....	26
2.6.1.3.A	Restoratif Malzemeler için Pulpa ve Dentin Testi.....	26
2.6.1.3.B	Kuafaj ve Pulpatomi Materyalleri Testi.....	26
2.6.1.3.C	Endodontik Materyal Testi .....	26
2.6.1.3.D	Kemik İçi İmplant Materyalleri Testi .....	26
2.7	Sitotoksisite Değerlendirme Yöntemleri .....	27

2.7.1	Morfolojik Yöntemler.....	27
2.7.2	Biyokimyasal Yöntemler .....	27
2.7.2.1	Reprodüktif Testler.....	27
2.7.2.2	Permeabilite Testi.....	28
2.7.2.3	Metabolik Aktivite Testleri .....	28
2.8	Hücre Kültürleri .....	28
2.8.1	Hücre Kültürlerinin Sınıflandırılması.....	29
2.8.2	Hücre Kültürlerinde Kullanılan Hücre Hatları .....	29
2.9	Adeziv Dış Hekimliğinde Biyouyumluluk.....	29
<b>3.</b>	<b>GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>31</b>
3.1	Deney Örneklerinin Hazırlanması.....	31
3.2	Hücre Kültürü Teknikleri.....	34
3.2.1	Hücre Hattının Açılması .....	34
3.2.2	Hücrelerin Çoğaltılması.....	35
3.2.3	Hücrelerin Pasajlanması .....	35
3.2.4	Hücre Sayımı .....	35
3.3	Ekstraksiyon Sıvısının Hazırlanması ve Ekstraksiyon İşlemi.....	35
3.4	Hücre Proliferasyon Çalışması.....	38
3.5	İstatistiksel Değerlendirme.....	40
<b>4.</b>	<b>BULGULAR .....</b>	<b>41</b>
4.1	Üniversal Adeziv Sistemlerin Sitotoksikite Bulguları.....	41
4.1.1	G-Premio Bond'un Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi .....	41
4.1.2	Prime&Bond Üniversal'in Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi.....	42
4.1.3	Single Bond Üniversal'in Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi .....	43
4.1.4	Tokuyama Üniversal Bond'un Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi ...	44
4.1.5	Üniversal Bond Quick'in Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi .....	45
4.2	Üniversal Adeziv Sistemlerin Gruplar Arası Değerlendirilmeleri.....	46
4.2.1	Üniversal Adeziv Sistemlerin 24. Saat Bulguları .....	46
4.2.2	Üniversal Adeziv Sistemlerin 48. Saat Bulguları .....	46
4.2.3	Üniversal Adeziv Sistemlerin 72. Saat Bulguları .....	47
<b>5.</b>	<b>TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>48</b>
<b>6.</b>	<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>60</b>
<b>7.</b>	<b>EKLER .....</b>	<b>75</b>
<b>8.</b>	<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>77</b>

## KISALTMALAR VE SİMGELER

ADA	Amerikan Dişhekimleri Derneği
ANOVA	Tek Yönlü Varyans Analizi
Bis-GMA	Bisfenol-A-diglisidil Metakrilat
BPDM	Bifenil Dimetakrilat
Ca	Kalsiyum
cm	Santimetre
cm <sup>2</sup>	Santimetrekare
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
COOH	Karboksil
CQ	Kamfarokinon
DMEM	Dulbecco'nun Modifiye Eagle Medyumu
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
Er, Cr: YSGG	Erbium, chromium: yatrium-scandium-gallium-garnet
Er: YAG	Erbium-doped yttrium aluminium garnet
FBS	Fötal Sığır Serumı
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FDI	Uluslararası Dişhekimleri Birliği
HEMA	2-Hidroksietil Metakrilat



ISO	Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu
LED	Light Emitting Diode
MDP	10-metakrilol Oksidesil Dihidrojen Fosfat
MDPB	Metakriloyl Oksidodesil Pridinyum Bromid
MEPS	Methakriloyiloksialkil Tiyofosfat
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
mmHg	Milimetre Civa
MPa	Mega Paskal
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid
MTU-6	6-metakriloksiheksil 2-tiyourasil-5-karboksilat
mW	Mili Watt
Nd: YAG	Neodmiyum: Yitriyum-Alüminyum-Garnet lazer
nm	Nanometre
NH <sub>2</sub>	Amidojen
NPG-GMA	N-fenil gisin-glisidil metakrilat
OH	Hidroksil
p	İstatistiksel Anlamlılık
PENTA	Dipenta Eritriol pentaakrilat monofosfat

pH	Asidite Katsayısı
SS	Standart Sapma
TEG-DMA	Trietilen Glikol Dimetakrilat
UDMA	Üretan Dimetakrilat
UV	Ultra Viyole
xCELLigence	Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi
XTT	Sodyum 3-[1-[(fenilamino)-karbonil]-3, 4-tetrazolyum]-bis (4-metoksi-6-nitro)benzen-sulfonik asit hidrat
WST-1	2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
°C	Santigrat Derece

## RESİMLER LİSTESİ

<b>Resim 3.1</b> Adeziv sistemler (a: G-Premio Bond, b: Tokuyama Üniversal Bond, c: Üniversal Bond Quick, d: Prime&Bond Üniversal, e: Single Bond Üniversal).....	32
<b>Resim 3.2</b> Laminer akımlı kabinde örneklere yapay tükürük solüsyonunun uygulanması .....	36
<b>Resim 3.3</b> Elde edilen ekstrat sıvılarının E-Plate 16'lara uygulanması .....	36
<b>Resim 3.4</b> %5 CO <sub>2</sub> içeren inkübatör.....	37
<b>Resim 3.5</b> E-plate 16 .....	38
<b>Resim 3.6</b> E-Plate 16'lardan veri elde edilmesi için inkübatöre yerleştirilmesi .....	39
<b>Resim 3.7</b> Verilerin aktarıldığı monitör.....	40



## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 4.1:</b> Kontrol ve G-Premio Bond grupları arasındaki zamana bağlı ortalama hücre proliferasyon yüzdelerinin karşılaştırılması.....	42
<b>Şekil 4.2:</b> Kontrol ve Prime&Bond Ünlversal grupları arasındaki zamana bağlı ortalama hücre proliferasyon yüzdelerinin karşılaştırılması.....	43
<b>Şekil 4.3:</b> Kontrol ve Single Bond Ünlversal grupları arasındaki zamana bağlı ortalama hücre proliferasyon yüzdelerinin karşılaştırılması.....	44
<b>Şekil 4.4:</b> Kontrol ve Tokuyama Ünlversal Bond grupları arasında zamana bağlı ortalama hücre proliferasyon yüzdelerinin karşılaştırılması.....	45
<b>Şekil 4.5:</b> Kontrol ve Ünlversal Bond Quick grupları arasında zamana bağlı ortalama hücre proliferasyon yüzdelerinin karşılaştırılması.....	46
<b>Şekil 4.6:</b> 24, 48 ve 72. saatte bütün grupların ortalama hücre proliferasyon yüzdelerinin karşılaştırılması.....	47



## TABLÖLAR LİSTESİ

<b>Tablo 3.1</b> Kullanılan adeziv sistemlerin kimyasal içerikleri ve üretici firmaları .....	33
<b>Tablo 3.2</b> Hücre kültüründe kullanılan besiyerlerinin üretici firmaları.....	34



## ÖZET

### FARKLI ÜNİVERSAL BOND SİSTEMLERİNİN ZAMANA BAĞLI SİTOTOKSİSİTELERİNİN xCELLİGENCE YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Sevim ATILAN YAVUZ

Uzmanlık tezi, Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı  
Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Derya SÜRMEİOĞLU  
Şubat 2020, 77 sayfa

Bu çalışmanın amacı, farklı universal adeziv sistemlerin, L929 fare fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik etkilerinin zamana bağlı değişimini gerçek zamanlı hücre analizi (xCELLigence) yöntemi ile değerlendirilmesidir. Sitotoksosite açısından değerlendirilecek bondlar 6 farklı gruba ayrıldı. Grup 1 Kontrol, Grup 2 G-Premio Bond (GC Europe, Belçika), Grup 3 Ünikersal Bond Quick (Kuraray, ABD), Grup 4 Tokuyama Ünikersal Bond (Tokuyama, ABD), Grup 5 Prime&Bond Ünikersal (Dentsply Sirona, ABD), Grup 6 Single Bond Ünikersal (3M ESPE, ABD) şeklinde oluşturuldu. Bütün materyaller 72 saat Dulbecco'nun modifiye Eagle medyumunu (DMEM) solusyonunda inkübe edildi. L929 hücre süspanسیونu E-plate 96'nın her bir kuyucuğuna 100 µL olacak şekilde ekildi ve sitotoksitesine bakılacak olan adeziv sistemler uygulandı. xCELLigence cihazı ile elde edilen değerler 72 saat boyunca her 15 dk'da bir monitörize edildi. Veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Post-Hoc Tukey testi ile değerlendirildi. Sitotoksosite değerleri açısından kullanılan beş farklı universal adeziv sistemin karşılaştırılmasında farklı zamanlarda (24s, 48s ve 72s) yapılan ölçümlerde anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Karşılaştırılan gruplar arasında en az sitotoksik etkiyi G-Premio Bond; en fazla sitotoksik etkiyi ise Tokuyama Ünikersal Bond göstermiştir. Ünikersal adeziv sistemler kullanılarak yapılan tedavilerde canlı hücrelere karşı sitotoksik etki gözlemlenebilir. xCELLigence cihazı ile sitotoksosite değerlendirilmesi güvenilir bir yöntem olmakla birlikte farklı sitotoksosite tespit yöntemleri ile de sonuçların uyumluluğuna desteklenmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Sitotoksosite, xCELLigence, adeziv sistem

## ABSTRACT

### EVALUATION of CYTOTOXICITY of DIFFERENT UNIVERSAL BONDS USING XCELLIGENCE SYSTEM

Sevim ATILAN YAVUZ

Postgraduate Thesis, Department of Restorative Dentistry

Supervisor: Assist. Prof. Derya SÜRMEİİOĞLU

February 2020, 77 pages

Purpose of this study was to explore cytotoxic effects of five different universal bonding agents on mouse fibroblast cell lines (L929). Five universal bonding agents (G-Premio Bond, Tokuyama Universal Bond, Universal Bond Quick, Single Bond Universal, Prime&Bond Universal) that including various components were used with a real-time cell analyzer (RT-CES, xCELLigence; Roche Applied Science, Mannheim, Germany, and ACEA Biosciences, San Diego, CA, USA). L929 fibroblasts cell lines (ATCC ® CRL-6364) were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) and supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) and 1 % antibiotics (100 IU/ mL penicillin-streptomycin). The assay was performed E-plate 96 and monitored every 15 min for 72 h. Statistical analysis was performed using ANOVA and Tukey's tests. All tested universal bonding agents showed statistically significant difference cytotoxicity values in three different time periods (24h, 48h, 72h) ( $p < 0.05$ ). Among the groups compared, G-Premio Bond showed the least cytotoxic effect; and Tokuyama Universal Bond showed the most cytotoxic effect. Different times of all universal dentin bonding systems significantly increased the count of viable cells compared to the control group ( $p < 0.05$ ). In treatment using universal dentin bonding system it can be observed cytotoxic effect to live cells. The evaluation of cytotoxicity with xCELLigence device is a reliable method and should be supported by new studies on this subject.

**Keywords:** Real time cell analyzer, cytotoxicity, dentin bonding agent

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde estetiğe verilen önemin ve toplumsal bilincin artması ile insan sağlığının kişiler arasındaki farkındalığı giderek önem kazanmaktadır. Bu durum hekimlerin daha hassas bir şekilde çalışma koşulları oluşturmalarına imkan verirken aynı zamanda hastalara daha estetik, daha fonksiyonel ve daha uzun ömürlü restorasyonların sunulmasını sağlar. Bu gelişmeler ışığında hem klinisyenlerin hem de akademisyenlerin estetik materyaller üzerindeki çalışmaları ile her gün yeni bir bilgi literatüre eklenmektedir. Adeziv diş hekimliğinde, yeni teknolojiler ile geliştirilen materyallerin mevcut dental materyallere oranla bağlanma dayanımı, estetik özelliği, çevre dokulardan maruz kaldığı kuvvetler karşısında dayanımı ve canlı dokular üzerine olan zararlı etkisi hala araştırılmaktadır. Literatürde yapılan çeşitli çalışmalarda adeziv sistemlerin polimerizasyonu sırası ve sonrasında artık monomer salındığı belirlenmiştir. Günümüzde, adeziv sistemlerin en önemli etkilerinden biri olan çevre canlı dokular üzerine toksik etkisinin minimuma indirilmesi yönünde araştırmalar devam etmektedir (1, 2).

Kullanılan dental materyallerin diş canlı dokularına bağlanma mekanizmasının değişmesi ile birlikte kavite preperasyon prensiplerinde de değişikliğe gidilmiş ve minimum madde kaybı esas ön plana çıkmıştır (3). Geleneksel kavite prensipleri yerini modern kavite prensiplerine bırakırken adezyon kavramı da önem kazanmıştır. Günümüzde sıklıkla uygulanan adeziv sistemler sayesinde daha estetik ve daha konservatif restorasyonlar yapılabilmesine rağmen adeziv sistemlerin biyoyumluluğu halen tartışmalıdır ve biyoyumlulukla ilişkilendirilen sitotoksik etkilerin incelenmesi gerekmektedir.

Adeziv sistemlerin ortaya çıkış amacı diş canlı dokularına bağlanmayı güçlendirmek gibi görünse de içeriğinde yer alan çeşitli monomerler sebebi ile sitotoksik etkilerinin incelenmesi de önem teşkil etmektedir. Adeziv sistemlerin komponentleri incelendiğinde; bu sistemlerde genel olarak; bisfenol A-glisidil metakrilat (Bis-GMA), üretan dimetakrilat (UDMA), trietilen glikol dimetakrilat (TEG-DMA), hidroksi etil metakrilat (HEMA) ve dipenta eritritol penta-akrilat monofosfat (PENTA) yer almaktadır (4, 5).

Bu çalışmanın amacı farklı özelliklere sahip universal adeziv sistemlerin (G-Premio Bond, Üniwersal Bond Quick, Tokuyama Üniwersal Bond, Prime&Bond Üniwersal,



Single Bond Üiversal) L 929 hücreleri (fare fibroblast hücreleri) üzerinde meydana getirdiği sitotoksik etkilerin xCELLigence yöntemi ile değerlendirilmesidir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Dişhekimliğinde Adezyon

Adezyon (bağlanma), farklı yapıdaki moleküller arası çekim kuvveti olarak tanımlanır. (3, 6, 7). Bağlanmayı gerçekleştiren materyale adeziv; adezivin bağlandığı materyale ise aderent denir. Adeziv ve aderent arasında tam bir temas ve çekim oluşması iyi bir bağlantı için gereklidir (3, 8). Ara yüzde oluşan bağlantı atomik etkileşimlerine göre; fiziksel, kimyasal veya mekanik olmak üzere 3 grupta sınıflandırılır (9). Fiziksel bağlantı türü olan Van der Waalls elektrostatik çekim ile, kimyasal bağlantı ise atomlar arasında meydana gelmektedir. Mekanik bağlantı da ise materyal yüzeyi ile pürüzlü yüzeylerin etkileşimi bağlantının temelini oluşturmaktadır. Adezyon ve kohezyon bütün fiziksel, kimyasal ve mekanik kuvvetlerin birlikte oluşturduğu bağlantı olarak değerlendirilirken kohezyon ve adezyon arasında fark bulunmaktadır. Kohezyon aynı iki materyalin bağlantısı olarak tanımlanırken adezyon farklı atomların veya moleküllerin birleşmesi olarak tanımlanır (10). Bağlantı adezivin içerisinde, aderentin yüzeyinde veya bu iki yüzey arasında oluşmaktadır (10).

Fiziksel bağlantı zayıf bir bağlantı olmasına rağmen adezyona katkısı bulunur, suyun varlığında Van der Waals kuvvetleri hidrojen bağları oluşturarak diğer tüm bağlantı kuvvetlerinin etkisini arttırıcı özellik gösterir (11).

Kimyasal bağlantı kovalent, iyonik, metalik ve bazen de şelasyon bağlantılarından oluşur. Kimyasal bağlantının oluşması için pek çok yöntem bulunurken bu bağlantıyı farklı maddeler arasında oluşturmak kolay olmamaktadır (10). Yapılan dental tedavilerde kontaminasyonu elimine etmek çoğu zaman güç olduğundan bu durum kimyasal bağlantıyı zayıf kılmakta ve mekanik bağlantının gölgesinde kalmasına neden olmaktadır (10).

Adezyonun en yaygın şekli mekanik kilitlenmedir. Kullanılan dental materyallerdeki bu bağlantıların temel özelliği aderent yüzeydeki girintilere adezivin nüfus ederek mekanik kilitlenmeyi sağlamasıdır (12). Amalgamın, açılan kavitelere girintilere tutunması ya da asitlerin mine yüzeyinde meydana getirdiği pürüzlü bölgelere monomerlerin adaptasyonu bu duruma örnek olarak verilebilir (13).

Mikromekanik bağlantı rezinin dentin içerisine yayılımı, mikrotag ve nanotag olarak değerlendirilmektedir. Mikrotag, dentin tübülleri içerisindeki kilitlenme iken; nanotag kollajenler arası boşluklar içerisindeki kilitlenme olarak ifade edilir. En iyi bağlantıyı nanotagların meydana getirdiği bildirilmiştir (10).

## 2.2 Mine Dokusunun Adezyondaki Rolü

İnsan vücudundaki en sert doku olarak bilinen mine dokusu, yaklaşık %94-98 inorganik yapı, %1-2 organik yapı ve %1-4 sudan meydana gelmiştir. Rezin esaslı dental materyallerin mine yüzeyine bağlanması restoratif diş hekimliğinde büyük bir öneme sahiptir (7, 14). Ap prizmatik mine yüzeyinin preparasyonu ve pürüzlendirilmesi prizma gövdelerinin açığa çıkmasına sebep olur (14). Mine yüzeyine asit uygulandığında yaklaşık 10 µm'lik kısmın rezorpsiyona uğradığı ve ortalama 5-50 µm'lik alanda da pürüzlü yüzey oluştuğunu gözlemlenmiştir. Yapılan bu işlemler sonucunda minenin sahip olduğu yüzey enerjisi ve bağlanabilirliği artmakta, bununla birlikte rezin esaslı materyallerin adezyonu daha kolay ve etkili hale gelmektedir (15). Minedeki pürüzlü yüzeye penetre olan rezin ile mikromekanik bağlantı gerçekleşmektedir (7, 15, 16).

Mine yüzeyinde görülen pürüzlendirme çeşitleri: (17)

Tip I pürüzlendirme: Mine prizmalarının iç kısmının çözünmesiyle meydana gelen 'bal peteği görünümü'

Tip II pürüzlendirme: Mine prizmalarının çeperlerinin çözünmesinden kaynaklanan, 'kaldırım taşı görünümü'

Tip III pürüzlendirme: Belirgin bir mine prizmaları bulunmayan düzensiz yapı (17)

Rezinin, mine prizmaları içerisine yaptığı uzantılara rezin tag adı verilmekte ve bağlantının temelini rezin taglar oluşturmaktadır (18). Bağlanma kuvvetlerine etkisi fazla olduğu bilinen rezin taglardaki küçük yapılara mikro tag denir (3). Mikro tagların sayıca fazla olmaları ve yüzey alanlarının geniş olması bağlantıdaki önemini artırır. Yüzeyde meydana gelen etki, mineyi pürüzlendirmek için kullanılan asidin türüne, konsantrasyonuna ve uygulama süresine bağlı olarak değişim gösterir (14). Ayrıca minedeki yapılan preparasyon ile birlikte minenin kimyasal yapısı da bağlantıyı etkiler (14). Mine yüzeyindeki bağlantıya en etkili asidin fosforik asit olduğu bilinmektedir (19).

## **2.3 Dentinin Yapısal Özellikleri**

### **2.3.1 Dentinin Histolojik Yapısı**

Kompleks bir yapı olan pulpa-dentin dokusu, diş tomurcuğunun diş papillasından köken alır (20). Minenin oluşumu sonrası mine dokusundan pulpaya doğru kollagen matris salgılanmakta olup bu salgının mineralizasyonu ile dentin dokusu oluşur. Dentin içerisinde yer alan kanallar sayesinde odontoblastların sitoplazmik uzantıları mineye doğru uzanabilmektedir (20). Çapları 1-2 µm olan, dentinin mineralize yapısını oluşturan ve mineden pulpaya doğru 2,5-3,5 mm uzunluğa ulaşan bu tübüller pulpadan gelen odontoblastik uzantılar için yer görevi görmektedir. Dentin tübüllerinde yer alan sıvı devamlı ve sabit bir basınçtaır. İntrapulpal basınç olarak tanımlanan bu sıvı, 25-30 mmHg basınçta olup adezivlerin penetrasyonu için negatif etki göstermektedir. Dentin tübüllerini çepeçevre saran ve iyi derecede mineralize olmuş peritübüler dentin, ilk meydana geldiğinde koronalde pulpa çevresindeki dentinde bulunmaktadır (21).

### **2.3.2 Dentinin Kimyasal Yapısı**

Dentinin kimyasal yapısı % 70'i inorganik kalsiyum hidroksil apatitten ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), % 18'i genellikle tip 1 kollajen fibril olan organik yapıdan ve %12'si de sudan meydana gelmektedir (22). Hidroksi apatit içinde yer alan kollajen fibriller, inter-tübüler dentini oluşturur (23). Fizyolojik yaşlanma, travma ve hastalıklara bağlı olarak dentin kendini modifiye edebilmektedir (24).

### **2.3.3 Dentinin Fiziksel Yapısı**

Dentin, kromda pulpa dokusunu kökte ise sement dokusunu çepeçevre saran diş sert dokusudur. Dentinin fiziksel yapısını iyi bilmek çürük, aşınma ve sklerozisi anlamak açısından oldukça önemlidir. Bunun yanı sıra planlanan restorasyon türüne ve dental materyallerin bağlanma prosedürlerine doğru karar verebilmek için dentinin fiziksel yapısının iyi bilinmesi gerekmektedir (25).

Predentin, mineralize olmamış dentinin pulpa yüzeyine yakın olan tabakasıdır. Dentin formasyonu, pulpa canlılığını sürdürdükçe devam etmektedir. İlk oluşan dentin tabakasına primer dentin, yapımı ömür boyu devam eden dentine ise sekonder dentin denilmektedir. Dentin kanallarının içerisinde Tomes lifleri adı verilen odontoblastların sitoplazmik uzantıları yer alır. İntertübüler dentin dentin kanallarının arasında, peritübüler dentin ise dentin kanallarının çevresinde bulunur. Dentin kanalları, mine-

dentin sınırından pulpaya yaklaştıkça sayıca artış göstermekte olup çapları genişlemektedir (26).

Tamir ya da tersiyer dentin oluşumu dış uyaranlar varlığında başlamaktadır. Operatif işlemler, diş çürüğü, travma, erozyon, atrizyon ve abrazyon gibi uyaranlar mezenşimal pulpa hücrelerini uyararak pulpa hücrelerinin odontoblastlara farklılaşmasına neden olur. Odontoblastların dentin kanallarında canlılığını yitirmesine bağlı olarak mikroskopta karanlık görünen ölü alanlar oluşmaktadır (20). Mine-dentin sınırından pulpaya doğru artan kalsifikasyonla birlikte peritübüler dentinde genişlemeler meydana gelir. Yavaş ilerleyen çürük lezyonları ya da yaşlanma sonucu meydana gelen dentine sklerotik dentin denir. Bu yapının pulpayı dış uyaranlara karşı koruduğu ve sert, parlak, koyu renkte olduğu bilinmektedir (20).

Rezin-dentin bağlantısındaki başarısızlıkların fiziksel ölçümü için dentin dokusunun yapısını incelemek gerekir. Dentinin mikro yapısı hacimce yaklaşık % 50 karbonlanmış nanokristal yapıda mineral kristal apatitten ve % 30 tip 1 kollajen fibrillerden oluşur. Kollajen fibrillerin çapı yaklaşık 50-100 nm'dir. Bu kollajen yapı, dentin formasyonuna dik olacak şekilde sıralanmaktadır (27). İntrafibriller ve ektrafibriller yapı kollajen iskeleti meydana getirir. İntrafibriller yapı kollajenlerin içindeki boşluklardan oluşurken ektrafibriller yapı, fibriller arası boşluklardan oluşur (28, 29). Mineral kristalleri pulpaya doğru iğne benzeri bir yapı gösterirken, mineye doğru ise düz bir tabaka şeklinde uzanmaktadır (30).

Dentin dokusunun gelen yüklere karşı dayanıklılığı ve kırılabilirliği en önemli yapısal özelliğini oluşturmaktadır. Young modülü, çekme, basma ve kırılma modülleri bunlara birer örnektir. Bu modüller arası ilişkiler ve dentinin bu uyaranlara cevabı dentin dokusunun kompleks özelliğini gösterir (31).

#### **2.3.4 Dentine Adezyonu Etkileyen Diğer Faktörler**

Yüzeyin temiz olması güçlü bir adeziv bağlantı için önemli bir kriterdir (10). Dişlerin preparasyonu sırasında oluşan ve yüzey enerjisini düşüren tabakaya smear tabakası adı verilir (19). Yüzeyle uygulanan asit ile pek çok eklenti uzaklaştırılmakta ve mikromekanik bağlantı için pürüzlü yüzeyler oluşturulmaktadır (11). Monomerler asitlenmiş yüzeyi ıslatıp penetrasyonu artırırken aynı zamanda mikromekanik bağlantının oluşumunu da kolaylaştırmaktadır. Hidrofilik monomerler, polimerizasyon sonrası mikromekanik bağlantıyı oluşturur (11).

Aderent yüzeyi ıslanabilirliği ile adezivin başarısı arasında bir bağlantı bulunmaktadır. Yüzeylerin kontaminasyonu bağlantının kalitesini azalttığından dolayı yüzey temizliği önemli hale gelir (32). Kavite preparasyon teknikleri, preparasyon sonrası oluşan kontaminasyonlar, smear tabakası gibi bağlanmaya negatif etki eden dış etkenler ve kullanılan adezivin kimyasal-fiziksel özellikleri dentine bağlantıyı etkileyen en önemli faktörler arasında yer almaktadır. Dış etkenlerin yanı sıra nem, sıcaklık değişimleri, pH ve beslenme gibi ağız içi şartlar da dentin dokusunda bağlantıyı etkilemektedir (33). Derin dentinde tübüllerden gelen nemin etkisiyle rezin bağlantısı daha güç olmaktadır (34). Bu durumun aksine yüzey nemliliğinden etkilenmeyen hidrofilik monomer içerenli adeziv sistemler dentine iyi bir yayılma gösterdiğinden aşınmış dentinde su bazlı adeziv sistemin kullanımı daha uygun olmaktadır (23). Su bazlı primerlerin hidrofilik adeziv sistemler ile birlikte uygulanması suyun yer değiştirme özelliğinden dolayı tercih edilir. Bunun yanı sıra hava spreyi ile aşırı kurutulmuş dentinde büzülen kollajenlerin tekrar ıslatıldığında adezivler ile daha sıkı bağlantı oluşturmaktadır (35).

#### **2.3.4.1 Dentinin Nemli Yapısı**

Dentinin nemli yapısı bağlantı açısından önem teşkil eder. Dentin internal ve eksternal dentin olmak üzere iki yapıda incelenir. Yapısında barındırdığı tübüllerin uzunluğu, çapı, tübül içindeki dentin sıvısının viskozitesi, difüzyon için elde edilen yüzey, tübüllerin açıklığı ve pulpanın sirkülasyonu ile maddelerin uzaklaştırılma oranı internal dentinin ıslanabilirliğini etkileyen faktörler arasında yer almaktadır (33). Pulpa boynuzları üzerinde bulunan okluzal dentin merkezdeki dentinden, proksimal dentin okluzaldeki dentinden, koronal dentin ise kök dentininden daha geçirgen bir yapıya sahiptir. Dentin dokusunun gösterdiği farklı derecelerdeki geçirgenlik, dentini bağlanma açısından mireden daha zor ve kompleks bir yapı haline getirir. Dentin tübüllerinden sızan dentin sıvısı da adezyonu etkileyen diğer bir önemli faktör olarak gösterilir. Eksternal dentin ıslanabilirliği, çevresel nem de dentinin bağlanma dayanımını negatif yönde etkilemektedir (26).

#### **2.3.4.2 Smear Tabakası**

Kavite preparasyonu ile meydana gelen debris birikime kan, tükürük ve bakteri gibi çevresel faktörlerin eklenmesi ile smear tabakası oluşur. Smear tabakasının kalınlığı (0,5-5 µm), morfolojisi ve kompozisyonu kullanılan aletin tipine, kavite dezenfeksiyonuna, dentin alanına göre değişim göstermektedir (3, 13).

Bağlantı yüzeyini arttırmak için kullanılan asit, dış yüzeyini pürüzlendirerek yüzeyde mikroskobik taglar oluşturur (3). Dentinin serbest yüzey enerjisi (28 dyn/ cm) mineye (44,8 dyn/ cm) göre daha düşüktür (33). Preperasyon sırası meydana gelen düşük yüzey enerjili smear tabakası tamamen temizlenmeli veya modifiye edilmelidir. Smear tabakasının olmadığı durumlarda 1µm'lik hibrit tabakasının yaklaşık olarak 10 MPa civarında bağlantı sağladığı bilinmektedir (36).

### **2.3.4.3 Yüzey Pürüzlülüğü**

Yüzeydeki mikro seviyede görülen pürüzlülüğün artması ile birlikte bağlantı için önemli bir faktör olan ıslanabilirliğin etkinliği de olumlu yönde değişmektedir. Islanabilirlik Wenzel denklemindeki pürüzlülük oranı ile yakın ilişkilidir (37). Bu denkleme göre değme açısı 90°'dan 0°'a doğru azaldıkça ıslanabilirlik buna bağlı olarak artar (10).

Adezyon materyallerin bağlanması için iyi bir kontakta ihtiyaç duyulmaktadır. Fakat yapıları farklı olan bu iki materyalin derinlemesine kontakından söz etmek oldukça zordur. Çünkü yüzey enerjisine bağlı fiziksel bir bağlantıdan bahsedilmektedir (38).

### **2.3.4.4 Islanabilirlik ve Değme Açısı**

Islanabilirliğin ve değme açısının bağlantıdaki etkisi fazla olmakla birlikte adezyonun gerçekleşebilmesi için bağlanması istenen iki materyalin birbiriyle temasta olması gerekir. Adezivin, aderent yüzeye akışı ve aderent yüzeyini iyi ıslatması bağlantının gücünü artırır. Bu koşulları elde edebilmek için adezivin kritik yüzey gerilim değeri, aderentin kritik yüzey gerilim değerine eşit ya da aderentin gerilim değerinden daha düşük olmalıdır (3). Yüzeyin ıslanabilirliği ile yüzey üzerindeki damlanın değme açısı oldukça önemlidir. Aderent yüzeyine damlatılan adezivin meydana getirdiği küreye her iki maddenin birleştiği yerden çizilen teğet ile aderent yüzeyi arasında oluşan açı 'kontakt açısı' ya da 'değme açısı' olarak tanımlanır. Kısaca değme açısı damlanın yüzeyle yaptığı iç açı olarak ifade edilir. Materyaller arası yüzey enerjileri denklemi bu açı ile belirlenmektedir (10). İdeal bir ıslanma için değme açısının mümkün olduğunca sıfır dereceye yakın olması gerekmektedir (39). Bunun yanı sıra düşük vizkozite, penetrasyonu arttıracığından dolayı adeziv sistemlerde bulunması istenen özellikler arasında yer alır (3, 33).

Islanabilirlik çoğunlukla su ile belirlenir. Değme açısı 90°'den büyükse ıslanabilirlik gerçekleşmezken, küçük ise kolay ıslanabilir. Sonuç olarak ıslanabilirlik derecesi ile adezyon arasında doğru orantı bulunmaktadır (10).

Yüksek yüzey enerjili yüzeylerde düşük değme açısı, sıvılar veya monomerler tarafından oluşturulmaktadır. Asit uygulanmış mine yüksek yüzey enerjisine sahip iken bu durumdan farklı olarak dentin kollajeni düşük yüzey enerjisine sahiptir (11). Yüksek yüzey enerjili mine ve dentinin, çeşitli sıvılar aracılığıyla nemliliği sağlanmaktadır. Böylelikle nemli dentin adezivlerde yer alan monomerler tarafından iyi ıslatılabilir (10). Yüzeyin etkili bir şekilde ıslanması adezyon için gerekli olmasına rağmen; mikro çatlaklardan nüfus eden adeziv materyalinin yeterli polimerizasyonu da bağlantıda etkili olmaktadır (10).

#### **2.3.4.5 Rezinlerin Polimerizasyon Büzülmesi**

Elastisite modülü ya da young modülü, malzemenin kuvvet altında şekil değiştirmesini ifade eder. Polimerizasyon esnasında görülen kompozitlerin büzülme miktarı kompozit içeriğindeki inorganik doldurucu oranına bağlıdır (40). Elastisite modülü düşük olan mikrofil kompozitlerin polimerizasyon streslerine karşı daha dayanıklı oldukları bilinir (41). Yüksek elastisite modülüne sahip kompozitler ise polimerizasyon sırasında meydana gelen stresleri tolere edemediklerinden dolayı oluşan kuvvetleri kompozit ve diş dokusu arasındaki adeziv yüzeye iletirler. İletilen bu kuvvetler zamana bağlı olarak diş-restorasyon ara yüzünde mikro çatlaklara ve mikrosızıntıya sebep olur ve bağlantının da zayıflamasına yol açar. Ancak son zamanlarda geliştirilen adeziv sistemler ile bu olumsuzlukların önüne geçilmeye çalışılmıştır (42). Polimerizasyon sırasında meydana gelen büzülme azaltmak için, özellikle sınıf iki kaviteelerde yan duvarlardaki diş dokusu ile kompozit arasına düşük vizkoziteli kompozit kullanımı önerilir (43). Düşük vizkoziteli kompozitlerin mikrosızıntıyı azalttıkları ispat edilmiş olmasına rağmen sınıf II kaviteelerin basamağında gösterdikleri dayanıklılık tam olarak bilinmemektedir (44).

#### **2.3.4.6 Hibrit Tabaka**

Dentin yüzeyinin asit düzenleyiciler (conditioner) ile demineralizasyonu sonucu kollajen fibril ağı açığa çıkar. Bu demineralize bölgeye, düşük viskoziteli monomerlerin penetrasyonu gerçekleşir. Çözünen hidroksiapatitlerin meydana getirdiği nano boşlukları monomerlerin doldurmasıyla kollajenlerin etrafı sarılır. Polimerizasyonun gerçekleşmesi ile adeziv-rezin mikromekanik olarak dentin kollajeni ile bağlanır. Rezin ile güçlendirilmiş, aside dirençli bu alana 'hibrit tabaka' denilmektedir (33, 45). Bu tabaka adeziv rezin ile dişin organik kısmının birlikte oluşturduğu bir kompozisyon olup çoğunlukla asitlere dirençlidir (5, 46). Rezin-dentin ara yüzünde orta dereceli elastisite



modülüne sahip, bağlantı yüzeyinde meydana gelen stresleri azaltan, marjinal bütünlüğü sağlayan bir alan oluşur (47-49). Yapılan çalışmalarda hibrit tabakasının niteliğinin önem teşkil ettiği ancak dentine adezyon ile hibrit tabakası kalınlığı arasında bir ilişki bulunmadığı saptanmıştır (50, 51).

### **2.3.5 Dentin Dokusunun Adezyondaki Rolü**

Dental adezyonda en çok kullanılan bağlantı şekli olan mekanik bağlantı genellikle mikroskobik seviyelerde gerçekleşir ve kimyasal bağlantı düşük düzeyde de olsa görülür. Kullanılan asitin dentinde oluşturduğu mikroskobik boyuttaki undercutlar adezyonun temelini oluşturmaktadır. Bağlantıda meydana gelen kilitleme boyutu 10 µm civarında ise mikromekanik bağlantıdan söz edilmektedir (52).

Rezinlerin dentine bağlanması, dentinin yüksek organik içeriğinden dolayı minede gerçekleşen adezyondan daha farklı bir mekanizmayla gerçekleşir. Dentinin canlı bir doku olması, mineral yapısının az olması ve sürekli nem içermesi dentine olan bağlantıda sorunlar yaşanmasına yol açar (23). Dentine bağlanacak olan materyalin ilk önce yüzeye tutunabilmesi ve ıslak yüzeyde kalabilmesi gerekir. Yeni prepare edilmiş dentinde meydana gelen düzensiz smear tabakasının dentin bağlayıcılar tarafından modifiye edilmesi veya ortadan kaldırılması gerekmekte olup bu durum rezin materyalinin dentine nüfusunu kolaylaştırır (53).

Geleneksel olarak adeziv sistemler jenerasyonlarına göre sınıflandırılır. Fakat bu yöntemin bilimsel yanının eksik kalması sebebiyle günümüzde sistemlerin uygulamadaki basamak sayılarına göre sınıflandırması tercih edilmektedir (23). Güncel olarak kullanılan pek çok adeziv sistem asit içermekte olup bu asit dentini demineralize ederek kollejen ağlarını ve smear tabakasını çözerken dentin tübüllerinin açığa çıkmasını sağlar (54). Primerler, HEMA gibi hidrofilik monomer ve çözücüler içermektedir. Bu maddeler hidrofobik rezinlerin, demineralize dentinin mikroskobik girintilere penetrasyonunu artırır (5). Restorasyon-dentin arasında oluşan hibrit tabaka, tübüllerin ve intertübüler dentinin arasına girmiş rezinden meydana gelir (55).

Dentine bağlantı değerlendirilirken rezin ve dentinin bağlantı yüzeylerinin incelenmesi gerekir. Bağlantıdaki kopmanın lokalizasyonu önemlidir, bu başarısızlığın bağlantı yüzeyinde mi yoksa adherentin yüzeyinde mi olduğu detaylıca değerlendirilmelidir. Aksi takdirde elde edilen kırılma analizi verileri ya bağlanan yüzeydeki materyale ya da hem bağlantıya hem de materyaldeki kopma verilerine ait olabilir (10).

Dentinde var olan tübüllerin yoğunluğu, çapı, peritübüler, intertübüler ve sklerotik dentin oranı adezyonu etkileyen faktörler arasında yer almaktadır. Dentinin kompleks histolojik yapısı adezyonu zorlaştırdığından, asıl amaç dentinde minedeki gibi güçlü bir bağlantı kurabilmektir (3). Restorasyon yapılacak bölgedeki dentin miktarı ile mevcut tübül sayısı ve çapı bağlantılı olduğundan dolayı adezyona etkisi olduğu dşnlmektedir (3).

### **2.3.5.1 Dentine Adezyonu Güçlendirmek İçin Yapılan Farklı Yüzey Uygulamaları**

Kavite açılması esnasında dentinde kullanılan frez tipinin dentinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirdiği gözlenmiştir. Örneğin; elmas frezler karbit frezlere göre daha kalın bir smear tabakası oluşturmaktadır. Preparasyon işlemi sırasında smear tabakası oluştuğu ve bu tabakanın da bağlantıyı doğrudan etkilediği bilinmektedir (56). Yapılan tüm bu işlemler sonucunda dentin dokusunda meydana gelen düzensizlikler adezivlerin dentine olan bağlantısını düşürmektedir (57).

Elmas frez ile prepare edilen kavitelere adeziv bağlantı değerinin ultrasonik ve Erbium:Yitrium Alüminyum Garnet lazer (Er: YAG) ile açılan kavitelere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (58). Ayrıca dentin yüzey hazırlık aşamasında lazer tercih edildiğinde mikrokraterlerin oluştuğu gözlemlenmiştir. Meydana gelen bu mikrokraterlerin bağlantıya negatif yönde etki ettiğine dair çalışmalar literatürde yer almaktadır (46, 59, 60).

#### **2.3.5.1.A Dentini Asit ile Pürüzlendirme**

Smear tabakasının oluşumu ile adeziv-dentin dokusu arasında kuvvetli bağ oluşumuna negatif etki ettiği bilinmektedir (61). Kuvvetli bir bağlantı elde edebilmek için etch-rinse tekniğinde dentine asit uygulanır. Dentine uygulanan asit (fosforik asit, maleik asit, sitrik asit, nitrik asit) smear tabakasının uzaklaşmasına katkıda bulunmaktadır (61). Bunun yanı sıra asit uygulaması ile intertübüler dentin yüzeyinde demineralize alanlar oluşmakta ve intertübüler kollajenden hidroksiapatitin uzaklaşması ile nano boşluklar meydana gelmektedir. Bu uygulamalar sonucu artan mikroporozite adezivin tutuculuğunu dolaylı olarak arttırmaktadır (61).

#### **2.3.5.1.B Dentini Lazer ile Pürüzlendirme**

Düşük karakterli enerjinin yüksek karakterli enerjiye dönüşümüyle elde edilen lazer ışığının (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) yaygın bir kullanım alanı bulunmasıyla birlikte diş hekimliğinde de sıklıkla tercih edilmektedir (62). Lazerin

etkisiyle dentin dokusu içerisinde var olan hidroksiapatitin merkezinde yer alan hidroksil iyonu (OH<sup>-</sup>) ve interkristalin boşluktaki su molekülü hızla buharlaşmaya başlamakta, neticesinde küçük patlamalar meydana gelmektedir. Bu patlamalar ile oluşan dental ablasyonlar girintili yüzeyler meydana getirir. Su aracılığıyla oluşan patlayıcı ablasyon miktarı yüzeysel olarak izlenebilir (1-10 µm) (36). Bu uygulama sırasında verilen su ve hava, pulpa dokusunu ısıya karşı korumaktadır. Fakat yapılan çalışmalar pulpanın bu işlemlerden etkilenmediğini göstermiştir (63, 64). Bununla birlikte lazer atım sayısının azaltılması ile de pulpada oluşabilecek zararların önüne geçilir (65).

1997 yılında FDA'nın (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) diş hekimliğinde kullanımını onayladığı Er: YAG ve ER,Cr:YSGG lazerler sert dokularda yaygın olarak kullanılan lazer türleridir (66).

## **2.4 Adeziv Sistemler**

Dişin inorganik kısmı ile rezin içeriğinin yer değiştirmesi, diş sert dokusu ile restoratif materyaller arasında gerçekleşen adezyonun temel mekanizmasını oluşturur (67). Kalsiyum (Ca) ve fosfatın (P) diş dokusundan uzaklaştırılması sonucu mine ve dentinin yapısında oluşan mikropöröz alana rezin monomerler penetre olur (35). Güncel bir konu olan adeziv sistemlere fonksiyonel monomerler eklenerek bu sistemlerin diş dokusu ile yaptığı kimyasal bağlantının yararları incelenmektedir.

### **2.4.1 Adeziv Sistemlerin Sınıflandırılması**

Adeziv diş hekimliğinde her geçen gün devam eden gelişmeler ile birlikte adeziv sistemler: kronolojik gelişim sıralamasına göre sınıflandırılmıştır (68). Buna ek olarak adeziv sistemler, sistemin smear tabakası üzerine etkisine göre; smear tabakasını kaldıran, çözen ve modifiye eden bağlayıcı sistemler olarak üçe ayrılmıştır. Ayrıca, bu sistemler klinik uygulama basamaklarına göre de sınıflandırılabilir (67).

#### **2.4.1.1 Adeziv Sistemlerin Kronolojik Gelişim Sıralamalarına Göre Sınıflandırma:**

a) 1. Nesil Adeziv Sistemler: Gliserofosforik asit dimetakrilat siyanoakrilatlardır. 1962 yılında üretilen bu adezivler N-fenil gisin-glisidil metakrilat (NPG-GMA) kökenli olup hidroksiapatit kristallerine iyonik, kollajene ise kovalent bağlarla tutunmaktadırlar. Hidrofobik yapılarından dolayı bağlanma dayanıklılıkları 1-3 MPa olup bu değer düşük sayılmaktadır (69).

b) 2. Nesil Adeziv Sistemler: 1978 yılında Bis-GMA veya HEMA gibi rezinlere halofosfat esterleri karıştırılarak piyasaya sürülmüştür. Bağlanma, hidroksiapatit kristallerindeki pozitif yüklü kalsiyum iyonları ile rezinin yapısında bulunan negatif yüklü fosfat grupları arasında iyonik etkileşimle meydana gelir. Ortalama bağlanma dayanımlarının da 1-10 MPa olduğu bildirilmiştir (70, 71).

Smear tabakası üzerine uygulanarak dentinin inorganik yapısına bağlanma amacıyla geliştirilmiş olan birinci ve ikinci nesil adeziv sistemlerden düşük bağlanma dayanımlarından dolayı istenilen başarı elde edilememiştir (70, 71).

c) 3. Nesil Adeziv Sistemler: 1980'lerin ortasında piyasaya sürülen bu adezivler sistemlerde amaç; smear tabakasını modifiye ederek rezinin dentine penetrasyonunun sağlanmasıdır. 3. jenerasyon adeziv ajanlarda aynı zamanda hem hidrofilik hem hidrofobik monomer olan 4-metakriloksi etil trimellitat anhidrit'ten (4-META) meydana gelmektedir. Bağlanma dayanımı 1. ve 2. nesil adeziv sistemlerden yüksek olup yaklaşık 10-14 MPa'dır (67, 71).

d) 4. Nesil Adeziv Sistemler: 1990'ların başında geliştirilmiş olup smear tabakasını tamamen uzaklaştırmayı amaçlayan dördüncü nesil adeziv sistemin temel özelliğini etch-rinse tekniği oluşturmaktadır. 3 aşamalı olan bu teknik, asitleme sonrası primer ve bağlayıcı ajanın uygulandığı, hibridizasyon ile rezin tagların oluşturulması esasına dayanmaktadır. Bu teknik ile hem mine hem de dentin fosforik asit ile pürüzlendirilerek yıkanıp hafifçe kurutulur. Fakat kollajen yıkımını önlemek amacıyla yüzeylerin nemli kalması önemlidir. Sağlanan bu nemli yüzeyi takiben hidrofilik primer ve doldurucusuz adeziv ajan uygulanır. Ortalama bağlanma dayanımının 18-30 MPa olduğu bildirilmiştir (72, 73).

e) 5. Nesil Adeziv Sistemler: 1990'ların ortalarında piyasaya sürülen ve 4. Nesil adeziv sistemlerde olduğu gibi smear tabakasını tamamen uzaklaştırmayı amaçlayan beşinci nesil adeziv sistemler, üç aşamalı etch-rinse adeziv sistemlere göre daha basit hale getirilmiştir. Bu sistem primer ve adeziv rezinin birleşmesiyle oluşturulmuş olup "one bottle" sistem olarak adlandırılmıştır (73, 74).

f) 6. Nesil Adeziv Sistemler: 2000'li yılların başında piyasaya sürülen ve smear tabakasını tamamen kaldırmadan sadece çözmeyi hedefleyen bu sistemde; kendinden asitli bir primer sonra dentin bağlayıcı uygulanmaktadır. Bunun sonucunda asitle pürüzlendirme,

yıkama ve kurutma işlemleri elimine edilmiş olur. Sistem asidik primer ve adeziv rezin uygulamasını içermektedir. Her ne kadar bağlanma dayanımları dentin için yeterli bulunmuş olmasına rağmen mine için zayıf kaldığı bildirilmiştir (75).

g) 7. Nesil Adeziv Sistemler: 2000'li yılların sonlarında piyasaya sürülen yedinci nesil adeziv sistemler, 6. nesil adeziv sistemlerde olduğu gibi smear tabakasını çözmekle birlikte teknik hassasiyeti azaltmaktadır. 'All-in-One' sistem olarak da ifade edilen bu adezivler asidik monomer, primer ve adeziv ajanın tek şişede birleştirilmesiyle oluşturulmuştur (75, 76). Bağlanma dayanımları altıncı nesil adezivlere benzer olduğu iddia edilmektedir (77).

#### **2.4.1.2 Adeziv Sistemlerin Smear Tabakası Üzerine Etkisine Göre Sınıflandırma:**

- a) Smear tabakasını modifiye eden bağlayıcı sistemler
- b) Smear tabakasını tamamen kaldıran bağlayıcı sistemler
- c) Smear tabakasını çözen bağlayıcı sistemler

#### **2.4.1.3 Adeziv Sistemleri Klinik Uygulama Basamaklarına Göre Sınıflandırma:**

- a) Etch-rinse bağlayıcı sistemler
- b) Self-etch bağlayıcı sistemler
- c) Cam İyonomer bağlayıcı sistemler

Smear tabakası üzerindeki etkiye göre sınıflandırmanın uygulama basamakları hakkında tam bilgi vermemesi, kronolojik gelişim sıralamasına göre yapılan sınıflamanın bilimsel olarak yeterli olmamasından dolayı adeziv sistemlerin sınıflaması uygulama basamaklarının sayısına göre yapılmaktadır. Bu sınıflandırma diş dokusu ile etkileşimin ön planda tutulduğu sınıflamadır (67).

##### **2.4.1.3.A Etch-rinse Adeziv Sistemler**

Bu sistemde %34-37'lik fosforik asitin mine ve dentin tabakasına uygulanmasıyla smear tabakasının tamamen ortadan kaldırılması hedeflenmiştir. İki uygulama yöntemi bulunmaktadır.

a) Üç aşamalı etch-rinse sistemler: Asit uygulaması + primer uygulaması + bağlayıcı ajan uygulamasını içeren üç basamaklı bir sistemdir (4. jenerasyon adeziv sistemler).

b) İki aşamalı etch-rinse sistemler: Asit + primer ve bağlayıcı ajan uygulamasının tek aşamaya indiği iki basamaklı bir sistemdir (5. jenerasyon adeziv sistemler) (78).

Günümüzde çoğunlukla iki aşamalı olarak kullanılan etch-rinse sisteminde ilk aşama, pürüzlendirme ve yıkama şeklindedir. Etch-rinse bağlayıcı sistemlerin mine yüzeyine yüksek bağlanma değeri gösterdiği bilinmektedir. Fakat dentine uygulanması teknik hassasiyet gerektirir. Asit uygulaması ile mine yüzeyinde mikroskobik seviyede pürüzlülük meydana gelmekte ve bu sayede restoratif materyaller ile iyi bir adezyon sağlanmaktadır. Ayrıca asit uygulanması ile mine yüzeyi temizlenmekte ve artan yüzey enerjisi ile birlikte düşük viskozitedeki rezinin penetrasyonu kolaylaşmaktadır. Uygulanan asit, mine prizmalarının etrafında makrotag, mine prizmalarının iç yüzeylerinde mikrotag oluşumunu sağlamaktadır (79, 80). Sahip olduğu hipertonic yapısı sayesinde asit, dentin sıvısının pulpadan mine-dentin sınırına olan hareketini arttırmakla birlikte dentine olan difüzyonu sınırlandırır (81).

Asit uygulamasını takiben aseton, etanol ve su gibi bir çözücü ile rezin monomer içeren primer ajan uygulanır. Hem hidrofilik hem de hidrofobik özelliğe sahip monomerler hidrofilik yapıları ile açığa çıkan kollajen fibrilleri arasına penetre olup, hidrofobik yapıları ile adeziv rezinler ile birlikte polimerize olur. Primer ajan HEMA monomeri ile kollajenleri desteklemekte ve kollajen fibrillerin arasında bulunan 15-20 nm'lik doğal mesafeyi korumaktadır. Tüm bu işlemler sonucunda primer ajan içeriği sayesinde, kollajenlerde bulunan mevcut su ile yer değiştirmiş olup nano boşluklara rezin monomer infiltrasyonunu gerçekleştirir (61, 82).

#### **2.4.1.3.B Self-etch Adeziv Sistemler**

Self-etch bağlayıcı sistemler etch-rinse sistemlere alternatif olarak geliştirilmiş olup ayrı bir asit uygulaması ve yıkama basamağı içermez. Dolayısıyla klinik uygulama süresi kısalmış ve uygulamadaki teknik hassasiyet azalmıştır. Bu sistemin temeli smear tabakasının asidik monomerler ile çözülmesi veya modifiye edilmesi esasına dayanır (6). Self-etch bağlayıcı sistemlerin içeriğinde yer alan asidik monomerler sayesinde mine ve dentinde pürüzlendirme işlemi yapılırken aynı zamanda primer ile rezin infiltrasyonu sağlanır. Dentinin aşırı pürüzlendirilmesi, çöken kollajen ağları, post operatif hassasiyet gibi etch-rinse sistemlerde karşılaşılan sorunlar self-etch sistemlerde daha az oluşmaktadır.

Self-etch adeziv sistemlerde; smear tabakası modifiye edilmekte, monomerin infiltrasyonu ve polimerizasyonu ile interdifüzyon alan oluşmakta, devamında yüzeyel

dentindeki kalsiyum ile kimyasal bağlanma sağlanmaktadır. Monomer difüzyonu, açığa çıkan kollajenin etrafını sararak hibrit tabakayı oluşturur (83).

Günümüzde self-etch bağlayıcı sistemler uygulama aşama sayılarına göre iki alt gruba ayrılmaktadır.

İki basamaklı self-etch adeziv sistemler: Mine ve dentin yüzeyine kendinden asitli primer uygulaması sonrası bağlayıcı ajanın uygulaması şeklinde kullanılır (6. jenerasyon). Etch-rinse adeziv sistemlere göre minede daha az etkinlik göstermektedir (83).

Tek basamaklı self-etch adeziv sistemler: Asit, primer ve bağlayıcı ajanın tek bir solüsyon haline getirilip uygulama basamağı tek aşamaya indirgenmiştir (7. jenerasyon) (60). Bu sistem 'All-in-one' olarak adlandırılır. Hidrofobik ve hidrofilik monomerlerin tek şişede uygulanması ile işlem basamağının ve süresinin kısılması gibi avantajları olmasına rağmen düşük bağlanma kuvveti ve dentinden tam uzaklaştırılamayan suyun, monomer polimerizasyonunu olumsuz etkilemesi dezavantajları arasında yer almaktadır (84).

Self-etch bağlayıcı sistemler pH değerine göre üç gruba ayrılmaktadır. Kuvvetli ( $\text{pH} \leq 1$ ), orta ( $\text{pH} \sim 1,5$ ) ve zayıf ( $\text{pH} \geq 2$ ) asitleme kapasitesine sahip adeziv sistemler olarak sınıflandırılır. Zayıf self-etch sistemlerde rezin uzantılarının yeterli olmaması ve hibrit tabakanın ince olması sebebiyle mikromekanik tutuculuğun yeterli olmadığı düşünülmektedir. Kuvvetli self-etch sistemlerde ise rezin uzantılarının yeterli olması ve hibrit tabakanın kalın olması sayesinde mikromekanik tutuculuğun istenen düzeyde olduğu bilinmektedir (85).

#### **2.4.1.3.C Cam İyonomer Adeziv Sistemler**

Cam iyonomer adeziv sistemler, restore edilecek diş yüzeylerine herhangi bir işlem yapılmadan kendiliğinden kimyasal olarak adezyon sağlayan tek restoratif materyaldir. Zayıf polialkenoik asitin diş yüzeyine uygulanması cam iyonomer simanların bağlanma kuvvetini arttığı belirtilmiştir (86).

#### **2.4.2 Üniversal Adezivler**

2010 yılından beri üretilmeye başlanan üniversal adezivler adeziv diş hekimliğinde yer alan son gelişmelerdendir (77, 87). Üç farklı modda kullanılabilen üniversal adezivlerin temel prensibi, etch-rinse ve self-etch adeziv sistemleri içine alarak daha basit bir uygulanmanın yapılmasıdır. Self-etch sistemlerde yer alan asitin mineyi pürüzlendirmedeki etkisi yetersiz kalmakta ve istenilen bağlanma dayanımı elde

edilememektedir. Bu durumu önlemek için selektif-etch yöntemi önerilmekle birlikte klinik uygulamada sadece mineyi asitlemek oldukça zordur (88). Multimod bir adeziv kullanılması ile bu gibi komplikasyonların önüne geçilebilir (77, 87).

Üç farklı modda kullanılan universal adezivlerin minede veya dentinde hangi modda kullanıldığında daha iyi sonuçlar verdiğine dair kesin görüş olmamasına rağmen mine de asit uygulaması ile birlikte kullanıldığında daha yüksek bağlanma dayanımı elde edildiği görülmüştür (89-91). Literatürde universal adezivlerin dentine bağlanmalarıyla ilgili farklı çalışmalar yer almaktadır. Bir çalışmada asitleme işleminin dentine olan bağlanma dayanımını arttırdığı bulunmuşken başka bir çalışmada ise bağlanmayı etkilemediği tespit edilmiştir (92-94).

Adeziv sistemlerin içerdikleri monomerler bakımından birbirleriyle benzer olmasına rağmen universal adeziv sistemler, kimyasal ve mikromekanik bağlar kurabilen monomerleri ile diğer adeziv sistemlerden farklıdır (87). Bir diğer özelliği ise mine dokusunda yer alan hidroksiapatit kristallerinin içindeki kalsiyuma iyonik bağlanabilen özel COOH veya PO<sub>4</sub> monomerleri sayesinde minede güçlü bir adezyon gerçekleştirmesidir (92). 10-metakrililoksidil dihidrojen fosfat (MDP) bu bahsedilen özel fonksiyonel monomerlerden olup diğer jenerasyon adeziv sistemlerde bulunmayan içeriklerden bir tanesidir. Sadece universal adezivlerde bulunan MDP monomeri universal sistemlerin üç farklı asitleme tekniği ile kullanılabilmesine olanak sağlar (95).

Universal adezivlerde HEMA, Bis-GMA, UDMA ve PENTA gibi monomerlerin yanı sıra bifenil dimetakrilat (BPDM) ve polialkeniok asit içeren örneklerinin olduğu bilinmektedir. Hidrofilik monomer olan HEMA ve UDMA, daha iyi rezin infiltrasyonu sağlayarak bağlanma dayanımını artırır ve monomerlerin yeterli polimerizasyonunu sağlar. Yeterli düzeyde polimerizasyonu sağlanmamış olan adeziv ajanlardan salınan artık monomerin toksik etkilere sebep olduğu bilinmektedir. Bu durumun, adeziv sistemlerin içine Bis-GMA ve PENTA gibi hidrofobik monomerlerin eklenmesi ile önlenildiği bildirilmiştir (96, 97).

Multimod kullanılan universal adezivler, self-etch tekniğinin kullanımı ve zaman avantajı ile etch-rinse adeziv sistemlerin bağlanma dayanımı kuvvetini birleştirerek 7. jenerasyon adeziv sistemlerden daha yaygın klinik kullanıma sahiptir.



## **2.5 Işıklı Sertleşen Adeziv Sistemlerin Polimerizasyonunda Kullanılan Işıklı Kaynakları**

### **2.5.1 Kuartz- Tungsten- Halojen Işıklı Kaynakları (QTH)**

Halojen ışık kaynaklarının temel prensibi, yapısında bulunan tungsten filament filtre ile geniş spektrumdaki ışığın belirli bir dalga boyuna indirgenmesi esasına dayanır. Fakat bu işlemler sırasında yüksek ısı oluşur ve bu ısının düşürülmesi ışık kaynağında bulunan fanlar aracılığı ile sağlanır. 400 mW/ cm<sup>2</sup> ve 1000 mW/ cm<sup>2</sup> arasında değişen bir ışık gücüne sahiptir. Uygulama süresi ve ışığın gücü vakaya göre ayarlanabilir (98, 99).

Oluşturduğu yüksek ısının dişe olan zararlı etkisi ve filtredeki kullanım süresine bağlı olarak etkinliğinin azalması halojen ışık kaynaklarının kullanımını kısıtlar. Bu durumdan dolayı günümüzde farklı ışık kaynakları tercih edilmektedir (100, 101).

### **2.5.2 Light Emitting Diodes Işıklı Kaynakları (LED)**

455-486 nm dalga boyunda ışık sağlayan LED ışık kaynakları elektronları iki ayrı iletken bünyesinde barındırmaktadır. Dalga boyundaki bu aralık rezin içeren sistemlerde yer alan başlatıcıların aktivasyonu için yeterlidir (102). Kullanımı kolay ve uzun ömürlü olan LED ışık kaynakları halojen ışık kaynaklarının aksine filtre gerektirmez (103).

### **2.5.3 Plazma Ark Işıkları (PAC)**

Plazma ark lambalarında oluşan mavi ışığın dalga boyu 400 - 500 nm aralığındadır. Oluşan ısıyı, yüksek yoğunluktaki beyaz ışığın filtre edilmesiyle engellemektedir. Uygulama süresi, yüksek ışık gücüyle doğru orantılı olarak azaltılmaktadır. Bu avantajlarına rağmen maliyeti yüksek bir ışık cihazıdır (104).

### **2.5.4 Argon Lazer Işıklı Kaynakları**

405-502 nm dalga boylarında ışık üreten argon lazer ışık kaynakları polimerizasyon işleminin başlatıcısı olan kamforokinon'u (CQ) aktive edebilen tek lazer sistemi olarak bilinmektedir. Polimerizasyon süresini azaltması (105), kızıl ötesi ışık olmadığı için pulpa ve çevresinde ısı artışına neden olmaması bilinen avantajları arasındadır (102).

## **2.6 Biyouyumluluk**

Biyouyumluluk, bir materyalin canlı dokuya uygulanması sonrasında canlı dokuda oluşturduğu konak cevabıdır (106). Bu tanım çerçevesinde biyouyumluluk, olumsuz konak cevabı oluşturmaması, karsinojenik etki göstermemesi ve zararlı bir madde

salgılamaması durumu olarak tanımlanmaktadır. Biyoyumlu olmayan materyaller doku ile temas sırasında metabolizmanın işleyişini değiştirebilmekte ve hücre ölümlerine sebep olabilmektedir (107).

Literatürde dental materyallerden kaynaklanan zararlı etkiler üzerine yapılan çalışmalar, rezin esaslı materyallerin ve yeni geliştirilen tedavilerin uygulanmasına bağlı olarak artış göstermektedir (108).

Adeziv diş hekimliğinde yeni teknolojiler ile üretilecek olan materyallerin mekanik, fiziksel, fonksiyonel ve estetik gibi özelliklere sahip olmasının yanı sıra biyolojik uyumlu olması da diğer özellikler kadar önemlidir. Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyoyumlu kabul edilebilmesi için bazı kriterlere sahip olması gerekmektedir (109).

1. Pulpa ve yumuşak dokuya zarar vermemelidir.
2. Dolaşım sisteminde veya difüzyonla sistemik toksik cevaba yol açmamalıdır.
3. Alerjen olmamalıdır.
4. Karsinojenik etki göstermemelidir.

### **2.6.1 Biyolojik Uyumluluğun Değerlendirilmesi**

Biyoyumluluk bir materyalin sahip olduğu stabil bir özellik değildir ve dinamik olarak devam eden bir tepki durumudur (106, 110). Çeşitli hastalıklar, yaşlanma gibi faktörlere bağlı olarak konağın verdiği cevap değişim göstermektedir. Bu durum dental materyallere karşı verilen biyolojik cevabın zamana göre değişebileceğini gösterir (111).

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyolojik uyumluluklarının incelenmesi ile ilgili ilk belge 1926 yılında Amerikan Dişhekimleri Birliği (ADA) tarafından bildirilmiştir. ADA, Uluslararası Dişhekimleri Birliği (FDI) ve Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu (ISO) tarafından 1982 yılında ortak bildirme ile biyoyumluluk testleri üç farklı yöntemle sınıflandırılmıştır (112). Bu testler;

1. İn-vitro testler (birincil ya da öncül testler)
2. İn-vivo hayvan testleri (ikincil testler)
3. Kullanım testleri

Bu testlerin standardizasyonunun sağlanması için hem ulusal (TSE 8227) hem de uluslararası (ISO 10993) kuruluşlar tarafından bir bildirme yayınlanmıştır. Bu standardizasyon ile örneklerin nasıl hazırlanacağı, materyallerin nasıl uygulanacağı ve hangi testlerin yapılmasının uygun olacağı belirlenmiştir (113).

1. İn-vitro testler (Öncül Testler):

- a. LD 50 Ağız İçi Testi
- b. LD 50 Karın İçi Testi
- c. Soluma Testi
- d. Hemolizis Testi
- e. Ames Testi
- f. Stiles Testi
- g. Dominant Letal Test
- h. Sitotoksisite Testleri

2. İn-vivo hayvan testleri (ikincil testler)

- a. Kemik İmplantasyon Testi
- b. Oral Mukoza Membran Testi
- c. Sensitizasyon Testi
- d. Subkutanöz İmplantasyon Testi

3. Kullanım Testleri:

- a. Restoratif Malzemeler için Pulpa ve Dentin Testi
- b. Kuafaj ve Pulpatomi Materyalleri Testi
- c. Endodontik Materyaller Testi
- d. Kemik İçi İmplant Materyalleri Testi

**2.6.1.1 İn-Vitro Testler (birincil veya eleme testleri)**

Canlı bir organizmanın dışında kültür kaplarında gerçekleştirilen bu testler, materyal-kültür teması esasına dayanır. İn-vitro testlerde test edilen materyalin biyoyumluluğu, materyal ile temas eden hücrelerin sayısı, büyüme oranı ve metabolik aktiviteleri ile belirlenir (114).

İN-vitro testler hızlı, standardizasyonu kolay ve maliyeti düşük testlerdir. Bu testlerin avantajı deney ortamı kontrolünün kolay sağlanması iken dezavantajı ise in-vivo ortamları

olan ilişkisidir (112). Yapılan testler başta sitotoksosite testleri olmak üzere LD50 ağız içi testi, LD50 karın içi testi gibi testleri içermektedir (115).

#### **2.6.1.1.A LD 50 Ağız İçi Testi**

Oral olarak uygulanan, deneklerin %50'sinin ölümüne yol açacak dozun belirlenmesini sağlayan bir yöntemdir.

#### **2.6.1.1.B LD 50 Karın İçi Testi**

LD 50 karın içi testi, LD 50 ağız içi test yöntemine benzer bir yöntem olmakla birlikte, karın içi enjeksiyon uygulaması ile farklılık göstermektedir.

#### **2.6.1.1.C Soluma Testi**

Gaz fazında bulunan maddelerin solunum yoluyla denek hayvanlarına verilmesi şeklinde sitotoksisitelerini inceleyen yöntemdir.

#### **2.6.1.1.D Hemoliz Testi**

Bu test sitotoksik olduğu düşünülen materyallerin kanda meydana getirdiği hemoliz değerleri ile akut toksisite indeksinin oluşturulduğu yöntemdir.

#### **2.6.1.1.E Ames Testi**

Salmonella Typhimurium bakterilerinin kültürleri ile yapılan bu yönteminde, materyalin mutajenik değerleri elde edilir.

#### **2.6.1.1.F Styles Testi**

Ames testi ile benzer olmasına rağmen fibroblast hücre kültürleri kullanılması yönünden farklılaşan test çeşididir.

#### **2.6.1.1.G Dominant Letal Testi**

Dominant letal testi toksik olduğu varsayılan materyalin üreme üzerine etkisinin araştırıldığı test yöntemidir (116).

#### **2.6.1.1.H Sitotoksosite Testleri**

Sitotoksosite genel tanımıyla hücrel toksisiteye sebep olan, metabolik dengeyi değiştiren düşük molekül ağırlıklı komponentlerle ilgilidir (117).

Bu in-vitro testlerde ana prensip, kültür ortamındaki hücrelere test materyali uygulamak ve bu işlemler sonucunda hücre sayısını ve hücrelerin büyüme hızını değerlendirmektir.

Hücre sayısı ve proliferasyonunda zamanla meydana gelen azalma materyalin sitotoksik olduğunu, kontrol grubuna kıyasla meydana gelen artış ise materyalin proliferatif olduğunu gösterir (118).

İn-vitro sitotoksisite testlerinde hücre kültürü, doku ve organ kültürleri kullanılır. Dental materyaller için yapılan sitotoksisite testlerinde en çok kullanılan sistemler hücre kültürleridir (119). Sitotoksisite değerlendirilmesinde L929 veya Balb/ 3T3 fare fibroblast hücre hattının kullanımı önerilmektedir (1, 120, 121). Bu hücreler kolay bulanabilen, hızlı çoğalabilen ve homojen bir morfolojiye sahip olan hücre tipleridir. Sahip oldukları büyüme karakterleri ile sitotoksisite değerlendirmelerinde deneyin tekrarlanabilmesini sağlamaktadır (122).

Literatürde yer alan çalışmalarda dental materyallerin sitotoksisite incelemelerinde pulpadan elde edilen hücrelerin fare fibroblastlarına göre farklı hassasiyete sahip oldukları gösterilmiştir (123). Fakat kısıtlı miktarda elde edilebilmeleri, standizasyonlarının zor olması ve uzun süren deneyler sonunda protein yapılarında değişiklik göstermesi pulpadan elde edilen hücrelerin kullanımı için dezavantajdır (123).

Sitotoksisite çalışmaları için geliştirilen yöntemler ASTM (American Society for Testing and Materials), BSI (The British Standards Institute) ve ISO gibi farklı kuruluşlar tarafınca belirlenmiştir (112).

ISO standartlarında yer alan yöntemler ile birlikte önerilen test yöntemleri (124);

- 1) a-Direkt hücre kültürü
  - i. Direkt temas testi
  - ii. Ekstrakt testi
- b- Bariyer test metodu
- 2) Agar difüzyon testi
- 3) Filtre difüzyon testi
- 4) Dentin bariyer testi

Hücre ile materyalin teması, araştırılan örneklerin kendisinin uygulanması ile direkt ya da örneklerden elde edilen ekstrat sıvılarının uygulanması ile indirekt olmak üzere başlıca iki yol ile biyolojik sistem üzerine gerçekleştirilir (121, 125). Dental materyal ile kültür ortamının fiziksel temasta olduğu direkt temas testinde, deney materyali kültür içerisinde yer alan hücrelere kısa sürelerde (> 24 saat) uygulanmaktadır (124).

Araştırılacak örneklerin kültür medyumu sıvısı, distile su veya yapay tükürük gibi ortamlarda sisteme uygulanıncaya kadar bekletilmesi işlemine ‘ekstraksiyon’, bütün bu işlemler sonunda elde edilen çözeltiye ise ‘ekstrat’ adı verilir (126).

Restoratif materyallerden salınan artık monomerlerin hedefinde ağız mukozası bulunur. İn-vitro testlerin sitotoksik değerlendirmelerinde sadece materyalin son ürün hali değil, materyalden salınan komponentleri içeren ekstratların da incelenmesinin uygun olduğu ISO 10993-5’te bildirilmiştir (127). Sitotoksikite testlerinde kullanılan in-vitro testlerin birçok avantajı ve dezavantajı bulunmaktadır. Çabuk sonuç vermesi, ucuz bir yöntem olması, hayvan deneylerinin sayısını azaltması, standardizasyonunun sağlanabilmesi ve tekrarlanabilir olması sahip olduğu bazı avantajları arasındadır. Tek tip hücre kullanımı ile kısıtlı olması ve kültür ortamının koruyucu mekanizmalardan yoksun olması ise dezavantajlarındandır (114).

### **2.6.1.2 İkincil Testler (Hayvan Deneyleri)**

İN-vitro olarak gerçekleştirilen birincil testlerde biyoyumluluğu incelenen materyaller fare, köpek, kedi, koyun ve maymun gibi deney hayvanlarının üstünde teste tabii tutulmaktadır. İn-vitro testler ile kıyaslama yapıldığında daha kapsamlı sonuçlar elde edilmesine rağmen değişkenlerin kontrol edilmesi zordur. Bu deneylerin uzun sürmesi ve maliyetli olmasının yanı sıra etik kurallar ve deneylerin hayvanlar üstünde gerçekleştirilecek olması ciddi dezavantajları arasındadır (106, 114, 123).

#### **2.6.1.2.A Kemik İmplantasyon Testi**

İncelenecek olan materyalin kemik içine implantasyonu sonrasında meydana gelen reaksiyonlara göre sitotoksikitenin değerlendirildiği yöntemdir. Standart bir yöntem değildir.

#### **2.6.1.2.B Oral Mukoza Membran Testi**

Test materyallerinin deney hayvanlarının palatinal veya yanak mukozasına yerleştirilmesiyle oluşabilecek reaksiyonların değerlendirildiği yöntemdir.

#### **2.6.1.2.C Sentisizasyon Testi**

İncelenecek olan malzemelerin, deney hayvanlarının derisi hassaslaştırıldıktan ortalama 24 saat – 2 haftalık bir dönemde yama testi ile deri üzerine uygulanması esasına dayanan testtir.

#### **2.6.1.2.D Subkutanöz İmplantasyon Testi**

Cerrahi bir yöntemdir. Test materyallerinin derin dermis bölgesine yerleştirilmesi ile sitotoksik değerlendirmesinin yapıldığı yöntemdir (106, 114).

#### **2.6.1.3 Kullanım Testleri**

Kullanım testleri hem hayvanlarda hem insanlarda uygulanabilen, fonksiyon altında materyalleri değerlendirebilen bir yöntemdir (118). İncelenecek materyallerin klinik denemeleri olarak adlandırılır (106). Direkt insanlar üzerinde veya insana benzer memeli hayvanlar üzerinde test edilmesi FDI tarafından önerilmektedir (128). Her ne kadar FDI ideal denek olarak insanı önermiş olsa da modern yaşamın etik ve güvenilirlik standartlarına olan ihtiyacı bu deneyin en önemli dezavantajıdır (128).

Kullanım testlerinde seçilecek materyal önemlidir. İn-vitro ve klinik çalışmalar ile biyolojik uyumluluğu ispatlanmış materyallerin kullanımı önerilir (129). En yararlı biyouyumluluk testinin olmasının yanı sıra bazı dezavantajları bulunmaktadır. Olası komplikasyonlar, testin maliyetli olması, kontrol zorluğu ve etik kurullardan onay alma zorluğu bu örneklerden bazılarıdır (106, 114).

#### **2.6.1.3.A Restoratif Malzemeler için Pulpa ve Dentin Testi**

Deney hayvanlarında pulpaya 1 mm yaklaşıncaya kadar açılan kavitelere test materyallerinin uygulanıp kontrol grubu ile karşılaştırılması esasına dayanan yöntemdir.

#### **2.6.1.3.B Kuafaj ve Pulpatomi Materyalleri Testi**

Steril bir frez yardımı ile perfore edilen pulpaya direkt olarak test materyalinin uygulanarak 3, 90, 180 günlük tamir dentini oluşumu veya enflamasyonun değerlendirildiği test yöntemidir.

#### **2.6.1.3.C Endodontik Materyal Testi**

Enfekte olmayan köklere yerleştirilen kök kanal dolgu patlarının histolojik ve klinik etkilerinin incelendiği testtir.

#### **2.6.1.3.D Kemik İçi İmplant Materyalleri Testi**

Kemik ile uzun dönem temasta olacak olan materyallere ait test örneklerinin toksisitesinin in-vivo olarak incelendiği bir yöntemdir (116, 130).

## **2.7 Sitotoksosite Değerlendirme Yöntemleri**

Materyallerin sitotoksosite değerlendirilmesinde hücre ölümü, membran bütünlüğünün bozulması, hücrenin morfolojik yapısının değişmesi gibi bazı kriterler tüm araştırmacılar tarafından kabul edilmektedir (131, 132). Değerlendirme yöntemleri morfolojik, biyokimyasal ve genetik olmak üzere 3 grupta sınıflandırılır.

### **2.7.1 Morfolojik Yöntemler**

Morfolojik yöntemler deney materyalinin uygulandığı bölgedeki hücrelerde meydana gelen morfolojik değişimleri ve toksik etkileri göstermektedir (130). Hücre çekirdeğinde küçülme, sitoplazmanın parçalanması gibi morfolojik değişimler sitotoksik etkinin belirtileri arasında yer alır.

### **2.7.2 Biyokimyasal Yöntemler**

Dental materyallerin sitotoksitesini değerlendirmede en yaygın kullanılan yöntem membran bütünlüğü testidir. Bu test hücre proliferasyonunu ölçen yöntem olarak da düşünölmektedir. Deney materyalinin ekiminden sonra kültürde yer alan hücre sayılarının ölçölmesi ile büyüme eğrisi hesap edilir (130). Sitotoksik etki, 96 kuyucuklu flasklarla (96 well plates/ mikropate) yapılan biyokimyasal analiz ile elde edilir. 96 kuyucuklu flasklar sayesinde laboratuvar aşamaları kolaylaştırılmakta ve çalışma esnasında oluşabilecek hatalar kontrol altına alınabilmektedir. Flaskların minyatürasyonu ile fazla sayıda örnek eş zamanlı ve hızlı bir şekilde çalışılırken kültür ortamı açısından da gerekli standardizasyon sağlanabilmektedir. Biyokimyasal yöntemler ile maliyetin azaltılmış olması başka bir avantaj olarak bilinir (133).

Hücre proliferasyonunun ve canlılığının ölçölmesinde hem in-vitro hem de in-vivo olarak kullanılan metodlar başlıca metabolik aktivite, reproduktif, permeabilite ve direkt proliferasyon yöntemleri olmak üzere dört grupta sınıflandırılmıştır (134).

#### **2.7.2.1 Reproduktif Testler**

Flask içerisine düşük dansitede ekilen ve belirli bir büyüme fazından sonra koloni sayısı belirlenirken koloni oluşturabilme yeteneğine sahip hücrelerin belirlendiği test reproduktif testtir. Canlı hücre sayısının belirlendiği en güvenilir test olmasına rağmen uzun sürede yapılması ve araştırmacılar için pratik olmaması dezavantajları arasındadır (130).



### **2.7.2.2 Permeabilite Testi**

Kimyasal bir boya ile hasarlı hücreleri ve boyanmamış hücrelerin sayılması prensibiyle çalışan permeabilite testi ucuz ve az sayıda hücre gerektirir (130).

### **2.7.2.3 Metabolik Aktivite Testleri**

Bütün hücreler canlılığını sürdürmek ve hayati fonksiyonlarını devam ettirebilmek için enerjiye ihtiyaç duyar. Fakat çeşitli sebeplerden dolayı hücresel hasarın olduğu durumlarda gerekli enerji sağlanamaz. Bu prensipten yola çıkan metabolik aktivite testleri, mitokondriyal aktiviteyi ölçer. Bu yöntemlerde hücreler 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid (XTT), 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (MTT) ve 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfenil)-2H-tetrazolyum (WST-1) gibi tetrazolyum tuzları ile inkübe edilmektedir. Bütün bu yöntemler arasında farklılıklar olmasına rağmen ortak nokta, tetrazolyum tuzlarının formazan olarak adlandırılan renkli son ürünlere indirgenmesidir.

XTT yöntemi ile MTT yöntemi arasında bir takım farklılıklar bulunmaktadır. MTT yöntemi ile suda çözünmeyen bir formazan bileşiği oluşmasına rağmen XTT yöntemi ile suda çözünen bir boya meydana gelmektedir. Bu farklılık ile XTT yöntemi proliferasyon ölçümünde büyük bir avantaj sağlamaktadır. Radyoaktif izotoplar kullanılmadan hücre canlılığını ve hücre sayımını yapabilmesi XTT yönteminin bir başka avantajı olarak yer alır. XTT gibi suda çözünen formazan ürünü kullanan WST-1 yönteminin en büyük avantajı tripsinize etme gibi basamakların olmaması ve elde edilen verilerin aynı plate'den yapılabilmesidir (133).

## **2.8 Hücre Kültürleri**

Canlı dokulardan saptanan parçaların, uygun koşullarda proliferasyonu sağlanarak kullanılan deney materyalinin kültürler üzerinde meydana getirdiği etkileri belirlemek için kullanılan yöntemdir (109).

Hücre kültürlerinin asıl kullanım amacı, canlı dokuların vücut dışı ortamda yaşatılarak çoğaltılmasını sağlamaktır. Bu etki sayesinde canlı dokuların laboratuvar ortamında gelişimi taklit edilmektedir. Hücre kültürleri, araştırmacıdan bağımsız olup tekrarlanabilen ve canlı hayvanlara zarar vermeyen uygulamalardır. Sahip olduğu bu avantajlar sebebi ile yaygın bir kullanım alanı vardır (135).

Hücre üretiminde kullanılan malzemelerin maliyeti, hassas bir çalışma gerektirmesi gibi olumsuz yönleri hücre kültürü yönteminin dezavantajları arasında yer alır (119). Hücre kültürü işleminin yapıldığı laminar flow kabinlerin, kullanım öncesinde UV (ultraviyole, morötesi) ışıkla sterilizasyonunun sağlanması gerekir. Hücreler yaklaşık olarak %5 CO<sub>2</sub> içeren ortamda üretildikleri için CO<sub>2</sub> etüvlerinden yararlanılmaktadır (136).

### **2.8.1 Hücre Kültürlerinin Sınıflandırılması**

Farklı hücrelerden elde edilen hücre kültürleri üç grupta sınıflandırılmıştır (134). Bunlar; primer hücre kültürleri, devamlı hücre kültürleri ve diploid hücre kültürleridir. Alındığı orijinal dokunun fenotip ve genotip olarak aynı özelliklerine sahip olan primer hücre hattının, pasajlanmasının kısıtlı olması dezavantajı olarak bilinir (116, 134). Devamlı hücre kültürlerinin pasaj sayıları, sınırsız olmalarına rağmen alındıkları hücreden farklı bir karyotipe sahip özelleştirilmiş hücre kültürleridir. Primer hücrelerin pasajlanması ile elde edilen diploid hücreler orjin aldıkları hücrenin karyotipini % 80-90 oranında göstermektedir.

Sitotoksikite değerlendirilmesinde primer hücrelerin devamlı hücrelere göre daha etkili olacağı görülmüştür. Sitotoksik deney materyaline verilen metabolik cevapta primer ve devamlı hücre kültürleri arasında bazı farklılıklar bulunmaktadır. Devamlı hücre kültürlerinin genetik ve metabolik stabiliteleri nedeniyle test sonuçlarının standardizasyonunda kolaylık sağlar (137).

### **2.8.2 Hücre Kültürlerinde Kullanılan Hücre Hatları**

Sitotoksik etkisi incelenecek olan dental materyalin hücre tipi in-vitro hücre kültürü çalışmalarında önemli bir faktördür. Çalışmalarda yaygın olarak kullanılan devamlı hücre hatları (cell line); insan epitel hücreleri (HeLa) ve fare fibroblastları (L929, Balb/ 3T3) olarak bilinmektedir. Bunlara ek olarak gingival, mukozal ve pulpal fibroblastlar ve son yıllarda kullanılmaya başlanılan pulpa kök hücreleri de yer almaktadır (138, 139).

## **2.9 Adeziv Diş Hekimliğinde Biyouyumluluk**

Literatürde yer alan güncel çalışmalar, restoratif materyallerden canlı dokular üzerinde toksik etki yapabilecek maddeler salındığını ortaya koymuştur (137). Zin esaslı materyallerin uzun dönemde pulpal enflamasyona, postoperatif hassasiyete ve lokal immünolojik etkilere sebep olduğu bilinmektedir. Adeziv sistemler içerisinde yer alan ve suda çözünen monomerler dentin tübülleri ile pulpaya ulaşabilir. Preparasyon sonrası

mevcut dentin kalınlığının yeterli olması ile adeziv sistemler pulpal enflamasyona neden olmaz. Ancak dentin kalınlığı azaldığında mevcut tübüllerin sayısı ve çapı artacağından toksik etki oluşumuna sebep olabilir (121, 140).

Rezin esaslı dental materyaller; HEMA, Bis-GMA, TEGDMA ve UDMA gibi farklı monomerler içerir (141). Adeziv sistemlerde bulunan hidrofobik monomerler (Bis-GMA, UDMA) hidrofilik monomerlere (HEMA, TEGDMA) kıyasla daha fazla sitotoksik etki göstermektedir (115). Hidrofilik monomerler dentin sıvılarında ilerleyebilmekte ve hidrofobik monomerleri de dentin tübüllerinde taşıyarak pulpada sitotoksik etkiye sebep olabilmektedir. Hidrofilik ve hidrofobik grupların birarada gösterdiği toksik etki tek başlarına meydana getirdikleri toksik etkiden daha fazladır (141).

Polimerizasyonu tam gerçekleşmemiş monomerler, canlı pulpa için risk teşkil etmektedir. Dentine asit işlemi yapıldığı durumlarda geçirgenlik artmakta ve polimerize olmamış monomerlerin difüzyonunda artış olabilmektedir (142). Bu nedenle etch-rinse sistemlerin sığ kaviterlerde, self-etch sistemlerin derin kaviterlerde kullanılması önerilir. Preparasyon sırasında oluşan smear tabakası salınan artık monomerlerin pulpaya geçişinde bir bariyer görevi görmekle birlikte bu tabaka self-etch sistemlerde kaldırılmaz (140, 142). Rezin esaslı dental materyaller pulpa üzerinde lokal sitotoksik etki gösterirken sistemik bir toksisite literatürde yer alan çalışmalarda bulunmamaktadır (143, 144).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, farklı içeriklere ve farklı pH'lara sahip, kullanım sıklığı fazla olan, ışıkla polimerize olan dört farklı universal adeziv sistemle birlikte kimyasal olarak polimerize olan universal adeziv sistemin L929 fibroblast hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri hücre kültürü ortamı oluşturularak, eş zamanlı hücre analizi cihazı olan xCelligence cihazı ile incelendi.

Bu araştırma, Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezi (MEİTAM), Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ve Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Bu çalışma için Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul'una başvuruldu ve 2018/ 374 karar numaralı etik kurul onayı alındı (EK-1).

#### 3.1 Deney Örneklerinin Hazırlanması

Çalışmada hücre kültürleri üzerinde sitotoksikite değerlendirilmesi yapılacak olan G-Premio Bond (Gc Europe), Tokuyama Universal Bond (Tokuyama), Quick Bond Universal (Kuraray), Single Bond Universal (3M ESPE), Prime&Bond Universal (Dentsply) adeziv sistemler temin edildi. Bu 5 farklı deney grubuna ek olarak gruplar ile aynı hücre kültür ortamında bulundurulmuş herhangi bir materyal içermeyen, sadece L929 fibroblast hücre hattı içeren kontrol grubu eklendi. Kullanılan adeziv sistemler Resim 3.1'de, içerikleri ve üretici firmaları ise Tablo 3.1'de gösterilmiştir.



**Resim 3.1** Adeziv sistemler (a: G-Premio Bond, b: Tokuyama Üiversal Bond, c: Üiversal Bond Quick, d: Prime&Bond Üiversal, e: Single Bond Üiversal)

**Tablo 3.1** Kullanılan adeziv sistemlerin kimyasal içerikleri ve üretici firmaları

Adeziv sistemler	Kimyasal İçerik	Üretici Firma
G-Premio Bond	MDP, 4-MET, MEPS, Metakrilat monomer, aseton, su, silan	GC Europe (Lüven, Belçika)
Tokuyama Üniversal Bond	Bis-GMA, TEGDMA, HEMA, MTU-6, isopropanol, aseton, su	Tokuyama (Kaliforniya, ABD)
Quick Üniversal Bond	Bis-GMA, HEMA, MDP, hidrofilik amid monomer, etanol, su, silan	Kuraray (Teksas, ABD)
Prime&Bond Üniversal	PENTA,10-MDP, isopropanol, aseton, su	Dentsply Sirona (Pensilvanya, ABD)
Single Bond Üniversal	10-MDP, HEMA, MDPB, silan, dimetakrilat rezin, etanol, su	3M ESPE (Minnesota, ABD)

Kullanılan adeziv sistemlerin sitotoksik değerlerinin elde edilmesi için sırasıyla; test örneklerinin hazırlanması, sterilizasyonu, hücre kültürünün hazırlanması ve xCELLigence yöntemi ile değerlendirilmesi işlemleri yapıldı. Tüm işlemler, standardizasyonun sağlanması amacı ile ISO 10993–5 protokolüne uygun olarak yapıldı. Üniversal adeziv sistemler (self-cure Tokuyama Üniversal Bond hariç) uygun sürelerde LED (Valo Led, Ultradent) ışık cihazı ile polimerize edildi.

Sitotoksosite testleri MEİTAM'da gerçekleştirildi. Bu çalışmada kullanılan L929 isimli fibroblast hücre hattı Tarım ve Köy İşlerine Bakanlığına bağlı Şap Enstitüsünden temin edildi. Şap Enstitüsünden temin edilen hücreler Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Bilimsel Araştırma Merkezindeki hücre kültürü modülünde 25 cm<sup>2</sup> ve 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklarda, % 5 CO<sub>2</sub>, % 95 nem içeren karbondioksitli inkübatör ortamında tutularak çoğaltıldı. "Dulbecco'nun Modifiye Eagle Medyumu" (DMEM), % 10 oranında fetal sığır serumu (FBS) ve %1 oranında antibiyotik (100 IU/ mL penisilin-streptomisin) hücreler için besiyeri amacıyla kullanıldı (Tablo 3.2). Sitotoksosite testi için gerekli hücre yoğunluğu elde edilene kadar haftada iki kez pasajlanarak flasklarda çoğaltılan hücreler 37 °C'de nemli atmosferde tutuldu. % 0.05 tripsin solüsyonu ile hücrelerin flasktan ayrılması sağlandı. Bütün bu prosedürler UV ışıkla sterilizasyonu sağlanan laminar akımlı kabin içerisinde gerçekleştirildi. Süspanse hale gelen hücrelere tripsinin etkisini nötralize etmek amacıyla DMEM eklendi.

**Tablo 3.2** Hücre kültüründe kullanılan besiyerlerinin üretici firmaları

Hücre Kültürü Besi Yeri	Üretici Firma
Dulbecco'nun Modifiye Eagle Medyumu	Sigma Aldrich Chemie, Almanya
Föetal Sığır Serum	Biochrom KG, Almanya
Penisilin/ Streptomisin	Biochrom KG, Almanya

## 3.2 Hücre Kültürü Teknikleri

### 3.2.1 Hücre Hattının Açılması

Sıvı azot buharında uzun süre tutulan hücreler, çözünmeleri için 37 °C'lik su banyosunda tutuldu. Çözülmüş halde bulunan hücreler flasklara konularak 3-4 saat boyunca 37 °C, % 5 CO<sub>2</sub> ve 1 atm basınç ile muamele edilerek inkübasyona bırakıldı. Flasklara konulmadan önce hücreler, % 20 FBS içeren medyum ile muamele edilirken, işlemler sonunda % 10 FBS içeren medyum ile değiştirildi.

### 3.2.2 Hücrelerin Çoğaltılması

L929 fare fibroblast hücreleri, %10 FBS ve %1 antibiyotik (100 IU/ mL penisilin-streptomisin) içeren DMEM medyumunda % 70 yoğunluğa gelinceye kadar pasajlanmak suretiyle çoğaltıldı.

### 3.2.3 Hücrelerin Pasajlanması

Flasklarda istenilen yoğunluğa ulaşan hücrelerden % 0.05'lik tripsin aracılığı ile medyum uzaklaştırıldı. Flaskların 37 °C'lik ve %5'lik CO<sub>2</sub> etüvde 2-3 dakika bekletilmesi ile hücrelerin flasklardan kontrollü bir şekilde ayrılması sağlandı. Hücrelerdeki medyumun uzaklaştırılması için kullanılan tripsinin etkisini nötralize etmek amacıyla tripsinle eşit miktarda olacak şekilde medyum eklendi.

### 3.2.4 Hücre Sayımı

Süspansiyonun mililitresinde yer alan hücre sayısını hesaplamak için hemasitometre ve aşağıda yer alan formül kullanıldı.

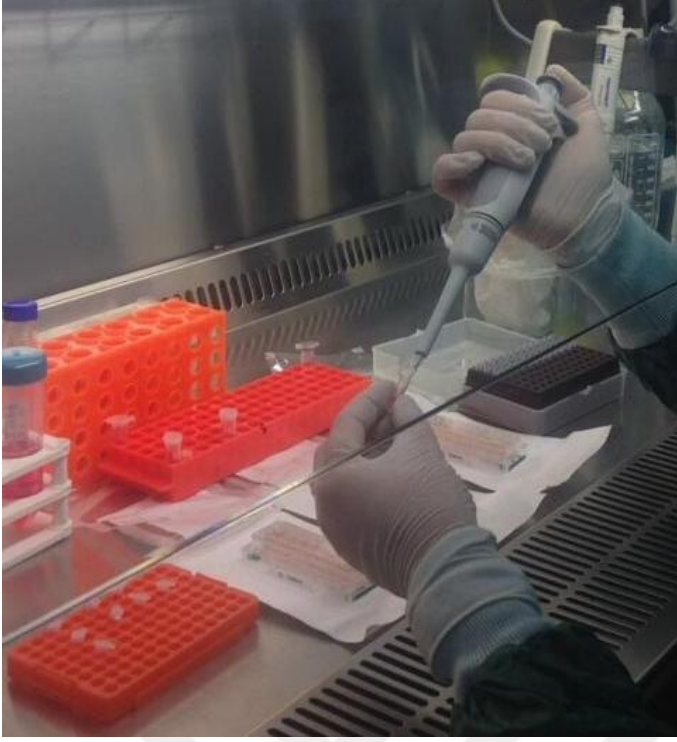
Toplam hücre sayısı/ ml = Hemasitometre sayım sonucu x 10<sup>4</sup> x Medyum miktarı(ml)

### 3.3 Ekstraksiyon Sıvısının Hazırlanması ve Ekstraksiyon İşlemi

Çalışmamızda ekstraksiyon sıvısı olarak yapay tükürük tercih edildi. Yapay tükürük solüsyonunun içeriğinde 136.8 mM NaCl (sodyum klorür), 3.0 mM KCl (potasyum klorür), 2.5 mM CaCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (kalsiyum klorür), 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (magnezyum klorür), 0.5 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.10H<sub>2</sub>O (sodyum sülfat), 4.2 mM NaHCO<sub>3</sub> (sodyum bikarbonat), ve 1.0 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O (dipotasyum fosfat) olacak şekilde hazırlandı.

UV ışıkla sterilizasyonu sağlanan laminer akımlı kabin içerisinde, hazırlanan deney örnekleri ependorflara konulduktan sonra üzerlerine 1 ml yapay tükürük solüsyonu ilave edildi (Resim 3.2). Tüm bu ekstraksiyon işlemlerinden sonra elde edilecek olan ekstraksiyon sıvısı, hücre kültürlerine uygulanacağından dolayı takip edilen işlemler, UV ışıkla sterilizasyonu sağlanan laminer akımlı kabin içerisinde gerçekleştirildi (Resim 3.3). Örnekler 24, 48 ve 72 saatlik ayrı bekleme sürelerine sahip oldukları için ayrı ependorflara yerleştirilerek CO<sub>2</sub>'li inkübatörlerde beklemeye bırakıldı (Resim 3.4).





**Resim 3.2** Laminer akımlı kabinde örneklere yapay tükürük solüsyonunun uygulanması



**Resim 3.3** Elde edilen ekstrat sıvılarının E-Plate 16'lara uygulanması



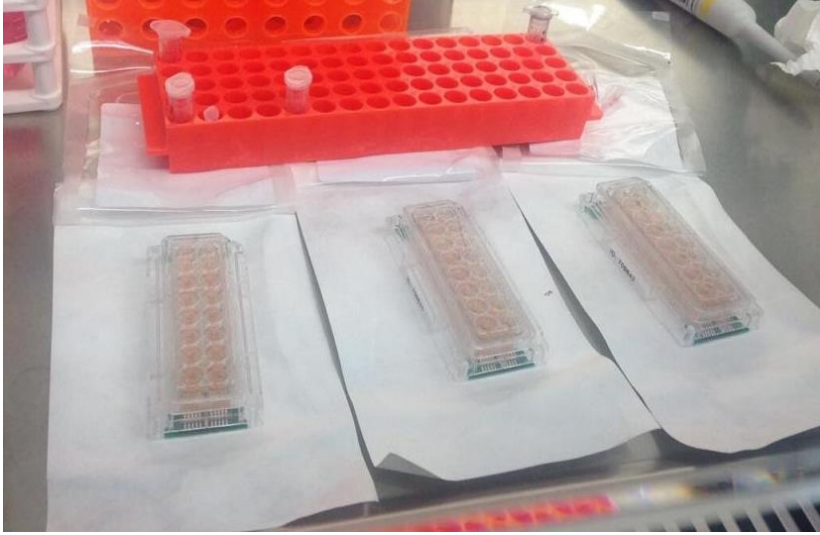
**Resim 3.4** %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatör

### **Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi**

Gerçek zamanlı hücre analiz sistemi (xCELLigence) RTCA analizörü, RTCA DP istasyonu, entegre yazılım ile RTCA bilgisayar ve E-plate 16 gibi 4 ana bileşeni içermekte olup bu sistemin temelini E-plate 16 oluşturmaktadır. Yaygın bir kullanıma sahip olan 96 kuyucuklu plakalar ile benzer bir uygulamaya sahip olan E-plate 16'lar tek kullanımlık cihazlardır (Resim 3.5). İki cihaz arasındaki önemli farklar; E-plate 16'nın zemininde altın plakalar olması ve her bir kuyucukta ayrı deney yapılması ile sonuçların da ayrı değerlendirilmesi olarak sayılır.

Her bir kuyucuğun toplam zemin alanının yaklaşık %80'i, hücrelerin fizyolojik değişimlerini tespit edebilen dairesel elektrodlar ile kaplıdır. Bu ölçümler elektrodların empedans değişimleri ile yapılmaktadır. RTCA ölçümleri sırasında elektrodlara uygulanan voltaj 20 mV (RMS) civarındadır.

Yapılan deneylerde ortalama değer, maksimum ve minimum değer, standart sapma (SS) ve hücre proliferasyon değerleri (%) gibi parametreler RTCA yazılımı sayesinde elde edilmektedir.



**Resim 3.5** E-plate 16

### **3.4 Hücre Proliferasyon Çalışması**

Bu çalışmada kullanılan G-Premio Bond, Üiversal Bond Quick, Tokuyama Üiversal Bond, Prime&Bond Üiversal ve Single Bond Üiversal adeziv sistemlerden elde edilen ekstraktların in-vitro sitotoksiteleri, gerçek zamanlı hücre analiz cihazı kullanılarak değerlendirildi. xCELLigence cihazı (Roche Applied Science and ACEA Biosciences) üretici talimatlarına göre kullanıldı.

Çalışmada, her bir kuyucuğu 250 µL hacminde, zemin çapı 5 mm olan ve 16 kuyucuktan oluşan E-plate 16 kullanıldı.

L929 hücrelerin UV ışıkla sterilizasyonu sağlanan laminar akımlı kabin içerisinde kuyucuklara ekimi yapıldıktan sonra plateler inkübatörün içerisine yerleştirildi ve ölçümler arası 1'er saat olacak şekilde hücre büyümeleri periyodik olarak takip edildi. Kuyucuklara ekilen L929 fare fibroblast hücreleri platelerin kuyucuk tabanına yerleşip uygun besin ve O<sub>2</sub>/ CO<sub>2</sub> ortamında büyümelerini sürdürerek hücrelerin hızlı büyüme fazına (Log fazı) girmeleri sağlandı. Deney gruplarının ekileceği kuyucuklara sitotoksik etkinliği değerlendirilecek adeziv sistemler 10 µL hacim olacak şekilde uygulandı. Aynı deney plate'i içerisinde hiçbir adeziv ajan içermeyen, sadece medyum solüsyonu ve hücre içeren kontrol grubu eklendi. Bütün bu işlemler sonucunda plate inkübatöre yerleştirildi (Resim 3.6). Ekstraksiyon sıvısının farklı zamanlarda (24, 48 ve 72. saat) uygulanmasının ardından 1'er saatlik ölçümlere devam edildi (Resim 3.7). Xcelligence testi ile deney

materyallerin L929 fare fibroblastlar hücreleri üzerinde 24, 48 ve 72. saatlerdeki sitotoksik etkileri değerlendirildi ve bulgular ile bütün deney gruplarına ait ortalama hücresel canlılık yüzdeleri hesaplandı. Deney bitiminde elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.



**Resim 3.6** E-Plate 16'lardan veri elde edilmesi için inkübatöre yerleştirilmesi



**Resim 3.7** Verilerin aktarıldığı monitör

### **3.5 İstatistiksel Değerlendirme**

Bu bilimsel çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesinde SPSS 22.0 bilgisayar programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistiklerden ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler kullanıldı. Uygulama öncesi alınan ölçümler ile tedaviden sonra belirlenen saat dilimlerinin ölçümlerinin karşılaştırılması için tekrarlanan ölçümlerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandı. Küresellik ön şartının sağlanıp sağlanmadığına “Mauchly’s test of Sphericity” ile bakıldı. Küresellik ön şartı sağlanmadığı için tekrarlanan ölçümler arasındaki farka Greenhouse-Geise test sonucuna bakılarak karar verildi. İkiden fazla bağımsız gruplar arasındaki ölçüm farkları için ANOVA testi yapıldı. Fark bulunan gruplarda ikili karşılaştırmalar için Post Hoc testlerden Tukey testi kullanıldı. Tüm karşılaştırmalar için istatistik önem seviyesi  $p < 0,05$  olarak alındı.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Ünlversal Adeziv Sistemlerin Sitotoksisite Bulguları

Bu alışmada, Restoratif Diş Tedavisinde kullanılan ünlversal adeziv sistemlerin (G-Premio Bond, GC; Quick Bond Ünlversal, Kuraray; Tokuyama Ünlversal Bond, Tokuyama; Prime&Bond Ünlversal, Dentsply; Single Bond Ünlversal, 3M ESPE) zamana bağlı sitotoksik etkileri L929 fare fibroblast hücre hattı üzerinde xCELLigence yöntemi ile değerlendirildi.

Xcelligence testi ile materyallerin canlı hücreler üzerindeki 24, 48 ve 72. saatlerdeki sitotoksik etkileri değerlendirildi ve istatistiksel analizler sonucu elde edilen değerler karşılaştırıldı.

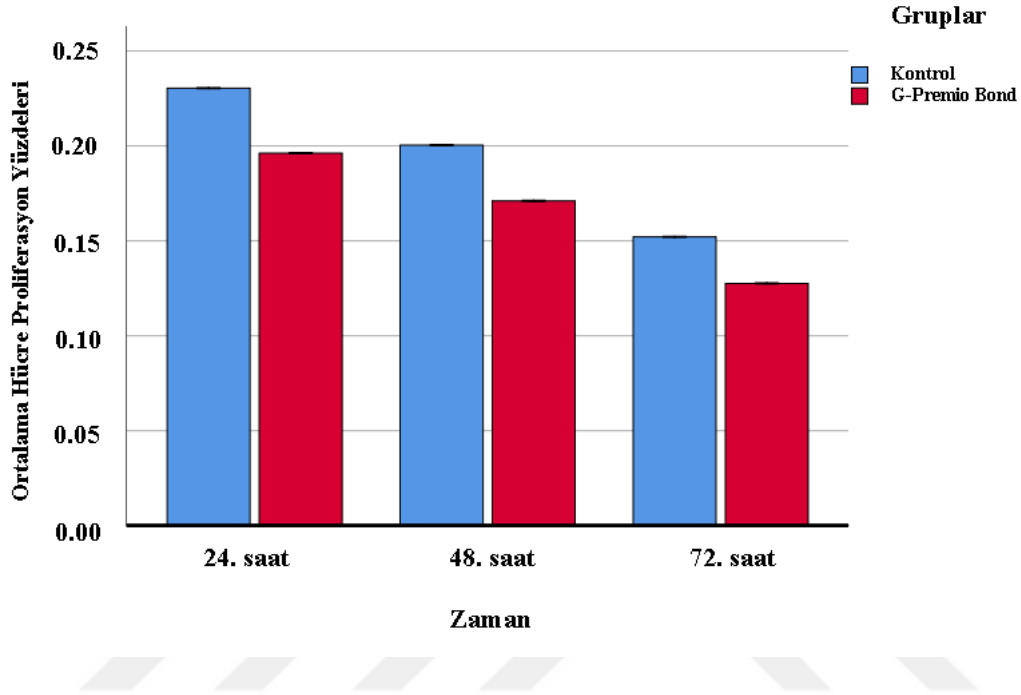
Bu alışmada, L929 hücre hattı üzerinde sitotoksik etkileri araştırılan tüm adeziv sistemlerin farklı değerler gösterdiği görüldü.

#### 4.1.1 G-Premio Bond'un Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi

G-Premio Bond grubundan elde edilen sonuç ile kontrol grubunun 24. saatteki değerleri arasında anlamlı fark olduğu görüldü ( $p < 0.05$ ). G-Premio Bond adeziv sisteminden 24. saat bitiminde elde edilen ekstratın canlı hücrelere uygulanması sonucu hücrelerde sitotoksik etki meydana geldi, hücreyel proliferasyon azaldı.

G-Premio Bond'dan 48. saat sonunda elde edilen ekstratın L929 fibroblast hücrelerine uygulanmasının sitotoksik etki gösterdiği ve kontrol grubuyla arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ ).

G-Premio Bond'dan 72. saatte elde edilen ekstratın hücreler üzerinde, kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek değerler göstererek sitotoksik etkiye sebep olduğu görüldü ( $p < 0.05$ ). G-Premio Bond'un sahip olduğu toksik etkinin zamana bağlı olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Kontrol ve G-Premio Bond grupları arasındaki zamana bağlı ortalama hücre proliferasyon değerlerinin (%) karşılaştırılması Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.1:** Kontrol ve G-Premio Bond grupları arasındaki zamana bağlı ortalama hücre proliferasyon yüzdelerinin karşılaştırılması

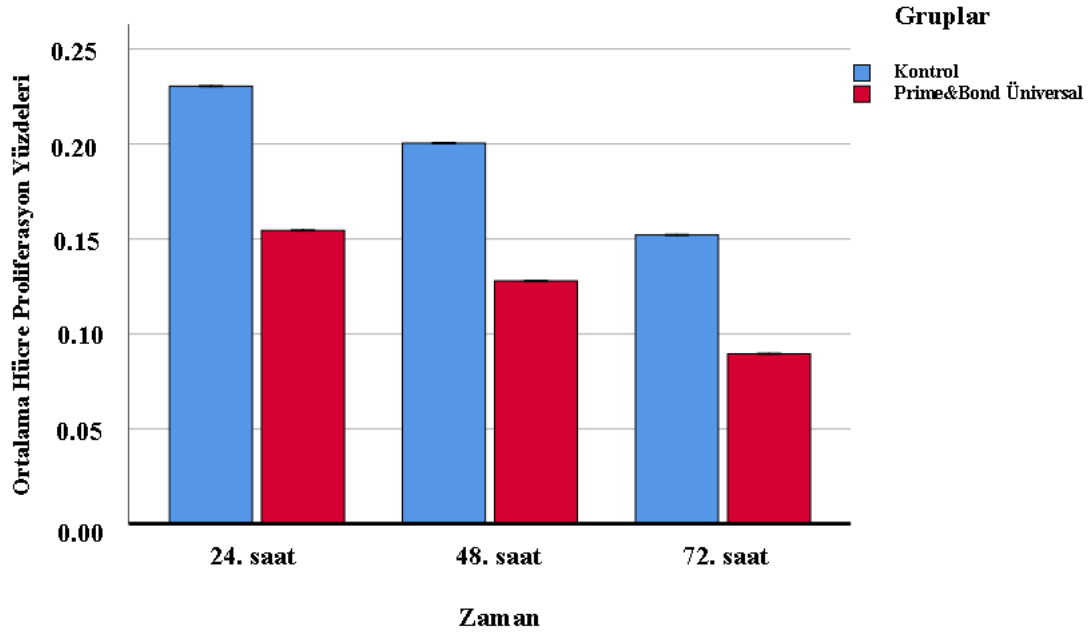
#### 4.1.2 Prime&Bond Üiversal'in Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi

Prime&Bond Üiversal'den 24 saat sonunda elde edilen ekstraktın uygulanması L929 hücreleri üzerinde sitotoksik etkiye sahip olup kontrol grubu ile Prime&Bond Üiversal uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ).

Prime&Bond Üiversal'den 48. saatte elde edilen ekstratların hücre hattı üzerine uygulanması ile hücresel canlılık azaldı. Kontrol grubunun 48. saat verileri ile Prime&Bond Üiversal'den 48. saat sonunda elde edilen veriler arasında anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ).

72 saat sonundaki mevcut ekstraktın hücrelere uygulanması ile istatistik olarak anlamlı sitotoksikite meydana geldi ( $p < 0.05$ ). Bütün zamanlar karşılaştırıldığında en düşük hücresel canlılık 72. saatte elde edildi. Kontrol ve Prime&Bond Üiversal grupları

arasındaki zamana bağılı ortalama hücre canlılık değerlerinin (%) karşılaştırılması Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



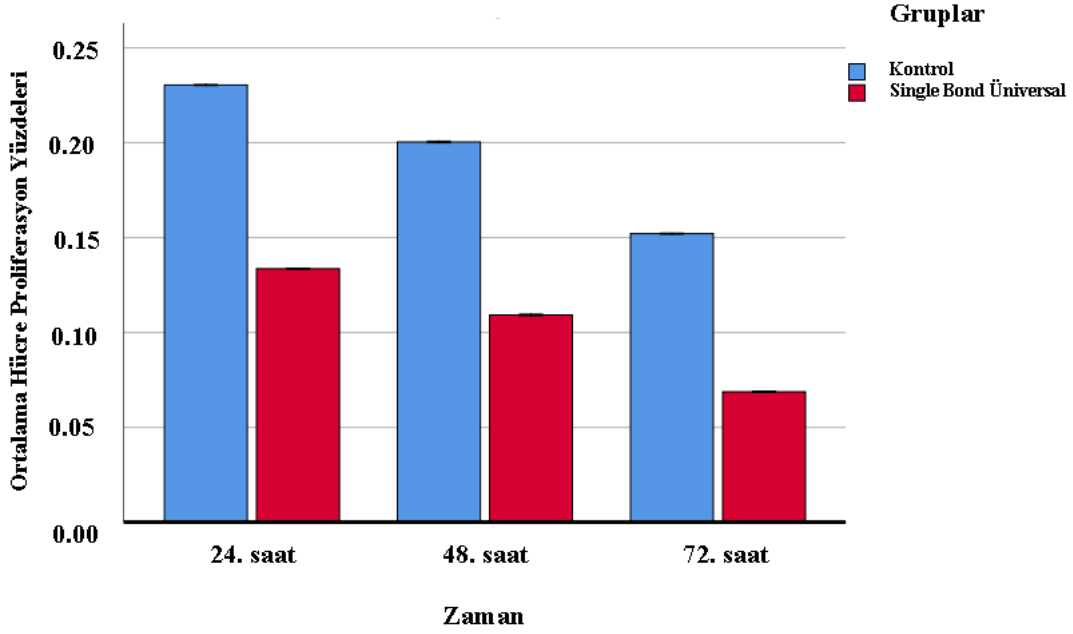
Şekil 4.2: Kontrol ve Prime&Bond Ünersal grupları arasındaki zamana bağılı ortalama hücre proliferasyon yüzdelerinin karşılaştırılması

#### 4.1.3 Single Bond Ünersal’in Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi

Single Bond Ünersal’den ilk 24 saatte elde edilen ekstratın fare fibroblast hücrelerine uygulanması ile sitotoksik etki gözlemlenirken, kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ).

Single Bond Ünersal’den 48. saatte elde edilen ekstratın L929 hücrelerine uygulanması kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede toksik bulundu ( $p < 0.05$ ). 72. saat sonunda elde edilen ekstratın uygulanması sonucu deney grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardı ( $p < 0.05$ ). Çalışmada Single Bond Ünersal’in zamana bağılı olarak hücre proliferasyonunda azalma görüldü. Kontrol ve Single Bond Ünersal grupları arasındaki zamana bağılı ortalama hücre proliferasyon değerlerinin (%) karşılaştırılması Şekil 4.3’te gösterilmiştir.



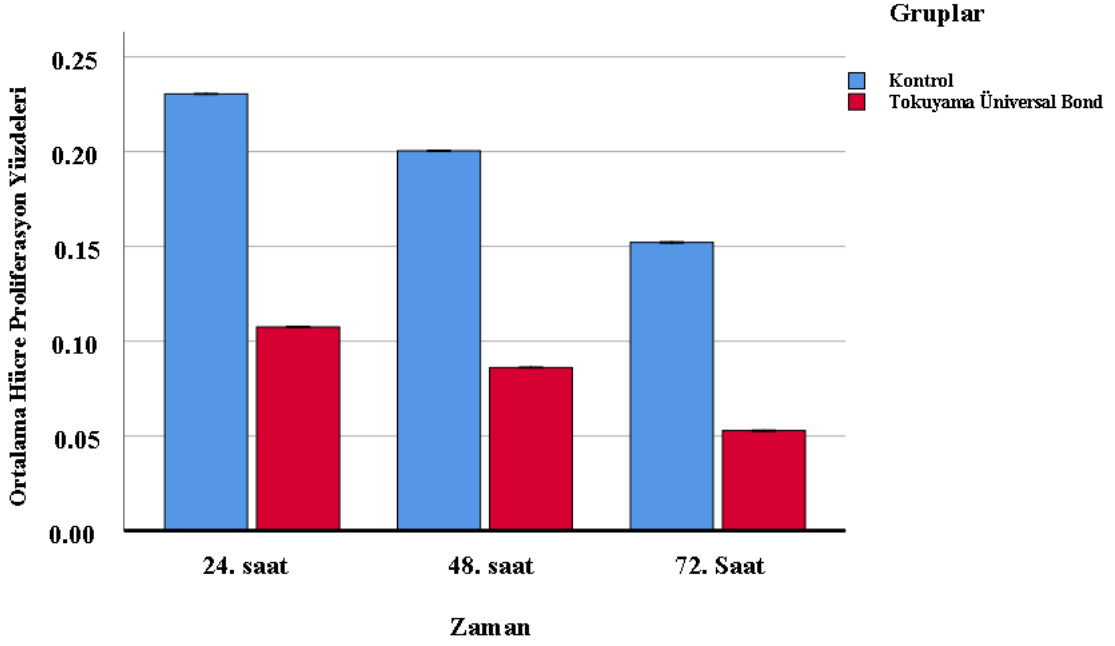


**Şekil 4.3:** Kontrol ve Single Bond Ünlversal grupları arasındaki zamana bağlı ortalama hücre proliferasyon yüzdelerinin karşılaştırılması

#### 4.1.4 Tokuyama Ünlversal Bond'un Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi

Tokuyama Ünlversal Bond'dan 24 saat sonunda elde edilen ekstraktın uygulanması L929 fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik etki gösterdi. Kontrol grubu ile Tokuyama Ünlversal Bond'un ilk 24 saatteki uygulamalarında sitotoksikite değerleri açısından anlamlı fark görüldü ( $p < 0.05$ ).

Tokuyama Ünlversal Bond'dan 48. saatte elde edilen ekstratların hücrelere uygulanması ile hücre proliferasyon değerlerinde gözlemlenirken, kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ). 72. saatte elde edilen veriler kontrol grubuna göre hücrelerin proliferasyonu bakımından anlamlı derecede düşüktü ( $p < 0.05$ ). Kontrol ve Tokuyama Ünlversal Bond grupları arasında zamana bağlı ortalama hücre proliferasyon değerlerinin (%) karşılaştırılması Şekil 4.4'te gösterilmiştir.

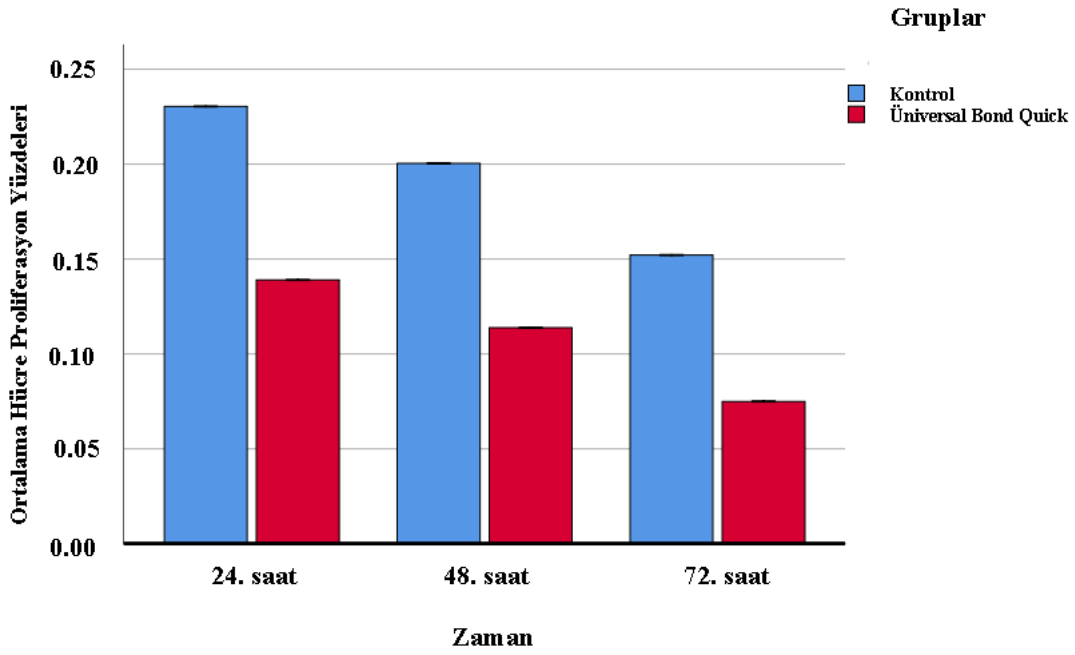


**Şekil 4.4:** Kontrol ve Tokuyama Üniöersal Bond grupları arasında zamana bağlı ortalama hücre proliferasyon yüzdelerinin karşılaştırılması

#### 4.1.5 Üniöersal Bond Quick'in Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi

Üniöersal Bond Quick'ten 24 saat sonunda elde edilen ekstratın fare fibroblast hücreleri üzerine uygulanması hücre proliferasyonunda azalmaya neden olmuş, kontrol grubu ile aralarında anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ).

48 saat sonunda Üniöersal Bond Quick kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek sitotoksik etki gösterdi ( $p < 0.05$ ). 72 saat sonunda elde edilen ekstrat, L929 hücrelerinde sitotoksositeye yol açarken, kontrol grubu ile aralarında anlamlı farklılık vardı ( $p < 0.05$ ). Kontrol ve Üniöersal Bond Quick grupları arasında zamana bağlı ortalama hücre proliferasyon değerlerinin (%) karşılaştırılması Şekil 4.5'te gösterilmiştir.



**Şekil 4.5:** Kontrol ve Üniversal Bond Quick grupları arasında zamana bağlı ortalama hücre proliferasyon yüzdelerinin karşılaştırılması

## 4.2 Üniversal Adeziv Sistemlerin Gruplar Arası Değerlendirilmeleri

### 4.2.1 Üniversal Adeziv Sistemlerin 24. Saat Bulguları

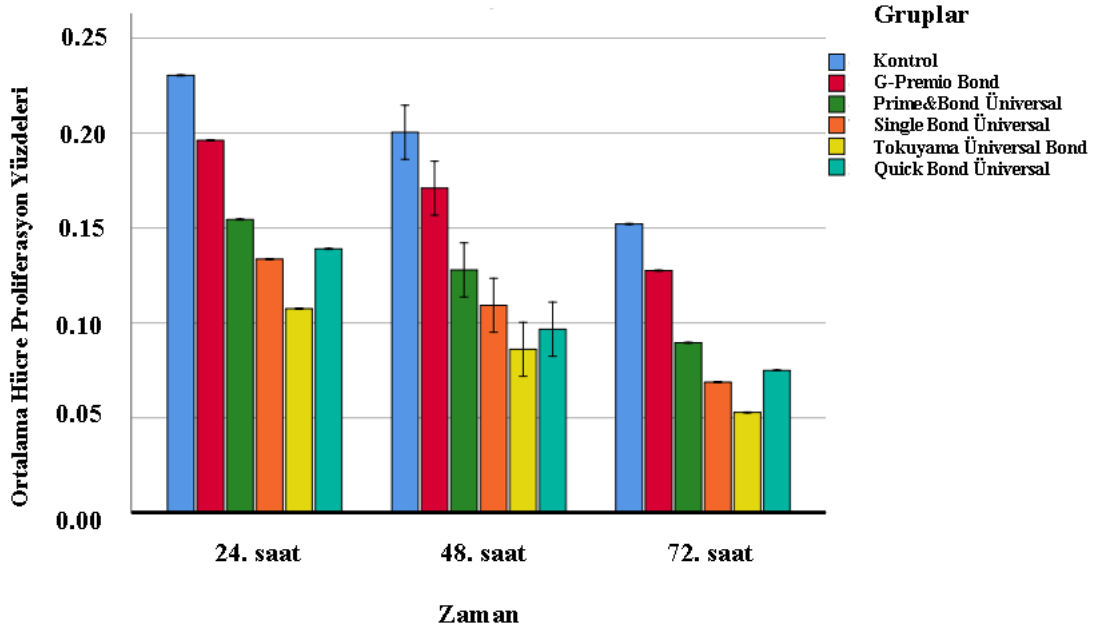
Çalışmada kullanılan üniversal adeziv sistemlerin 24. saat uygulamalarında bütün gruplar arasında anlamlı fark vardı ( $p < 0.05$ ). En fazla sitotoksik etki Tokuyama Üniversal Bond grubunda gözlemlenirken, en fazla hücresel proliferasyon G-Premio Bond grubunda bulundu. Üniversal Bond Quick, Prime&Bond Üniversal, Single Bond Üniversal grupları Tokuyama Üniversal Bond grubuna göre anlamlı olarak daha düşük sitotoksik etki gösterdi ( $p < 0.05$ ).

### 4.2.2 Üniversal Adeziv Sistemlerin 48. Saat Bulguları

Çalışmada kullanılan üniversal adeziv sistemlerin 48. saat uygulamalarında bütün gruplar arasında anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ). En fazla sitotoksik etki Tokuyama Üniversal Bond grubunda gözlemlenirken, en az sitotoksik etki ise G-Premio Bond grubunda görüldü. Tokuyama Üniversal Bond grubu, Üniversal Bond Quick, Prime&Bond Üniversal ve Single Bond Üniversal gruplarına göre anlamlı derecede daha yüksek sitotoksik etki gösterdi ( $p < 0.05$ ).

### 4.2.3 Ünlversal Adeziv Sistemlerin 72. Saat Bulguları

Çalışmada kullanılan ünlversal adeziv sistemlerin 72. saat uygulamalarında bütün gruplar arasında anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ). Diğer saatlerde elde edilen verilere benzer olarak en fazla hücre proliferasyonu G-Premio Bond grubunda gözlemlendi. Tokuyama Ünlversal Bond grubu, Ünlversal Bond Quick, Prime&Bond Ünlversal ve Single Bond Ünlversal Ünlversal gruplarına göre anlamlı derecede daha yüksek sitotoksik etki gösterdi ( $p < 0.05$ ). 24, 48 ve 72. saat dilimlerinde bütün gruplar için ortalama hücre proliferasyon değerlerinin (%) karşılaştırılması şekil 4.6'da gösterilmiştir.



şekil 4.6: 24, 48 ve 72. saatte bütün grupların ortalama hücre proliferasyon yüzdelerinin karşılaştırılması

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Teknolojinin her geçen gün ilerlemesi ile adeziv diş hekimliğinde üreticiler tarafından farklı içeriklerde dental materyaller piyasaya sürülmektedir. Yeni geliştirilen bir materyal değerlendirilirken çoğu zaman fiziksel ve mekanik özelliklerinin ideal olması beklenmekte, biyolojik özellikleri ise gerektiği kadar ön planda tutulmamaktadır. Ancak bu durum zamanla değişmiş olup dental materyallerin klinik uygulamaları öncesi biyouyumluluk değerlendirilmesinin gerekliliği kanısı önem kazanmıştır (114, 145). Gelişen ürün yelpazesıyla birlikte materyallerin biyouyumluluklarını değerlendiren testlerin sayısı ve çeşitliliği artmıştır (123).

Literatürde yer alan çalışmalarda polimerizasyon öncesinde veya sonrasında rezin bazlı dental materyallerden içeriklerine göre farklı monomerler salındığı görülmüştür (146-148). Farklı kompozisyonlarda bulunan materyallerden salınan monomerler biyolojik uyumluluğu belirler (4). Artık monomerler, tükürük vasıtasıyla oral mukozada; dentin tübülleri ile pulpada zararlı etkilere sebep olur (149-151). Yaptığımız çalışmada, adeziv diş hekimliğinde oldukça yaygın kullanılan adeziv sistemlerin L929 fare fibroblast hücre hatları üzerine zamana bağlı sitotoksik etkilerinin karşılaştırılması hedeflenmiştir.

Restoratif diş hekimliğinde yaygın kullanıma sahip adeziv sistemlerin sitotoksik etkileri değişkenlik gösterir (152). Monomer içeriğinin farklı olması ya da ayrı bir asit basamağının uygulanması gibi faktörler ile adezivlerin sitotoksik etkileri değişir (125). Etch-rinse sistemlerde uygulanan asidin yıkanması sonrası fazla suyun bulunduğu bölgelerde primer ve adezivin penetrasyonu güçleştiğinden polimerizasyon tam olarak gerçekleşmez (153). Aşırı kurutulduğunda ise mevcut kollajenler büzüleceğinden adeziv sistemlerin dentin tübülleri penetrasyonu yetersiz kalır. Güncel self-etch sistemlerde adeziv rezinin tübül penetrasyonu daha kolay olmasına rağmen bu adeziv sistemlerden salınan asit veya monomer artıkları pulpada irritasyona sebep olur (154-156).

da Silva ve ark. (157) dört farklı jenerasyondan seçtikleri adeziv sistemlerin biyouyumluluklarını incelemiş, universal bond sistemlerinin pulpal hücrelere en düşük sitotoksik etki gösterdiğini bildirmiştir.

Piyasada bulunan farklı universal adezivlerin HEMA, Bis-GMA, UDMA ve PENTA gibi monomerlerin yanı sıra bifenil dimetakrilat (BPDM), CQ, MDP, polialkeniok asit, aseton

ve etanol gibi farklı içeriklere , farklı pH'ya ve polimerizasyon metodlarına sahip olduğu bilinmektedir (123, 158). Yapılan çalışmalarla tüm bu parametrelerin kullanılan ajanın sitotoksitesisi üzerine etkisinin olduğu gösterilmiştir (159-161). Tüm bu bilgiler dahilinde çalışmamızda adeziv sistem olarak en son geliştirilen farklı içerikler ve pH'ya sahip, farklı polimerizasyon yöntemlerinin kullanıldığı, tek aşamalı olarak üç farklı modda uygulanabilen beş farklı universal adeziv sistem kullanılmış olup literatürde böyle bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda kullanılmak üzere bahsedilen monomerlerin bir veya birden fazlasını içeriğinde bulunduran, aseton bazlı G-Premio Bond (pH < 2), Tokuyama Üiversal Bond (pH > 2), etanol bazlı Prime&Bond Üiversal (pH > 2.5), Üiversal Bond Quick (pH > 2) ve Single Bond Üiversal (pH > 2.5) tercih edilmiştir. Bu adezivler arasında Tokuyama Üiversal Bond kimyasal olarak polimerize olan tek sistemdir.

Dental materyallerin sitotoksitesisi ile elde edilen sonuçlar yapılan çalışmalara göre bir çok parametreye bağlanmıştır. Seçilen test yöntemi, incelenecek olan materyalin kimyasal yapısı, seçilen hücre hattı, materyalin hücre hattı ile temas biçimi (direkt, indirekt, çözelti) hücrelerin DNA sentezindeki hızını ve proliferasyon derecesini değiştirmektedir (162).

Dental materyallerin sitotoksitesite değerlendirme yönteminde yaygın olarak hayvan deneyleri ve hücre kültür testleri kullanılmaktadır. Ancak hayvan deneyleri, test edilmesi tartışmalı olan, uzun süren, pahalı bir yöntemdir (163). Hücre kültür testleri maliyeti düşük, kontrol edilebilir ve yapımı kolay olması gibi avantajlarıyla hayvan deneylerine alternatif hale gelmiştir (164). Aynı zamanda bireysel faktörlerden etkilenmemeleri, parametrik karşılaştırmalara olanak vermeleri, deney şartlarının standardize edilebilmesi gibi avantajlarından dolayı tercih edilmektedir (114). Ancak dental materyallerin sahip olduğu sitotoksik etkilerin değerlendirildiği bu in-vitro testler, ağız içi ortamı tam olarak yansıtmaz (114). Direkt temas testi, ekstrat yöntemi ve bariyer olarak kullanılan bir maddenin bulunduğu indirekt temas testleri in-vitro sitotoksitesite test modellerindedir (165). Kalan dentin tabakasını taklit eden bir bariyer ile yapılan indirekt temas testi, hem hazırlık aşamasının zorluk derecesinden hem de dentin permeabilitesinin değişkenlik göstermesinden dolayı sık tercih edilen bir yöntem değildir (1, 166). Özellikle restoratif diş hekimliğinde yapılan in-vitro testlerde, biyoyumluluğu değerlendirilecek olan dental materyaller için hücre kültürü kullanımı oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (108, 161). Tıbbi materyallerin hücre kültürü ile direkt temasının sağlanması ya da materyale

uygun bir sıvıda bekletilmesiyle (>24 saat) elde edilen ekstrat sıvılarının indirekt olarak hücre kültürüne uygulanması, materyallerin sitotoksikite değerlendirmelerinde kullanılacak test yöntemlerinin düzenlendiği dökümanda (International Organization for Standardization-ISO 10993-5) (10993 1999) önerilmektedir (127). Tüm bu bilgiler dahilinde çalışmamızda, dental materyalin doğrudan kültür içerisindeki hücreler ile fiziksel temasta olduğu direkt temas yönteminin tercih edildiği hücre kültür testi çalışması düzenlenmiş, adeziv sistemlerden elde edilen ekstratlar sitotoksikite değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Adezivlerden elde edilen dilüsyonlar kuyucuklara inkübe edilen hücrelere yerleştirilerek hücreler ile test materyalinin direkt teması sağlanmıştır. Seçilen hücre hatları, çalışma için hazırlanan kültür ortamı, testlerin uygulama basamakları ve gerekli analizlerin yapılması ISO (TS EN ISO 10993) standartlarına göre gerçekleştirilmiştir.

Adeziv sistemlerin, in-vivo koşullarda pulpa ile direkt bir teması olmamaktadır. Ancak polimerizasyon öncesinde veya sonrasında artık monomer salınımı ile gerçekleşen akut toksik etkiler, pulpaya yaklaştıkça çapları artan dentin tübülleri vasıtasıyla pulpaya ulaşabilir (167). Özellikle dentine direkt uygulanan adeziv sistemler, yetersiz polimerize olmuş monomerleri ile pulpada enflamasyona ve pulpal hücrelerin nekrozuna sebep olabilir (141). Kültür ortamına direkt yerleştirilen yetersiz polimerize olmuş adeziv sistemlerin, hücrelerde morfolojik değişikliklere, canlılık oranında değişime, hücrelerin membran bütünlüğünün bozulmasına ve enzim aktivitesindeki değişimlere bakılarak sitotoksik etkileri belirlenir. Pek çok adeziv sistemin gösterdiği sitotoksik etkiler araştırılmış ve adeziv sistemlerin monomer çeşitliliğinin farklı sitotoksikite neden olduğu bildirilmiştir (125, 152).

Adeziv sistemlerin yüksek oranda gerçekleşen polimerizasyonu olası biyolojik risklerin azalmasını sağlar. Bu nedenle polimerizasyon sırasında kullanılan ışık cihazları önem teşkil etmektedir. Ergün ve ark.'nın (168) yaptığı çalışmada LED ve halojen ışık kaynaklarının üç farklı adeziv sistem üzerine sitotoksik etkileri incelenmiştir. Bir başka çalışmada ise bir adeziv sistemin hem LED ışık cihazı, hem de kimyasal olarak polimerizasyonu sağlanarak L929 fare fibroblast hücreleri üzerine sitotoksikite değerlendirilmiştir (161). Literatürde yer alan her iki çalışmada da LED ışık cihazı ile polimerize edilen deney grubunda kalan hücre sayısı daha yüksek, yani sitotoksik etkileri daha düşük bulunmuştur (161, 168). Tüm bu bilgiler dahilinde çalışmamızda sitotoksikite incelenecek olan adeziv sistemlerin (G-Premio Bond, Üniuersal Bond Quick, Prime&Bond Üniuersal, Single Bond Üniuersal) polimerizasyonu için LED ışık

cihazı tercih edilmiştir. Farklı polimerizasyon tekniklerinin sitotoksosite değeri üzerine etkisini karşılaştırmak amacıyla da kimyasal olarak polimerize olan Tokuyama Bond Üniversal adeziv sistemi çalışmamıza dahil edilmiştir.

Yapılan in-vitro çalışmalar ile sitotoksitesini incelenecek olan dental materyallerin temas halinde olduğu hücre tipi de önemlidir. Özellikle diş hekimliğinde, sitotoksik incelemelerde Balb 3T3 veya L929 fare fibroblastlar hücre kültürlerinin kullanılması önerilir (1, 120, 121). Dental gereçlerin sitotoksosite testlerinde standart olarak yaygın bir kullanım alanına sahip L929 devamlı hücre kültür hatlarıdır (169). L929 ya da Balb 3T3 dental materyallerin toksik etkilerini değerlendirilmesinde kullanılması ISO 10993-5 standartlarına göre önerilmektedir (10993 1999). Yapılan bir çalışmada toksisitesi incelenen dental bir materyalin, L929 fare fibroblastları ve gingival fibroblastlar üzerine benzer etki gösterdiği görülmüştür (161). Yaygın kullanımı ve in-vitro koşullarda üreyebilme kabiliyetlerinden dolayı Saw ve ark. (170) yaptığı çalışmada L929 fare fibroblast hücrelerini kullanmayı tercih etmiştir. Bu hücre tipi sahip olduğu homojen morfolojisi ve büyüme yeteneği ile in-vitro sitotoksosite testlerinin tekrarlanmasına imkan vermektedir. L929 hücresinin, kolay temin edilmesi ve olumlu proliferasyon göstermesi ile bu hücre hattı yaygın bir kullanım alanına sahip olmuştur (122). Tüm bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda kullanılan adeziv sistemler, ISO standartları tarafınca önerilen ve yaygın bir kullanıma sahip olan L929 fare fibroblast hücre hattı ile hazırlanan hücre kültürü ortamına direkt temas testi ile uygulanmıştır.

Çoğaltılan hücre hatları veya üretilen devamlı hücre hatları uygun şartlar sağlandığında sürekli bir üreme eğilimi göstermektedir (138). Primer hücre hatlarının yavaş üreme eğiliminde olması ve yaşam süresinin kısıtlı olması gibi dezavantajları bulunur (171). Primer hücre hatlarının bu özellikleri göz önünde bulundurularak yaptığımız çalışmada devamlı hücre hattı tercih edilmiştir.

Materyallerin test edilmesi sırasında izlenecek olan yolların fazlalığı, bu adımların standardizasyonunu sağlamayı gerekli hale getirir. Bu amaç ile American Society for Testing and Materials (ASTM) ve ISO gibi bazı topluluklar kurulmuştur (123). Yaptığımız bu bilimsel çalışma, günümüzde geçerliliği daha fazla olan ISO tarafından 1993 yılında belirlenen standartlara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Canlı hücre hatları üzerinde incelenen materyalden kaynaklanan yapı ve fonksiyon değişikliklerinin belirlenmesi ve elde edilen sonuçların değerlendirilmesi için



toksikolojik çalışmalar yapılmaktadır. Dental malzemelerin sitotoksitesinin incelenmesinde geçmiş yıllarda LDH (laktat dehidrogenaz), MTT testi, WST-1 testi ve floresan mikroskop testi sıklıkla tercih edilmiştir. Bu testler çalışma protokolüne göre belirlenen zaman aralığında son nokta analizi ile hücre canlılığını tespit etmektedir. Fakat gelişen ve değişen teknolojiler ile birlikte hücrelerin boyanmasına veya işaretlenmesine gerek duyulmadan, gerçeğe eş zamanlı olarak gözlemek ve değerlendirmek mümkün hale gelmiştir. Mevcut bu farklılıklarla, klasik metodlardan elde edilemeyecek veriler analiz edilebilmektedir. Hücre deneylerinden sonra genellikle yapılan hayvan deneylerinin gerekliliği bu sistem sayesinde azaltılmakta olup etik olarak kabul edilebilirliği yüksek hale gelmiştir.

Tripan mavisi ile boyama maddelerin toksitesi ve hücre proliferasyonu deneylerinde yaygın olarak kullanılan metodlar arasında yer alır. Araştırmacılar hücre canlılığını, farklı zaman noktalarında tripan mavisi ile boyama sonrası ışık mikroskopuyla incelemekte ve hücre sayımında hemasitometre kullanmaktadır. İnsan kaynaklı hatalara sebebiyet vermesi çok muhtemel olan bu metodlar ile 72 saatlik bir deneyde 3 farklı ölümle kısıtlı veri elde edilmesi başka bir dezavantajı olarak bilinir. Bu durumun aksine gerçek zamanlı analiz ile veri akışını sağlayan yeni sistemler sayesinde 15 saniyede bir hücrenel veri almak mümkün hale gelmiştir. Kuyucuklarda bulunan hücrelerden alınan veriler, bağlı olduğu bilgisayar ekranına eş zamanlı olarak yansıtılmaktadır. Bu zellik, deneyin durdulması ve yeni maddenin eklenmesi gibi anlık değişimlere imkan sağlar. ELISA, FACS ve boyama yöntemi gibi metodlarda son nokta analizinden sonra mevcut hücrelerin farklı amaçlar doğrultusunda kullanılması mümkün değildir. Yeni sistemlerde verilerin elde edilmesinde temel çalışma prensibi empedans ölümüne dayandığı için deneyde kullanılan hücreler başka bir test ile de değerlendirilebilir. Bu duruma örnek olarak bir materyal sitotoksitesine açısından değerlendirilirken ihtiyaç duyulduğunda kuyucuklardan hücreler toplanıp 8-OHdG (8-hidroksi-2'-deoksiguanozin) gibi oksidatif stres seviyesine bakılarak genotoksitesi hakkında bilgi alınır. Sahip olduğu bu özellik sayesinde gerek zamandan gerekse mali açıdan avantajlıdır. Klasik metodlar ile yapılan deneylerde sadece bir parametre değerlendirilmesine rağmen, gerçek zamanlı analiz sistemleri ile hücreye ait genel veriler incelenebilmektedir. Hücreye ait genel veriler; hücre proliferasyonu, hücre apoptozisi, hücre membranındaki morfolojik değişimi ve hücrenel yayılımı kapsar. Tüm verilerin tek bir deney ile elde edilebilmesi sayesinde zamandan kazanç sağlanır.

Gelişen teknolojinin ürünü olan gerçek zamanlı hücre analiz sistemleri, araştırmacılara daha ekonomik, daha doğru ve daha kapsamlı bir araştırma imkanı sunar. Tüm bu avantajlarının yanı sıra materyal merkezli toksisite araştırmalarında etkin madde dozu belirlenmektedir. Gerçek zamanlı hücre analiz sistemlerinin özellikleri ön plana çıkarılarak bu çalışmada, üniversal adeziv sistemlerin sitotoksosite değerlerini karşılaştırmak için xCELLigence cihazı kullanıldı.

Dental materyaller ile temasta kalınan süre biyoyumluluğu etkileyen faktörler arasındadır (172). Adeziv sistemlerden komponent salınımı, tam polimerizasyonu gerçekleşmeyen monomerlerin ilk 24 saatte oral sıvılarda çözünmesi ve zamanla küçük moleküllere bölünmesi gibi başlıca iki yoldan gerçekleşir (173-175).

Literatürde polimerizasyonu tam gerçekleşmemiş monomerlerin salınımı için gerekli zaman hakkında pek çok çalışma yer almıştır. Bazı kaynaklara göre tam salınım için 1-7 gün gerekli olduğu belirtilmiş, bazı çalışmalarda ise 30 gün beklenmesi gerektiği bildirilmiştir (161, 176). Adeziv sistemlerin dentine olan temas süresi ile adezivlerin içeriğindeki monomerlerin sitotoksik etki göstermesi arasında pozitif bir bağlantı vardır. Ratanasathien ve ark.'nın (141) yaptığı çalışmada adeziv ajanlardan salınan monomerlerin etki süresinin adeziv sistemlerin toksisite değerleri üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda adeziv sistemlerin kısa- orta- uzun dönem sitotoksik etkilerini değerlendirmek amacıyla 24, 48 ve 72. saatteki verileri elde edilmiş, zamana bağlı olarak sitotoksisitelerinin değiştiği gözlemlenmiştir.

Üniversal adezivler gibi tek aşamalı adezivlerde oluşan hibrit tabaka, adezivlerin yüksek hidrofilik özelliğinden dolayı yarı-geçirgen bir membran görevi görür. Meydana gelen bu durumla birlikte oluşan mikrosızıntı ve nanosızıntının, pulpal dokularda toksik etkiye neden olduğu düşünülmektedir (84, 177). Yapılan çalışmada kullanılan bütün üniversal adeziv sistemlerin sitotoksik etkiye sahip olması bu bulgular ile örtüşmektedir.

Rezin esaslı dental materyallerin bazı komponentlerinin hücrelere sitotoksik etkili olduğu kabul edilmekte olup, bu etkiye başlıca HEMA, TEGDMA ve UDMA'nın sebep olduğu düşünülmektedir. Literatürdeki bir çalışmaya göre; Bis-GMA, TEGDMA ve HEMA'nın birleşimi fibroblast hücreleri üzerinde daha yüksek sitotoksik etki göstermiştir (174). Yaptığımız çalışmada bu üç komponenti içeren Tokuyama Üniversal Bond sisteminin diğer gruplara göre daha yüksek sitotoksosite göstermesi bu bulgular ile desteklenmektedir. Pek çok adeziv sistemin komponenti olan HEMA, suda gösterdiği

yüksek çözünürlük ve sahip olduğu düşük molekül ağırlığı ile pulpaya ulaşır. HEMA, salınan artık monomer miktarına bağlı olarak pulpa hücrelerinin apoptozisine neden olur (150). Single Bond Üniversal, Tokuyama Üniversal Bond ve Üniversal Bond Quick gibi HEMA içeren adeziv sistemlerin çalışmamızda yüksek sitotoksik değerlere sahip olması bu çalışma ile uyumludur.

Yüksek konsantrasyonda bulunan Bis-GMA, TEGDMA, UDMA ve bisfenol A'nın immunosupresyona neden olduğu bildirilmiştir. Fare fibroblastları ile yapılan in-vivo bir deneyde HEMA, Bis-GMA, TEGDMA, UDMA ve tüm bu komponentlerin 72 saat boyunca sitotoksik etkileri incelenmiş, Bis-GMA > UDMA > TEGDMA > HEMA olacak şekilde sitotoksosite dereceleri sıralanmıştır (141). Yaptığımız çalışmada, bu komponentlerin hiçbirini içermeyen G-Premio Bond ve Prime&Bond Üniversal sistemlerin düşük sitotoksosite değerine sahip olması bu bilgiler ile örtüşmektedir.

Grobler ve ark.'nın (178) yaptığı çalışmada farklı adeziv sistemlerin sitotoksisiteleri incelenmiş, iki aşamalı uygulanan Protect Bond'un primer kısmının bond kısmından 3 kat daha fazla sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir. Primerda yer alan metakriloyl oksidodesil pridinyum bromid (MDPB) monomerinin bu sonuca neden olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda, MDPB içeren Single Bond Üniversal benzer şekilde Prime&Bond Üniversal, Üniversal Bond Quick, G-Premio Bond ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek sitotoksik değer göstermiştir.

Koulaouzidou ve ark. (179) üç farklı adeziv sistemin (Clearfil S3 Bond Plus, XP Bond, AdheSE Bond) fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik etkilerini incelemiş, en fazla sitotoksik değeri XP Bond grubunun gösterdiğini bildirmiştir. XP Bond sisteminin içeriğinde bulunan UDMA ve TEGDMA monomerlerinin bu sonuçtan sorumlu olduğu düşünülmüştür. Rezin monomerlerin moleküler ağırlığının ve bileşenlerinin de bu sonuca etki edebileceği ve düşük moleküler ağırlığına sahip olan HEMA'nın Bis-GMA, UDMA ve TEGDMA'dan daha düşük toksik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Literatürde yer alan çalışmalarda Bis-GMA ve UDMA yüksek toksik etki gösterirken, HEMA ve TEGDMA orta derece toksik etki göstermiştir (141, 174, 180). Yaptığımız çalışmada Bis-GMA, TEGDMA ve HEMA monomerlerini içeren Tokuyama Üniversal Bond grubu en yüksek sitotoksosite değerini göstermiş olup, literatürdeki çalışmaların sonuçları ile uyumludur. G-Premio Bond ve Prime&Bond Üniversal adeziv sistemlerin içeriğinde

diğer adeziv sistemlerden farklı olarak HEMA ve Bis-GMA bulunmamasının daha düşük sitotoksisite elde edilmesinde etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Bis-GMA, Bisfenol A gibi steroid hormonların etkisini taklit eden rezin monomerler, endokrin sistemine etki ederek sağlık problemlerine yol açabilir (181). Bis-GMA, HEMA ve TEGDMA'nın letal dozun altındaki konsantrasyonlarında 5-6 hafta boyunca kullanımının hücrenin protein içerik yüzdesini değiştirdiği bildirilmiştir (182). Çözücünün farklılığına bağlı olarak, monomerlerin toksisitesi değişirken, HEMA'nın toksik etkisi çözücü sıvı olarak Bis-GMA kullanıldığında artmıştır (183).

Literatürde yer alan bir araştırmada, kompozit rezin ve adeziv sistemlerin sitotoksisitesi hemen ve 7 günlük inkübasyon süresinden sonra incelenmiş, tüm örneklerin toksik etkili olduğu fakat 7 gün sonunda sitotoksisitenin azaldığı ortaya konmuştur (184). Ancak bu çalışmada, örneklerin değerlendirilmesinde dental materyallerden salınan artık monomerlerin olduğu ekstraksiyon sıvısı uzaklaştırılmış olup sadece örnekler kullanılmıştır. Çalışmamızda ise numuneler, ekstraksiyon sıvısında 72 saat boyunca bekletilmiş ve sitotoksik etki ekstraksiyon sıvısıyla birlikte tespit edilmiştir. Franz ve ark.'nın (184) çalışmasında bütün grupların toksik etki göstermesi çalışmamızla uyumlu olsa da 72 saat sonunda sitotoksik etkinin azalmasının materyalin ekstraksiyon sıvısının uzaklaştırılarak değerlendirilmesi ile gerçekleştiğini düşünmekteyiz.

Wataha ve ark. (1) yaptığı çalışmada çeşitli rezin kompozit materyallerinin Balb/ c fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksisite değerlerini MTT ve yüksek basınçlı likit kromatografisi yöntemi (HPLC) ile değerlendirmiştir. Elde ettikleri sonuçlar doğrultusunda rezin esaslı materyallerden salınan monomerlerin zamanla hücre çoğalmasını azalttığı bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada 21 günlük süre boyunca rezin siman kaynaklı artık monomer yoğunlukları (TEGDMA, Bis-GMA, UDMA, HEMA) HPLC yöntemi ile incelenmiş, tüm zaman aralıklarında rezin monomerlerin salındığını ve Bis-GMA dışında bütün monomerlerin konsantrasyonunun zamanla arttığı gösterilmiştir (2). Çalışmamızda TEGDMA, Bis-GMA, HEMA ve UDMA monomerlerinin bir veya birkaçını içeren (Tokuyama Bond Üniversal, Single Bond Üniversal ve Üniversal Bond Quick) ve bu monomerleri içermeyen G-Premio Bond ve Prime&Bond Üniversal Bond adeziv sistemlerde de 72 saat boyunca artan sitotoksisite değerleri, monomer salınımının zamanla arttığını göstermiştir.

Urcan ve ark.'nın (185) yaptığı çalışmada kompozit rezinlerde en sık bulunan monomerlerden Bis-GMA, TEGDMA, UDMA ve HEMA'nın insan fibroblast hücreleri üzerine toksik etkileri 24 saat boyunca incelenmiş, sitotoksitesitelerini Bis-GMA > TEGDMA > UDMA > HEMA şeklinde sıralamıştır. Yaptığımız çalışmanın 24. saatinde, içeriğinde Bis-GMA, TEGDMA ve HEMA bulunan Tokuyama Üiversal Bond grubu en yüksek sitotoksik değer göstermiştir. Bu iki çalışmada elde edilen bulgular birbirini desteklemektedir.

Literatürde yer alan Altunsoy ve ark.'nın (186) yaptığı çalışmada dental adezivlerden farklı aralıklarla (10 dk, 1, 7, 30 gün) salınan HEMA miktarı HPLC ile ölçülmüş ve en fazla artık monomer salınımının polimerizasyondan 30 gün sonra olduğu bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada 72. saate doğru artan bir sitotoksite değerinin görülmesi çözünme hızının zamanla arttığını göstermektedir. Bu durum hem Altunsoy ve ark.'nın (186) yaptığı çalışma bulgularıyla desteklenmekte hem de adeziv sistemlerin sitotoksitesitelerinin uzun süreli takip çalışmalarında daha iyi değerlendirilebileceğini ortaya koymuştur.

Yasuda ve ark. (187) yaptığı çalışmada beş farklı adeziv sistemin (AQ Bond Plus, Clearfil Tri-S Bond, G-Bond, Adper Prompt ve Absolute) insan pulpa hücresinde meydana getirdiği sitotoksik etkiyi incelemiş, polimerize edilen örnekler ile polimerize edilmeden uygulanan örnekler karşılaştırdığında polimerize edilmiş grupta daha düşük sitotoksitesite gözlemlemiştir. Sitotoksik etki 72. saatte 24. saate kıyasla anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Yaptığımız çalışmada tüm grupların 72. saat verileri ile 24. saat verileri karşılaştırıldığında 72. saat ölçümü anlamlı olarak daha toksik etki göstermiştir. Çalışmamız Yasuda ve ark.'nın (187) yaptığı çalışmanın bulguları ile desteklenmektedir.

Literatürde yer alan bir çalışmada Reichl ve ark. (188) 24 ve 48 saat sonunda en fazla toksik etkinliği olan materyallerin Bis-GMA içeren gruplar olduğunu bulmuştur. Çalışmamızda da elde edilen veriler doğrultusunda, kullandığımız Bis-GMA içerikli adeziv sistemlerin 24 saat sonunda Tokuyama Üiversal Bond ve Üiversal Bond Quick olacak şekilde yüksek sitotoksitesite değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Her iki çalışmadaki bulgular birbiri ile uyumludur.

Schedle ve ark.'nın (161) yaptığı çalışmada kompozit, adeziv sistem ve/veya primer kombinasyonlarının sitotoksik etkileri incelenmiş, Optibond adeziv sistemin hem kimyasal polimerizasyonu hem de ışıkla polimerizasyonu sağlanacak şekilde deney

grupları oluşturulmuştur. Deneyin 2. ve 7. gününde, Optibond adeziv sistemin kimyasal polimerizasyonunda hücre sayılarının yüzdece daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda da kimyasal olarak polimerize olan Tokuyama Üiversal Bond'un yüksek sitotoksosite değerine sahip olması Schedle ve ark.'nın (161) yaptığı çalışma ile uyumludur.

Schmalz ve ark. (108) yaptığı çalışmada, düşük pH değerine sahip adeziv sistemlerin sitotoksiteleri dentin bariyer testi ile değerlendirmiş, düşük pH'ya sahip adezivlerin pulpa için sitotoksik etki göstermediği bildirmiştir. Yaptığımız çalışma pH < 2 olan G-Premio Bond'un sitotoksik etki göstermesi literatürdeki çalışma ile çelişmekte gibi gözüksede, pH > 2 olan Tokuyama Üiversal Bond ve Üiversal Bond Quick ve pH > 2.5 olan Prime&Bond Üiversal ve Single Bond Üiversal adeziv sistemleri arasında en düşük sitotoksik etki göstermesi açısından Schmalz ve ark.'nın (108) yaptığı çalışma ile uyumlu olduğu düşünülmüştür. Bir başka çalışmada ise farklı pH'lara sahip Single Bond (pH=4.3), Clearfil SE Bond (primer pH=1.9, bond pH=2.8), Xeno III Bond (pH=1.0), Clearfil Protect Bond (primer pH=1.9, bond pH=2.8) ve Adper Prompt Bond (pH=0.8)'un sitotoksiteleri MTT yöntemi ile incelenmiş, en düşük sitotoksitenin en düşük pH değerine sahip Adper Prompt Bond adeziv sisteminde olduğu tespit edilmiştir (160). Çalışmamızda G-Premio Bond (pH < 2) adeziv sisteminin en düşük sitotoksositeye sahip olması bu çalışmanın sonuçları ile uyumludur.

Çalışmamızın sonuçları doğrultusunda kullanılan tüm üniversal adeziv sistemlerin, L929 fare fibroblast hücre hattı üzerinde, kontrol grubuna göre anlamlı oranda sitotoksik etkili olduğu görülmüş, bu etkinin zamana bağlı olarak (24, 48 ve 72 saat) arttığı sonucu elde edilmiştir. Adeziv sistemlerin L929 fare fibroblast hücreleri üzerine gösterdiği sitotoksik etkinin, adezivlerden salınan artık monomer konsantrasyonundaki artış ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz.

Rezin esaslı dental materyallerden salınan artık monomerlerin meydana getirdiği biyolojik riskler bazı önlemler ile azaltılabilmektedir. Vital dişlere uygulanan lokal anestesi, pulpadan mineye doğru olan ve bu sayede maddelerin difüzyonunu azaltan dentin sıvı basıncını düşürmektedir. Bunun sonucunda pulpa dış faktörlere daha duyarlı hale gelir. Enfekte dentinin altında bulunan çürükten etkilenmiş dentin çürüğün uzaklaştırılması sırasında korunması pulpayı artık monomerlerin difüzyonuna karşı korur (189). Adeziv sistemlerin monomer yapısı ve özellikleri, sitotoksik etkide önemli bir

diğer faktördür (159). Adeziv sistemler, kavite preperasyonu sonrası kalan dentin miktarının yeterli olduğu sığ kaviteler için risk oluşturmazken, dentin tübüllerinin yoğunluğunun ve çapının arttığı derin kavitelerde risk teşkil eder (81).

Gwinnett ve ark.'nın (190) yaptığı çalışmada, derin kavitelerde etch-rinse adeziv sistemin kullanımının pulpada kronik enflamasyona ve granülamatöz reaksiyona neden olduğu gösterilmiştir. Self-etch adeziv sistemlerde ise smear tabakasının tam çözünmemesi ile pulpaya olan difüzyon sınırlandığı için derin dentinde kullanılması önerilmektedir (190, 191).

Yüksek oranda gerçekleşen polimerizasyonun olası biyolojik risklerin azalmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Teorik anlamda monomerin tam anlamıyla polimerleşmesi mümkün olmakla birlikte, yapılan bir çalışmada geleneksel ışık kaynakları ile bu dönüşümün en fazla %70 oranda olduğu belirtilmiştir (174). Pulpa perforasyonlarının olduğu durumlarda adeziv ajanların direkt pulpa kuafajında kullanılması enfeksiyona ya da pulpa nekrozuna neden olmaktadır. Bu durumun rezin polimerizasyonunun oksijen tarafından engellenmesiyle ilgili olduğu düşünülmüştür. Adeziv sistemlerin direkt pulpa üzerine uygulanması ile monomerlerin polimere dönüşümü engellemekte ve sitotoksik etki göstermektedir (108, 192, 193).

Işık kaynaklarının artan gücü ile monomerlerin polimerleşme yüzdesinin artması beklenir. Bunun yanı sıra dental materyallerin polimerizasyonu sırasında ortaya çıkan ısı ile tübüllerin içindeki dentin sıvısının pulpaya doğru hareket ettiği ve salınan artık monomerlerin pulpaya ulaştığı bilinmektedir. Tüm bu durumlar, ısının pulpaya verdiği zararı arttırmaktadır. Yapılan bir çalışmada, rezin kompozitin polimerizasyonunda 800 mW ışık cihazı (20 sn) ve 650 mW ışık cihazı (30 sn) kullanılmış, deney sonunda canlı lenfosit hücre sayısı incelenmiştir (194). Düşük güç yoğunluğunda daha uzun süre uygulanan grupta yüksek güç yoğunluğunda daha kısa süre uygulanan gruba göre yüksek hücre canlılığı tespit edilmiştir. Bu sebeple pulpaya toksik etki göstermeyecek ısı oluşturan LED ışık kaynaklarının geliştirilmesi ve doğru tekniklerle kullanılması önemlidir (124, 195, 196).

Adeziv diş hekimliğinde oldukça yaygın kullanıma sahip olan adeziv sistemlerin sitotoksik etkilerinin değerlendirildiği bu çalışmada şu sonuçlara ulaşılmıştır:

1. Test edilen tüm dentin adeziv sistemler istatistiksel olarak anlamlı derecede toksik etki gösterdi.

2. Tüm grupların 72. saatteki ekstraktları 24. ve 48. saat ekstraktlarına göre daha fazla toksik etki gösterdi.

3. En yüksek sitotoksik etki kimyasal polimerize olan Tokuyama Üniwersal Bond'un 72. saat ekstraktında gözlemlendi.

4. En düşük sitotoksik etki G-Premio Bond'un 24. saat ekstraktında gözlemlendi.

5. Klinik uygulamalar esnasında, canlı dokulara zarar vermemek için dikkat edeceğimiz bazı noktalar vardır. Bunlar şu şekilde sıralanabilmektedir:

a. Adeziv sistemlerin tam polimerize edilmemesi artık monomer salınımı arttırdığından ışık kaynaklarının ısıyı arttırmadan gücünü geliştirmek gibi polimerizasyonun yeterli miktarda olmasını sağlayacak önlemler alınmalıdır.

b. Adeziv sistemler direkt kuafaj tedavisinde kullanılmamalıdır.

c. Derin kavite preparasyonlarında restorasyon materyali ile dentin arasında pulpayı adeziv ajanların sitotoksik etkisinden koruyacak bir kaide materyali kullanılmalıdır.

d. Klinisyenler, uygulamalar esnasında adeziv materyallerin sürekli cilt temasından kaçınılmalı, rubber-dam gibi hastanın yumuşak dokularını koruyacak önlemler alınmalıdır.

e. Kullanılan adezivler sistemlerin sitotoksik etkileri, içerikleri ve pH değerlerine göre değişiklik gösterdiğinden dolayı vakalara uygun adeziv sistem seçilmelidir.

Yaptığımız araştırmanın sonuçlarına göre test ettiğimiz tüm adeziv sistemler sitotoksik etki göstermiştir. Üniwersal adeziv sistemlerin biyoyumluluğunun artırılması adına, biyolojik riskleri daha iyi anlamak ve gerekli önlemleri almak ile ilgili daha fazla çalışmaya ve yeni geliştirilecek materyallere ihtiyaç vardır.



## 6. KAYNAKLAR

1. Wataha J, Rueggeberg F, Lapp C, Lewis J, Lockwood P, Ergle J, Mettenburg DJ. In vitro cytotoxicity of resin-containing restorative materials after aging in artificial saliva. *Clin. Oral Investig.* 1999;3:144-149.
2. Altintas SH, Usumez A. Evaluation of monomer leaching from a dual cured resin cement. *J. Biomed. Mater. Res.* 2008;86:523-529.
3. Dayangaç B. Kompozit rezin restorasyonlar: Güneş Kitabevi, 2000.
4. Geurtsen W. Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 2000;11:333-355.
5. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J. Biomed. Mater. Res.* 1982;16:265-273.
6. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper. Dent.* 2003;28:215-235.
7. Perdigao J, Swift Jr EJ. Fundamental concepts of dental adhesion. *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry*: Mosby Elsevier, 2006.
8. Cagle CV, Lee H, Neville K. Handbook of adhesive bonding: McGraw Hill, 1973.
9. Thompson JY, Stoner BR, Piascik JR, Smith R. Adhesion/cementation to zirconia and other non-silicate ceramics: where are we now? *Dent. Mater.* 2011;27:71-82.
10. Marshall SJ, Bayne SC, Baier R, Tomsia AP, Marshall GW. A review of adhesion science. *Dent. Mater.* 2010;26:e11-e16.
11. Baier R. Principles of adhesion. *Oper. Dent.* 1992:1-9.
12. Kanca III J. Resin bonding to wet substrate. I. Bonding to dentin. *Quintessence Int.* 1992;23.
13. Smith D, Ratner B, Hoffman A, Lemons J. Adhesives and sealants. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*: 1996:319-328.
14. Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Inoue S, Yoshida Y, Perdigão J, Lambrechts P, Peumans M. Bonding to enamel and dentin. *Quintessence Publishing Co*, 2006:183-260.
15. Schmideder J. Aesthetic dentistry: color atlas of dental medicine. Stuttgart: Thieme 2000:225-234.

16. Barkmeier W, Shaffer S, Gwinnett A. Effects of 15 vs 60 second enamel acid conditioning on adhesion and morphology. *Oper. Dent.* 1986;11:111-116.
17. Gwinnett A. Histologic changes in human enamel following treatment with acidic adhesive conditioning agents. *Arch. Oral Biol.* 1971;16:731-735.
18. Stewart GP, Jain P, Hodges J. Shear bond strength of resin cements to both ceramic and dentin. *J Prosthet. Dent.* 2002;88:277-284.
19. Retief D, Mandras R, Russell C, Denys F. Phosphoric acid as a dentin etchant. *Am. J. Dent.* 1992;5:24-28.
20. Scott JH, Symons NBB. *Introduction to dental anatomy*: Churchill Livingstone Edinburgh, 1982.
21. Arola DD, Reprogl R. Tubule orientation and the fatigue strength of human dentin. *Biomaterials* 2006;27:2131-2140.
22. Zavala-Alonso V, Aguilera-Flores R, Patino-Marin N, Martinez-Castanon GA, Anusavice KJ, Loyola-Rodriguez JP. Nanostructure evaluation of healthy and fluorotic dentin by atomic force microscopy before and after phosphoric acid etching. *Dent. Mater. J.* 2011;30:546-553.
23. Sundaram G, Bartlett D, Watson T. Bonding to and protecting worn palatal surfaces of teeth with dentine bonding agents. *J. Oral Rehabil.* 2004;31:505-509.
24. Marshall Jr G, Balooch M, Tench R, Kinney J, Marshall S. Atomic force microscopy of acid effects on dentin. *Dent. Mater.* 1993;9:265-268.
25. Brännström M. Dentin and pulp in restorative dentistry. *J. Endod.* 1982;8:98.
26. Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch. Oral Biol.* 1976;21:355-362.
27. Jones SJ. Ultrastructure of dentin and dentinogenesis. *Dentin and dentinogenesis* 1984;1:81-134.
28. Bonar LC, Lees S, Mook H. Neutron diffraction studies of collagen in fully mineralized bone. *J. Mol. Biol.* 1985;181:265-270.
29. Pidaparti R, Chandran A, Takano Y, Turner C. Bone mineral lies mainly outside collagen fibrils: predictions of a composite model for osteonal bone. *J. Biomech.* 1996;29:909-916.
30. Kinney J, Pople J, Marshall G, Marshall S. Collagen orientation and crystallite size in human dentin: a small angle X-ray scattering study. *Calcif. Tissue Int.* 2001;69:31-37.

31. Kinney J, Marshall S, Marshall G. The mechanical properties of human dentin: a critical review and re-evaluation of the dental literature. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 2003;14:13-29.
32. Bayne C, Thompson Y. *Art and Science of Operative Dentistry* 5. Edition, Güneş Kitabevi, 2011:181-191.
33. Schwartz RS, Summitt JB, Robbins JW, Dos Santos Jr J. *Fundamentals of operative dentistry: a contemporary approach*: Quintessence Pub Co, 1996.
34. Heymann HO, Bayne SC. Current concepts in dentin bonding: focusing on dentinal adhesion factors. *J. Am. Dent. Assoc.* 1993;124:26-36.
35. Van Meerbeek B, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, Duke E, Eick J, Robinson S. A TEM study of two water-based adhesive systems bonded to dry and wet dentin. *J. Dent. Res.* 1998;77:50-59.
36. Watanabe H, Ishikawa I, Suzuki M, Hasegawa K. Clinical assessments of the erbium: YAG laser for soft tissue surgery and scaling. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 1996;14:67-75.
37. Wenzel RN. Resistance of solid surfaces to wetting by water. *Ind. Eng. Chem.* 1936;28:988-994.
38. Haisma J, Spierings G. Contact bonding, including direct-bonding in a historical and recent context of materials science and technology, physics and chemistry: historical review in a broader scope and comparative outlook. *Mater. Sci. Eng.: R: Reports* 2002;37:1-60.
39. Philips R. *Science of dental materials* 8 th ed. WB, Saunders company, 1991.
40. Perdigo J, Swift Jr E. *Art and Science of Operative Dentistry* 5. Edition, Güneş kitabevi, 2011:245-280.
41. Gladys S, Van Meerbeek B, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Comparative physico-mechanical characterization of new hybrid restorative materials with conventional glass-ionomer and resin composite restorative materials. *J. Dent. Res.* 1997;76:883-894.
42. Browning W, Brackett WW, Gilpatrick R. Retention of microfilled and hybrid resin-based composite in noncarious Class 5 lesions: a double-blind, randomized clinical trial. *Oper. Dent.* 1999;24:26-30.
43. Kemp-Scholte CM, Davidson C. Complete marginal seal of Class V resin composite restorations effected by increased flexibility. *J. Dent. Res.* 1990;69:1240-1243.

44. Fortin D, Swift Jr EJ, Denehy GE, Reinhardt JW. Bond strength and microleakage of current dentin adhesives. *Dent. Mater.* 1994;10:253-258.
45. Endodonti AT. Barış Yayınları, Fakülteler Kitapevi, 2000.
46. Nakabayashi N. Hybridization of dental hard tissues. The quality of hybridized dentin 1998.
47. Moszner N, Salz U, Zimmermann J. Chemical aspects of self-etching enamel–dentin adhesives: a systematic review. *Dent. Mater.* 2005;21:895-910.
48. Uno S, Finger WJ. Function of the hybrid zone as a stress-absorbing layer in resin-dentin bonding. *Quintessence Int.* 1995;26.
49. Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. *J. Dent. Res.* 1993;72:495-501.
50. Nakajima M, Sano H, Zheng L, Tagami J, Pashley DH. Effect of moist vs. dry bonding to normal vs. caries-affected dentin with Scotchbond Multi-Purpose Plus. *J. Dent. Res.* 1999;78:1298-1303.
51. Say E, Karakaya S, Soyman M, Özer F, Tagami J. Self-etch sistemler ile hibridizasyon; SEM çalışması. *J. Hacettepe Fac. Dent.* 2003;27:7-11.
52. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J. Dent. Res.* 1955;34:849-853.
53. Watson T, Bartlett D. Adhesive systems: composites, dentine bonding agents and glass ionomers. *Br. Dent. J.* 1994;176:227.
54. Erickson R. Mechanism and clinical implications of bond formation for two dentin bonding agents. *Am. J. Dent.* 1989;2:117-123.
55. Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J. Dent. Res.* 1992;71:1530-1540.
56. Eick JD, Wilko RA, Anderson CH, Sorensen SE. Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. *J. Dent. Res.* 1970;49:1359-1368.
57. Brännström M, Glantz P, Nordenvall K. The effect of some cleaning solutions on the morphology of dentin prepared in different ways: an in-vivo study. *ASDC J. Dent. Child.* 1979;46:291-295.

58. Cardoso MV, Coutinho E, Ermis RB, Poitevin A, Van Landuyt K, De Munck J, Carvalho RC, Van Meerbeek B. Influence of dentin cavity surface finishing on micro-tensile bond strength of adhesives. *Dent. Mater.* 2008;24:492-501.
59. De Munck J, Van Meerbeek B, Yudhira R, Lambrechts P, Vanherle G. Micro-tensile bond strength of two adhesives to Erbium: YAG-lased vs. bur-cut enamel and dentin. *Eur. J. Oral Sci.* 2002;110:322-329.
60. Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems: I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent. Mater.* 2001;17:296-308.
61. Pashley DH, Carvalho R. Dentine permeability and dentine adhesion. *J. Dent.* 1997;25:355-372.
62. Wall RC, Fuller TA. Control valve. Google Patents, 1997.
63. Ana P, Blay A, Miyakawa W, Zezell D. Thermal analysis of teeth irradiated with Er, Cr: YSGG at low fluences. *Laser Phys. Lett.* 2007;4:827.
64. Kilinc E, Roshkind DM, Antonson SA, Antonson DE, Hardigan PC, Siegel SC, Thomas JW. Thermal safety of Er: YAG and Er, Cr: YSGG lasers in hard tissue removal. *Photomed. Laser Surg.* 2009;27:565-570.
65. Wittschieber BM. 30 Minuten für die erfolgreiche Mediation im Unternehmen: GABAL, 2004.
66. Aoki A, Sasaki KM, Watanabe H, Ishikawa I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol.* 2004;36:59-97.
67. Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P, Vanherle G. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Oper. Dent.* 2001;26:119-144.
68. Kugel G, Ferrari M. The science of bonding: from first to sixth generation. *J. Am. Dent. Assoc.* 2000;131:20S-25S.
69. B. D. Kompozit Rezin Restorasyonlar. Ankara: Günes Kitapevi Ltd Sti, 2000.
70. Freedman GA. Contemporary esthetic dentistry: Mosby, 2012.
71. Swift EJ. Dentin/enamel adhesives: review of the literature. *Pediatr. Dent.* 2002;24:456-461.
72. Anchieta RB, Machado LS, Martini AP, Dos Santos PH, Giannini M, Janal M, Tovar N, Sundfeld RH, Rocha EP, Coelho PG. Effect of long-term storage on nanomechanical and morphological properties of dentin–adhesive interfaces. *Dent. Mater.* 2015;31:141-153.

73. Kiremitci A, Hurmuzlu F. İki Farklı Dentin Adezivinin Kompozitleri Dentine Bağlama Dayanıklılığının Karşılaştırılması. *J. Dent. Fac. Atatürk Uni.* ;2001.
74. Gupta N, Tripathi AM, Saha S, Dhinsa K, Garg A. Effect of saliva on the tensile bond strength of different generation adhesive systems: an in-vitro study. *J. Clin. Diagn. Res.* 2015;9:ZC91.
75. Tyas M, Burrow M. Adhesive restorative materials: a review. *Aust. Dent. J.* 2004;49:112-121.
76. Abraham S, Ghonmode WN, Saujanya K, Jaju N, Tambe VH, Yawalikar PP. Effect of grape seed extracts on bond strength of bleached enamel using fifth and seventh generation bonding agents. *J. Int. Oral Health* 2013;5:101.
77. Hanabusa M, Mine A, Kuboki T, Momoi Y, Van Ende A, Van Meerbeek B, De Munck J. Bonding effectiveness of a new 'multi-mode' adhesive to enamel and dentine. *J. Dent.* 2012;40:475-484.
78. Perdigão J. Dentin bonding—Variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent. Mater.* 2010;26:e24-e37.
79. Van Meerbeek B, Perdigão J, Gladys S, Lambrechts P, Vanherle G. Enamel en dentin adhesion. 1996.
80. Lambrechts P, Van Meerbeek B, Perdigão J, Vanherle G. Adhesives: Do's and don'ts. *Symposium on Adhesion: the Silent Revolution in Dentistry*, Quintessence Publishing Co, 2000:45-60.
81. Mjör IA, Ferrari M. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 6: Reactions to restorative materials, tooth-restoration interfaces, and adhesive techniques. *Quintessence Int.* 2002;33.
82. Swift JE, Bayne S. Shear bond strength of a new one-bottle dentin adhesive. *Am. J. Dent.* 1997;10:184-188.
83. De Munck Jd, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J. Dent. Res.* 2005;84:118-132.
84. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. *J. Dent.* 2002;30:371-382.
85. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J. Dent. Res.* 2004;83:454-458.

86. Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Snauwaert J, Hellemans L, Lambrechts P, Vanherle G, Wakasa K. Evidence of chemical bonding at biomaterial-hard tissue interfaces. *J. Dent. Res.* 2000;79:709-714.
87. Perdigão J, Sezinando A, Monteiro PC. Laboratory bonding ability of a multi-purpose dentin adhesive. *Am. J. Dent.* 2012;25:153.
88. Frankenberger R, Lohbauer U, Roggendorf MJ, Naumann M, Taschner M. Selective enamel etching reconsidered: better than etch-and-rinse and self-etch? *J. Adhes. Dent.* 2008;10.
89. McLean D, Meyers E, Guillory V, Vandewalle K. Enamel bond strength of new universal adhesive bonding agents. *Oper. Dent.* 2015;40:410-417.
90. Loguercio AD, Muñoz MA, Luque-Martinez I, Hass V, Reis A, Perdigão J. Does active application of universal adhesives to enamel in self-etch mode improve their performance? *J. Dent.* 2015;43:1060-1070.
91. Chen C, Niu L-N, Xie H, Zhang Z-Y, Zhou L-Q, Jiao K, Chen J-H, Pashley DH, Tay F. Bonding of universal adhesives to dentine—Old wine in new bottles? *J. Dent.* 2015;43:525-536.
92. Muñoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NHC. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J. Dent.* 2013;41:404-411.
93. Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *J. Dent.* 2014;42:800-807.
94. Muñoz M, Luque-Martinez I, Malaquias P, Hass V, Reis A, Campanha N, Loguercio A. In vitro longevity of bonding properties of universal adhesives to dentin. *Oper. Dent.* 2015;40:282-292.
95. Lawson NC, Robles A, Fu C-C, Lin CP, Sawlani K, Burgess JO. Two-year clinical trial of a universal adhesive in total-etch and self-etch mode in non-cariou cervical lesions. *J. Dent.* 2015;43:1229-1234.
96. Albuquerque M, Pegoraro M, Mattei G, Reis A, Loguercio A. Effect of double-application or the application of a hydrophobic layer for improved efficacy of one-step self-etch systems in enamel and dentin. *Oper. Dent., Inc*, 2008.
97. Perdigão J, Muñoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez IV, Staichak R, Reis A, Loguercio AD. Immediate adhesive properties to dentin and enamel of a universal adhesive associated with a hydrophobic resin coat. *Oper. Dent.* 2014;39:489-499.

98. Hackman S, Pohjola R, Rueggeberg F. Depths of cure and effect of shade using pulse-delay and continuous exposure photo-curing techniques. *Oper. Dent.* 2002;27:593-599.
99. Yoon TH, Lee YK, Lim BS, Kim CW. Degree of polymerization of resin composites by different light sources. *J. Oral Rehabil.* 2002;29:1165-1173.
100. Soh M, Yap A, Siow K. Comparative depths of cure among various curing light types and methods. *Oper. Dent.* 2004;29:9-15.
101. Soh M, Yap A, Siow K. The effectiveness of cure of LED and halogen curing lights at varying cavity depths. *Oper. Dent.* 2003;28:707-715.
102. Caughman WF, Rueggeberg F. Shedding new light on composite polymerization. *Oper. Dent.* 2002;27:636-638.
103. Mills RW, Uhl A, Blackwell GB, Jandt KD. High power light emitting diode (LED) arrays versus halogen light polymerization of oral biomaterials: Barcol hardness, compressive strength and radiometric properties. *Biomaterials.* 2002;23:2955-2963.
104. Sharkey S, Ray N, Burke F, Ziada H, Hannigan A. Surface hardness of light-activated resin composites cured by two different visible-light sources: an in vitro study. *Quintessence Int.* 2001;32.
105. Tarle Z, Meniga A, Ristic M, Sutalo J, Pichler G, Davidson C. The effect of the photopolymerization method on the quality of composite resin samples. *J. Oral Rehabil.* 1998;25:436-442.
106. Wataha JC. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J. Prosthet. Dent.* 2001;86:203-209.
107. Edgerton M, Levine MJ. Biocompatibility: its future in prosthodontic research. *The J. Prosthet. Dent.* 1993;69:406-415.
108. Schmalz G, Schuster U, Koch A, Schweikl H. Cytotoxicity of low pH dentin-bonding agents in a dentin barrier test in vitro. *J. Endod.* 2002;28:188-192.
109. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. *Phillips' Science of Dental Materials*: Elsevier Health Sciences, 2012.
110. Campbell SD. Biological compatibility of prosthodontic materials. *Int. J. Prosthodont.* 2003;16:52-54.
111. Hensten-Pettersen A. Skin and mucosal reactions associated with dental materials. *Eur. J. Oral Sci.* 1998;106:707-712.



112. Sakaguchi RL. Craig's Restorative Dental Materials: Elsevier Health Sciences, 2006.
113. Zorba YO, Yıldız M. Adeziv Restoratif Materyallerde Biyouyumluluk Testleri Ve Kriterleri. J. Dent. Fac. Atatürk Uni.;2007.
114. Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. Clin. Oral Investig. 1998;1:154-162.
115. Schmalz G. Materials science: biological aspects. J. Dent. Res. 2002;81:660-663.
116. Tunçel A. Sabit Protetik Restorasyonlarda Kullanılan Farklı Fiberle Güçlendirilmiş Kompozit Yapıların Yüzey Sertliği, Yüzey Pürüzlülüğü ve Sitotoksitelerinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi. Selcuk. Dent. J., 2005:34-41.
117. Tateishi T, Ushida T, Aoki H, Ikada Y, Nakamura M, Williams D, Clark B, Stookey G, Christel P, Pizzo Ferrato A. Round-robin test for standardization of biocompatibility test procedure by cell culture method. Advances In Biomaterials.1993;10:89-89.
118. Craig R. Prosthetic Applications of Polymers St Louis.: ,Mosby-Yearbook Inc., 1997.
119. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials—advantages and limitations. J. Dent. 1994;22:S6-S11.
120. Thonemann B, Schmalz G, Hiller K-A, Schweikl H. Responses of L929 mouse fibroblasts, primary and immortalized bovine dental papilla-derived cell lines to dental resin components. Dent. Mater. 2002;18:318-323.
121. Bouillaguet S, Shaw L, Gonzalez L, Wataha J, Krejci I. Long-term cytotoxicity of resin-based dental restorative materials. J. Oral Rehabil. 2002;29:7-13.
122. Cao T, Saw TY, Heng BC, Liu H, Yap AUJ, Ng ML. Comparison of different test models for the assessment of cytotoxicity of composite resins. J. Appl. Toxicol. 2005;25:101-108.
123. Kuşdemir M. Farklı dentin bağlayıcı ajanların dentin bariyer testi kullanılarak l 929 hücreleri üzerine sitotoksitelerinin incelenmesi. Selcuk. J. Dent. 2007.
124. Tuncer S, Demirci M. Dental materyallerde biyouyumluluk değerlendirmeleri. J. Dent. Fac. Ataturk. Uni. 2011;2011:141-149.
125. Yoshii E. Cytotoxic effects of acrylates and methacrylates: relationships of monomer structures and cytotoxicity. J. Biomed. Mater. Res. 1997;37:517-524.
126. Murray PE, García Godoy C, García Godoy F. How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? Med. Patol. Oral . Cir. Bucal. 2007;12:258-266.

127. Bural HC. Protez kaide polimerlerinde monomerin polimere dönüşüm oranının in vitro sitotoksosite ile ilişkisinin incelenmesi. 2018.
128. Burak C. Protez Kaide Polimerlerinde Monomerin Polimere Dönüşüm oranının İn Vitro Sitotoksosite İle İlişkisinin İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2006:36-38.
129. Geurtsen W, Leyhausen G. Biological aspects of root canal filling materials—histocompatibility, cytotoxicity, and mutagenicity. *Clin. Oral Investig.* 1997;1:5-11.
130. İlbars N. Yeni Nesil Metal Desteksiz Seramikler ve Yapıştırılmasında Kullanılan Rezin Simanların Biyouyumluluğunun Değerlendirilmesi. Ankara: Gülhane Askeri Tıp Akademisi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1997:11, 14, 24-38.
131. Pizzoferrato A, Ciapetti G, Stea S, Cenni E, Arciola CR, Granchi D. Cell culture methods for testing biocompatibility. *Clin. Mat.* 1994;15:173-190.
132. Dekker A, Panfil C, Valdor M, Pennartz G, Richter H, Mittermayer C, Kirkpatrick C. Quantitative methods for in vitro cytotoxicity testing of biomaterials. *Cells Mater.* 1994;4:101-112.
133. Berridge MV, Tan AS. Characterization of the cellular reduction of 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT): subcellular localization, substrate dependence, and involvement of mitochondrial electron transport in MTT reduction. *Arch. Biochem. Biophys.* 1993;303:474-482.
134. Butler M. *Animal cell culture and technology*: Taylor & Francis, 2004.
135. Freshney RI. *Culture of animal cells: a manual of basic technique*. Alan R. Liss. Inc, 1987;117.
136. Harrison MA, Rae IF. *General techniques of cell culture*: Cambridge University Press, 1997.
137. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: a review. *Dent. Mater.* 1996;12:186-193.
138. Feigal R, Yesilsoy C, Messer H, Nelson J. Differential sensitivity of normal human pulp and transformed mouse fibroblasts to cytotoxic challenge. *Arch. Oral Biol.* 1985;30:609-613.
139. Shafiei F, Tavangar MS, Razmkhah M, Attar A, Alavi AA. Cytotoxic effect of silorane and methacrylate based composites on the human dental pulp stem cells and fibroblasts. *Med. Patol. Oral Cir. Bucal.* 2014;19:e350.
140. Murray P, Lumley P, Franquin J, Remusat M, Smith A. Cavity remaining dentin thickness and pulpal activity. *Am. J. Dent.* 2002;15:41-46.

141. Ratanasathien S, Wataha J, Hanks C, Dennison J. Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. *J. Dent. Res.* 1995;74:1602-1606.
142. Bouillaguet S. Biological risks of resin-based materials to the dentin-pulp complex. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 2004;15:47-60.
143. Tay FR, Carvalho R, Sano H, Pashley DH. Effect of smear layers on the bonding of a self-etching primer to dentin. *J. Adhes. Dent.* 2000;2.
144. Bergenholtz G. Evidence for bacterial causation of adverse pulpal responses in resin-based dental restorations. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 2000;11:467-480.
145. Kılıc K, Kesim B, Sumer Z, Polat Z, Ozturk A. Tam seramik materyallerinin biyouyumluluğunun MTT testi ile incelenmesi. *J. Health Sci.* 2010;19:125-132.
146. Ruyter I. Physical and chemical aspects related to substances released from polymer materials in an aqueous environment. *Adv. Dent. Res.* 1995;9:344-347.
147. Geurtsen W, Spahl W, Leyhausen G. Variability of cytotoxicity and leaching of substances from four light-curing pit and fissure sealants. *J. Biomed. Mater. Res.* 1999;44:73-77.
148. Gerzina T, Hume W. Diffusion of monomers from bonding resin-resin composite combinations through dentine in vitro. *J. Dent.* 1996;24:125-128.
149. Tak Ö. İki farklı polimerizasyon mekanizmasına sahip rezin simanların pulpa odasına diffüze olan HEMA miktarının incelenmesi. *Selcuk J. Dent.* 2008.
150. Stanislowski L, Lefeuvre M, Bourd K, Soheili-Majd E, Goldberg M, Périanin A. TEGDMA-induced toxicity in human fibroblasts is associated with early and drastic glutathione depletion with subsequent production of oxygen reactive species. *J. Biomed. Mater. Res.* 2003;66:476-482.
151. Lefeuvre M, Amjaad W, Goldberg M, Stanislowski L. TEGDMA induces mitochondrial damage and oxidative stress in human gingival fibroblasts. *Biomaterials.* 2005;26:5130-5137.
152. Hanks C, Strawn S, Watahai J, Craig R. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *J. Dent. Res.* 1991;70:1450-1455.
153. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, Lambrechts P, Vanherle G. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J. Dent. Res.* 2003;82:136-140.
154. Inoue S. Adhesion mechanism of self-etching adhesives. *Proc. Int. Symp. Advanced Adhes. Dent.* 2000:131-148.

155. Yoshikawa T, Sano H, Burrow M, Tagami J, Pashley DH. Effects of dentin depth and cavity configuration on bond strength. *J. Dent. Res.* 1999;78:898-905.
156. Bouillaguet S, Degrange M, Cattani M, Godin C, Meyer J-M. Bonding to dentin achieved by general practitioners. *Schweizer Monatsschrift für Zahnmedizin* 2002;112:1006-1018.
157. da Silva JM, Rodrigues JR, Camargo CH, Fernandes VVB, Hiller K-A, Schweikl H, Schmalz G. Effectiveness and biological compatibility of different generations of dentin adhesives. *Clin. Oral Investig.* 2014;18:607-613.
158. Al-Dawood A, Wennberg A. Biocompatibility of dentin bonding agents. *Endod. Dent. Traumatol.* 1993;9:1-7.
159. Schmalz G, Arenholt-Bindslev D. *Biocompatibility of dental materials*: Springer, 2009.
160. Lanza CRM, de Souza Costa CA, Furlan M, Alécio A, Hebling J. Transdental diffusion and cytotoxicity of self-etching adhesive systems. *Cell Biol. Toxicol.* 2009;25:533.
161. Schedle A, Franz A, Rausch-Fan X, Spittler A, Lucas T, Samorapoompichit P, Sperr W, Boltz-Nitulescu G. Cytotoxic effects of dental composites, adhesive substances, compomers and cements. *Dent. Mater.* 1998;14:429-440.
162. Josset Y, Oum'Hamed Z, Zarrinpour A, Lorenzato M, Adnet J-J, Laurent-Maquin D. In vitro reactions of human osteoblasts in culture with zirconia and alumina ceramics. *J. Biomed. Mater. Res.* 1999;47:481-493.
163. Schmalz G, Schuster U, Thonemann B, Barth M, Esterbauer S. Dentin barrier test with transfected bovine pulp-derived cells. *J. Endod.* 2001;27:96-102.
164. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Effect of post-polymerization heat treatments on the cytotoxicity of two denture base acrylic resins. *J. Appl. Oral Sci.* 2006;14:203-207.
165. Nağacı A, Öztan M, Yılmaz Ş. Cytotoxicity of composite resins polymerized with different curing methods. *Int. Endod. J.* 2004;37:151-156.
166. Selimović-Dragaš M, Huseinbegović A, Kobašlija S, Hatibović-Kofman Š. A comparison of the in vitro cytotoxicity of conventional and resin modified glass ionomer cements. *Bosnian J. Basic Med. Sci.* 2012;12:273.
167. Samuelsen JT, Dahl JE, Karlsson S, Morisbak E, Becher R. Apoptosis induced by the monomers HEMA and TEGDMA involves formation of ROS and differential activation of the MAP-kinases p38, JNK and ERK. *Dent. Mater.* 2007;23:34-39.

168. Ergün G, Eğilmez F, Üçtaşı M, Yılmaz Ş. Effect of light curing type on cytotoxicity of dentine-bonding agents. *Int. Endod. J.* 2007;40:216-223.
169. Wataha JC, Craig RG, Hanks C. Precision of and new methods for testing in vitro alloy cytotoxicity. *Dent. Mater.* 1992;8:65-70.
170. Saw TY, Cao T, Yap AUJ, Ng MML. Tooth slice organ culture and established cell line culture models for cytotoxicity assessment of dental materials. *Toxicol. In Vitro.* 2005;19:145-154.
171. Al-Nazhan S, Spangberg L. Morphological cell changes due to chemical toxicity of a dental material: an electron microscopic study on human periodontal ligament fibroblasts and L929 cells. *J. Endod.* 1990;16:129-134.
172. Issa Y, Watts D, Brunton P, Waters C, Duxbury A. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dent. Mater.* 2004;20:12-20.
173. Ferracane J. Elution of leachable components from composites. *J. Oral Rehabil.* 1994;21:441-452.
174. Geurtsen W, Lehmann F, Spahl W, Leyhausen G. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. *J. Biomed. Mater. Res.* 1998;41:474-480.
175. Ulker HE, Sengun A. Cytotoxicity evaluation of self adhesive composite resin cements by dentin barrier test on 3D pulp cells. *Eur. J. Dent.* 2009;3:120.
176. Taira M, Nakao H, Matsumoto T, Takahashi J. Cytotoxic effect of methyl methacrylate on 4 cultured fibroblasts. *Int. J. Prosthodont.* 2000;13.
177. Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *J. Dent. Res.* 2006;85:870-877.
178. Grobler SR, Oliver A, Moodley D, Van Wyk Kotze TJ. Cytotoxicity of recent dentin bonding agents on mouse fibroblast cells. *Quintessence Int.* 2008;39.
179. Koulaouzidou EA, Papazisis KT, Yiannaki E, Palaghias G, Helvatjoglou-Antoniades M. Effects of dentin bonding agents on the cell cycle of fibroblasts. *J. Endod.* 2009;35:275-279.
180. Rakich DR, Wataha JC, Lefebvre CA, Weller RN. Effects of dentin bonding agents on macrophage mitochondrial activity. *J. Endod.* 1998;24:528-533.
181. Völkel W, Colnot T, Csanády GA, Filser JG, Dekant W. Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. *Chem. Res. Toxicol.* 2002;15:1281-1287.

182. Wada H, Tarumi H, Imazato S, Narimatsu M, Ebisu S. In vitro estrogenicity of resin composites. *J. Dent. Res.* 2004;83:222-226.
183. Bouillaguet S, Wataha J, Virgillito M, Gonzalez L, Rakich D, Meyer J-M. Effect of sub-lethal concentrations of HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate) on THP-1 human monocyte-macrophages, in vitro. *Dent. Mater.* 2000;16:213-217.
184. Franz A, König F, Lucas T, Watts DC, Schedle A. Cytotoxic effects of dental bonding substances as a function of degree of conversion. *Dent. Mater.* 2009;25:232-239.
185. Urcan E, Haertel U, Styllou M, Hickel R, Scherthan H, Reichl FX. Real-time xCELLigence impedance analysis of the cytotoxicity of dental composite components on human gingival fibroblasts. *Dent. Mater.* 2010;26:51-58.
186. Altunsoy M, Selim Botsali M, Ulker HE. Evaluation of HEMA released from four different adhesive systems by HPLC. *J. Appl. Biomater. Func. Mater.* 2015;13:100-105.
187. Yasuda Y, Inuyama H, Maeda H, Akamine A, Nör J, Saito T. Cytotoxicity of one-step dentin-bonding agents toward dental pulp and odontoblast-like cells. *J. Oral Rehabil.* 2008;35:940-946.
188. Reichl F-X, Esters M, Simon S, Seiss M, Kehe K, Kleinsasser N, Folwaczny M, Glas J, Hickel R. Cell death effects of resin-based dental material compounds and mercurials in human gingival fibroblasts. *Arch. toxicol.* 2006;80:370-377.
189. de Souza Costa C, Vaerten M, Edwards C, Hanks C. Cytotoxic effects of current dental adhesive systems on immortalized odontoblast cell line MDPC-23. *Dent. Mater.* 1999;15:434-441.
190. Gwinnett AJ, Tay F. Early and intermediate time response of the dental pulp to an acid etch technique in vivo. *Am. J. Dent.* 1998;11:S35-44.
191. Söderholm K-J. Correlation of in vivo and in vitro performance of adhesive restorative materials: a report of the ASC MD156 Task Group on Test Methods for the Adhesion of Restorative Materials. *Dent. Mater.* 1991;7:74-83.
192. Accorinte MdLR, Loguercio AD, Reis A, Muench A, de Araújo VC. Adverse effects of human pulps after direct pulp capping with the different components from a total-etch, three-step adhesive system. *Dent. Mater.* 2005;21:599-607.
193. Schuur A, Gruythuisen R, Wesselink P. Pulp capping with adhesive resin-based composite vs. calcium hydroxide: a review. *Dent. Traumatol.* 2000;16:240-250.

194. Knezevic A, Zeljezic D, Kopjar N, Tarle Z. Cytotoxicity of composite materials polymerized with LED curing units. *Oper. Dent.* 2008;33:23-30.
195. Imazato S, McCabe J, Tarumi H, Ehara A, Ebisu S. Degree of conversion of composites measured by DTA and FTIR. *Dent. Mater.* 2001;17:178-183.
196. Geurtsen W, Spahl W, Leyhausen G. Residual monomer/additive release and variability in cytotoxicity of light-curing glass-ionomer cements and compomers. *J. Dent. Res.* 1998;77:2012-2019.



## 7. EKLER

### GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Farklı üniversal bond sistemlerinin zamana bağlı sitotoksitelerinin xCELLigence yöntemi ile değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	374

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Araştırma Merkezi Binası (GAÜNDAM) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 27310 Şehitkamil/Gaziantep
	TELEFON	
	FAKS	
	E-POSTA	etikkurul@gantep.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr.Öğretim Üyesi Derya SÜRMELOĞLU			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Restoratif Diş Tedavisi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz :					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
OLGU RAPOR FORMU				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>					
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER	<input type="checkbox"/>					

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.



GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Farklı üniversal bond sistemlerinin zamana bağlı sitotoksitelerinin xCELLigence yöntemi ile değerlendirilmesi		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	374		
KARAR BİLGİLERİ	FORMU	<input type="checkbox"/>	
	ILAN	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>	
	<b>Karar No:2018/374</b>	<b>Tarih: 09.01.2019</b>	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmann/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmann/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

<b>KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU</b>	
<b>ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI</b>	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
<b>BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:</b>	Prof. Dr.Aysun BARANSEL ISIR

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr.Aysun BARANSEL ISIR	ADLI TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Dr. Yasemin ZER	MİKROBİYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Dr.Özlem ALTINDAĞ	FİZİK TEDAVİ ve REHABİLİTASYON	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Dr.Birgül ÖZÇİRPİCİ	HALK SAĞLIĞI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Dr.Muradiye NACAĞ	FARMAKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof. Dr. İlker SEÇKİNER	ÜRULOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof. Dr. Mehmet KESKİN	ÇOCUK ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof. Dr. Sinan AKBAYRAM	ÇOCUK HEMOTOLOJİ ve ONKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof. Dr. Ramazan BAL	FİZYOLOG	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Doç. Dr. Umut ELBOĞA	NÜKLEER TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Dr.Öğr.Üyesi Serkan GÜRGÜL	BIYOFİZİK	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Dr.Öğr.Üyesi Eda Didem YALÇIN	AĞIZ DIŞ ve ÇENE RADYOLOJİSİ	Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Uzm. Dr. Günay KOZAN	KULAK,BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI	Gaziantep İl Sağlık Müdürlüğü	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Emine Aybuken YILDIRIM	AVUKAT (Hukukçu)	Gaziantep Barosu	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Recep TÜRK	BANKACI (Kamu Yönetimi)	Ziraat Bankası Gaziantep Bölge Yöneticisi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		

\*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR

Not: Etik kurul/başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

Sevim ATILAN YAVUZ, 1991 yılında Mersin'in Tarsus ilçesinde doğdu. İlkokul eğitimini Özel Çağ Koleji'nde, ortaokul eğitimini Şehitishak Ortaokulun'nda ve lise eğitimini İçel Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2014 yılında Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden mezun oldu. Nisan 2017 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde uzmanlık eğitimine başlamış olup, ekim 2017 yılından itibaren Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimine devam etmektedir.

