

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

**FARKLI YUMUŞAK ASTAR MATERYALLERİNİN
SİTOTOKSİSİTELERİNİN FARE FİBROBLASTLARI ÜZERİNDE
HÜCRE KÜLTÜRÜ YÖNTEMİ İLE *IN VITRO* OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Kutlu Gökhan ÖZDEMİR

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. Handan YILMAZ

ANKARA, 2007

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

**FARKLI YUMUŞAK ASTAR MATERYALLERİNİN
SİTOTOKSİSİTELERİNİN FARE FİBROBLASTLARI ÜZERİNDE
HÜCRE KÜLTÜRÜ YÖNTEMİ İLE *IN VITRO* OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Kutlu Gökhan ÖZDEMİR

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. Handan YILMAZ

ANKARA, 2007

03/2004–11 proje kodlu bu tez çalışması Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel
Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu çalışma, jürimiz tarafından Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalında
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Üye

Üye

Üye

Üye

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Enstitü Müdürü

Doktora öğrenimim süresince desteğini ve yardımlarını esirgemeyen çok değerli tez danışmanım sayın Prof. Dr. Handan YILMAZ'a,

Çalışma hayatım süresince tolerans ve desteğini hissettiğim kıymetli hocam, Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Cihan AKÇABOY'a,

Tez çalışmamdaki büyük ilgi ve katkılarından dolayı Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı ŞAP Enstitüsünde görevli Biyolog Şükran YILMAZ'a,

İstatistiksel değerlendirmedeki yardımlarından dolayı Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim görevlisi Dr. Erdem KARABULUT'a,

Her zaman yanımda yer alan Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve asistan arkadaşlarıma,

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen çok sevgili anne ve babama,

Desteğini ve sevgisini her zaman yanımda hissettiğim, her konuda beni teşvik ve takdir eden, sevgili eşim Dr. Dt. Rana ÖZDEMİR'e yürekten teşekkür ederim.

Eşime...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No:
GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
Yumuşak Astar Maddeleri.....	3
<i>Yumuşak Astar Maddelerinin Tarihçesi.....</i>	<i>4</i>
<i>Yumuşak Astar Maddelerinin Endikasyonları.....</i>	<i>6</i>
<i>Yumuşak Astar Maddelerinin Avantajları.....</i>	<i>7</i>
<i>Yumuşak Astar Maddelerinin Dezavantajları</i>	<i>8</i>
<i>Yumuşak Astar Maddelerinin İdeal Özellikleri.....</i>	<i>10</i>
<i>Yumuşak Astar Maddelerinin Sınıflandırılması.....</i>	<i>11</i>
<i>Hazırlanış Şekillerine Göre.....</i>	<i>12</i>
<i>Kullanım Amaçlarına Göre.....</i>	<i>13</i>
<i>Kimyasal Yapılarına Göre</i>	<i>15</i>
Silikon ve Akrilik Esaslı Yumuşak Astar Maddelerinin Karşılaştırılması	22
Biyolojik Uyum.....	24
<i>Biyolojik Uyum Testleri.....</i>	<i>25</i>
Hücre Kültürü.....	29
<i>Biyolojik Aktivitenin Ölçümü.....</i>	<i>31</i>
<i>Hücre Kültürü Teknikleri.....</i>	<i>32</i>
<i>Hücre Kültürlerinin Kullanım Alanları.....</i>	<i>36</i>
<i>Hücre Kültürlerinin Avantajları.....</i>	<i>37</i>
<i>Hücre Kültürlerinin Dezavantajları.....</i>	<i>38</i>

<i>HücreKültürü Test Yöntemleri.....</i>	39
<i>AgarOverlay Test Yöntemi.....</i>	41
<i>Agarose Test Yöntemi.....</i>	42
<i>Milipore Filtre Test Yöntemi.....</i>	42
<i>Krom Salınım Yöntemi.....</i>	43
<i>Model Kavite Test Yöntemi.....</i>	44
<i>Diş Kavite test Yöntemi.....</i>	44
<i>MTT Test Yöntemi.....</i>	44
Çözümler ile İlgili Çalışmalar.....	46
MATERYAL ve METOT.....	50
Örneklerin Hazırlanması.....	51
Hücre Kültürünün Hazırlanması.....	54
Mikroplatelerin Hazırlanması.....	57
MTT Testinin Uygulanması.....	58
BULGULAR.....	60
TARTIŞMA.....	80
SONUÇ.....	97
ÖZET.....	98
KAYNAKLAR.....	100
ÖZGEÇMİŞ.....	120

TABLÖLAR ve GRAFİKLER

Sayfa No:

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Yumuşak Astar Maddeleri.....	52
Tablo 2. Hücrelerin 24. Saatteki Canlılık Değerleri.....	61
Tablo 3. Hücrelerin 48. Saatteki Canlılık Değerleri.....	62
Tablo 4. Hücrelerin 72. Saatteki Canlılık Değerleri.....	63
Tablo 5. Hücrelerin 96. Saatteki Canlılık Değerleri.....	64
Tablo 6. Hücrelerin Canlılık Değerleri.....	65
Tablo 7. Hücrelerin Canlılık Yüzdeleri (Optik Yoğunluk Değerleri.....	66
Grafik 1. Optik Yoğunluk Değerlerindeki Zamana Bağlı Değişim.....	67
Grafik 2. Materyallerin 24.Saatte Hücre Canlılık Yüzdeleri.....	68
Grafik 3. Materyallerin 48.Saatte Hücre Canlılık Yüzdeleri.....	68
Grafik 4. Materyallerin 72.Saatte Hücre Canlılık Yüzdeleri.....	69
Grafik 5. Materyallerin 96.Saatte Hücre Canlılık Yüzdeleri.....	69

RESİMLER

Sayfa No:

Resim 1. Çalışmada Kullanılan Paslanmaz Çelik Kalıp.....	53
Resim 2. Visco-gel Örnekleri.....	53
Resim 3. Ufi Gel P Örnekleri.....	53
Resim 4. Softliner Örnekleri.....	53
Resim 5. Coe-Soft Örnekleri.....	53
Resim 6. Molloplast-B örnekleri.....	53
Resim 7. UV Işını ile Sterilizasyon.....	54
Resim 8. Steril Kabin.....	54
Resim 9. FBS-Fetal Sığır Serumı.....	55
Resim 10. DMEM Besi Ortamı.....	55
Resim 11. Hücre Kültürü Üretme Kabı.....	55
Resim 12. Tripsin/EDTA Solüsyonu.....	56
Resim 13. İnkübatör.....	56
Resim 14. Hemasitometre.....	57
Resim 15. 96 Gözlü Hücre Üretme Kabı.....	57
Resim 16. Hücre Kontrol Grubu, 24. Saat.....	70
Resim 17. Hücre Kontrol Grubu, 48. Saat	70
Resim 18. Grup 1 (Visco-gel),24. Saat.....	70
Resim 19. Grup 1 (Visco-gel), 48. Saat	70
Resim 20. Grup 1 (Visco-gel), 72. Saat	71
Resim 21. Grup 2 (Ufi Gel P), 24. Saat	71

Resim 22. Grup 2 (Ufi Gel P), 48. Saat	71
Resim 23. Grup 2 (Ufi Gel P), 72. Saat	71
Resim 24. Grup 3 (Softliner), 24. Saat.....	72
Resim 25. Grup 3 (Softliner), 48. Saat	72
Resim 26. Grup 3 (Softliner), 72. Saat.....	72
Resim 27. Grup 3 (Softliner), 96. Saat.....	72
Resim 28. Grup 4 (Coe-Soft), 24. Saat.....	72
Resim 29. Grup 4 (Coe-Soft), 48. Saat.....	72
Resim 30. Grup 4 (Coe-Soft), 72. Saat.....	73
Resim 31. Grup 4 (Coe-Soft), 96. Saat.....	73
Resim 32. Grup 5 (Molloplast-B), 24. Saat.....	73
Resim 33. Grup 5 (Molloplast-B), 48. Saat.....	73
Resim 34. Grup 5 (Molloplast-B), 72. Saat.....	73
Resim 35. Grup 5 (Molloplast-B), 96. Saat.....	73

GİRİŞ ve AMAÇ

Diş hekimliğinde protetik tedavilerin temel amacı; fonksiyon, fonasyon ve estetiğin sağlanması ile ağız sağlığının devam ettirilmesidir. Tam ve bölümlü protezlerin başarısı, uygulanan protezlerin rahatlığına, estetiğine ve fonksiyonel yeterliliğine bağlıdır.¹⁻³ Ancak hareketli protez kullanan hastaların bir kısmı, ince ve reziliens özelliği az olan mukoza varlığına ve ileri derecede alveoler kemik kaybına bağlı olarak, konvansiyonel sert protez kaidelerine uyum sağlayamamaktadırlar.³⁻⁵ Özellikle çiğneme fonksiyonu sırasında oluşan ani darbeler, elastikiyetini kaybetmiş mukozanın, sert protez kaidesi ile destek kemik dokuları arasında sıkışarak, şiddetli ağrılar oluşturmaya sebep olabilmektedir. Bunun yanı sıra, diabet hastalarında ve diğer bazı metabolik hastalıklarda veya geriatrik hastalarda kronik ağrılar önemli problemlere yol açabilmektedir. Bu tür vakalarda, protezlerin yapımı sırasında, destek dokularda oluşabilecek aşırı gerilim birikimleri fonksiyon sırasında ağrıya ve destek dokularda travmatik ülserasyonlara neden olabileceklerinden önlenmeleri gerekmektedir.¹⁻⁶

Yumuşak astar maddeleri, protez üzerine gelen kuvvetlerin eşit olarak dağıtılmasını sağlamak ve atrofik bölgelerde oluşan kuvvetleri azaltmak amacıyla protezlerin doku yüzeylerine uygulanan materyallerdir.^{1,2,4-6} Geçici ve daimi amaçla kullanılan bu materyaller ağız dokusu ile temasta olduklarından, doku reaksiyonuna veya sitotoksik etkiye yol açmamaları, yani biyoyumlu yapıda olmaları gerekmektedir. Bu materyallerin biyoyumluluk ve sitotoksisite

özellikleri, diğer diş hekimliği malzemelerinde olduğu gibi, klinik kullanımları konusunda önem taşıyan faktörlerden biridir. Buna karşın, yumuşak astar maddelerinin sitotoksik etkilerinin değerlendirildiği çalışmalar incelendiğinde, konuyla ilgili araştırmaların sınırlı sayıda olduğu görülmektedir.

Bu tez çalışmasının amacı, beş farklı yumuşak astar materyalinin sitotoksikite özelliklerinin, hücre kültürü yöntemi ile L929 fare fibroblastları üzerinde, MTT analizi kullanılarak araştırılmasıdır.

GENEL BİLGİLER

YUMUŞAK ASTAR MADDELERİ

Yumuşak astar maddeleri, protez kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan mukoza atrofisini, travmatik ülserasyonu veya ağrıyı gidermek ve destek dokulara eşit kuvvet dağılımını sağlamak amacıyla, protezlerin doku yüzeylerine uygulanan polimer yapıda materyallerdir. ¹⁻⁶

Yumuşak astar maddelerinin kullanım amaçlarından biri, çiğneme kuvvetlerinin destek dokulardaki olumsuz etkilerini azaltmaktır. Çiğneme kuvvetleri, çene kemiğini örten mukoza yolu ile altındaki kemiğe iletilmektedir. Basıncın mukoza destekli protezlerde damarsal ve sinirsel mekanizmaya sahip bir doku ile kemiğe aktarılması, basınca maruz kalan bölgede dolaşım bozukluğu ve doku harabiyetinin oluşmasına neden olmaktadır. Yumuşak astar maddeleri çiğneme fonksiyonu sırasında meydana gelen doku travmalarını önlemekte ve kuvvetin bir kısmını iç yapısında tutabilme özelliği sayesinde, gelen yükün çene kemiğine azaltılmış olarak iletilmesini sağlamaktadır. Bu şekilde mukoza korunmakta ve kemik erimesi engellenmektedir. ^{2,4,6-9} Bununla birlikte, sistemik bazı faktörlerin eksikliğinde oluşan aşırı atrofilerde, doğumsal veya sonradan kazanılmış destek doku defektlerinde, bruksizm gibi okluzal travma meydana getiren etkenlerin varlığında ve radyasyon tedavisi sonrasında ortaya çıkan destek mukoza ve kemik dokusu ile ilgili sorunların çözümlenmesinde sert akrilik kaideli

protezler, destek dokuların korunması ve ağırlı sendromların üstesinden gelinmesi için her zaman yeterli olmadığından, yumuşak astar maddelerinin kullanımı söz konusu olmaktadır. Bu nedenle günümüzde, yumuşak astar maddelerinin geliştirilmeleri amacıyla yapılan çalışmalar devam etmektedir.^{2,4,6,7}

YUMUŞAK ASTAR MADDELERİNİN TARİHÇESİ

Yumuşak astar maddeleri, 19. yüzyılın ikinci yarısında tam protezlerin astarlanması için düşünülmüş ve uygulanmıştır.¹⁰ Yumuşak doğal lastik, ilk olarak 1869 yılında, yumuşak astar maddesi olarak kullanılmıştır.^{3,6}

Yumuşak astar maddesi olarak kullanılan ilk sentetik rezin polivinil klorittir; vinil kopolimerler klinik başarı gösterdiği kabul edilen ilk sentetik materyallerdir. Braden ve arkadaşlarının¹¹ bildirdiğine göre, plastikleştirici gerektiren bu materyaller, 1945 yılında Matthews tarafından, polivinil klorit toz, likit olarak di-n-butil fatalat kullanılarak pat formunda fasial protez materyali olarak sunulmuşlardır, fakat plastikleştirici zamanla ağız ortamına salındığından, 6–12 ay gibi kısa bir süre sonra sertleşme gözlenmiş ve plastikleştirici olarak dioktil fatalat polivinil klorit kullanılmaya başlanmış; 1940 yılının sonlarında Nelson, yumuşak astar ile metil metakrilat kaide arasındaki bağlantıyı arttırmak için vinil klor asetalde butil fatalat butil glikoat formülünü kullanmış, ancak 1958 yılında Lammie ve Storer bu materyalde yüksek su emilimi, sertleşme ve çatlama olduğunu belirterek metil metakrilat ve butil ester

akrilik asit içeren, aynı zamanda protez kaidesi olarak ta kullanılabilen bir ürün geliştirmişlerdir. Ancak, bu ürünün de bağlantı ve abrazyon direnci özelliklerinin yetersiz olduğu tesbit edilmiştir.

Çalikkocaoğlu¹⁰ ve McKinstry,¹² silikon lastik materyallerin esası olan polidimetil siloksanın, ilk olarak 1955 yılında Kuck tarafından tanıtıldığını bildirmişlerdir.

Hasanreisoglu ve arkadaşları,¹³ 1956 yılında Engel'in, 1966 yılında Cavadini'nin bu maddelerin uygulanış şekilleri üzerinde durduklarını, Engel'in protezlerin lingual kenarlarının yumuşak maddelerle sonlandırarak tutucu bölgelere uzatılmasını, Cavadini'nin ise esnek maddelerin protezlerin iç yüzeyinde kullanılmasını ve kenarların sert akriliklerle bitirilmesini önerdiklerini belirtmişlerdir.

Yumuşak astar maddeleri, uygulanmaya başladıkları dönemden itibaren birçok çalışma ve araştırmaya konu olmuşlardır. Günümüzde de materyal ile ilgili klinik ve deneysel çalışmalar devam etmektedir.³

YUMUŞAK ASTAR MADDELERİNİN ENDİKASYONLARI

Yumuşak astar maddelerinin kullanımı için çeşitli endikasyonlar bulunmaktadır:

1. İleri derecede atrofi ve rezorpsiyon görülen ve sert protez kaidesinin ağrı oluşturması nedeniyle protezlerini kullanamayan hastalarda,
2. Bilateral undercut bulunan, cerrahi işlemin kontrendike olduğu vakalarda,
3. Doku iyileştirici madde olarak,
4. Fonksiyonel ölçü maddesi olarak,
5. Yarı sürekli astar maddesi olarak,
6. Basıncın hafifletilmesi gereken relief alanlarında,
7. Tek tam protez vakalarında,
8. Bruksizm vakalarında,
9. İmplant protezi öncesi,
10. Cerrahi ve periodontal şine altında, obturatör ve epitez yapımında,
11. Kalınlığı bölgesel değişiklik gösteren hiperemik ve gevşek mukoza varlığında,
12. Xerostomia vakalarında,
13. Geçici kaide plaklarının altında, stabilizasyon sağlamak amacıyla,

14. Diagnostik amaçla,
15. Serbest sonlanan vakalarda,
16. Sistemik hastalıkların destek dokular üzerindeki muhtemel olumsuz etkilerinin elimine edilmesinde,
17. Radyoterapi görmüş hastalarda,
18. Protezin kaide sınırlarının genişletilmesinde kullanılmaktadırlar.^{2,4,6,7,10,14-16}

YUMUŞAK ASTAR MADDELERİNİN AVANTAJLARI

Yumuşak astar maddelerinin avantajları şöyle sıralanabilir:

1. Tutuculuğu arttırmaktadırlar.
2. Ani basınçları absorbe ederek rezorbsiyonu azaltmaktadırlar.
3. Sağlığını kaybetmiş ancak bu durumun dönüşebilir düzeyde olduğu vakalarda, destek dokular üzerinde vibromasaj etkisi ile kan dolaşımını uyararak, kısa sürede iyileşme sağlamaktadırlar.
4. Protez kaide plağı altındaki destek dokularda biyolojik hücre faaliyetlerinin normal olarak devamını sağlamaktadırlar.¹⁰

YUMUŞAK ASTAR MADDELERİNİN DEZAVANTAJLARI

1. ***Maliyet ve Yapım Problemleri:*** Yumuşak astar maddesi uygulanan bir protezin maliyeti, tek kaide materyalinden yapılmış bir protezden daha fazladır. Daimi yumuşak astar maddelerinin klinik uygulamaları karmaşıktır, laboratuvar işlemleri zaman almaktadır.¹⁴

2. ***Protez Kaidesinde Kırılmalara Neden Olması:*** Yumuşak astar maddelerinin yeterli derecede yastık etkisi gösterebilmesi için 2–3 mm. kalınlıkta olması gerekmektedir. Maddeye yer açmak için akrilik kaide maddesi inceltildiğinden kırılabilirliği de artmaktadır. Yumuşak akrilik monomer ve silikon adezivler de kaide materyali üzerinde çözücü etki oluşturarak yapının direncini zayıflatmaktadır.^{2,4,11}

3. ***Boyutsal Stabilite:*** İdeal yumuşak astar maddesinin klinik uyumunun ve kullanım süresinin genellikle boyutsal stabilitesine bağlı olduğu kabul edilmektedir. Su emilimi ve plastikleştiricilerin zaman içerisinde sızması sonucu boyutsal stabilite etkilenmektedir.¹⁴

4. ***Yüzey Bütünlüğü:*** İdeal yumuşak astar maddesi, yüzey aşınmasına sert kaide materyali kadar dirençli olmalıdır. Ancak bu maddelerden, özellikle de silikon esaslı olanların, yüksek sürtünme katsayısı nedeniyle aşınmaya karşı dirençleri düşüktür.^{2,10,17}

5. **Protez Kaidesinden Ayrılma:** Akrilik esaslı yumuşak astar maddeleri yapılarından dolayı akrilik kaideye yeterli bağlantı sağlarken, silikon esaslı maddelerin bağlantıları zayıftır.^{1,2,10,14}

6. **Esneklik:** Yumuşak astar maddelerinin sertleşmeleri, yapılarındaki plastikleştiricilerin ortama sızması sonucu meydana gelmektedir. Bu durumda esnekliğini kaybeden madde tüm avantajlarını da kaybetmekte ve zararlı olmaya başlamaktadır. Bu olay, yalnızca akrilik esaslı astar maddelerinde görülmektedir.^{2,10,18}

7. **Hijyen:** Yumuşak astar maddelerinin temizlenmesi amacıyla kullanılan oksijen açığa çıkarıcı ve hipokloritli protez temizleyici ajanlar ile fırçalama yöntemi, eğer hatalı uygulanıyorsa, özellikle silikon esaslı yumuşak astar maddelerine zarar verebilmektedirler.¹⁹⁻²¹ Yumuşak astar maddelerinin çoğu ağız sıvılarını yapılarına almaktadırlar. Protez hijyenine dikkat edilmediği durumlarda bu sıvılar bozulmakta ve yumuşak astar maddesinin hasta için zararlı hale gelmesine neden olmaktadır. Protez temizliği yumuşak diş fırçası ve diş macunu ile yapılmalıdır.^{2,14,19}

8. **Su Emilimi ve Renk Değişikliği:** Yumuşak astar maddeleri poröz bir yapıya sahip olduklarından su emmeleri ve renk değiştirmeleri söz konusudur. Su emilimi ve renk değişikliği akrilik esaslı yumuşak astar maddelerinde daha fazla görülmektedir.^{10,18,22,23}

9. Mantar ve Mikroorganizmaların Üremesi: Yumuşak astar maddelerinin sert akriliklere göre pürüzlü yapıya sahip olmaları plak ve diş taşı birikimine yol açmakta ve maya benzeri organizmaların üremesine uygun bir ortam hazırlanmaktadır. Yumuşak astar maddelerinde en çok *Candida albicans* gelişimi görülmektedir.^{1,4,10,14,24-26}

YUMUŞAK ASTAR MADDELERİNİN İDEAL ÖZELLİKLERİ

Yumuşak astar maddelerinin, fonksiyonlarını ideal şekilde yerine getirebilmeleri için sahip olması gereken özellikler şunlardır:

1. Uygulanmaları kolay olmalıdır.
2. Sert kaide maddesi ile bağlantıları yeterli olmalıdır.
3. Boyutsal stabiliteleri iyi olmalıdır.
4. Yumuşaklıklarını ve esnekliklerini devamlı koruyabilmelidirler.
5. Çiğneme kuvvetleri altında ezilmemeli, bozulmamalı, kopma ve çatlama göstermemelidirler.
6. Renkleri sabit kalmalı, zamanla lekelenme olmamalıdır.
7. Tadı ve kokusu güzel olmalıdır.
8. Su emilimi olmamalı ya da az miktarda olmalı ve mikroorganizmaların barınmasına olanak sağlayacak şekilde porözite göstermemelidirler.

9. Sağlığa zararlı maddeler içermemelidirler.
10. Abrazyona karşı dirençli olmalıdırlar.
11. Toksik olmamalı, destek dokularda alerji ve irritasyona sebep olmamalıdırlar.
12. Protez kaide plağının direncini azaltması için esneme gösterebilmelidirler.
13. Kolay temizlenebilmelidirler.
14. Tesviye ve polisajları kolay yapılabilmelidir.
15. Tamirleri kolay olmalıdır.^{4,7,10,13,14,27}

YUMUŞAK ASTAR MADDELERİNİN SINIFLANDIRILMASI

1. Hazırlanış Şekillerine Göre:

- I. Oda sıcaklığında polimerize olanlar (RTV)*
- II. Isıyla polimerize olanlar (HTV)¹⁰*

2. Kullanım Amaçlarına Göre:

- I. Geçici amaçla kullanılanlar*
- II. Daimi amaçla kullanılanlar^{1,7,10}*

3. *Kimyasal Yapılarına Göre:*

I. Akrilik esaslı yumuşak astar maddeleri

A. Oda ısısında polimerize olan yumuşak akrilikler

B. Isıyla polimerize olan yumuşak akrilikler

II. Silikon esaslı yumuşak astar maddeleri

A. Oda ısısında vulkanize olanlar

a. İlave polimerizasyonlu silikonlar

b. Kondanse tip silikonlar

B. Isıyla vulkanize olanlar

III. Polifosfazin²²

1. *Hazırlanış Şekillerine Göre:*

I. Oda Isısında Hazırlanan Yumuşak Astar Maddeleri:

Oda ısısında hazırlanan (otopolimerizan) yumuşak astar maddeleri, birkaç hafta veya en çok birkaç ay kullanılabilmekte ve *geçici yumuşak astar maddeleri* olarak bilinmektedirler. Bu süreden sonra materyalde koku başlamakta ve madde protez kaide plağından ayrılmaktadır. En büyük avantajları ise, materyali uygulama işleminin çok kısa sürede bitirilmesidir.^{1,28}

Bu maddelerin doku dostu oldukları ifade edilirse de, yapılan *in vivo* ve *in vitro* testler hem bu materyallerden hem de doku düzenleyicilerden aşırı miktarda alkol ve ester sızdığını göstermiştir.²⁸ Isı ile sertleşen yumuşak astar maddelerinden farklı olarak bu materyaller, çapraz bağlantı ile sertleşmemekte, bunun yerine jel formunu almaktadırlar.²⁹

II. Isıyla Polimerize Olan Yumuşak Astar Maddeleri:

Bu tür bir astar maddesinin kullanım ömrü en fazla bir yıldır. Bu süreden sonra, yumuşak astar maddelerinin fiziksel özellikleri değişebilmektedir. Materyallerde porözite oluşmakta, zamanla sertleşme, protezden ayrılma ve kötü koku görülebilmektedir. Bu değişiklikler sonucunda yalnızca etkinliklerini kaybetmekle kalmayıp, zararlı da olmaktadır.²⁸

2. Kullanım Amaçlarına Göre:

I. Geçici Amaçla Kullanılan Yumuşak Astar Maddeleri:

Oda sıcaklığında hazırlanmaktadırlar ve kullanım süreleri birkaç haftadır.^{10,17} International Standards Organization (ISO),³⁰ 30 güne kadar kullanım ömrü olan astar maddelerini ‘geçici astar maddesi’ olarak tanımlamıştır. Geçici astar maddelerinin içeriğinde temel olarak yüksek plastikleştiricili akrilik rezinler yer almakta, toz ve likitten oluşmaktadırlar. Tozun içinde polidimetilmetakrilat ya

da bir ko-polimeri, likitte ise yüksek molekül ağırlıklı alkol ya da etanolle seyreltilmiş aromatik ester bulunmaktadır. Likit, metakrilat monomer içermemektedir.^{4,29,31}

Bu materyaller doku düzenleyicilerin özelliklerine sahiptirler. Sertleşme sonrası doku düzenleyiciler kadar yumuşak değildirler, ancak yumuşaklıklarını daha uzun süre (1–2 ay) korumaktadırlar. Doku düzenleyiciler gibi visko-elastiktirler ve dinamik yük altında yastık görevi görmektedirler.^{17,22} Geçici amaçlı bu materyallerin kullanımları da doku düzenleyiciler gibidir, ancak daha yavaş sertleştikleri için onlar kadar sık değiştirilmemektedirler.²²

Yumuşak astar maddeleri; yenilenmenin 2–3 günde bir yapılamayacağı durumlarda doku düzenleyicilerin yerine, bunun yanı sıra yeni bir protez yapıncaya kadar kötü uyumlu protezlerin uyumunu düzeltmek ve bunlara ek olarak teşhis amacıyla da kullanılmaktadırlar.^{17,22}

Geçici yumuşak astar maddelerinin daimi yumuşak astar maddelerinden farkı, yük altında viskoz akış özelliği göstermeleridir. Ancak doku konturlarının değişmesi ile kendi konturları da değişmekte ve uyumları bozulmamaktadır. Geçici yumuşak astar maddeleri 3–4 günde plastik özelliklerini yitirmeye başlamakta, bu özellik 4–8 haftada tamamen kaybolarak madde sert ve pürüzlü bir hal almaktadır.^{4,31}

II. Daimi Amaçla Kullanılan Yumuşak Astar Maddeleri:

Çiğneme etkisinden dolayı oluşan ve direkt olarak protezden bazal dokulara aktarılan enerjinin emilimi amacıyla kullanılmakta ve ısı ile polimerize edilmektedirler. Bazı araştırmacılar ^{4,10} kullanım sürelerinin 6 ay ile 5 yıl arasında olduğunu bildirirken, bazıları ^{5,31} bir yıl süreyle kullanımlarını önermektedirler.

Daimi yumuşak astar maddeleri genellikle sert kaide maddelerini kabul edemeyen hastalarda kullanılmaktadırlar. Hastanın sert kaide maddesini kullanamaması gibi problemler, genellikle düzensiz mandibuler kretin esnek olmayan ince bir mukoza ile kaplı olduğu durumlarda ortaya çıkmaktadır. Bu tip kretlerde çiğneme kuvvetleri sonucu, sert kaide, destek dokulara ağrıya neden olmaktadır. Yumuşak astar tabakası, işlev esnasında protezin destek dokular üzerinde oluşturduğu ağrı duyusunu kaldırdığından, hastanın protezini kullanabilmesine yardımcı olabilmektedir. ^{6,17,22,24,28}

3. Kimyasal Yapılarına Göre:

Kimyasal yapılarına göre yumuşak astar maddeleri çeşitli araştırmacılar tarafından farklı şekilde sınıflandırılmıştır. John F. Mc Cabe ve Walls'un²² yumuşak astar maddelerinin kimyasal yapısına göre yaptığı sınıflandırma şu şekildedir:

I. Akrilik Esaslı Yumuşak Astar Maddeleri:

A. Oda Isısında Polimerize Olan Akrilik Esaslı Yumuşak Astar Maddeleri:

Bu maddeler birkaç hafta veya birkaç ay süreyle kullanılabilirler. En büyük avantajları çok kısa sürede hazırlanıp uygulanabilmeleridir.^{14,22,28}

Oda ısısında polimerize olan yumuşak astar maddelerinde, tozun yanı sıra, yumuşama noktası düşük sentetik bir polimer olan, polietilmetakrilat veya polimetilmetakrilat bulunmaktadır. Polimer, % 60–80 oranında dibütil fatalat (phthalate) gibi plastikleştirici içerirken, likitte % 6–40 etil alkol bulunmaktadır. Bu madde polimeri kabartarak genellikle benzol esteri olan çözücü tarafından daha kolay eritilmesini sağlamaktadır.^{1,32-34} Bu grupta 1. faz ilk karıştırma, akıcı sıvı hal, 2. faz viskozite artışı, etanol ve şekil vericilerin reaksiyona girmesi, 3. faz jelin sertleşmesi, plastik özellik kazanması, 4. faz etanol kaybı ve su emme, 5. faz sertleşme, pürüzlenme ve bozulmadır.³⁵

Oda ısısında polimerize olan yumuşak akrilikler daha fazla artık monomere sahiptirler ve geçici yumuşak astar maddesi olarak kullanılmaktadırlar.^{14,22}

B. Isı ile Polimerize Olan Akrilik Esaslı Yumuşak Astar Maddeleri:

Hazır akrilik tabakalar ve toz-likit sistemleri şeklinde bulunmaktadır. Toz bileşimi polietil veya polibütil metakrilat grenleri, başlatıcı olarak benzol peroksit ve pigmentlerden oluşmakta, likidi ise butil (veya metil) metakrilat ve plastikleştirici içermektedir.^{1,10,22,28}

Plastikleştirici (plastizer) olarak isimlendirilen maddeler ana maddeye yumuşaklık sağlamaktadırlar. Bunların ana madde içinde az veya çok miktarda olması monomerin veya polimerin yapısına bağlıdır. Sertleşmeye geçiş dereceleri daha düşük olan monomerler kullanıldığı zaman, daha az oranda plastikleştirici gerekmektedir. Akrilik esaslı yumuşak astar maddelerinin en önemli sorunlarından biri, yapılarındaki plastikleştiricilerin zaman içerisinde çözünmesidir. Plastikleştiriciler çözündükçe elastiklik özelliği azalmakta ve sonuçta madde zamanla sertleşmektedir. Bunu önlemek için polimerize olan plastikleştiriciler kullanılmakta ya da plastikleştirici kullanmadan yüksek akrilik metakrilat esterleri toz haline getirilmiş elastomerlerle karıştırılmaktadır.^{1,10,17,24}

II. Silikon Esaslı Yumuşak Astar Maddeleri :

Silikon esaslı bileşimler, yumuşak astar maddeleri için gerekli görülen fiziksel ve kimyasal özelliklere en yakın materyaller olarak görülmüş olsa

da, zaman içerisinde yapılan araştırmalar, bu maddelerin de avantajlarının yanı sıra, bazı dezavantajlarının olduğunu ortaya koymuştur.^{10,22,28}

Silikon esaslı yumuşak astar maddelerinin avantajları:

1. Fiziksel ve kimyasal etkilere karşı dayanıklıdırlar.
2. -50°C ile +200°C arasında yapıları değişmemektedir.
3. Kolay yıpranmamaktadırlar.
4. Asitlere ve bazlara karşı dirençleri yüksektir.
5. Organik eriticiler silikonların şişmesine sebep olsa da, sonradan buharlaşma yoluyla eski hallerini almaktadırlar.
6. Tatsız, kokusuz ve aslında renksizdirler.
7. Yanmamakta veya çok az yanmaktadırlar.
8. Biyoyumludurlar ve alerjik reaksiyona neden olmamaktadırlar.
9. Su emmemekte ve esnekliklerini koruyabilmektedirler.^{10,32}

Silikon esaslı yumuşak astar maddelerinin dezavantajları:

1. Fungal kolonizasyona elverişlidirler.
2. Polisajlarını yapmak güçtür.
3. Aşınmaya karşı dirençleri düşüktür.
4. Kolay lekelenirler ve temizlenmeleri zordur.

5. Kaide plağı ile bağlantıları zayıftır.
6. Plastikleştirici sızıntısı oluşmaktadır.
7. Renk ağarması meydana gelmektedir.^{2-4,10,32}

A. Oda Isısında Vulkanize Olan Silikon Esaslı Yumuşak Astar Maddeleri:

Oda ısısında vulkanize olan silikon esaslı yumuşak astar maddeleri genellikle geçici yumuşak astar maddelerini oluşturmaktadırlar.¹ En büyük dezavantajları, bağlayıcı bir ajan kullanılmasına rağmen akrilik protez kaide plağına zayıf bağlantı oluşturmalarıdır. Temizleme ve polisaj işlemleri güçtür, bu nedenle materyal yüzeyinde Candida ve mikroorganizma tutunumu çok fazladır. Uzun süre yumuşak kalabilmeleri ise avantajlarıdır.^{10,17,22,36}

Oda ısısında vulkanize olan silikonların iki tipi de yumuşak astar maddesi olarak kullanılmaktadır. Bunlar ilave tip ve kondanse tip silikon elastomerlere benzemektedirler.^{1,22}

a. İlave Polimerizasyonlu Silikonlar:

İlave polimerizasyonlu silikonlar, son zamanlarda kullanılmaya başlanan yumuşak astar maddeleridir. Bunların yapısı ve sertleşme reaksiyonu

ölçü almada kullanılan ürünlere çok benzerdirler ve iki pat halinde bulunmaktadır. Bu patlar, eşit miktarlarda karıştırılarak kullanılmaktadırlar.^{22,37}

b. Kondanse Silikonlar:

Kondanse silikon tipleri genellikle pat ve likitten oluşmaktadırlar. Pat; hidroksil grubunu taşıyan polidimetil siloksan likit polimerini ve inert bir dolgu maddesini (silika tozu veya metal oksit) içermektedir. Likit ise; tetra etil silikat gibi bir çapraz bağlayıcı ajan ile dibütil kalay dilaurate gibi organokalay bileşimli bir katalizörden meydana gelmektedir. Pat ile likit karıştırıldığında, kondansasyon çapraz bağlanma reaksiyonu oluşmaktadır. Bu reaksiyonun yan ürünü olarak alkol açığa çıkmaktadır. Çapraz bağlantı patın lastiğe dönüşümünü sağlamaktadır.^{3,22,28,37}

Silikon bazlı bileşikler ideal bir yumuşak astar maddesi için ihtiyaç duyulan fiziksel ve kimyasal özellikleri yeterince sağlasalar da, bu bileşiklerin klinik olarak uyumlarını olumsuz yönde etkileyen bazı özellikler bulunmaktadır. Bu tip yumuşak astar maddelerinde görülebilecek en önemli problemler; uygun hacmin ve viskozitenin sağlanması ve yumuşak polimerik kor yapısına direnç kazandırmak için gerekli olan dolduruculardır. Bu amaç için, genellikle, toprak ‘diatomaceous’ kullanılmaktadır (diatom: mikroskobik tek hücreli bir deniz ve tatlı su yosunu, diatomaceous: bu mikroskobik canlıya ait). Ancak bu materyal yüksek oranda su emilimi göstermekte ve su içeriği arttıkça doldurucu

partiküllerin büyüklüğü de hızlı bir şekilde artmaktadır. Sonuçta yumuşak polimerlerin fiziksel özellikleri ile boyutlarında önemli değişiklikler oluşmakta ve yumuşak astar maddelerinin bağlandığı akrilikte adezyon meydana gelmektedir.³

B. Isıyla Vulkanize Olan Silikon Esaslı Yumuşak Astar Maddeleri:

Isıyla vulkanize olan silikonlar, çapraz bağlantılı polidimetil siloksan polimeri olup genellikle tek bir pat veya jel olarak kullanılmaktadırlar. Aslında sıvı halde bulunan bu madde, silika gibi doldurucularla pat haline getirilmektedir. Patın içinde, oksijen katalizörü olan benzoil peroksit de bulunmaktadır. Isı ile parçalanan bu madde serbest köklerin oluşmasına ve reaksiyonun başlamasına sebep olmaktadır. Bu tip silikonlar protezin yapımı sırasında protez ile birlikte muflada uygulanmaktadırlar.^{1,17,22,24,28}

Akrilik protez kaidesi ile bağlantı; silikon polimer, uçucu bir çözücü içindeki polimetilsiloksan gibi veya akrilik silan bağlayıcı ajanlar ile sağlanmaktadır. Fakat her ikisinde de bağlantı çok zayıf olmakta ve kısa bir süre içerisinde ayrılma gerçekleşmektedir.^{24,29}

III. Polifosfazinler:

Sakız ağacından üretilmiş yarı organik polifosfazin floroelastomeri olan polifosfazinler son yıllarda kullanılmaya başlanmış, belirli bir kalınlıkta,

polimerize olmaya hazır plaklar halinde, sert ve yumuşak olmak üzere iki şekilde üretilmiştir. Her iki şeklinin de, aynı protez kaide plağı altında, beraberce kullanılması mümkündür. Böylece alveol kret tepesi gibi ağrının sıklıkla görüldüğü alanlara yumuşak olan cinsi, protez kenarlarına ve vestibulde kaidenin iç yüzeylerine sert olan şekli yerleştirilebilmektedir. Uygulanması ısı ile sertleşen silikon ürünleriyle benzerlik göstermektedir. Önerilen sertleşme süresi 74° C’ de 8 saattir. Diğer bir hazırlama şekli ise, 74° C’ de 2,5 saat ve takiben 100° C’ de 30 dakika sertleşmedir.^{1,10,22}

SİLİKON VE AKRİLİK ESASLI YUMUŞAK ASTAR MADDELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Günümüzde tam ve hareketli bölümlü protezler için silikon ve akrilik esaslı astar maddelerinin kullanımı önerilmektedir. Doğru seçimin yapılabilmesi için her iki materyalin özelliklerinin karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Silikon ve akrilik esaslı yumuşak astar maddeleri arasındaki belirgin farklar aşağıdaki gibi sıralanabilmektedir:

1. Daimi Yumuşaklık Farkı: Silikon esaslı yumuşak astar maddeleri, akrilik esaslı olanlara göre daha uzun süre yumuşaklıklarını koruyabilmektedirler, fakat erken dönemde en yumuşak olan tür oda ısısında polimerize olan akrilik yumuşak astar maddeleridir. Bu fark silikonların doğal yapılarının esasen yumuşak olmasından kaynaklanmaktadır, elastiklik modülleri

su emerek daha da düşebilmektedir. Akrilik esaslı olanlarda materyalin içine plastikleştirici katılmasıyla yumuşaklık sağlanmakta, bu maddelerin zamanla sızması sonucunda sertleşme görülmektedir.

2. Kaide Plağına Bağlanma Farkı: Protez kaidesi ile yumuşak astar maddesi arasındaki bağlantı akrilikler ve sıcak silikonlar için yeterlidir. Ancak soğuk silikon astar maddelerinin protez kaidesinden ayrılma eğilimi vardır. Adeziv maddelerin kullanımına rağmen bu ayrılma önlenemediğinden, protezin kenarlarında astar maddesinin sert kaide içinde bitirilmesi, yani kutulama (boxing) yapılması önerilmektedir.^{7,10,22,24}

3. Su Emilimi Farkı: Akrilik esaslı yumuşak astar maddeleri, yapılarındaki plastikleştiricilerin sızması sonucu, silikon yapısında olanlara göre daha çok su emmektedirler.

4. Mantar ve Diğer Mikroorganizmaların Üreme Farkı: Silikon esaslı yumuşak astar maddeleri genelde mantar türü mikroorganizmaların üremesine daha çok sebep olmaktadır. Bu durum, materyalin yapısal özelliği ile ilgili olduğu kadar, hastanın protezini temizlemesi ile de ilgilidir.^{7,10,17,22,28}

5. Elastikiyet Farkı: Silikon esaslı yumuşak astar maddeleri, akrilik esaslı yumuşak astar maddelerine oranla daha elastiktirler. Undercut

görülen vakalarda akrilik esaslı yumuşak astarlara oranla daha başarılı olarak kullanılabilmektedirler.^{7,10,17,22,24,28}

6. Yırtılma Farkı: Silikon esaslı yumuşak astar maddeleri düşük yırtılma direncine sahiptirler.²⁴

BIYOLOJİK UYUM

Biyolojik uyum ya da biyoyumluluk; canlı dokularla temasta olan herhangi bir malzemenin, sistemik ve lokal toksisite, alerjik, mutajenik ve karsinogenik etki yapmayan inert özelliklere sahip olması ve vücudun yumuşak ya da sert dokularında doku reaksiyonu oluşturmamasını ifade etmektedir.³⁸ Başka bir deyişle, kullanılan materyalin uygun konakçı cevabı oluşturması olarak ta tanımlanmaktadır.³⁹ Bir materyalin ağız ortamında kullanılabilmesi için biyoyumlu olması gerekmektedir.⁴⁰

Biyolojik uyum için; malzemenin kimyasal yapısı, restorasyonun tasarımı, elde edilme yöntemleri, mekanik özellikleri, doku ile temasının şekli, yeri ve dokunun özellikleri gibi pek çok faktörün bir arada uyum içerisinde olması gereklidir. Biyolojik uyum özelliği olmayan materyaller doku reaksiyonuna yol açmaktadırlar.⁴¹

BİYOLOJİK UYUM TESTLERİ

In vitro koşullarda kullanılması düşünülen materyallerin vücut dokuları üzerindeki toksik etkilerinin değerlendirilmesi ve oluşturabilecekleri biyolojik reaksiyonların taklit ve tahmin edilebilmesi amacı ile *in vitro* biyoyumluluk testleri geliştirilmiştir.^{41,42}

In vitro araştırmalar, hücre ve dokuda oluşan yaralanmaların dönüşebilir (dejeneratif) ve dönüşümsüz (nekrotik) aşamalarında ortaya çıkan spesifik olayları incelemektedir. *In vitro* biyoyumluluk testlerinde; vücut dokularının üzerine veya içerisine yerleştirilen malzemelere karşı gelişecek olan biyolojik reaksiyonların test ortamında oluşturulması amaçlanmaktadır.⁴¹

Bir materyalin biyoyumluluğunun belirlenmesinde en önemli aşama, materyale uygun özellikteki en ideal test yönteminin seçilmesidir. Çünkü biyolojik uyumun belirlenmesinde kullanılacak olan testler hem materyalin uygulandığı bölgeye hem de beklenen zararlı etkilere göre farklılık göstermektedir.⁴³

In vitro biyoyumluluk testlerinin uygulanmasında bazı problemlerle karşılaşmaktadır. Biyolojik reaksiyonların *in vitro* testlerle şekillendiği koşullarda, elde edilen sonuçlar *in vivo* sistem içerisinde yer alan

koruyucu mekanizmalardan etkilenmediklerinden, sadece test edilen parametreyle ilgili olarak şekillenmektedirler.⁴⁴ Bununla birlikte, uygulanan test yöntemlerinin tekrarlanabilir özellikte olabilmeleri için standart test yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir.⁴¹

Günümüze dek hücresel ve moleküler biyolojideki hızlı gelişmelere paralel olarak materyallerin biyoyumluluğunu belirlemek amacıyla çok sayıda test yöntemi geliştirilmiş olmakla birlikte, bu yöntemlerin standardize edilmemesi nedeni ile testler, geliştirilen malzemelerdeki teknik ilerlemelerin gerisinde kalmıştır. Ancak 1982 yılında FDI (Uluslararası Diş Hekimliği Birliği), ISO (Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu) ve ADA (Amerikan Diş Hekimliği Akademisi) tarafından ortak bir görüşe varılarak diş hekimliğinde kullanılacak malzemelerin biyolojik uyumunun araştırılmasına yönelik testler oluşturulmuştur.⁴¹

Materyallerin biyoyumluluğunun değerlendirilmesinde kullanılacak olan testler *öncül testler*, *ikincil testler* ve *kullanım testleri* olmak üzere üç aşamada gerçekleştirilmektedir. Diş hekimliği malzemelerinin biyolojik uyumluluğu, genellikle, öncül testler grubunda yer alan sitotoksite testleri ile değerlendirilmektedir.

1. Öncül Testler

1. LD50 ağız içi testi
2. LD10 karın içi test
3. Soluma testi
4. Hemolizis testi
5. Ames testi
6. Styles testi
7. Dominant letal test
8. Sitotoksisite testi ⁴⁵

Sitotoksisite Testi: Test malzemesinin uygun hücre kültürlerindeki hücre büyüme oranı ve morfolojik özellikleri üzerindeki etkisinin negatif ve pozitif kontrol grupları kullanılarak değerlendirildiği test yöntemidir. ⁴⁵

Sitotoksisite testleri sırasında hücrelerde oluşan morfolojik değişiklikleri inceleyen çalışma sayısı oldukça azdır. En sık karşılaşılan hücresel bozulma, hücrelerin yapıştıkları yüzeyden ayrılmaları ve iğ şeklindeki fibroblast hücrelerinin sitoplazmik büzülme nedeniyle yuvarlaklaşması, mikrovillüslerin kaybolması ve vakuol oluşumu şeklindedir. ⁴⁶

Diş hekimliği malzemelerinin sitotoksisitesinin değerlendirildiği testlerde, uygulanan materyalin; hücre sayısı ve büyümesi, hücrelerin membran

bütünlüğü, biyosentez veya enzim aktivitesi ile hücrenin genetik yapısı üzerindeki etkileri ölçülmektedir.⁴¹⁻⁴³

Sitotoksitenin Değerlendirilmesinde Kullanılan In Vitro Testlerin

Avantajları:

1. Test edilecek malzemenin, diğer metabolik olaylardan bağımsız olarak, hücre metabolizmasındaki spesifik bir fonksiyon üzerindeki etkisi değerlendirilmektedir.
2. Aynı anda çok sayıda örnek, kısa zamanda test edilebilmektedir ve diğer testlere oranla daha ekonomiktir.
3. Deneyler sonucunda kantitatif sonuçlara ulaşılmaktadır.
4. Materyallerin toksisitesi kullanım testlerine oranla daha hassas şekilde değerlendirilmektedir.
5. Deneyler sırasında test koşulları standardize edilebilmektedir.^{47,48}

Sitotoksitenin Değerlendirilmesinde Kullanılan In Vitro Testlerin

Dezavantajları:

1. Her test için bir tür hücre kullanılması gerekmektedir.
2. Kültür hücreleri konak hücrelerinden farklılık göstermektedir.
3. Kültür ortamında, *in vivo* koşullarda mevcut olan enflamatuar reaksiyonların ve diğer doku koruyucu mekanizmaların bulunmaması önemli bir eksikliktir.^{39,48}

II. İkincil Testler

1. *Kemik implantasyon testi* ⁴⁹
2. *Ağız mukozası membran testi* ⁴⁵
3. *Sensitizasyon testi* ^{45,50}
4. *Subkutanöz implantasyon testi* ^{45,51}

III. Kullanım Testleri

1. *Restoratif malzemeler için pulpa ve dentin testi* ⁴⁵
2. *Kuafaj ve pulpotomi malzemeleri testi* ⁴⁵
3. *Endodonti malzemeleri testi* ^{43,45}
4. *Kemik içi implant malzemeleri testi* ^{43,52}

HÜCRE KÜLTÜRÜ

Hücrelerin, dokudan mekanik yollarla ve bunu takiben de proteolitik enzimlerle muamele edilerek tek hücre veya küçük kümeler halinde ayrıştırılmasına ve bunların bir besi yeri ile cam veya plastik şişelerde doku ile bağlantısı olmadan *in vitro* olarak çoğaltılmasına *hücre kültürü* adı verilmektedir.⁵³

Biyolojik özellikleri değerlendirmenin *in vitro* ve *in vivo* olmak üzere iki temel yöntemi bulunmaktadır. *In vitro* deneyler, *in vivo* deneylerin aksine, deney faktörlerinin kontrol edilebilir olması avantajına sahiptirler. Ancak,

materyal ve konak doku arasındaki kompleks etkileşimler çalışılmak istendiğinde *in vitro* deneyler yeterli olamamaktadırlar.

Doku ve organ kültürü tanımları, doku ve organ parçalarının genel özellik ve normal fonksiyonlarını korumak şartı ile *in vitro* olarak korunmalarını ve kültüre edilmelerini ifade etmektedirler.⁵³⁻⁵⁵

Hücre ve doku kültürlerinin kullanılması ile son yıllarda moleküler biyoloji ve tıp alanlarında büyük aşamalar sağlanmış, hastalıkların epidemiyolojisi, patogenezi, teşhis ve tedavisinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Hücre kültürü çalışmaları, hücre metabolizmasının organizmanın ölümünden sonra bir süre daha devam ettiğinin gözlenmesi ile ortaya çıkmıştır.⁵⁵

Hücre ve doku kültürü üretmek için kullanılan vasatlarda, hücresel metabolizma faaliyetlerinin devamı ve hücrelerin çoğalması bazı belli maddelerin varlığı ile sağlanabilmektedir. Hücre bu maddeleri diğer moleküllerden kendi sentezleyememekte ve bu gerekli maddeler ortama ilave edilen vasatlardan sağlanmaktadır. Vasatlar, doğal ve sentetik materyallerin çeşitli kombinasyonlarını kapsamaktadır. Hücre üretme vasatları, hücrenin organlardan ayrılmasından sonra doku tabakası oluşana kadar hücrelerin üretilmesi için kullanılmakta, genel olarak serumla birlikte hücrelerin çabuk üremelerini sağlayan diğer maddeleri içermektedir. Hücrelerin *in vitro* olarak çoğaltılabilmeleri için en uygun ortam, *in vivo* ortamlarına en yakın olan

ortamdır.⁵³⁻⁵⁵ Hücreler günümüzde rutin olarak kültüre edilmektedirler. Vasat içerisinde; enerji kaynağı olarak glikoz, plazma ve serum, esansiyel aminoasitler, vitamin, mineraller, şeker, tuz ve antibiyotikler yer almaktadır.^{53,55}

Hücre kültürleri; bireysel faktörlerden etkilenmemeleri, materyaller arasında parametrik karşılaştırmalara olanak tanımaları, tekrarlanabilme özellikleri, çalışma koşullarının standardize edilebilmesi, deneylerde kullanılacak hayvanların öldürülmemesi gibi etik nedenlerden dolayı da tercih edilmektedir.^{39,47,48} Buna karşın, hücre kültürü testleri ile sadece materyallerin ilk toksisite reaksiyonları konusunda bilgi edinilebilmekte, materyalin uzun süreli doku temasında oluşturacağı sitotoksisite düzeyi konusunda ise veri elde edilememektedir.⁴⁸

BİYOLOJİK AKTİVİTENİN ÖLÇÜMÜ

Hücre popülasyonunun canlılığı birkaç şekilde ölçülebilmektedir. En kolay yöntem boya alma ölçümüdür. Hücreler trypan blue ile muamele edilmekte, daha sonra bir hemositometrede mikroskop altında incelenmektedir. Mekanik olarak tahrip olmuş veya metabolik olarak inaktif hücreler mavi görünmektedir. Hücrelerin metabolik bütünlüğünden çok proliferatif kapasitelerini saptamayı amaçlayan çalışma yapılıyorsa farklı deneysel yöntemler kullanılmaktadır. Hücre kültürlerinin büyümesi veya ‘plating randımanı’ (plating efficiency), proliferatif kapasitelerin ölçümünde kullanılabilmektedir.⁵³

Hücreler, çoğalıp mevcut yüzeyi doldurdıklarında replikasyon durmakta ve hücreler istirahat fazına girmektedir. Eğer böyle hücreler yeniden süspanse edilir (örneğin tripsinizasyon ile) ve dilüe edilirlerse, yeniden büyümeye başlamakta ve bir günlük yavaşlama periyodunu takiben, yaklaşık 24 saatlik bir sürede hücre sayısı iki katına çıkmaktadır. Bu süre hücre kültürlerinin yaşına, vasattaki serumun miktarına ve donörün genotipine bağlı olarak değişmektedir.

Plating randımanı deneyleri, büyüme eğrilerinden çok proliferasyon gücünü ölçmektedirler. Az sayıda hücre direkt olarak hücre kültür plaklarına ekilmekte ve iki haftalık bir inkübasyondan sonra koloniler sayılmaktadır. Bir hücre dizisinin plating randımanı, belirli büyüklükte koloniler (çoğunlukla 50 hücre veya daha fazlası) veren hücrelerin yüzdesi şeklinde saptanmaktadır.⁵³

HÜCRE KÜLTÜRÜ TEKNİKLERİ

Hücre kültürü; spontan migrasyon, mekanik veya enzimatik parçalama ile bir dokudan ayrılmış olan hücrelerin üretilmesidir.

Hücre kültürünün tarihçesi 1800'lü yıllara dek uzanmaktadır. Poul'un ⁵⁶ bildirdiğine göre, ilk olarak 1866 yılında *in vitro* doku kültürü çalışılarak amfibi kan hücrelerinin 35 gün canlı kalabilmesi başarılmış, ardından Wilhelm Roux 1885 yılında, tavuk embriyosu sinir plaklarının birkaç gün canlı

kalabilmesini sağlamış, 1887 yılında Arnold kurbağalara kemik iliği fragmanları implante etmiş, 1898’de Ljungren insan derisini *in vitro* koşullarda bir-iki gün yaşatabilmiş ve 1903 yılında Jolly *in vitro* koşullarda hücre canlılığı ve bölünmesi ile ilgili birtakım çalışmalar yaparak semenderden elde ettiği lökositleri bir aydan fazla süreyle canlı tutmayı başarabilmiştir. Bu dönemlerde henüz hücre kültürü vasatlarıyla beraber antibiyotikler kullanılmadığı için, dokuların bu şekilde canlı kalmalarını sağlamak oldukça büyük başarı kabul edilmektedir.

1910–1914 yılları arasında temel hücre, doku ve organ kültürlerinde büyük adımlar atılmıştır. Aseptik koşullarda çalışmalar yapılmış ve gerçek anlamda ilk doku kültürü çalışmaları gerçekleştirilmiştir. 1926 yılında çalışmalar hücre üretme vasatları üzerine yoğunlaşmış ve analitik yöntemlerle hücre kültür vasatları hazırlanmıştır. 1952’de insan serviks karsinomasından ilk devamlı hücre kültürü (HeLa) elde edilmiştir. 1955–1960 yılları arasında, hücre kültürü çalışmalarında çok önemli bir adım atılarak günümüzde kullanılan anlamda temel hücre kültürü vasatlarını hazırlanmıştır.^{53,57}

1960’lı yıllarda hücre füzyonu çalışmaları ile monoklonal antikor üretimine öncülük edilmiş ve Hart’ın⁵⁸ bildirdiğine göre; ilk olarak 1961 yılında Barski ve arkadaşları *in vitro* koşullarda somatik hücre hibridlerini elde etmişlerdir.

1979 yılında Green ve arkadaşları,⁵⁹ epidermal hücre kültürleri hazırlamışlardır. 1980'li yıllarda, endotelial hücrelerden kapiller damarların oluşturulmasına çalışılmış ve 1989 yılında, hücre kültürü teknolojisi, homograft yapımı ve rekonstrüktif cerrahide kullanılmaya başlanmıştır.⁵⁵

Son 20 yıldır hücre kültürü, yalnızca spesifik araştırmalar için kullanılan bir araç olmaktan çıkarak, dünyanın en hızlı gelişen endüstri alanlarından biri olan biyoteknolojinin temel taşlarından biri haline gelmiştir. Yalnızca akademik araştırmalarda değil, fertilizasyon, yapay organ, medikal ve toksikoloji çalışmalarında hayvanların yerini alması yolunda yeni uygulamalar geliştirilmiştir.⁵³⁻⁵⁵

Farklı dokulardan üretimi sağlanan hücre kültürleri *primer hücre kültürleri*, *devamlı hücre kültürleri* ve *diploid hücre kültürleri* olmak üzere üç grupta toplanmaktadır.

1. Primer Hücre Kültürleri

Orijinal dokudan yeni ayrılan ve ilk olarak kültür şartlarında bulunan hücrelerden oluşmaktadır. Dokunun fizyolojik durumunu yansıtan bu hücrelerin genotipi ve fenotipi, orijinal doku hücresi ile aynı özellikleri taşımaktadır. Primer hücre kültürleri ilk pasajdan sonra bir kültür ortamından diğerine taşınmaktadırlar. Bu işleme *subkültür* adı verilmektedir. Yeni üretilen

hücre kültürleri aynı fonksiyonel özelliklere sahip hücre hatlarını oluşturmaktadırlar. Hücre hatları, hücrelerin alındığı dokuların özelliklerine göre değişmek şartı ile farklı oranlarda subkültüre izin vermektedirler. Ancak bu hücrelerin deneysel ortamlarda çoğalmaları sınırlıdır.^{41,55,60}

Primer hücre kültürleri, üretim aşamalarının zor olmasına, hassas hücreler olmalarına, çalışma esnasında ortaya çıkabilecek sorunlara ve kontrollerinin son derece güç olmasına rağmen orijinal fizyolojik durumu ifade etmeleri nedeniyle değer kazanmışlardır.^{47,61}

2. *Devamlı Hücre Kültürleri*

Subkültürleri sonsuz olarak yapılabilen ve karyotipleri alındıkları dokulardan farklı olarak geliştirilmiş kültürlerdir. Herhangi bir kültürün, devamlı doku kültürü olabilmesi için en az 70 kere subkültürünün olması gerekmektedir. Transformasyonları nedeniyle fizyolojik özelliklerini koruyamamaktadırlar.⁵⁵ Devamlı hücre hatları, standart kültür örnekleri olarak embriyonik veya kanserli dokulardan kodlanmış ve kullanıma sunulmuştur.⁶⁰

3. *Diploid Hücre Kültürleri*

Primer kültürlerin subkültürlerinin yapılmasından elde edilmektedirler. Ancak bu kültürlerdeki bütün hücreler, alındıkları dokunun

karyotipini % 85 oranında korumaktadırlar. Diploid kültürlerde bazı hücrelerde kromozom tipleri kaybolabilmektedir.⁶⁰

Sitotoksitenin değerlendirilmesinde primer hücrelerin devamlı hücrelere oranla daha etkili oldukları bilinmektedir. Bununla birlikte, primer ve devamlı hücre kültürlerinin sitotoksik maddeye verdikleri metabolik cevaplar arasında bazı farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Devamlı hücre kültürleri genetik ve metabolik olarak stabil olduklarından test sonuçlarının standardizasyonu daha kolaydır.^{48,62}

HÜCRE KÜLTÜRLERİNİN KULLANIM ALANLARI

Hücre kültürlerinin günümüzdeki yaygın kullanım alanları şu şekilde özetlenebilir:

1. Viral aşı üretimi ve viral teşhis amaçlı
2. Monoklonal antikorlar ile antikor üretimi
3. İnterferon üretimi
4. Enzim üretimi
5. İnsekt aşı üretimi
6. İnterlökin üretimi
7. Hormon üretimi (İnsülin)
8. Büyüme faktörlerinin üretimi

Hücre kültürlerinin yeni kullanım alanları ise şöyle sıralanabilir:

1- Somatik gen tedavisi

2- Tümör aşılı

3- Canlı hücrelerin greft amaçlı kullanılması

- Eritrositlerin organizma dışında transfüzyon

amacıyla kullanılması

- Kanser tedavisinde kemik iliğinin kullanılması

- Parkinson hastalığının tedavisinde beyin

hücrelerinin kullanılması

- Organizma dışında hücre modifikasyonu

4- Kompleks üç boyutlu dokular

- Yapay deri

- Yapay kıkırdak

- Yapay karaciğer

- Yapay pankreas^{57,63}

HÜCRE KÜLTÜRLERİNİN AVANTAJLARI

1. Hücre kültürü ortamında fizikokimyasal çevre ve buna bağlı olarak fizyolojik koşullar daha iyi kontrol edilebilmektedir. Sıcaklık, pH, osmotik basınç, oksijen ve karbondioksit kısmi basınçları gibi fizikokimyasal koşullar hücre kültüründe daha kolay sağlanırken, canlı vücudunda sabit bir çevre oluşturarak birtakım testleri yapmak daha zordur.

2. Örnek homojenitesinin kontrolü sağlanabilmektedir. Doku örnekleri çoğunlukla heterojendir. Ancak birkaç pasaj sonra kültüre edilmiş hücreler homojen hale gelmektedirler. Hücrelerin homojenitesi, elde edilen ürünlerin homojenitesi açısından son derece önemlidir. Bunun sağlanmasının bir diğer yolu da çalışan kişilerin homojenitesi ve çalışmaların aynı koşullarda yapılmasıdır.

3. Hücre kültürleri ekonomiktir. *In vivo* sistemlerde test için canlı organizmaya verilen maddelerin bir kısmı çeşitli yollarla dışarıya atılacak, bir kısmı da organizmanın bağışıklık sistemi tarafından ortadan kaldırılacaktır. Bu koşullarda canlı bir organizmada verilen maddenin ancak % 10'una cevap alınabilirken, hücre kültürlerinde bu oran % 90'lara çıkabilmektedir.

4. Hücre kültürleri ürün elde edilmesinde endüstriyel amaçlı olarak kullanılabilir. Son yıllarda geliştirilen teknikler ile bu daha kolay hale gelmiştir.⁵³

HÜCRE KÜLTÜRLERİNİN DEZAVANTAJLARI

1. Primer kültür ile başlandığında, birbirini izleyen pasajlarda hücreler farklılaşmakta ve her zaman bir miktar ölüm gerçekleşmektedir. Yani hücre kültürlerinde zamana bağlı bir kararsızlık söz konusudur.

2. Hücre kültürlerinde hijyen çok önemli olduğundan primer kültürlerin elde edildiği doku ve bunların bulunduğu koşullar hücre kültürlerini etkilemektedir.

3. Deneyim çok önemli bir faktördür. *In vitro* çalışmalarda sterilizasyon, kültürlerin hazırlanması ve mikroskopik inceleme uzmanlık gerektirmektedir.

4. Hücre kültürleri, *in vivo* yöntemlere oranla daha ekonomik olmasına karşın kullanılan hücre üretme vasatları ve diğer malzemeler son derece pahalıdır. Buna rağmen elde edilen ürünün saf olması önemli bir avantajdır. Ancak son yıllarda bu teknolojinin gelişmesi, kullanılan malzemelerin geliştirilmesine ve giderek daha da ucuzlamasına olanak tanımaktadır.^{53,55,64}

HÜCRE KÜLTÜRÜ TEST YÖNTEMLERİ

Diş hekimliği materyallerinin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde kullanılan hücre kültürleri, toksikolojide yeni geliştirilen ilaçların sitotoksitesinin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan tekniklerden uyarlanan metotlardır. Ancak toksikolojide sitotoksitesi değerlendirilen ilaçların çoğu sıvılarda kolayca çözünmekte fakat diş hekimliğinde kullanılan materyaller genellikle düşük çözünübilirlik değerleriyle üretilmektedirler. Bunun yanı sıra, ilaçlarla dental materyallerin şekil, yapı ve etkileşim süreleri arasında

önemli farklılıklar bulunmaktadır. Bu nedenle diş hekimliğinde yapılan hücre kültürü çalışmaları, hem kurulan metotlarda hem de değerlendirme ölçütlerinde köklü teknik düzenlemelerin yapılmasını zorunlu kılmaktadır.⁴¹

Diş hekimliği malzemelerinin sitotoksosite testlerinde en sık ve standart olarak kullanılan fibroblast hücre kültürleri L929 ve Balb/c3T3 devamlı hücre kültür hatlarıdır.^{65,66}

Kültür ortamında hücrelerin yaşaması, beslenmesi ve çoğalması için bazı şartların yerine getirilmesi gerekmektedir. *In vitro* hücre kültürü deneylerinde, hücrelerin yaşatılması için açık ya da kapalı sistem inkübatörleri kullanılmaktadır. Açık sistemde; kültür ortamı ile inkübatör içerisindeki hava ilişkidir. Bu tür inkübatörlerde ortama, sisteme bağlı olan bir tüpten CO₂ gelmekte, hücre ve dokuların yaşatılması için, genellikle, 37° C’de , % 5 CO₂ ‘li ve % 95 nemli ortam sağlanmaktadır. Uzun süreli kültürlerde, mutlaka açık sistem kullanılmalı ve birkaç gün ara ile kültür vasatı yenilenmelidir. Bu işlem metabolizma artıklarının uzaklaştırılıp yeni, geliştirici ve besleyici faktörlerin sağlanması için yapılmaktadır.^{55,67}

Diş hekimliği materyallerinin sitotoksitesi *in vitro* koşullarda değerlendirilirken; hücre büyümesi, mitotik aktivite, oksijen alımındaki, glikoz metabolizmasındaki ve membran geçirgenliğindeki değişiklikler ile mitokondrial

enzim fonksiyonlarının saptanması olmak üzere beş ayrı ölçüt kullanılmaktadır.^{43,68} Değerlendirme şu yöntemlerle yapılmaktadır:

1. Agar Overlay Test Yöntemi

Bu test yöntemi ile katı materyallerin ve bu materyallerden açığa çıkan yapı taşlarının akut sitotoksitesi saptanmaktadır. Test materyali, nötral vital boyayla boyanmış fare fibroblast hücrelerinin (L929) bir tabakasını örten agar tabakasının yüzeyine temasta olacak şekilde yerleştirilmektedir.^{69,70} Sitotoksite derecesi, 24 saatlik inkübasyondan sonra, toksik maddelerin difüze olabildikleri bölgelerde bulunan hücrelerde yol açtığı boya kaybıyla gösterilmektedir. Difüze olan toksik madde konsantrasyonun yüksek olduğu bölgelerde hücre erimesi (lisis), renk değiştiren bölgedeki difüzyon sahasının genişliğine bağlı olarak, *zone indeksi* ve *hücre erime indeksi* olmak üzere iki şekilde değerlendirilmektedir.^{43,45,69}

Makroskobik olarak yapılan bu değerlendirmenin desteklenmesi ve ayrıntılı incelenmesi için hücre erime indeksi uygulanmaktadır. Mikroskobik olarak yapılan bu inceleme, inverted mikroskopta hücre erimesi (lisis) çapları ölçülerek gerçekleştirilmektedir.⁶⁹

2. *Agarose Test Yöntemi*

Hensten-Pettersen,⁴³ 1973 yılında Wilsnack ve arkadaşları tarafından agar overlaye benzer olan agarose test yönteminin tanıtıldığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar materyallerin agarosedaki difüzyon yeteneğinin daha yüksek olduğunu bildirerek, agar overlay yönteminin daha hassas şekilde uygulanabilmesi için, agar yerine agarose kullanılması gerektiğini öne sürmüşlerdir.

3. *Milipore Filtre Test Yöntemi*

In vivo ortamda hücreler ve test edilecek malzeme arasında, genellikle direkt temas bulunmamaktadır. Keratinize epitel, dentin veya ekstraselüler matriks direkt teması engellemektedir. Bu durumda *in vivo* koşulları tam anlamıyla oluşturabilmek için bazı *in vitro* bariyer testleri geliştirilmiştir. Böylece materyallerden açığa çıkan herhangi bir maddenin hücreler üzerinde toksik etki oluşturabilmesi için 0,45 ml' lik filtre porlarının içine difüze olması gerekmektedir.^{43,45,71}

Selüloz esterlerinden yapılmış filtre üzerine hücrelerin tek tabaka halinde yapışması sağlandıktan sonra hücre kültür ortamı % 1 agar içeren ortam ile değiştirilmekte ve bu ortamın hücreler üzerinde jel haline gelmesi beklenmektedir. Ardından filtre-hücre tabakası-agardan oluşan üçlü yapı ters

çevrilerek filtrenin üstte kalması sağlanmaktadır. Katı veya çözülebilen test örneği filtre üzerine yerleştirilerek belirlenen test süresi boyunca beklenmektedir. Bu test yönteminde değerlendirme; hücre ve materyalin temas bölgesinde ve boyanan alanın koyuluk değeri, çapı ve genişliği göz önüne alınarak yapılmaktadır.^{43,45,71}

Milipore filtre test yöntemi, özellikle katı ve pat yapısındaki materyallerin test edilmesinde kullanılmakta, likitler de bu yöntemle değerlendirilebilmektedir. Sıvı materyallerin test edilmesi için materyalin 0,1 ml' si selüloz bir diske emdirilerek milipore filtre üzerine yerleştirilmelidir.⁴³

4. Krom Salınım Yöntemi

Bu yöntemle likit ve katı yapıdaki materyallerin sitotoksitesi değerlendirilmektedir. Bu amaçla hücreler $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ ile işaretlenmektedirler. $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ içerisindeki heksavalent Cr^{51} , hücrelerin içine girdikten sonra hücre proteinleri ile hücresel yapılara tutunmakta ve trivalent forma dönüşmektedir. Hücrelerin işaretlenmesinden sonra, hücre ve materyaller direkt temas halinde 4-24 saat süreyle inkübe edilmektedir. Hücrelerin ölümü, hücre zarı geçirgenliğini değiştirdiğinden trivalent formdaki Cr^{51} hücre dışına çıkmaktadır. Hücre dışına çıkan Cr^{51} ' in radyoaktivitesinin ölçülmesiyle hücre ölümü konusunda net ve kesin bir sayı ve bilgi edinilmektedir. Bu yöntemle hücre ölümünü takiben gelişen subletal değişiklikler ölçülememektedir. Aynı test yöntemi, hücreler ^3H -Thymidine ile işaretlenerek de gerçekleştirilmektedir.^{43,45,72}

5. *Model Kavite Test Yöntemi*

Bu yöntemde, polimetil metakrilattan hazırlanmış kavite modelinde, kavite tabanına bir filtre ya da dentin tabakası yerleştirilmekte ve hücre kültürleri bu tabakanın altında üretilmektedir. Materyalin toksisitesi, sırasıyla lizozomal ve mitokondrial enzim işaretleyicileri olan asit fosfataz ve süksinat dehidrojenaz analizi ile yapılmaktadır.⁴³

6. *Diş Kavite Test Yöntemi*

Restoratif materyallerin kimyasal toksisitesini saptamak amacıyla kullanılmaktadır. İlk basamakta, dentine uygulanan materyallerden toksik maddelerin difüzyonu belirlenmektedir. Genellikle 3. molar dişlerin çekimini takiben dişler fosfat tamponlu salinde 3–4 saat bekletilmektedir. Normal kavite ya da kron preparasyonundan sonra sistem dentin duvarına penetre olabilen solüsyonlarla uygulanmaktadır. Bu yöntemin *in vivo* verilerle uyumlu sonuçlar verdiği belirtilmektedir.⁴³

7. *MTT Test Yöntemi (Mitokondrial Dehidrojenaz Aktivitesi)*

Sitotoksitenin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan enzimatik test yöntemlerinden biri, MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide] testidir. Bu test MTT'yi mavi, çözünmeyen

formazan bileşğine dönüştürebilen dehidrogenaz enzim aktivitesini ölçmektedir. Reaksiyon mitokondrial süksinil dehidrogenaz tarafından katalize edilmektedir. Hücrelerde uygulanan maddenin sitotoksik etkisi nedeniyle dehidrogenaz aktivitesinin etkilendiği koşullarda mavi renkli formazan oluşmamakta, formazan oluşumu, yalnızca aktif mitokondrinin bulunduğu canlı hücrelerde görülmektedir. Formazan oluşumu, optik yoğunluğun ölçülmesi veya test örneğinin çevresindeki formazan ışığın elektron mikroskopuyla belirlenmesi yöntemleriyle değerlendirilmektedir.⁷³⁻⁷⁵

Materyallerin toksik etkileri sonucunda, genellikle, hücrelerin metabolizması etkilenmektedir. Özellikle hücrelerdeki mitokondrileri etkileyen bazı kimyasal maddeler, MTT testi ile değerlendirilmektedir.^{48,74} Hücre kültürlerinde metabolik olarak aktif hücrelerin sayısı ile bağlantılı olarak boyanın konsantrasyonu ve abzorban değerleri değişmektedir. MTT yöntemi, büyük sayılardaki hücre kültürlerinde canlı hücre oranının belirlenmesinde hızlı, güvenilir ve kolay bir yöntemdir. MTT değerlendirmeleri, büyüme döngüsünün herhangi bir aşamasındaki canlı hücre yoğunluğu hakkında fikir vermektedir.^{75,76}

Konu ile İlgili Çalışmalar

Günümüze dek, dental materyallerin sitotoksik etkilerinin farklı hücre kültürü teknikleri, hücre türleri ve boyama yöntemleri ile araştırılmasına yönelik birçok çalışma gerçekleştirilmiştir.

Al ve arkadaşları⁷⁷ protez adezivlerini irritasyon ve sitotoksosite potansiyeli açısından HET-CAM ve üç farklı hücre kültürü yöntemi (filtre difüzyon, MTT, agar difüzyon) değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda protez adezivlerinin gün içerisinde uzun süreli kullanımının mukozal irritasyona neden olabileceği, bu nedenle gün içerisinde birkaç kez yenilenmelerinin olası toksik etkiyi azaltılabileceği ifade edilmiştir.

Yu ve arkadaşları,⁷⁸ 5 g/L ve 10g/L konsantrasyonlarda gümüşle güçlendirilmiş antimikrobiyal ajan (STR-1) içeren, polimetakrilat esaslı protez kaide materyallerinin sitotoksosite özelliklerini moleküler filtre yöntemi ile L929 hücreleri üzerinde incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, her iki konsantrasyonda antimikrobiyal ajan içeren polimetakrilat esaslı materyallerden uygun biyouyumluluk değerleri elde edildiği bildirilmiştir.

Jorge ve arkadaşları,⁷⁹ postpolimerizasyon amacıyla yapılan sıcak su banyosu ve mikrodalgayla ısı uygulaması yöntemlerinin üç farklı rezin esaslı protez kaide materyalinin (Lucitone 550, QC 20, Acron MC) sitotoksisitesine etkisini L929 hücreleri üzerinde, 3H-timidin ve MTT testleri ile değerlendirmişlerdir. 3H-timidin yöntemiyle bakıldığında rezin materyallerden salınan komponentlerin L929 hücreleri üzerinde sitotoksik etki yarattığı görülürken MTT değerlendirmesinde bu komponentlerin sitotoksik olmadığı görülmüştür. Her iki yöntemle değerlendirme sonucunda, polimerizasyon sonrası yapılan mikrodalga ve sıcak su banyosu uygulamalarının, rezin esaslı kaide materyallerinin sitotoksitesi üzerinde etkilerinin olmadığı kaydedilmiştir.

Campanha ve arkadaşları,⁸⁰ sıcak su banyosu ve mikrodalga polimerizasyonunun 6 adet akrilik esaslı sert astar materyalinin sitotoksitesi üzerindeki etkinliğini inceledikleri çalışmada L929 hücreleri kullanarak değerlendirmeyi MTT ve 3H-timidin yöntemleriyle yapmışlardır. MTT yöntemiyle yapılan değerlendirmede postpolimerizasyonun sitotoksite üzerinde etkisi olmadığını, 3H-timidin yönteminde ise Ufi Gel Hard dışındaki materyallerde postpolimerizasyona bağlı olarak sitotoksite artışı gözlenmediğini belirtmişlerdir.

Abe ve arkadaşlarının⁸¹ yaptıkları bir çalışmada gümüş-zeolit içeren antimikrobiyal doku düzenleyicilerin sitotoksitesi, canlı dermal model kullanılarak MTT testiyle değerlendirilmiş ve doku düzenleyicilerden salınan bağımsız bileşiklerle gümüş-zeolitten salınan gümüş iyonlarının sitotoksiteye neden olabileceği belirtilmiştir.

Dahl ve arkadaşları⁸² yaptıkları çalışmada on farklı astar materyalinin biyoyumluluğunu hücre kültürü ve HET-CAM (hen's egg test-chorioallantoic membran) metoduyla test ederek, sonuçları MTT ve filtre difüzyon test yöntemleri ile değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, test edilen materyallerde irritasyon özelliği olmadığı, büyük bir kısmı (9 materyal) suda çözünebilen ve materyalden salınan toksik maddeler içerdiğinden sitotoksik cevap gözlemlendiği, fakat oral mukoza dokusu toksik ürünlere hücre kültürü ortamından daha dayanıklı olduğundan bu durumun, materyalin uzun dönem yan etkilerini yansıtmadığı bildirilmiştir.

Nishijima ve arkadaşları⁸³ plastikleştirici olarak kullanılan fatalat esterlerinin sitotoksitesini ve östrojenik aktivititesini inceledikleri çalışmada fatalat ester içermeyen doku düzenleyicilerde di-n-bütül sebakat ve asetil tribütül sitrat plastikleştiricilerinin kullanılabilceğini, bu materyallerden düşük sitotoksite değerlerinin elde edildiğini, en yüksek sitotoksite değerleri tri-n-bütül fosfat grubunda gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Okita ve Hensten-Pettersen,⁸⁴ dört farklı doku düzenleyicinin (Coe Comfort, Kerr FITT, GC Soft Liner, Visco-gel) sitotoksosite özelliklerini, fare fibroblast hücrelerinin (L929) kullanıldığı hücre kültürü ve agar overlay test yöntemleri ile değerlendikleri çalışma sonucunda aktif ve salınabilen komponentler içerdikleri halde GC Soft Liner ve Viscogel materyallerinin Coe Comfort ve Kerr FITT'ten daha düşük oranda sitotoksik cevaba neden olduklarını ifade etmişlerdir.

Bu tez çalışmasında hücre kültürü yöntemi kullanılarak, farklı yumuşak astar materyallerinin sitotoksitelerinin L929 fare fibroblastları üzerinde MTT testi ile araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Beş farklı yumuşak astar maddesinin sitotoksosite özelliklerinin fare fibroblastları üzerinde hücre kültürü yöntemi ile değerlendirildiği bu araştırma, Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı ve Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Şap Enstitüsünde yürütüldü. Çalışma örneklerinin ve hücre kültürü ortamının hazırlanmasında, International Organization for Standardization (ISO) tarafından hazırlanan 10993-5 no'lu 'Sitotoksosite Testleri-*In Vitro* Yöntemler' bölümü ⁶⁵ rehber alındı. Çalışmada kullanılan yumuşak astar maddeleri Tablo 1'de tanımlanmaktadır.

Tablo 1: Çalışmada Kullanılan Yumuşak Astar Maddeleri

<i>Grup Adı</i>	<i>Materyal Adı</i>	<i>Üretici Firma</i>	<i>Materyalin Türü</i>	<i>Materyal İçeriği</i>
Grup 1	Visco-gel	Dentsply, UK	Oda ısısında polimerize olan akrilik esaslı, geçici yumuşak astar maddesi	Toz: Polietil metakrilat Likit: Bütoksi karbonimetil bütıl fatalat, etanol
Grup 2	Ufi Gel P	Voco, Germany	Oda ısısında vulkanize olan silikon esaslı, daimi yumuşak astar maddesi	A-silikon Modifiye polidimetil siloksan
Grup 3	Softliner	Promedica, Germany	Oda ısısında vulkanize olan silikon esaslı, daimi yumuşak astar maddesi	A-silikon Vinil polisiloksan
Grup 4	Coe-Soft	GC America Inc, USA	Oda ısısında polimerize olan akrilik esaslı, geçici yumuşak astar maddesi	Toz: Polietil metakrilat Likit: Aromatik ester, etil alkol
Grup 5	Molloplast-B	Buffalo, USA	Isı ile vulkanize olan silikon esaslı, daimi yumuşak astar maddesi	Silikon elastomer Polidimetil siloksan Akriloksalkil silan

Örneklerin Hazırlanması

Çalışmada beş farklı yumuşak astar maddesine ait 16'şar adet örnek, ISO-10993-5 no'lu 'Sitotoksosite Testleri-*In Vitro* Yöntemler' bölümünde,⁶⁵ test edilen materyal örneklerinin yüzey alanı için belirtilen 0,5-6 cm²'lik değer aralığına uygun olarak; 10 mm. çapında ve 1,5 mm. kalınlıkta olacak şekilde, paslanmaz çelik kalıplar içerisinde hazırlandı.

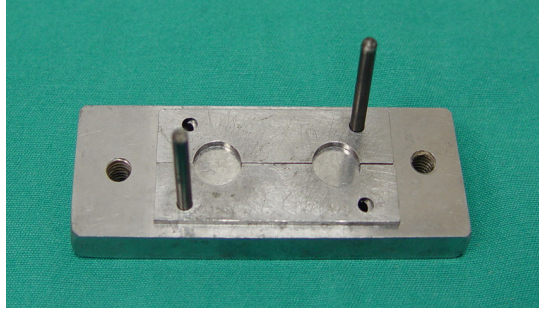
Viscogel materyaline ait örnekler toz ve likidin 3:1 oranında karıştırılmasıyla hazırlandı ve oda ısısında polimerizasyonları sağlandı. Ufi Gel P ve Softliner örnekleri ise, baz ve katalizörün 1:1 oranında karıştırılmasıyla elde edildi ve oda ısısında 20 dakika süreyle polimerizasyon gerçekleştirildi. Coe-Soft materyalinden hazırlanan örnekler 8 cc. (cm³) likide, 17 cc. toz ilave edilip karıştırılmasının ardından, oda ısısında 8 dakika süreyle polimerizasyon sonrası elde edildi. Baz ve katalizörün 1:1 oranında karıştırılmasıyla hazırlanan Molloplast-B örneklerinin sertleşme reaksiyonunun tamamlanması amacı ile sıcak su banyosu uygulandı.

Visco-gel, Ufi Gel P, Softliner ve Coe-Soft maddelerinden örnekler hazırlanırken materyal ve paslanmaz çelik kalıbın alt yüzeyi arasına polietilen tabaka koyuldu. Üretici firmaların önerileri doğrultusunda hazırlanan yumuşak astar maddeleri, paslanmaz çelik kalıplar içerisine, çok az taşkınlık yapacak şekilde yerleştirilerek üzerlerine tekrar polietilen tabaka ve temiz bir cam

konuldu. Oda sıcaklığında, yumuşak astar maddelerine ait örneklerin polimerizasyonu sağlandı. Polimerize edilen örnekler, bistüri yardımı ile kesilerek kalıplardan uzaklaştırıldı.

Molloplast-B maddesine ait örnekler hazırlanırken, paslanmaz çelik kalıpların alt yüzeyine polietilen tabaka yerleştirildi. Kalıpların içerisine pembe mum damlatılmasının ardından tekrar polietilen tabaka konulup temiz bir cam ile hafifçe bastırılarak mum örnekler hazırlandı. Muflanın alt parçasına alçı döküldü ve alçı sertleşmeden önce üzerine muflanın üst yüzeyinden yüksek olmayacak şekilde cam yerleştirilerek üzerine mum örnekler konuldu. Muflanın üst parçası kapatılarak üzerine alçı döküldü, alçı sertleşene kadar mufla preste bekletildi. Alçı sertleştikten sonra, mufla 10 dakika süreyle kaynar su içerisine alındı. Mufla açılarak mum kalıntıları sıcak su ile temizlendi. Mum örneklerinin muflada oluşturduğu negatif boşluklar içerisine Molloplast-B maddesi yerleştirildi, kalan alçı yüzeylerine lak sürüldü, muflanın üst kapağı kapatılarak tekrar pres uygulaması yapıldı. İki saat süreyle preste bekletilen mufla soğuk su içine yerleştirilerek suyun kaynaması sağlandı. 100 °C’de kaynayan su içerisinde, 2 saat bekletilen materyalin polimerizasyonu gerçekleştirildi. Polimerize edilmiş örnekler keskin bir bistüri ile kesilerek çıkartıldı.

Çalışmada örneklerin hazırlanması amacıyla kullanılan paslanmaz çelik kalıp Resim 1’de, hazırlanan farklı gruplara ait örnekler Resim 2,3,4,5 ve 6’da gösterilmektedir.



Resim 1: Çalışmada Kullanılan Paslanmaz Çelik Kalıp



Resim 2: Visco-gel Örnekleri



Resim 3: Ufi Gel P Örnekleri



Resim 4: Softliner Örnekleri



Resim 5: Coe-Soft Örnekleri



Resim 6: Molloplast-B Örnekler

Tüm materyal gruplarından 24, 48, 72 ve 96. saat inkübasyon süreleri için hazırlanan 16'şar adet örnek, 96 gözlü platelere yerleştirildikten sonra 30 dakika süreyle UV ışını uygulanarak sterilizasyonları (Şap Enstitüsü, Türkiye) sağlandı. Resim 7'de örneklerin UV ışını ile sterilizasyonu gösterilmektedir. Bu işlemi takiben Resim 8'de yer alan steril kabin (Class II Holten LominerHow, Denmark) içerisinde örneklerin üzerine besi ortamı konularak % 5 CO₂ içeren 37° C' deki inkübatör (Heracell, Germany) içerisine inkübasyona bırakıldı. Her bir inkübasyon süresi sonunda (24, 48, 72 ve 96. saatler), salınım besi ortamları steril kabin içerisinden steril doku kültürü santrifüj tüplerine alınarak +4° C' ye kaldırıldı.



Resim 7: UV Işını ile Sterilizasyon



Resim 8: Steril Kabin

Hücre Kültürünün Hazırlanması

Araştırmada kullanılan L929 fare fibroblast hücre kültürü Şap Enstitüsü hücre kültür koleksiyonu HÜKÜK'ten sağlandı. Hücreler saklama ortamı olan -196° C' den çıkartılarak 37° C' deki su banyosunda kısa sürede

          ve 5 dakika süreyle 800 devirde santrifüje (Eppendorf, Germany) edildi. Santrifüj sonrası yüzeydeki süpernatant kısım atılarak plate içerisindeki hücreler, içinde % 10 fetal sığır serumu-FBS (Biochrom AG, Germany, SO113) ve % 1 gentamisin içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium–DMEM (Hyclone, England, AQF24057) besi ortamı ile T25 cm² hücre kültürü üretme kabına alındı. Resim 9'da FBS-fetal sığır serumu, Resim 10'da DMEM besi ortamı, Resim 11'de hücre kültürü üretme kabı görülmektedir.



Resim 9: FBS-Fetal Sığır Serumu

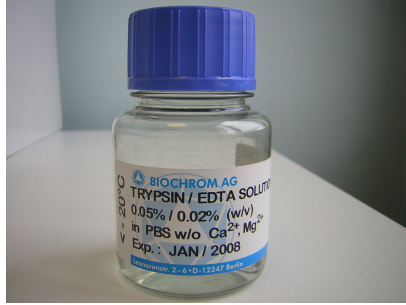


Resim 10: DMEM Besi Ortamı



Resim 11: Hücre Kültürü   retme Kabı

Hücrelerin kültür kabı yüzeyini kaplayıp kaplamadıkları ve üremeleri doku kültürü mikroskobu (Olympus CK 40, Japan) kullanılarak kontrol edildi ve yüzeyi tamamen kapladıklarında kültür kabındaki besi ortamı aspire edildi. Kültür ortamındaki hücresel atıkların ve serum artıklarının uzaklaştırılması amacıyla, divalent katyonları ($\text{Ca}^{++}\text{Mg}^{++}$) içermeyen fosfat tampon solüsyonu-PBS (pH=7.0) ile hücrelerin yüzeyi yıkandı. Bunun nedeni serumun tripsin gibi bazı enzimlerin etkisini inhibe etmesidir. Daha sonra tripsin / EDTA-etilendiamin tetraasetik asit (% 0.05 / % 0.02, Biochrom AG, Germany) solüsyonu ile yıkanarak tripsinize edildi ve 37° C'deki inkübatörde (Heracell, Germany) yaklaşık 5–10 dakika inkübasyona bırakıldı. Çalışmada kullanılan tripsin / EDTA ve inkübatör Resim 12 ve 13 'te görülmektedir.



Resim 12: Tripsin/EDTA Solüsyonu



Resim 13: İnkübatör

Bu süre sonunda makroskobik ve mikroskobik olarak incelenen hücrelerin kültür kabı yüzeyinden ayrıldıkları görüldü. Yüzeyden ayrılan hücreler % 10 serum içeren besi ortamı ile 5 dakika süreyle santrifüje edildi (800–1000 rpm), süpernatant kısım atıldıktan sonra plate içerisindeki hücreler tekrar, 37° C

sıcaklıkta, % 10 serum ve % 1 antibiyotikli DMEM besi ortamı ile homojenize edildi ve hücre süspansiyonu 3 adet T-25 kültür kabına bölünerek hücre pasajlama işlemi tamamlandı ve 3 seri pasaj yapıldı.

Mikroplatelerin Hazırlanması

Logaritmik üreme tarzında olan, aktif ve yüzeyi % 90–95 oranında kaplanmış hücreler, pasajlama işleminde olduğu gibi, kültür kabı yüzeyinden ayrıldı ve serumlu besi ortamı ile hücre süspansiyonu hazırlandı. Hücre sayımı için 0,9 ml. hücre süspansiyonu üzerine 0,1 ml. tripan mavisi (Sigma, USA) solüsyonu (% 1) ilave edildi ve Resim 14’te yer alan hemasitometre (Bürker, Germany) kullanılarak ışık mikroskopunda (Olympus CH, Japan) inceleme yapılarak aynı zamanda hücre canlılığı da kontrol edildi. Resim 15’te görülen 96 gözlü hücre üretme kapları için istenilen yoğunluktaki hücre sayısı hesaplanarak bu sayıdaki hücre % 10 FBS, % 1 antibiyotik içeren DMEM besi ortamı ile homojenize edilerek mililitresinde 4×10^4 hücre/ml olacak şekilde bir hücre süspansiyonu hazırlandı.



Resim 14: Hemasitometre



Resim 15: 96 Gözlü Hücre Üretme Kabı

Bu hücre süspansiyonu 96 gözlü hücre üretme kaplarına 100 ml/göz olacak şekilde taksim edildi ve % 5 CO₂ 'li inkübatörde 24 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda 96 gözlü hücre üretme kaplarındaki hücrelerin inverted doku kültürü mikroskopunda üremeleri ve ortamın sterilitesi kontrol edildi. Daha sonra kültür ortamındaki DMEM besi ortamı aspire edilerek uzaklaştırıldı ve yerine önceden hazırlanmış olan, +4° C' de saklanan salınım besi ortamları 100 ml/göz olarak taksim edilerek, tekrar % 5 CO₂ 'li inkübatörde 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda MTT testi uygulandı.

MTT Testinin Uygulanması

MTT (Sigma, USA) fenol red içermeyen RPMI 1640 (Sigma, USA) besi ortamı ile karıştırılarak homojenize edildi ve 5 mg/ml konsantrasyonda MTT solüsyonu hazırlandı. 24 saat süreyle inkübasyona bırakılan salınım besi ortamları 96 gözlü platelerden uzaklaştırılarak platelere 100 ml/göz olacak şekilde DMEM besi ortamı ve 13 ml/göz MTT solüsyonu konularak, karanlık bir ortamda, 37° C' de 4 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrası MTT solüsyonu aspire edilerek ortamdan uzaklaştırıldı. Platelere 100 ml/göz oranında izopropil alkol (Applchem, Germany) konularak, formazan kristallerinin tamamen çözünmesi ile almış olduğu mor renge dönüşümünü takiben plateler ELISA okuyucusuna (Molecular Devices, USA) yerleştirildi. Oluşan formazanın optik yoğunluğu 570 nanometre ve referans olarak 630 nanometrede okunarak belirlendi.

Çalışmada kullanılan farklı yumuşak astar materyallerinin 24, 48, 72 ve 96. saatlerdeki sitotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla uygulanan MTT testi, istatistiksel değerlendirmenin anlamlı olabilmesi için her grupta üçer kez tekrarlandı.

Çalışma sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi, SPSS 11.5.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois 60606, USA) yazılımı kullanılarak, tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, tek yönlü varyans analizi, Tukey testi, kesin ki-kare testi ve Cochran Q testi yöntemleri ile yapıldı.

BULGULAR

Çalışmada kullanılan beş farklı yumuşak astar maddesinin 24, 48, 72 ve 96. saatlerdeki sitotoksosite değerlendirmelerinin 3 kez tekrarlanması ile elde edilen hücre canlılık değerleri Tablo 2, 3, 4, 5, 6'da, hücrelerin canlılık yüzdeleri (optik yoğunluk değerleri) Tablo 7'de verilmektedir.

Tablo 2-6'da yer alan *hücre kontrol grubu (HK)*; sadece hücre ve hücre kültürü üretmek için kullanılan besi ortamından oluşmakta, çalışmada kullanılan yumuşak astar maddelerinden elde edilen ekstraksiyon sıvılarını içermemektedir. Tablo 7'de gösterilen *optik yoğunluk değeri* ise, hücre kontrol grubunun değeri % 100 olarak kabul edildiğinde, diğer gruplarda basit oran hesabı ile elde edilen % değeridir ve canlı hücre oranını simgelemektedir.

Tablo 2: Hücrelerin 24. Saatteki Canlılık Değerleri

24-1											
HK		Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,1999	0,1683	0,1893	0,2008	0,2705	0,0661	0,2124	0,2539	0,0901	0,0910	0,1652	0,1763
0,2414	0,1797	0,2091	0,2398	0,2865	0,2106	0,2228	0,2395	0,1110	0,0959	0,1858	0,1291
0,3078	0,1685	0,1793	0,2556	0,2617	0,2707	0,2148	0,2744	0,0935	0,0903	0,1811	0,2232
0,2668	0,2334	0,2814	0,2634	0,2350	0,2790	0,2521	0,2911	0,0681	0,0833	0,2139	0,1625
0,1757	0,2129	0,2343	0,2609	0,2964	0,2494	0,2747	0,2711	0,1029	0,0801	0,2021	0,2052
0,1921	0,2893	0,2294	0,2016	0,2487	0,2520	0,2276	0,2591	0,0754	0,0693	0,1848	0,1425
0,2761	0,2638	0,2546	0,2160	0,2684	0,2637	0,2310	0,2558	0,0829	0,0874	0,2356	0,1779
0,2317	0,2409	0,2190	0,2342	0,2085	0,2344	0,2256	0,2357	0,1092	0,0853	0,2011	0,1831

24-2											
HK		Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,2174	0,1673	0,1639	0,1830	0,1779	0,1595	0,1572	0,1407	0,0802	0,0776	0,1800	0,1682
0,2065	0,2086	0,1768	0,1981	0,2211	0,2080	0,2360	0,2138	0,0772	0,0774	0,2068	0,1861
0,2059	0,1617	0,1804	0,1975	0,1862	0,1647	0,2125	0,1896	0,0755	0,0779	0,1781	0,1619
0,1824	0,1903	0,1333	0,1485	0,1727	0,1581	0,2139	0,1844	0,0786	0,0695	0,2158	0,1891
0,1263	0,1217	0,1174	0,1171	0,1510	0,1065	0,1200	0,118	0,0694	0,0689	0,2096	0,1924
0,2091	0,2291	0,2536	0,2623	0,2806	0,2634	0,2100	0,2775	0,0830	0,0665	0,2291	0,1964
0,2075	0,2241	0,2446	0,2456	0,2804	0,2155	0,2514	0,2588	0,0803	0,0787	0,2204	0,2058
0,2360	0,2194	0,2221	0,2099	0,2412	0,2300	0,2029	0,2277	0,0756	0,0718	0,1494	0,1436

24-3											
HK		Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,2238	0,2302	0,2279	0,2295	0,2301	0,2586	0,1886	0,2653	0,0905	0,1018	0,1788	0,1863
0,2224	0,2306	0,2368	0,2517	0,2692	0,2758	0,2369	0,2244	0,0866	0,0825	0,1804	0,2099
0,1724	0,1718	0,1934	0,1929	0,2040	0,2005	0,1864	0,1670	0,0839	0,0804	0,1513	0,2143
0,1626	0,1693	0,1753	0,1683	0,1832	0,1930	0,2233	0,1987	0,0791	0,0716	0,1147	0,1971
0,1962	0,1544	0,1464	0,1582	0,1373	0,1352	0,1210	0,1545	0,0617	0,0928	0,1358	0,1125
0,2277	0,2774	0,3461	0,2492	0,2459	0,2649	0,2826	0,2637	0,0892	0,0937	0,4143	0,2387
0,2091	0,2419	0,2535	0,2264	0,2743	0,3250	0,2749	0,2478	0,0818	0,0907	0,2844	0,2802
0,1996	0,1920	0,2131	0,2116	0,2391	0,2423	0,2286	0,2092	0,0783	0,0700	0,2296	0,2435

24-1: 24.saatte 1. ölçüm

24-2: 24.saatte 2. ölçüm

24-3: 24.saatte 3. ölçüm

HK: Hücre Kontrolü

Grup 1:Visco-gel

Grup 2: Ufi Gel P

Grup 3: Softliner

Grup 4:Coe-Soft

Grup 5: Molloplast-B

Tablo 3: Hücrelerin 48. Saatteki Canlılık Değerleri

48-1											
HK		Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,2127	0,2302	0,1694	0,2573	0,2016	0,203	0,2073	0,1964	0,0825	0,0918	0,2444	0,1991
0,2488	0,2549	0,1718	0,2304	0,2351	0,2032	0,2406	0,2275	0,0743	0,0859	0,2689	0,2289
0,2399	0,2153	0,2263	0,2135	0,2018	0,2195	0,2217	0,2336	0,0872	0,1007	0,1449	0,1956
0,2334	0,2647	0,2126	0,2459	0,2393	0,2285	0,2274	0,2346	0,0789	0,0889	0,2601	0,2385
0,2250	0,2240	0,2445	0,1911	0,2072	0,1816	0,2240	0,1969	0,0848	0,0792	0,2350	0,2268
0,2267	0,2728	0,2195	0,2924	0,2265	0,2347	0,2725	0,2867	0,0794	0,0624	0,2872	0,2849
0,2497	0,2563	0,2563	0,2851	0,2344	0,2412	0,2360	0,2346	0,0808	0,0956	0,2466	0,2533
0,1064	0,1806	0,2135	0,1789	0,1900	0,1858	0,2150	0,2117	0,0888	0,0799	0,2256	0,2719

48-2											
HK		Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,2064	0,1963	0,1943	0,0799	0,1824	0,1872	0,1913	0,2181	0,0780	0,0643	0,1911	0,2012
0,2186	0,1734	0,1775	0,2484	0,1839	0,2151	0,1999	0,1726	0,0788	0,1272	0,2747	0,2510
0,2464	0,1033	0,1242	0,1357	0,2282	0,2501	0,2064	0,1323	0,0655	0,0685	0,1393	0,2475
0,2583	0,2489	0,2563	0,2041	0,2299	0,2620	0,2744	0,2473	0,0619	0,0630	0,2085	0,2301
0,2178	0,2219	0,2223	0,2003	0,2134	0,2366	0,2260	0,2491	0,0778	0,0691	0,2342	0,2013
0,1774	0,1940	0,1753	0,1669	0,1797	0,1765	0,1666	0,1930	0,0771	0,0674	0,2523	0,1994
0,2294	0,2582	0,2255	0,2474	0,2142	0,2488	0,2626	0,2091	0,0772	0,0644	0,2975	0,1744
0,1887	0,2058	0,2191	0,2273	0,2241	0,2184	0,2072	0,2268	0,0671	0,0717	0,2120	0,2241

48-3											
HK		Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,2670	0,2225	0,2241	0,2402	0,2308	0,2254	0,2116	0,3026	0,0919	0,0665	0,3211	0,2473
0,2814	0,3092	0,2459	0,2208	0,2750	0,3012	0,3242	0,2907	0,0629	0,0785	0,3507	0,3216
0,2193	0,0743	0,2646	0,1759	0,1797	0,2731	0,2562	0,2018	0,0695	0,0748	0,2124	0,2123
0,2179	0,3127	0,3098	0,3299	0,2773	0,2431	0,1238	0,2502	0,0643	0,0644	0,3066	0,2358
0,2328	0,2962	0,2379	0,2843	0,2271	0,2646	0,3008	0,2812	0,0686	0,0788	0,3190	0,2146
0,2324	0,1908	0,2560	0,1786	0,1783	0,1878	0,1739	0,1926	0,0580	0,0717	0,2122	0,1695
0,2302	0,2538	0,2678	0,2346	0,2276	0,2514	0,3106	0,2903	0,0678	0,0690	0,2863	0,2009
0,1995	0,2144	0,2223	0,2207	0,2211	0,2203	0,2041	0,2240	0,0686	0,0683	0,2830	0,2350

48-1: 48.saatte 1. ölçüm

HK: Hücre Kontrolü

Grup 3: Softliner

48-2: 48.saatte 2. ölçüm

Grup 1:Visco-gel

Grup 4:Coe-Soft

48-3: 48.saatte 3. ölçüm

Grup 2: Ufi Gel P

Grup 5: Molloplast-B

Tablo 4: Hücrelerin 72. Saatteki Canlılık Değerleri

72-1											
	HK	Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,1991	0,2358	0,2229	0,2146	0,2967	0,1851	0,2163	0,2537	0,0825	0,0915	0,1839	0,1947
0,2293	0,2519	0,4026	0,2784	0,2649	0,2328	0,2399	0,2814	0,0797	0,1151	0,2171	0,2212
0,1269	0,2845	0,1685	0,1370	0,2754	0,2277	0,2092	0,3021	0,0739	0,0818	0,1351	0,2116
0,2752	0,2992	0,3083	0,2722	0,3811	0,3056	0,2886	0,3053	0,0956	0,0822	0,2537	0,2337
0,1521	0,2522	0,1614	0,2778	0,2938	0,3036	0,3500	0,4123	0,1089	0,0932	0,2651	0,2464
0,2996	0,3053	0,2826	0,3035	0,2769	0,2707	0,2757	0,3043	0,0777	0,0794	0,2729	0,2804
0,2975	0,3010	0,2739	0,2716	0,4069	0,3474	0,2774	0,3009	0,0788	0,0806	0,2450	0,2537
0,2454	0,2706	0,1174	0,2148	0,3854	0,2677	0,2876	0,2813	0,0807	0,0699	0,1627	0,2264

72-2											
	HK	Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,2149	0,2168	0,228	0,2374	0,2369	0,2186	0,2137	0,2418	0,0756	0,1166	0,2423	0,2301
0,2702	0,2829	0,2473	0,2406	0,2585	0,2719	0,2720	0,2816	0,1123	0,0974	0,2351	0,2523
0,2215	0,2555	0,2697	0,2433	0,2288	0,2679	0,2529	0,2375	0,0968	0,0942	0,2173	0,1709
0,2074	0,2238	0,2391	0,2475	0,2503	0,2594	0,2398	0,2371	0,0890	0,1000	0,2472	0,2308
0,2089	0,2354	0,2303	0,2639	0,2500	0,2455	0,2392	0,2382	0,0995	0,0815	0,2072	0,1812
0,1974	0,2045	0,2194	0,2576	0,2501	0,2451	0,2299	0,2316	0,0841	0,0798	0,2377	0,2538
0,2098	0,1959	0,2273	0,2410	0,2829	0,2533	0,2478	0,2010	0,0768	0,0666	0,2292	0,1983
0,2029	0,2267	0,1964	0,076	0,2825	0,1953	0,2000	0,2008	0,0840	0,0853	0,2175	0,2069

72-3											
	HK	Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,2363	0,2814	0,3120	0,2903	0,2854	0,2662	0,2459	0,2944	0,0719	0,0886	0,2165	0,2186
0,2799	0,3602	0,3122	0,2719	0,2847	0,2880	0,2922	0,2604	0,0856	0,0746	0,2720	0,2600
0,1373	0,2816	0,1646	0,2407	0,3136	0,2470	0,2958	0,2667	0,0818	0,0693	0,1589	0,2084
0,2546	0,2913	0,2759	0,2514	0,3038	0,2940	0,3330	0,2647	0,0793	0,0685	0,2800	0,2436
0,233	0,2362	0,2599	0,2503	0,2652	0,2435	0,2536	0,2404	0,0845	0,0703	0,2236	0,2164
0,2513	0,2616	0,2927	0,2874	0,2415	0,2637	0,2522	0,2482	0,0857	0,0669	0,2502	0,2133
0,2421	0,2554	0,2660	0,2607	0,2086	0,2502	0,2462	0,2568	0,0812	0,0676	0,1412	0,2599
0,1897	0,2241	0,1958	0,1734	0,2395	0,2340	0,2635	0,2462	0,0783	0,0625	0,1675	0,1796

72-1: 72.saatte 1. ölçüm

72-2: 72.saatte 2. ölçüm

72-3: 72.saatte 3. ölçüm

HK: Hücre Kontrolü

Grup 1:Visco-gel

Grup 2: Ufi Gel P

Grup 3: Softliner

Grup 4:Coe-Soft

Grup 5: Molloplast-B

Tablo 5: Hücrelerin 96. Saatteki Canlılık Değerleri

96-1											
HK		Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,1993	0,2080	0,1979	0,1801	0,1611	0,1448	0,0717	0,0724	0,0783	0,0718	0,161	0,1735
0,2194	0,2690	0,2262	0,2039	0,2044	0,1710	0,0693	0,068	0,0662	0,0665	0,1758	0,2003
0,1973	0,2415	0,2112	0,1962	0,1793	0,1085	0,0613	0,0650	0,0656	0,0738	0,2607	0,2283
0,0999	0,1094	0,1079	0,1132	0,1110	0,1034	0,0612	0,0616	0,0648	0,0723	0,2279	0,2311
0,1042	0,1132	0,1045	0,0941	0,0836	0,0787	0,0623	0,0581	0,0596	0,0641	0,2226	0,2103
0,1815	0,1741	0,1569	0,1708	0,1515	0,1869	0,0609	0,0682	0,0608	0,0762	0,2412	0,2160
0,2253	0,2270	0,1848	0,2115	0,2769	0,2083	0,0649	0,0631	0,0668	0,0678	0,2559	0,2415
0,1846	0,1596	0,1610	0,1792	0,2288	0,1752	0,0589	0,0604	0,0560	0,0653	0,1966	0,2082

96-2											
HK		Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,1679	0,1604	0,1836	0,1622	0,1625	0,1555	0,1607	0,0781	0,0892	0,0921	0,1512	0,1585
0,1883	0,1832	0,1671	0,1602	0,1847	0,1616	0,2063	0,0748	0,0758	0,0844	0,1868	0,1841
0,1622	0,1684	0,1832	0,2042	0,2044	0,1896	0,1784	0,0712	0,0766	0,0907	0,1896	0,1799
0,1873	0,2161	0,1953	0,2181	0,2064	0,2071	0,2430	0,0788	0,0823	0,0720	0,1837	0,2322
0,1648	0,2063	0,2078	0,1659	0,1839	0,1787	0,1991	0,0663	0,0725	0,0653	0,1955	0,1935
0,1692	0,1868	0,1974	0,2049	0,2055	0,1799	0,1928	0,0704	0,0674	0,0855	0,2141	0,2275
0,1811	0,2003	0,1970	0,1934	0,1864	0,1770	0,2040	0,0662	0,0718	0,0732	0,2016	0,2004
0,2026	0,2132	0,1861	0,1900	0,1833	0,1783	0,1781	0,0645	0,0673	0,0804	0,1620	0,1750

96-3											
HK		Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,2411	0,3100	0,1991	0,2475	0,2536	0,2747	0,0831	0,0854	0,0841	0,0799	0,1897	0,2057
0,2713	0,2600	0,2657	0,2480	0,2513	0,2645	0,0858	0,0853	0,1025	0,0804	0,2312	0,2458
0,2324	0,2690	0,2524	0,2665	0,2634	0,2126	0,0984	0,1032	0,1004	0,0814	0,2549	0,2799
0,2411	0,2534	0,2453	0,2482	0,2498	0,2400	0,0715	0,0675	0,0728	0,0782	0,2603	0,2538
0,2240	0,2404	0,2267	0,2327	0,2443	0,2354	0,0790	0,0686	0,1038	0,0829	0,2611	0,2831
0,2607	0,2315	0,2106	0,2331	0,2601	0,2312	0,0841	0,0906	0,0915	0,0790	0,2341	0,2711
0,2616	0,3063	0,2861	0,2436	0,2523	0,2920	0,0724	0,0773	0,0697	0,0965	0,2913	0,2556
0,2585	0,2286	0,2298	0,2198	0,2225	0,2020	0,0668	0,0641	0,0677	0,0703	0,2592	0,2261

96-1: 96.saatte 1. ölçüm

HK: Hücre Kontrolü

Grup 3: Softliner

96-2: 96.saatte 2. ölçüm

Grup 1:Visco-gel

Grup 4:Coe-Soft

96-3: 96.saatte 3. ölçüm

Grup 2: Ufi Gel P

Grup 5: Molloplast-B

Tablo 6: Hücrelerin Canlılık Değerleri

	GRUP	Ortalama	Std. Sapma	Median	Minimum	Maximum
24. Saat	0	0,2092	0,0282	0,2117	0,1630	0,2653
	1	0,2126	0,0283	0,2115	0,1660	0,2764
	2	0,2249	0,0346	0,2279	0,1614	0,2744
	3	0,2214	0,0263	0,2245	0,1719	0,2668
	4	0,0825	0,0053	0,0827	0,0748	0,0916
	5	0,1953	0,0293	0,1865	0,1700	0,2761
	Total	0,1910	0,0562	0,2042	0,0748	0,2764
48. Saat	0	0,2238	0,0354	0,2320	0,1310	0,2754
	1	0,2214	0,0258	0,2176	0,1750	0,2600
	2	0,2222	0,0191	0,2207	0,1948	0,2488
	3	0,2289	0,0221	0,2292	0,1892	0,2697
	4	0,0759	0,0071	0,0745	0,0672	0,0972
	5	0,2391	0,0319	0,2419	0,1655	0,2981
	Total	0,2019	0,0620	0,2184	0,0672	0,2981
72. Saat	0	0,2420	0,0323	0,2476	0,1619	0,2983
	1	0,2433	0,0429	0,2564	0,1547	0,3207
	2	0,2697	0,0239	0,2695	0,2233	0,3117
	3	0,2627	0,0176	0,2623	0,2253	0,2970
	4	0,0839	0,0085	0,0821	0,0716	0,0989
	5	0,2223	0,0261	0,2233	0,1704	0,2603
	Total	0,2207	0,0688	0,2484	0,0716	0,3207
96. Saat	0	0,2075	0,0222	0,2033	0,1643	0,2445
	1	0,1994	0,0168	0,1965	0,1642	0,2226
	2	0,1972	0,0206	0,1957	0,1643	0,2385
	3	0,0720	0,0060	0,0716	0,0629	0,0799
	4	0,0763	0,0056	0,0779	0,0637	0,0839
	5	0,2185	0,0227	0,2277	0,1673	0,2496
	Total	0,1618	0,0649	0,1920	0,0629	0,2496

Grup 0: Hücre Kontrolü

Grup 1: Visco-gel

Grup 2: Ufi Gel P

Grup 3: Softliner

Grup 4: Coe-Soft

Grup 5: Molloplast-B

Tablo 7: Hücrelerin Canlılık Yüzdeleri (Optik Yoğunluk Değerleri)

	GRUP	Ortalama	Std. Sapma	Median	Minimum	Maximum
24. Saat	1	102,4689	13,6233	99,0084	80,6151	131,8334
	2	107,7323	11,1315	107,2980	85,5779	126,6733
	3	106,4771	9,8789	106,8964	87,0691	125,6972
	4	40,0847	5,8490	39,3989	28,8389	49,5219
	5	94,4926	16,0550	89,9767	72,5811	131,6903
	Total	90,2511	28,1342	98,0446	28,8389	131,8334
48. Saat	1	100,6764	15,0645	98,4240	79,4872	133,6472
	2	102,4453	25,0959	95,0935	86,4087	189,0303
	3	104,2274	15,1196	100,0578	88,1623	144,4897
	4	35,0589	8,6105	32,7671	26,1769	62,1023
	5	109,8062	23,9844	109,7601	70,3798	166,8109
	Total	90,4429	33,3981	95,4345	26,1769	189,0303
72. Saat	1	101,3142	16,9527	104,4961	64,3471	124,1095
	2	113,8657	21,7668	107,4974	88,5698	168,3755
	3	110,4515	17,2142	103,0524	92,0000	156,0428
	4	35,3672	6,8205	33,4620	28,5524	51,9868
	5	92,7310	11,2809	90,9462	71,9206	117,1549
	Total	90,7459	32,6380	99,9833	28,5524	168,3755
96. Saat	1	96,5612	7,5766	97,4963	85,9450	109,3306
	2	95,5384	9,4634	94,9908	75,2246	109,3259
	3	34,9943	4,0507	35,0180	28,1625	42,9919
	4	37,1523	4,6584	36,1146	29,5803	47,8499
	5	106,7039	17,7091	106,7255	79,2600	137,7688
	Total	74,1900	33,0370	87,7250	28,1625	137,7688

Grup 1: Visco-gel

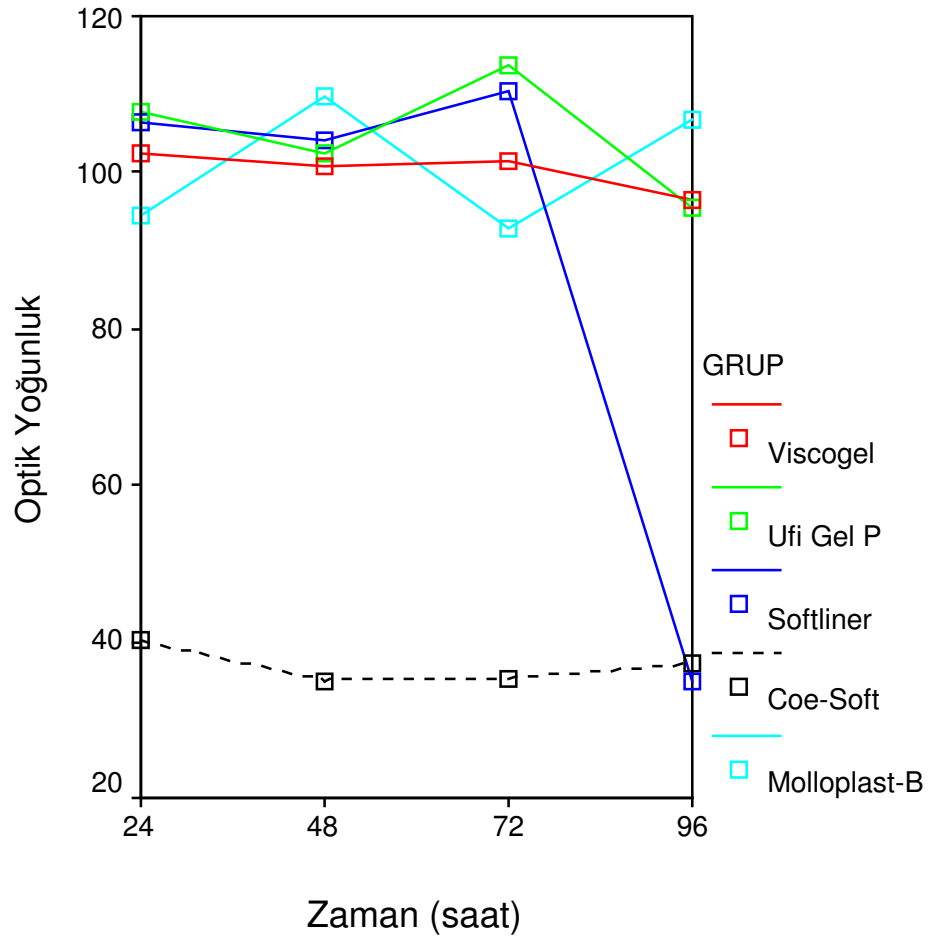
Grup 2: Ufi Gel P

Grup 3: Softliner

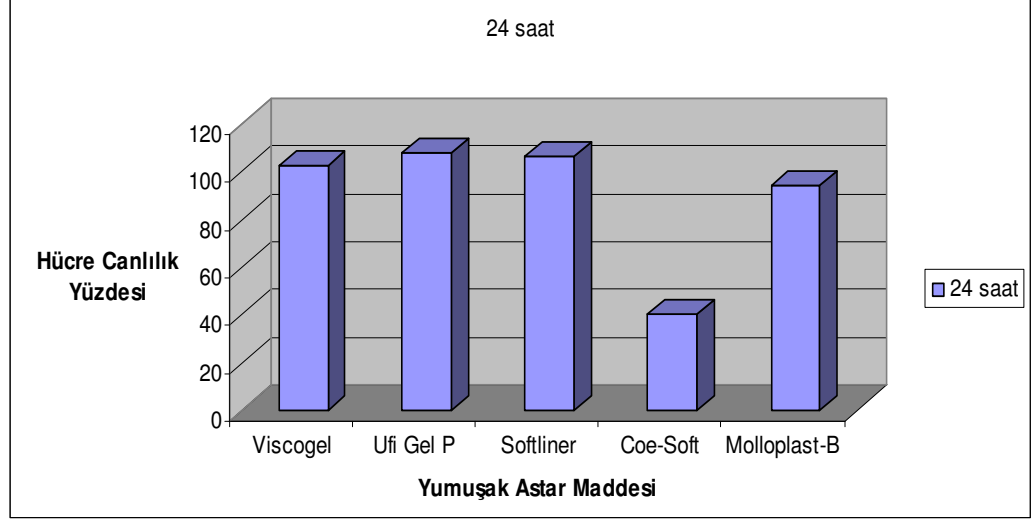
Grup 4: Coe-Soft

Grup 5: Molloplast-B

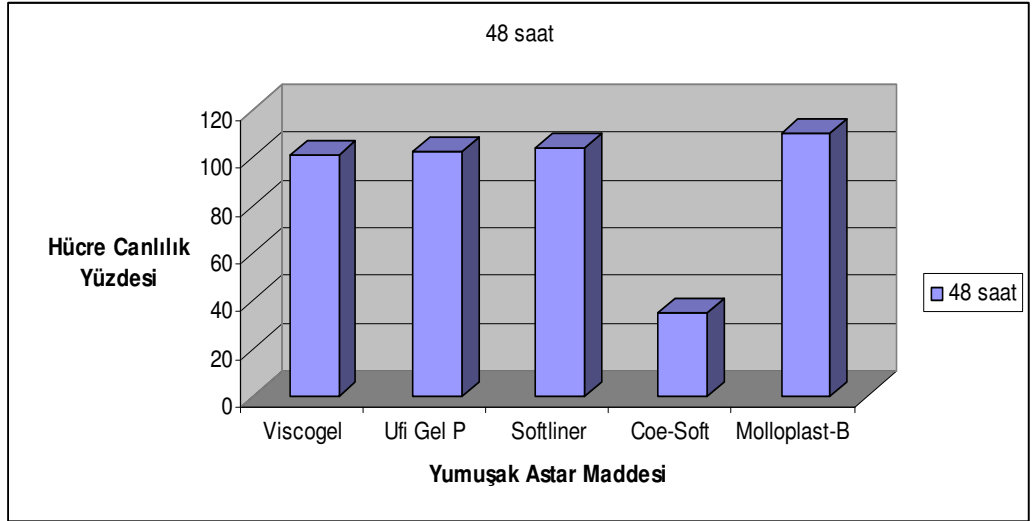
Optik yoğunluk değerlerindeki zamana bağlı değişim Grafik 1’de; 24, 48, 72 ve 96. saatlerdeki hücre canlılık yüzdeleri ise sırasıyla Grafik 2, Grafik 3, Grafik 4 ve Grafik 5’te gösterilmektedir.



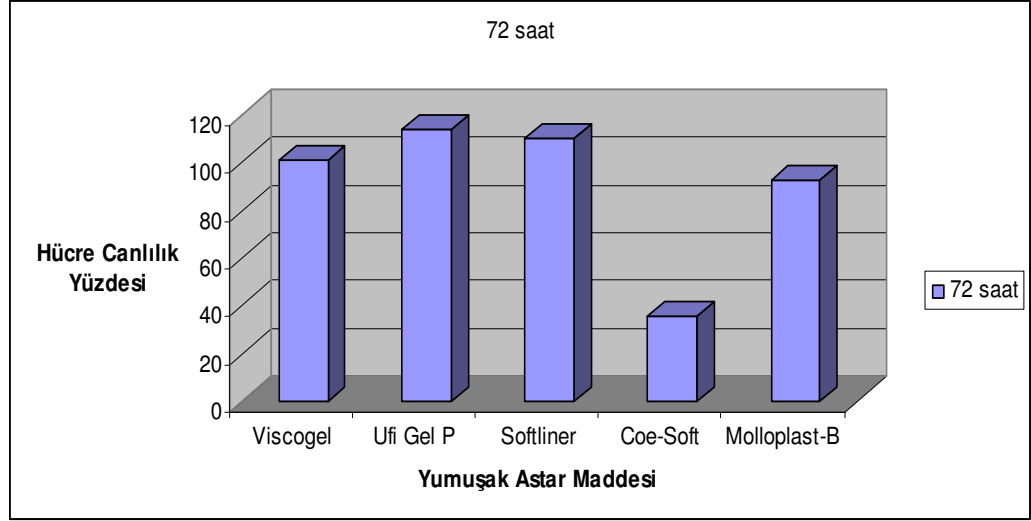
Grafik 1: Optik Yoğunluk Değerlerindeki Zamana Bağlı Değişim



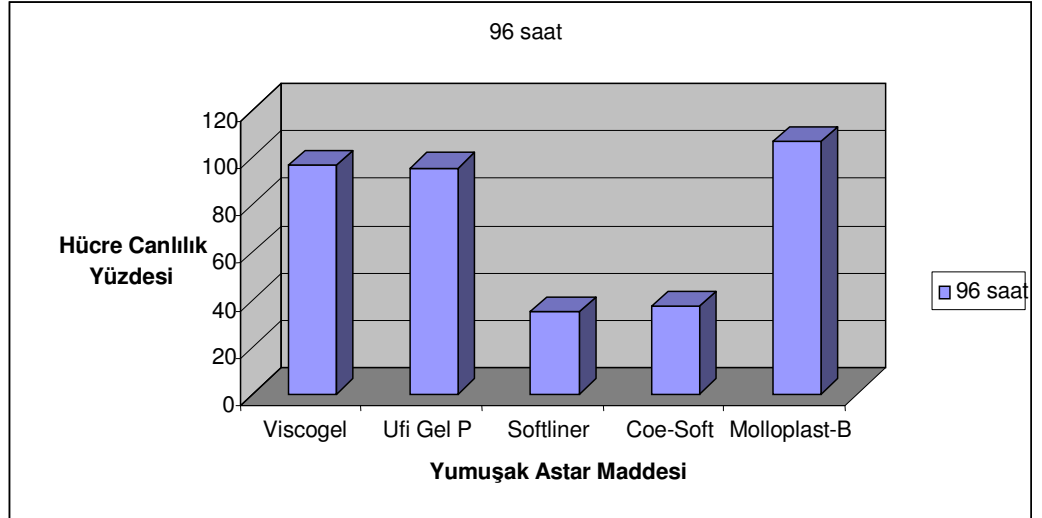
Grafik 2: Materyallerin 24.Saatte Hücre Canlılık Yüzdeleri



Grafik 3: Materyallerin 48. Saatte Hücre Canlılık Yüzdeleri



Grafik 4: Materyallerin 72. Saatte Hücre Canlılık Yüzdeleri



Grafik 5: Materyallerin 96. Saatte Hücre Canlılık Yüzdeleri

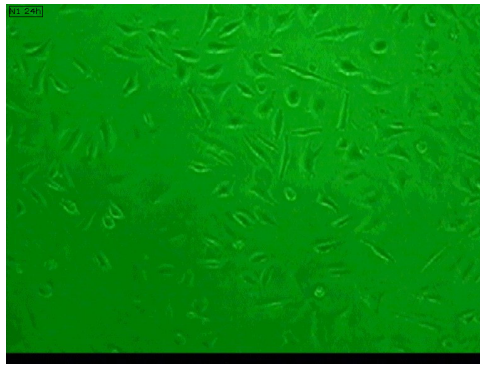
Sitotoksik etkiye bağılı olarak, 4. gruptaki materyalin (Coe-Soft) uygulandığı hücre grubundan tüm saatlerde, 3. gruptaki materyalin (Softliner) uygulandığı hücre grubundan ise 96. saatte alınan resimlerde, yüzeyden ayrılan hücrelerin yuvarlaklaştığı ve hücre sayısında azalma olduğu görülmüştür. Normal yapıdaki bir fibroblast hücresinin görüntüsü ise iğ şeklinde olmalıdır. Hücre yapılarındaki zamana ve sitotoksitedeki artışa bağılı değişiklikler Resim 16-35'te yer almaktadır.



Resim 16: Hücre Kontrol Grubu, 24. Saat



Resim 17: Hücre Kontrol Grubu, 48. Saat



Resim 18: Grup 1(Visco-gel), 24. Saat



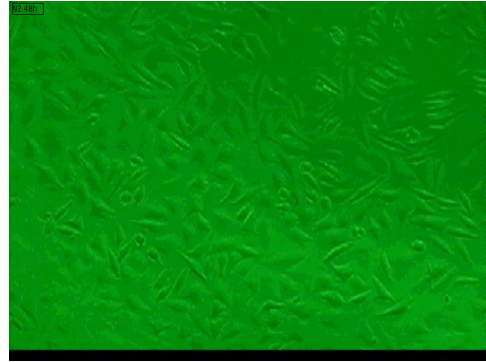
Resim 19: Grup 1(Visco-gel), 48. Saat



Resim 20: Grup 1(Visco-gel), 72.Saat



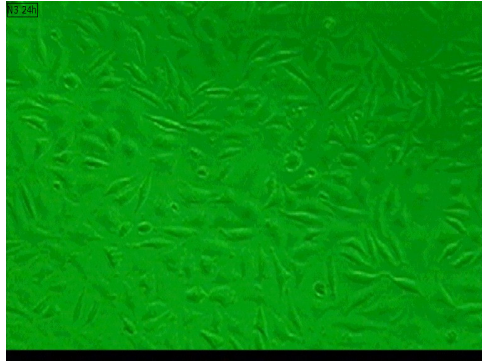
Resim 21: Grup 2 (Ufi Gel P), 24. Saat



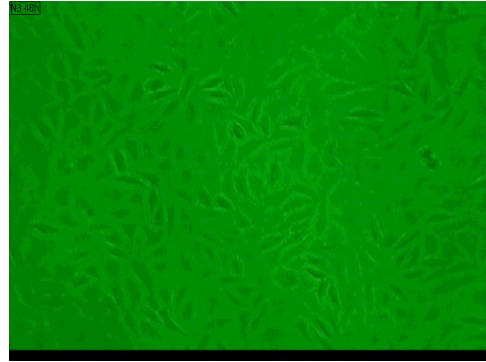
Resim 22: Grup 2 (Ufi Gel P), 48. Saat



Resim 23: Grup 2 (Ufi Gel P), 72. Saat



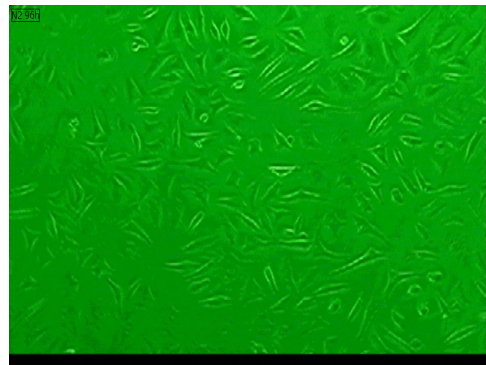
Resim 24: Grup 3 (Softliner), 24. Saat



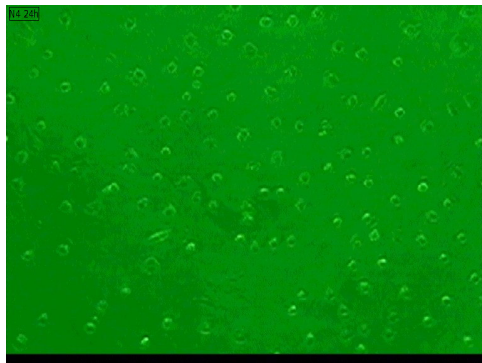
Resim 25: Grup 3 (Softliner), 48. Saat



Resim 26: Grup 3 (Softliner), 72. Saat



Resim 27: Grup 3 (Softliner), 96. Saat



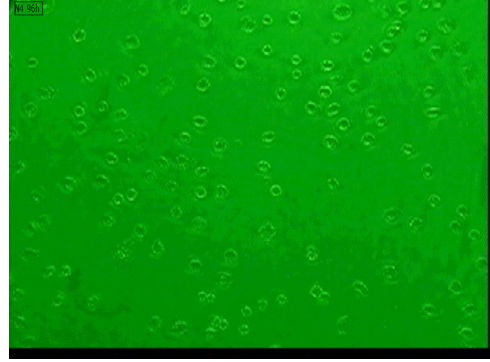
Resim 28: Grup 4 (Coe-Soft), 24. Saat



Resim 29: Grup 4 (Coe-Soft), 48. Saat



Resim 30: Grup 4 (Coe-Soft), 72. Saat



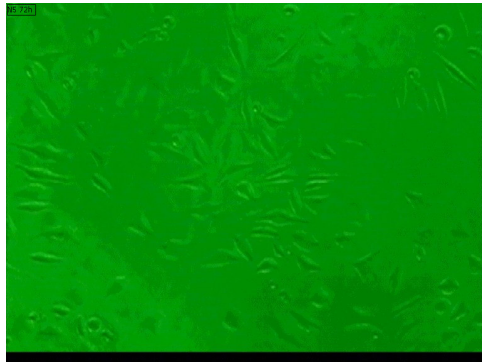
Resim 31: Grup 4 (Coe-Soft), 96. Saat



Resim 32: Grup 5 (Mollopast-B), 24. Saat



Resim 33: Grup 5 (Mollopast-B), 48. Saat



Resim 34: Grup 5 (Mollopast-B), 72. Saat



Resim 35: Grup 5 (Mollopast-B), 96. Saat

1. Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi:

Bu analiz yöntemi ile çalışmada kullanılan her bir yumuşak astar maddesinin, sitotoksosite değerlerindeki zamana bağlı değişimin, anlamlı ve benzer olup olmadığı değerlendirildi. Buna göre:

* 1. gruptaki materyalin (Visco-gel) sitotoksosite değerindeki zamana bağlı değişim anlamlı değildir ($F=0.482$, $p=0.592$).

* 2. gruptaki materyalin (Ufi Gel P) sitotoksosite değerindeki zamana bağlı değişim anlamlı değildir ($F=2.875$, $p=0.084$).

* 3. gruptaki materyalin (Softliner) sitotoksosite değerindeki zamana bağlı değişim anlamlıdır ($F=129.3$, $p=0,000$). Bu grupta 24, 48 ve 72. saatlerdeki canlı hücre sayısı arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı; 24, 48 ve 72. saatler 96. saatle karşılaştırıldığında farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu; 96. saatte canlı hücre sayısının istatistiksel açıdan anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi.

* 4. gruptaki materyalin (Coe-Soft) sitotoksosite değerindeki zamana bağlı değişim anlamlı değildir ($F=2.238$, $p=0.097$).

* 5. gruptaki materyalin (Molloplast-B) sitotoksosite değerindeki zamana bağlı değişim anlamlıdır ($F=3.894$, $p=0.035$). Bu grupta 72. ve 96. saatler arasında canlı hücre sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu, 96. saatte canlı hücre sayısında artış gerekleştiiği saptandı.

2.Tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi:

Gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel değerlendirmesinde tek yönlü varyans analizi kullanıldı, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığına ise çoklu karşılaştırma Tukey testi ile bakıldı. Buna göre:

24. ve 72.saatte:

24. saatte, çalışmada kullanılan beş materyalin sitotoksitesini arasında, istatistiksel açıdan belirgin farklılık görüldü ($F=93.061$, $p=0.000$).

72. saatte, gruplar sitotoksik etkileri açısından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($F=66.682$, $p=0.000$)

* 4. grubun (Coe-Soft) sitotoksik etkisinin diğer gruplardan fazla olduğu ve bu farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ($p< 0.05$),

* 5. grubun (Molloplast-B) sitotoksik etkisinin 2. (Ufi Gel P) ve 3. (Softliner) gruplardan fazla ve bu farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ($p < 0.05$),

* 5. grubun (Molloplast-B) sitotoksik etkisinin 1. gruptan (Visco-gel) fazla olduğu, fakat bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p > 0.05$),

* 1. grubun (Visco-gel) sitotoksikite değeri ile 2. grup (Ufi Gel P), 3. grup (Softliner) ve 5. grubun (Molloplast-B) sitotoksikite değerleri karşılaştırıldığında farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı ($p > 0.05$) gözlemlendi.

48. saatte:

Çalışmada kullanılan beş farklı yumuşak astar maddesinin sitotoksik etkileri arasında, 48. saatte, istatistiksel açıdan anlamlı farklılık belirlendi ($F=44.746$, $p=0.000$).

* 4. grubun (Coe-Soft) sitotoksik etkisinin diğer gruplardan fazla olduğu ve farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ($p < 0.05$),

* Diğer grupların sitotoksosite değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı ($p > 0.05$) görüldü.

96. saatte:

Çalışma gruplarının, 96. saatte gösterdikleri sitotoksik etkileri karşılaştırıldığında saptanan farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($F=197.379$, $p=0.000$).

* 3. grup (Softliner) ve 4. grubun (Coe-Soft) sitotoksosite değerlerinin diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu ($p < 0.05$),

* 3. grup (Softliner) ve 4. grubun (Coe-Soft) sitotoksosite değerleri birbiriyle kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı ($p > 0.05$),

* 1. grup (Viscogel) ve 2. grubun (Ufi Gel P) sitotoksosite değerleri birbiriyle kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı ($p > 0.05$),

* 5. grubun (Molloplast-B) sitotoksosite değerinin tüm gruplardan daha az olduğu ve farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0.05$) bulundu.

3. Kesin ki-kare testi:

Hücre kontrol grubunun canlılık değeri % 100 olarak kabul edilip diğer materyal gruplarının canlılık değerleri basit oran hesabı ile belirlenmiştir. Canlılık değeri % 100'n üzerinde olan gruplarda materyalin hücre çoğalmasını indükleyici, % 50'nin altında olan materyal grupları ise sitotoksik etkisi yüksek olarak tanımlanarak ki-kare testi ile istatistiksel analiz yapıldığında;

* 24, 48 ve 72. saatlerde 4. grubun (Coe-Soft) sitotoksik etkisinin diğer gruplardan yüksek olduğu ve farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0.05$),

* 96. saatte 3. grup (Softliner) ve 4. grubun (Coe-Soft) sitotoksik etkilerinin diğer gruplardan daha yüksek olduğu ve bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0.05$) belirlendi.

4. Cochran Q testi:

Grupların zamana bağılı sitotoksisite değışimleri nitel veri (var/yok) açısından Cochran Q testi ile değeriendirildi. Bu değeriendirmede yalnızca 3. gruptaki (Softliner) örneklerin sitotoksik etkileri 96. saatte istatistiksel olarak anlamlı şekilde artarken (Cochran $Q=48$, $p=0.000$), diğeri gruplardaki zamana bağılı değışimin istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı gözlendi ($p > 0.05$).

Sonuç olarak; tekrarlı ölçümlerde varyans analiziyle bakıldığında, grupların sitotoksisite değeriilerinin zaman içerisindeki değışiminin benzer olmadığı ve farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.05$). Tek yönlü varyans analizi ile değeriendirme yapıldığında, kullanılan yumuşak astar maddelerinin sitotoksik etkileri arasında tüm saatlerde anlamlı farklılık olduğu gözlendi ($p < 0.05$). Tukey testi ile yapılan incelemede; bu farklılığın 4. grupta yer alan Coe-Soft materyalinin 24, 48 ve 72. saatlerdeki, hem 3. gruptaki Softliner materyalinin hem de 4. gruptaki Coe-Soft materyalinin 96. saatteki sitotoksik etkisinin diğeri gruplardan yüksek olmasından kaynaklandığı belirlendi. Kesin ki-kare test yöntemi sonucunda 24, 48, 72. saatlerde 4. grubun (Coe-Soft), 96. saatte ise 3. (Softliner) ve 4. (Coe-Soft) grupların sitotoksik olduğu bulundu. Cochran Q testiyle istatistiksel analiz yapıldığında ise, yalnızca 3. gruptaki (Softliner) materyalin sitotoksik etkisindeki zamana bağılı değışimin anlamlı olduğu ($p < 0.05$) gözlendi.

TARTIŞMA

Diş hekimliği tedavilerinin tümünde olduğu gibi protetik tedavilerin de temel amacı estetik, fonksiyon ve fonasyon özelliklerinin yanı sıra ağız sağlığının devamının sağlanmasıdır. Bu amaç için, diş hekimliği alanında yeni materyaller ve yöntemler geliştirilmektedir. Yumuşak astar maddeleri, protetik tedavi sonrasında görülen çiğneme problemleri ve kullanım rahatsızlığı gibi şikâyetlerin giderilmesi amacıyla kullanılan önemli materyallerdir ve uzun süreyle de kullanılabilen bu materyallerin ağız içi dokularla uyum içerisinde olmaları gerekmektedir.

Özellikle tam protez kullanan bireylerde çiğneme basıncı, öncelikle mukoza tarafından karşılanmakta ve ardından mukozayı oluşturan tabakalar aracılığıyla kemik dokuya iletilmektedir. Bu iletim sırasında damar ve sinir dokularının yoğun olarak bulunduğu mukoza, kemik ve protez kaide plağı gibi iki sert yapının arasında kalmaktadır. Sonuç olarak, ağız dokularının basıncı karşılayan bu bölgelerinde dolaşım bozukluğu, kronik irritasyonlar, ileri durumlarda patolojik değişiklikler ve kemik kaybı gözlenebilmektedir. Protez kullanımı sırasında ağrı oluşumuna bağlı olarak, hasta için protezi rahatça kullanım süreci sona ermektedir. Bu süreci uzatmada en uygun yöntem ise yumuşak astar maddelerinin kullanılmasıdır. Yumuşak astar maddeleri, protezin doku ile temasta olduğu yüzeyi tamamen ya da kısmen kaplayan materyallerdir. Bu materyaller fonksiyonel ya da fonksiyonel olmayan kuvvetlerin mümkün

olduğunca eşit dağıtılmasını ve protez aracılığı ile bazal dokulara iletilecek enerjinin bir miktarının absorbe edilmesini sağlamaktadırlar.^{10,22,29}

Bunların yanı sıra yumuşak astar maddeleri; obturatör ve epitez yapımında, periodontoloji, ortodonti ve cerrahide çeşitli şine ve plakların hazırlanmasında geniş uygulama alanı bulmaktadır.^{10,16,85}

Oda ısısında polimerize olan akrilik esaslı yumuşak astar maddeleri, genellikle, geçici amaçla veya doku düzenleyici olarak kullanılmaktadırlar. Bu maddelerin plastikleştirici kaybı gibi bazı dezavantajlarından dolayı başarılı klinik sonuçlar vermediğini bildiren çalışmalar da mevcuttur.^{14,86,87} Fakat uygulama kolaylığı ve laboratuvar işlemi gerektirmemeleri nedeniyle Visco-gel ve Coe-Soft gibi bu maddeler rutin klinik işlemlerde geçici amaçla kullanılmaktadır.

Oda sıcaklığında vulkanize olan silikonlar, piyasaya sürüldükleri ilk dönemlerde, stabilite özelliklerinin yeterli olmaması nedeniyle tercih edilmemişlerdir. Günümüzde bu ürünler geliştirilmeleri sonucunda daha yaygın olarak ve geçici amaçla kullanılmaktadırlar. Isı ile vulkanize olan silikonlar ise, laboratuvar işlemlerinin güç olmasına rağmen, daimi amaçla başarıyla kullanılmaktadırlar.²² Bu tez çalışmasında, oda ısısında vulkanize olan silikon esaslı yumuşak astar maddesi olarak; rutinde yaygın olarak kullanılmaları, hasta ağzında direkt olarak uygulanabilmeleri, kullanımlarının kolay olması ve

ülkemizde kolayca temin edilebilmelerinden dolayı Ufi Gel P ve Softliner kullanılmıştır. Isıyla vulkanize olan silikon esaslı yumuşak astar maddesi olarak araştırmada seçilen Molloplast-B maddesinin fiziksel özellikler ve klinik başarı açısından olumlu sonuçlar sergilediğini bildiren çalışmalar^{21,88,89} nedeniyle de bu maddenin kullanımı tercih edilmiştir.

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin dokular üzerinde yarattığı toksik etkilerinin değerlendirilmesinde *in vitro* ve *in vivo* koşullarda yürütülen yöntemler kullanılmaktadır.⁹⁰⁻⁹³

Toksisitesi bilinmeyen bir ajanın insanlarda kullanımı etik açıdan mümkün değildir.⁹⁴ Bu nedenle, insanlarda kullanılması düşünülen materyallerin toksisitesinin *in vivo* koşullarda değerlendirilmesi amacıyla hayvan deneyleri yapılmaktadır. Ancak hayvanlar ve insanlardaki fizyolojik reaksiyonlar birbirinden farklı olabilmektedir. Deneyler sırasında hayvanlara bağlı yapısal faktörler deney sonuçlarını ve çalışmanın güvenilirliğini etkileyebilmekte, ortaya çıkabilecek biyolojik etkileşimler sonucunda anlamlı sonuçlar elde edilmesi engellenebilmektedir. Bunların yanı sıra, hayvan deneyleri pahalı ve zaman alıcı olup, hayvanların beslenme ve bakımıyla ilgili sorunlarla karşılaşılabilmekte, bilimsel araştırmalarda hayvan deneklerin kullanımı, hayvan hakları açısından sorgulanarak sınırlandırılmaktadır.⁹⁵⁻⁹⁷ Bu nedenle *in vivo* şartlarda uygulanması planlanan materyallerin vücut dokuları üzerindeki toksik etkilerini değerlendirmek ve oluşturabilecekleri biyolojik reaksiyonları taklit ve tahmin

edebilmek için *in vitro* biyouyumluluk testleri geliştirilmiştir.^{41,98} *In vitro* koşullarda yürütülen test yöntemleri, dental materyallerin temel biyolojik fonksiyonlar üzerine etkilerinin ve bunlara karşı oluşan hücresel yanıtların belirlenmesinde yardımcı olmaktadır. *In vitro* çalışmalar; kontrol edilebilen koşullarda yürütülen ve hücresel toksisitenin mekanizmasını açıklayan, uygulanması kolay araştırmalardır. Bu testlerde hücresel olaylar, karmaşık hücrelerarası ilişkilerden bağımsız olarak değerlendirilmektedirler.⁹⁹ Son yıllarda yapılan araştırmalarda, sitotoksisitenin belirlenmesinde, genellikle, hücre kültürü test yöntemlerinin kullanıldığı görülmektedir.^{77,81-83,100}

Hücre kültürü test yöntemleri; bireysel faktörlerden etkilenmemeleri, materyaller arasında parametrik karşılaştırmalara olanak tanımları, tekrarlanabilme özellikleri ve çalışma koşullarının standardize edilebilmesi nedeniyle tercih edilmektedirler.^{39,47,48,101} Bu nedenle, sunulan çalışmada da farklı yumuşak astar materyallerinin sitotoksisiteyi, hücre kültürü yöntemi ile *in vitro* koşullarda değerlendirilmiştir.

Hücre kültürü çalışmalarında, hangi hücre tipinin seçilmesi gerektiğiyle ilgili kesin bir cevap bulunmamaktadır. Diploid hücrelerin kullanılması, laboratuvarlararası karşılaştırmaların yapılmasında güçlükler çıkartmaktadır. Bu karşılaştırmaların yapılması, bütün dünyada kullanılabilecek devamlı hücre hatlarının kullanılması ile daha kolay hale gelmektedir. Devamlı hücre hatları aneuploid kromozoma sahiptirler, hızlı üremektedirler ve doğru

pasajlandıklarında çok uzun süreyle yaşatılmaları mümkündür. Elde edilmeleri de primer hücre kültürüne oranla daha kolaydır. Çok uzun bir dönem boyunca fenotipik özelliklerinde kayıp söz konusu değildir. Devamlı hücre hatları ile primer hücre kültürlerinden daha hızlı sonuç elde edilmektedir.¹⁰² Bu nedenlerden dolayı bu tez çalışmasında da devamlı hücre hatları kullanılmıştır.

Dış hekimliğinde kullanılan materyallerin toksik özelliklerinin araştırılmasında farklı yöntemlerin kullanılması, hem elde edilen bulguların değerlendirilmesi hem de birbirleri ile karşılaştırılmasında büyük sorunlar gözlenmesine yol açmaktadır. Bu nedenle, dental malzemelerin farklı özelliklerinin araştırılmasına yönelik standartlar kullanılmaktadır.^{39,41}

Bu çalışmada, yumuşak astar maddelerinin sitotoksitelerinin araştırılması amacı ile kullanılan hücre kültürünün hazırlanmasında, ‘International Organization for Standardization’ (ISO) tarafından hazırlanan 10993–5 numaralı ‘Sitotoksite Testleri-*In Vitro* Yöntemler’ bölümü⁶⁵ rehber alınmıştır. Bununla birlikte, sunulan çalışmada, sitotoksitenin değerlendirilmesi için enzimatik test yöntemlerinden biri olan MTT kullanımlı hücre kültürü test yöntemi seçilmiştir. Fibroblast hücrelerinin kullanıldığı ve mitokondrial aktiviteyi gösteren MTT yöntemi, biyouyumluluk testleri içerisinde, hızlı sonuç alınması ve çok hassas olmasının yanı sıra materyallerin çok düşük düzeydeki toksisitelerinin dahi değerlendirilebilmesine olanak sağlaması nedeniyle en güvenilir testlerden biri olarak kabul edilmektedir.^{53,103-106}

Wataha ve arkadaşları,¹⁰³ dental alaşımların toksik etkilerini farklı sitotoksosite test yöntemleri ile karşılaştırdıkları çalışmalarının sonucunda; MTT yönteminde kullanılan boyanın, hücre içerisinde kısa sürede metabolize edilebilmesi ve verilerin Elisa okuyucusunda ya da spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi nedeniyle tekrarlanabilir olduğunu, farklı zamanlarda yapılan araştırmalara ait sonuçların karşılaştırılabilmesi nedeniyle, bu yöntemin, diğer sitotoksosite testlerine oranla daha avantajlı olduğunu ifade etmişlerdir. Benzer şekilde Bean ve arkadaşları da,¹⁰⁷ aynı anda çok sayıda örneğin test edilebilmesine olanak sağlayan MTT test yönteminin hücre içi biyokimyasal değişiklikleri göstermesi ve tekrarlanabilir sonuçlara ulaşılabilmesi nedeniyle tercih edilmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

Materyallerin sitotoksitesini belirlemeye yönelik, güvenilir bir diğer yöntem olan agar difüzyon testinde toksik elemanların yayıldığı bölgelerin sınırları belirgin olmadığından, canlı hücre sayımı yorucu ve zaman alıcı olup, yanılğı payı yüksektir.^{70,108} Buna karşın, hücre canlılığını belirlemeye yönelik MTT kolorimetrik testinde aynı anda ve çok sayıda örnek kısa sürede ve güvenilir şekilde değerlendirildiğinden, çalışmamızda agar difüzyon testi yerine MTT testi tercih edilmiştir.

ISO 10993-5 ‘Sitotoksosite Testleri-*In Vitro* Yöntemler’⁶⁵

standardına göre; *in vitro* çalışmalarda dental malzemelerin sitotoksik etkilerinin araştırılmasında, standart olarak L929 ya da Balbc3T3 fibroblast kültürlerinin kullanılması önerilmektedir.

Schedle ve arkadaşları,¹⁰⁹ metal alaşımlarının toksik etkilerini karşılaştırmak amacıyla, materyalleri 7 gün süre ile L929 hücreleri, dişeti fibroblast hücreleri ve mast hücreleri ile inkübe ederek, direkt temas yöntemi ile hücre proliferasyonundaki değişiklikleri değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar çalışma sonucunda, *in vitro* sitotoksosite testlerinde L929 fibroblastlarının, primer dişeti fibroblast ve mast hücre kültürlerine oranla, üreme yeteneklerinin gelişmiş olması nedeniyle kullanımlarının daha uygun olacağını belirtilmişlerdir.

Taira ve arkadaşları,⁶⁶ metil metakrilatın sitotoksik etkisini dört farklı fibroblast kültürü üzerinde inceleyerek sonuçlar arasında farklılık olduğunu saptamışlar, kullanılan hücre kültürlerini, hassasiyet derecelerine göre L929, C3H10T1/2, Balb3T3, MC3T3-E1 olarak sıralamışlar ve dental materyallerin sitotoksitesinin belirlenmesinde, hücre hatları içerisinde en duyarlı ve güvenilir şekilde kullanılabilecek hücre kültür ortamının L929 fare fibroblastları olduğu sonucuna varmışlardır.

Thonemann ve arkadaşları,¹¹⁰ primer sığır dental papilla hücreleri (CPC), SV40T antijeniyle transforme edilen CPC hücreleri (tCPC B), E6/E7 onkojeni ile transforme edilen CPC hücreleri (tCPC E) ve L929 fare fibroblast hücrelerini 24 saat süreyle dental rezin bileşikleri ile temasta bırakarak, MTT analizi ile sitotoksosite değerlendirmesi yaptıkları çalışmalarında, bu hücrelerden hangisi ile daha hassas sonuçlar elde edilebileceğinin tespitini amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda kullanılan hücrelerin hassasiyetlerini $CPC = tCPC\ B < tCPC\ E < L929$ şeklinde sıralayarak, en iyi sonuçların L929 fare fibroblastları ile elde edildiğini belirtmişlerdir.

Bu çalışmada da, yukarıda belirtilen çalışma sonuçlarının ışığında ve ISO 10993-5 numaralı standarda uygun olması amacıyla, yumuşak astar maddelerinin sitotoksiteleri L929 fare fibroblast hücre kültürü kullanılarak değerlendirilmiştir.

Yumuşak astar maddelerinin sitotoksosite özelliklerinin değerlendirildiği çalışma sayısı oldukça sınırlı olmakla birlikte konuyla ilgili birçok çalışmada, bu maddelerin sitotoksitelerinin, içeriğindeki bazı plastikleştiricilerden kaynaklandığı ifade edilmiştir.¹¹¹⁻¹¹³ Bu plastikleştiricilerden, fatalat ve diğer aromatik karboksilik asit esterlerinin, salınabilir ve sitotoksik olduğu bildirilmiştir.^{14,111,112,114-118} Sıklıkla kullanılan fatalatlar nadiren akut toksisiteye neden olmakla birlikte, bazı fatalatların da karsinojenik etkiye sahip oldukları gösterilmiştir.^{119,120} Bunların yanı sıra, fatalatların östrojenik aktivitelerinin olduğu *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda rapor edilmiştir.^{115,116,121,122}

Hashimoto ve arkadaşları¹¹⁴ doku düzenleyicilerin östrojenik aktivitesini, yedi adet plastikleştirici ve iki metabolitin dilüe konsantrasyonlarını kullanarak MCF-7 (insan meme karsinomu hücre hattı) hücreleri üzerinde araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, östrojen varlığında, bu hücrelerde proliferasyon görüldüğü ve *n*-bütil benzil fatalat, *n*-bütil fatalil *n*-bütil glikolat, di-2-etilhekzil fatalat ve benzil salisilat maddelerinin MCF-7 hücrelerinin proliferasyonunu arttırdıkları, diğer iki plastikleştirici; di-2-etil hekzil adipat ve benzil benzoat ile dibütil fatalat ve di-2-etilhekzil fatalatın iki metaboliti olan monobütil fatalat ve mono-2-etilhekzil fatalatın böyle bir etkisi olmadığı ifade edilmiştir. Çalışmada kullanılan Coe Comfort maddesinden salınan benzil benzoat ve dibütil fatalat, Tissue Conditioner materyalinden salınan dibütil fatalat, Hydro Cast içerisinde yer alan *n*-bütil benzil fatalat ve Denture Soft II içerisindeki *n*-bütil fatalil *n*-bütil glikolat plastikleştiricilerinin, MCF-7 hücrelerinde belirgin proliferasyona neden olduğu belirtilmiştir.

Chatterjee ve Dutta,¹²³ fatalatların hormonal bozukluklara, toksisiteye, hepatosellüler tümörlere, östrojen reseptörlerini bağlayan genital bozukluklara ve fetal gelişim süresinin bazı periodlarında düşük doz sitotoksik aktiviteye neden olabileceğini bildirmişlerdir.

Jones ve arkadaşları,¹¹² su içerisinde bekletilen yumuşak astar maddelerinden bir miktar plastikleştirici salındığını göstermişlerdir.

Graham ve arkadaşları¹²⁴ ise, 2–4 hafta süreyle su içerisinde bekletilen yumuşak astar maddelerinden yaklaşık 8–13 mg/g plastikleştirici salındığını, *in vivo* ölçümlerde daha yüksek miktarda plastikleştirici kaybı gözlemlendiğini ifade etmişlerdir.

Tükürük hidrolaz veya esteraz içermektedir^{125,126} ve bu enzimatik tükürük aktivitesinin, yumuşak astar materyallerinden salınan plastikleştirici oranı ve miktarı ile ilişkili olduğu hipotezi de mevcuttur.¹²⁷

Munksgaard,¹²⁸ yumuşak astar maddelerinin yapısında yer alan plastikleştiricilerin tükürük içerisindeki çözünürlüğünün, su içerisindeki çözünürlüğünden 20 kat daha fazla olduğunu rapor etmiştir.

Okita ve Hensten-Pettersen⁸⁴ metakrilat esaslı, dört farklı doku düzenleyicinin (Coe Comfort, Kerr FITT, GC Soft Liner, Visco-gel) sitotoksosite özelliklerini, fare fibroblast hücrelerinin (L929) kullanıldığı hücre kültürü ve agar overlay test yöntemleri ile değerlendikleri çalışma sonucunda, aktif ve salınabilen komponentlerin doku düzenleyicilerde sitotoksositeye neden olduklarını, dibütülin diasetat içeren polivinilklorit grubunun büyük oranda hücre ölümüne yol açtığını bildirmişlerdir. Çalışmada kullanılan maddelerin sitotoksosite değerlerinde 15 günlük süre boyunca belirgin şekilde artış olmadığı kaydedilirken, Jones ve arkadaşlarının¹¹² yaptığı çalışmada 14 gün süreyle suda bekletilen doku

düzenleyicilerde, 24 saat süreyle bekletilen örneklere oranla anlamlı derecede yüksek ester salınımı olduğu belirtilmiştir.

Lovas ve arkadaşları,¹¹³ doku düzenleyicilerin içeriğinde bulunan plastikleştiricilerin kimyasal dinamiğini araştırmak amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmada, metakrilat polimerleri, etanol ve plastikleştiricilerden oluşan model sistemini agar overlay metodu ile değerlendirmişlerdir. Araştırma sonucunda, yalnızca bütül fatalil bütülglikolat maddesinin salınabilir ve bu yöntemle tespit edilebilecek oranda toksik olduğunu ifade etmişlerdir.

Nishijima ve arkadaşları⁸³ plastikleştirici olarak kullanılan fatalat esterlerinin sitotoksitesini ve östrojenik aktivititesini inceledikleri çalışmada, fatalat esteri içermeyen doku düzenleyicilerde di-n-bütül sebakat ve asetil tribütül sitrat plastikleştiricilerinin kullanılabileceğini, bu materyallerden düşük sitotoksite değerlerinin elde edildiğini, en yüksek sitotoksite değerlerinin tri-n-bütül fosfat grubunda gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Monoesterler, fatalik asit diesterlerinin başlıca metabolitleridir ve dibütülfatalat diesteri, esteraz yardımı ile monobütülfatalata (MBP) dönüşmektedir.^{123,129} MBP ve diğer fatalik asit monoesterlerinin, biyolojik etkilerin başlıca nedeni olabileceği belirtilmektedir. Bazı yumuşak astar maddeleri ve doku düzenleyicilerin daha yüksek oranda dibütülfatalat (DBP) içerdiği, bu

oranın Coe-Soft için % 21, F.I.T.T. içinse % 47 olduğu bildirilmiştir.¹²⁸ Çalışmamızda en yüksek sitotoksosite değerlerinin, tüm saatlerde, Coe-Soft materyalinden elde edilmesinin, yüksek miktarda DBP içermesiyle ilgili olabileceği düşünülebilir.

Silikon materyallerin esneklik özelliği plastikleştiricilere değil, polimerlerin iç yapısına bağlıdır.⁵ Silikon esaslı yumuşak astar madelerinde plastikleştiricilerin olmaması, bu materyallerden daha düşük sitotoksosite değerlerinin elde edilmesinin nedenlerinden biri olabilir.

Yumuşak astar maddelerinin biyouyumluluğu ile ilgili çalışmaların birçoğu, *Candida albicans* adezyonu ve toksisitesini değerlendirmeyi amaçlamaktadır.¹³⁰

Nikawa ve arkadaşları,¹³¹ yumuşak astar maddelerinde kullanılan plastikleştirici türünün, polimer partikül büyüklüğünün ve etil alkol miktarının *Candida albicans* gelişimi, asit üretimi ve kolonizasyonu üzerinde etkili olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar polimer partikül büyüklüğünün *Candida albicans* gelişimi üzerinde fazla etkili olmadığını, bununla birlikte etil alkol miktarı ve plastikleştirici türünün belirgin farklılıklar oluşturduğunu bildirmişlerdir. Benzoil salisilat içeren etanol miktarının artması fungal kolonizasyonda da artışla sonuçlanmıştır. Etanol, benzil *N*-bütil fatalat ile kullanıldığında ise fungal

kolonizasyon azalmıştır. Plastikleştiriciler, benzoat ve benzil salisilat kolonizasyonu azaltırken; dibütil fatalat bütül, *N*-bütül fatalat ve bütül fatalat bütül glikonat kolonizasyonu arttırmıştır.

Lefebvre ve arkadaşları,²⁵ triklosan içeren, geniş spektrumlu antimikrobiyal ajan (Microban, Microban Products Co.) kullanımının yumuşak astar (PermaSoft, Austenal Inc.) sitotoksitesisi ve mantar üremesi üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmalarında, Microban'ın sitotoksik etkisini MTT yöntemiyle değerlendirmişlerdir. Çalışmada PermaSoft içerisinde yer alan fatalatların, Microban etkinliği üzerindeki olası olumsuzluklarını gidermek amacıyla, fatalatların salınımını sağlamak ve uzun süreli, klinik kullanım koşullarını taklit etmek için, örnekler steril yapay tükürükte, 5 gün süreyle saklanmıştır. Microban içeren ve içermeyen yumuşak astar örnekleri 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Çalışma sonucunda Microban kullanımının, yumuşak astar sitotoksitesisi üzerinde anlamlı farklılık oluşturmadığı, bununla birlikte *in vitro* testlerin, *in vivo* koşulları tam olarak yansıtamayacağı bildirilmiştir. Geurtsen de,¹³² son bulguya benzer olarak, hücre kültürü testlerinden elde edilen sonuçların klinik kullanımı tam olarak yansıtamayacağını, oral mukozanın, musin ve keratin tabakaları nedeni ile toksik maddelere hücre kültürü ortamından daha dirençli olduğunu, birçok dental materyalin sitotoksik cevaba yol açtığını fakat bu durumun, uzun dönem yan etkileri yansıtmayacağını ifade etmiştir.

Park ve arkadaşları¹³³ geçici amaçla kullanılan, akrilik esaslı, üç adet yumuşak astar maddesini (Coe Comfort [Coe,USA], Coe Soft [Coe,USA], Soft Liner [GC, Japan]) ve bir silikon esaslı daimi yumuşak astar maddesini (Tokuso Soft Liner [Tokuyama, Japan]) tekrarlayan salınım işlemi sonrası, sitotoksisite açısından MTT yöntemiyle değerlendirmişlerdir. Örneklerin hazırlanmasının ardından, 0-24 saat ve 72-96 saat arasında değişen salınım periodlarında Coe Comfort ve Coe Soft materyallerinin sitotoksisitesinde anlamlı değişim görülmemiş, bu materyallerin başlangıç sitotoksisiteleri 96. saate kadar farklılaşmamıştır. Soft Liner ve Tokusa Soft Liner maddelerinin sitotoksisite değerleri ise 72. saatten sonra azalmıştır. 0-24. saatler arasındaki salınım periodunda Tokusa Soft Liner materyalinin sitotoksisitesi Coe Comfort ve Coe Soft materyallerinden istatistiksel açıdan anlamlı derecede ($p<0.05$) yüksekken, 24-48 saatlik periodda materyaller arasında sitotoksisite açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$). 48. saatten sonraki periodlarda ise Coe Comfort ve Soft Liner materyallerinin sitotoksisiteleri Coe Soft ve Tokuso Soft Liner'dan daha düşük bulunmuş, araştırma sonucunda, geçici astar materyallerinin sınırlı sürede kullanılmalarının gerekliliği tekrarlanmıştır.

Bu çalışmada da, tüm saatlerde, en yüksek sitotoksisite değerleri akrilik esaslı, geçici astar maddesi olan Coe-Soft grubunda elde edilmiştir. Materyaller sitotoksisite değerleri açısından 48 saatlik inkübasyon sonrasında karşılaştırıldığında Coe-Soft materyalinin sitotoksik etkisinin diğer gruplardan

anlamli şekilde yu'ksek olduğu ($p < 0.05$), fakat diğer gruplar arasında istatistiksel a'ıdan anlamli farklılık olmadığı ($p > 0.05$) tespit edilmiştir. 24 ve 72 saatlik inkubasyon periodları sonrasında Molloplast-B grubunda canlı h'cre sayısının Ufi Gel P ve Softliner gruplarından istatistiksel a'ıdan anlamli şekilde az olduğu ($p < 0.05$); Molloplast-B ve Viscogel grupları arasında anlamli farklılık olmadığı ($p > 0.05$); Viscogel, Ufi Gel P, Softliner ve Molloplast-B grupları arasında sitotoksosite değeri a'ısından istatistiksel analiz yapıldığında yine farkın anlamli olmadığı ($p > 0.05$) kaydedilmiştir. 96 saatlik inkubasyon periodu sonrasında yapılan değerlendirmede ise Coe-Soft ve Softliner maddelerinin sitotoksosite değerlerinin diğer gruplardan belirgin şekilde yu'ksek olduğu ($p < 0.05$); Molloplast-B materyalinin ise diğer gruplardan daha az sitotoksosite g'osterdiği ve farklılığın anlamli olduğu ($p < 0.05$) g'ozlenmiştir.

Waters ve Jagger,¹³⁴ Molloplast-B materyalinin s'ureklilik bakımından, gerek oda ısısında sertleşen silikon esaslı yumuşak astar materyallerine, gerek plastikleştirici i'eren akrilik esaslı yumuşak astar materyallerine oranla daha avantajlı olduğunu belirtmişlerdir.

Dahl ve arkadaşları,⁸² yumuşak astar materyallerinin biyouyumluluk ozelliklerini *in vitro* ortamda, h'cre k'ult'uru y'ontemini kullanarak, filtre dif'uzyon ve MTT testiyle değerlendirmişlerdir. 'alışma sonucunda, filtre dif'uzyon testinde materyallerin uzun d'onem (24 saat) inkubasyonu, kısa d'onem inkubasyonla (2 saat) karşılaştırıldığında

sitotoksitenin daha yüksek olduğu, MTT testiyle yapılan değerlendirmede ise, 24 saatlik arayla iki kez tekrarlanan ekstraksiyonun ardından materyallerin birçoğundan elde edilen sitotoksite değerlerinin, filtre difüzyon testinde kaydedilen değerlerden fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra, toksisite gözlenen yumuşak astar materyallerinin suda çözünebilen toksik maddeler içerdiğini ve bu maddelerin salınımı için zamana ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda da, Molloplast-B dışındaki tüm materyallerde, 24. saatte elde edilen optik yoğunluk değerlerinin 96. saatte elde edilen değerlerden yüksek olması sonucu, bu çalışmayla paraleldir ve sitotoksitede zamana bağlı artış olduğunu düşündürmektedir.

Literatür değerlendirilmesi yapıldığında, farklı yapıdaki yumuşak astar maddelerinin sitotoksik etkilerinin araştırıldığı çalışma sayısının oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Bu araştırmaların ve sunulan çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde; geçici amaçla kullanılan akrilik esaslı yumuşak astar maddelerinin daha fazla sitotoksik etkiye neden olduğu ve kısa süreli tedavilerde tercih edilmelerinin gerektiği, akrilik esaslı yumuşak astar maddelerinden salınan plastikleştiricilerin sitotoksik etkiye yol açan temel bileşenler olduğu düşünülebilir. Yumuşak astar maddelerinin sitotoksitesine neden olan plastikleştiricilerin yerine, bu maddelerin viskoelastisite özelliklerini koruyacak biyoyumlu komponentlerin kullanımı ile sitotoksik olmayan materyallerin üretimi ileri araştırmaları gerektiren bir başka konudur.

Yumuşak astar maddelerinin sitotoksosite özelliğini araştıran çalışmaların büyük bir çoğunluğu *in vitro* şartlarda ve kısa süreli inkübasyon periodlarında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaları yapan birçok araştırmacı, *in vitro* testlerden elde edilen sonuçların *in vivo* şartları ve uzun süreli klinik kullanımın oluşturacağı yan etkileri yansıtmayacağını, ağız ortamının yapısal özellikleri nedeni ile sitotoksositeye daha dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Bu görüşe paralel olarak biz de, yumuşak astar maddelerinin sitotoksosite özelliklerinin araştırıldığı, uzun dönemli, *in vivo* çalışmalar yapılmasının materyal özelliklerinin iyileştirilmesinde önemli katkıları olacağını düşünmekteyiz.

SONUÇ

Güncel beş farklı yumuşak astar maddesinin sitotoksik etkilerinin L929 fare fibroblastları üzerinde, hücre kültürü yöntemi kullanılarak, MTT analizi ile değerlendirildiği bu tez çalışmasından şu sonuçlar elde edilmiştir:

1. Oda ısısında polimerize olan akrilik esaslı, geçici yumuşak astar maddesi olan, çalışmamızın 4. grubunu oluşturan Coe-Soft (GC America Inc, USA), tüm inkübasyon periodlarında, yüksek sitotoksik etki göstermiştir ve diğer gruplarla arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

2. Çalışma grupları, sitotoksosite özelliklerindeki zamana bağlı değişim açısından değerlendirildiğinde, 3. grupta yer alan Softliner (Promedica, Germany) maddesinin sitotoksitesinin 96. saatte anlamlı şekilde arttığı ($p < 0.05$) ve materyalin bu inkübasyon periodunda sitotoksik özellik kazandığı görülmüştür.

3. 5. grupta yer alan, ısı ile vulkanize olan silikon esaslı, daimi yumuşak astar maddesi, Molloplast-B (Buffalo, USA) materyalinin sitotoksik etkisinde, 96 saatlik inkübasyon periodunda anlamlı şekilde azalma olduğu ($p < 0.05$) gözlenmiştir.

4. 1. gruptaki Visco-gel (Dentsply, UK), 2. gruptaki Ufi Gel P (Voco, Germany) ve 5. gruptaki Molloplast-B (Buffalo, USA) yumuşak astar maddeleri, tüm inkübasyon periodlarında, biyouyumlu yapıda olduklarını gösteren sitotoksosite değerleri sergilemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Phillips RW. Skinner's Science of Dental Materials, 11th ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1996.
2. Mack PJ. Denture Soft Linings: Clinical Indications. Aust Dent J 1989; 34: 454–458.
3. Mack PJ. Denture Soft Linings: Materials Available. Aust Dent J 1989; 34: 517–521.
4. Uzun G, Çelebi N. Yumuşak Astar Maddelerinin Fiziksel Özellikleri. HÜ Diş Hek Fak Derg 1999; 23: 18–22.
5. Garcia LT, Jones JD. Soft Liners. Dent Clin North Am 2004; 48: 709–720.
6. Qudah S, Harrison A, Hugget R. Soft Lining Materials in Prosthetic Dentistry: A Review. Int J Prosthodont 1990; 3: 477–483.
7. Turfaner M, Kutay Ö. Günümüzde Protezler İçin Kullanılan Yumuşak Astar Maddeleri. Marmara Ü Diş Hek Fak Derg 1987; 3: 50–59.

8. Sinobad D, Murphy WM, Hugget R, Brooks S. Bond Strength and Rupture Properties of Some Soft Denture Liners. J Oral Rehabil 1992; 19: 151–160.
9. Jepson NJA, McCabe JF, Storer R. Evaluation of the Viscoelastic Properties of Denture Soft Lining Materials. J Dent 1993; 21: 163–170.
10. Çalikkocaoğlu S. Tam Protezler, Üçüncü Baskı, İkinci Cilt, Teknografik Matbaacılar Sitesi, İstanbul, 1998.
11. Braden M, Wright PS, Parker S. Soft Lining Materials- A Review. Eur J Prosthodont Rest Dent 1995; 3: 163–174.
12. McKinsty RE. Microwave Processing of Permanent Soft Denture Liners. Compend Contin Educ Dent 1991; XII: 32-37.
13. Hasanreisoglu U, Kalipçılar B, Ayhan N. Silikon Esaslı Yumuşak Astar Materyallerinin Bazı Fiziksel Özellikleri ile Candida Albicans Üremesi Yönünden Değerlendirilmesi. Ankara Ü Diş Hek Fak Derg 1987; 14: 93–99.
14. Craig GR, Powers MJ. Restorative Dental Materials, 11th ed., Mosby Inc., St. Louis, 2002.

15. Williamson RT. Clinical Application of a Soft Denture Liner: A Case Report. Quintessence Int 1995; 26: 413-418.
16. Yılmaz H, Aydın C, Turhan B, Özçelik B, Abbasoğlu U. Değişik Dezenfektanların Yumuşak Astar Maddelerine Etkisinin Mikrobiyolojik Olarak Değerlendirilmesi. T Klin Diş Hek Bil 2003; 9: 15-24.
17. O'Brien JW. Dental Materials and Their Selection, 2nd ed., Quintessence Pub. Co., Chicago, 1997.
18. Canay Ş, Hersek N, Tulunoğlu İ, Uzun G. Evaluation of Colour and Hardness Changes of Soft Lining Materials in Food Colorant Solutions. J Oral Rehabil 1999; 26: 821-829.
19. Nikawa H, Iwanaga H, Hamada T, Beng SY. Effects of Denture Cleansers on Direct Soft Denture Lining Materials. J Prosthet Dent 1994; 72: 657-662.
20. Goll G, Smith DE, Plein JB. The Effects of Denture Cleanser on Temporary Softliners. J Prosthet Dent 1983; 50: 466-472.
21. Jin C, Nikawa H, Makihira S, Hamada T, Furukawa M, Murata H. Changes in Surface Roughness and Colour Stability of Soft Denture Lining Materials caused by Denture Cleansers. J Oral Rehabil 2003; 30: 125-130.

22. McCabe JF, Walls AWG. Applied Dental Materials, 8th ed., Blackwell Science Ltd., Oxford, 1998.
23. Dinçkal Yanıkoğlu N, Yeşil Duymuş Z. Comparative Study of Water Sorption and Solubility of Soft Lining Materials in the Different Solutions. Dent Mater J 2004; 23: 233–239.
24. Von Noort R. Introduction to Dental Materials, Mosby Inc., St. Louis, 1994.
25. Lefebvre CA, Wataha JC, Cibirka RM, Schuster GS, Parr GR. Effects of Triclosan on the Cytotoxicity and Fungal Growth on a Soft Denture Liner. J Prosthet Dent 2001; 85: 352–356.
26. Nikawa H, Jin C, Hamada T, Murata H. Interactions between Thermal Cycled Resilient Denture Lining Materials, Salivary and Serum Pellicles and Candida Albicans In Vitro. Part I. Effects on Fungal Growth. J Oral Rehabil 2000; 27: 41–51.
27. Laney WR. Processed Resilient Denture Liners. Dent Clin North Am 1970; 14: 531–551.)
28. Çalikkocaoğlu S. Diş Hekimliğinde Maddeler Bilgisi (Metal Olmayan Maddeler), Mor Ajans, İstanbul, 2000.

29. Brown D. Resilient Soft Liners and Tissue Conditioners. Br Dent J 1988; 164: 357–360.
30. International Organization for Standardization. ISO-10139-1, Dentistry - Soft Lining Materials for Removable Dentures - Part 1: Materials for Short-Term Use, 1991.
31. Mutluay M, Ruyter Eystein I. Direct Relining of Dentures with Soft Materials. Tandläkartidningen ÅRG 97 2005; 9: 60-61.
32. Zaimoğlu A, Can G, Ersoy E, Aksu L. Diş Hekimliğinde Maddeler Bilgisi, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1993.
33. Aydın K, Karaağaçlıoğlu L. Doku İyileştirici Maddeler, Ankara Ü Diş Hek Fak Derg 1983; 10: 305–318.
34. Casey DM, Scheer EC. Surface Treatment of Soft Liner for Increased Longevity, J Prosthet Dent 1993; 69: 318–324.
35. Akçaboy C, Suca S. Ölçü Maddeleri ve Klinik Uygulamaları, Gazi Üniversitesi İletişim Fakültesi Matbaası, Ankara, 1993.
36. Anderson JN. Applied Dental Materials, 5th ed., Blackwell Scientific Publications, London, 1977.

37. Ciapetti G, Granchi D, Stea S, Savarino L, Verri E, Gori A, Savioli F, Montanaro L. Cytotoxicity Testing of Materials with Limited *In Vivo* Exposure is Affected by the Duration of Cell-Material Contact. *J Biomed Mater Res* 1998; 42: 485-490.
38. Wataha JC. Biocompatibility of Dental Casting Alloys: A Review. *J Prosthet Dent* 2000; 83: 223-234.
39. Schmalz G. Concepts in Biocompatibility Testing of Dental Restorative Materials. *Clin Oral Investig* 1997; 1: 154-162.
40. Polyzois GL, Hensten-Pettersen A, Kullmann A. An Assessment of the Physical Properties and Biocompatibility of Three Silicone Elastomers. *J Prosthet Dent* 1994; 71: 500-504.
41. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. *In Vitro* Models of Biocompatibility: A Review. *Dent Mater* 1996; 12: 186-193.
42. Smith DC, Williams DF. Biocompatibility of Dental Materials. Vol II, Boca Raton Crc., Florida, 2001.
43. Hensten-Pettersen A. Comparison of the Methods Available for Assessing Cytotoxicity. *Int Endod J* 1988; 21: 89-99.

44. Kawahara H, Yamagami A, Nakamura M. Biological Testing of Dental Materials by Means of Tissue Culture. *Int Dent J* 1968; 18: 443-467.
45. International Organization for Standardization. ISO-7405, Dentistry-Preclinical Evaluation of Biocompatibility of Medical Devices Used in Dentistry Test Methods for Dental Materials. 1997.
46. Şen BH, Kazemi RB, Spangberg LSW. Morphological Effects on L929 Fibroblasts of Titanium Tetrafluoride Application. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1998; 86: 341-346.
47. Browne RM. The *In Vitro* Assessment of the Cytotoxicity of Dental Materials--Does It Have a Role? *Int Endod J* 1988; 21: 50-58.
48. Schmalz G. Use of Cell Cultures for Toxicity Testing of Dental Materials-Advantages and Limitations. *J Dent* 1994; 22 Suppl 2: S 6-11.
49. Kallus T. Evaluation of the Toxicity of Denture Base Polymers after Subcutaneous Implantation in Guinea Pigs. *J Prosthet Dent* 1984; 52: 126-134.
50. Kallus T. Enhanced Tissue Response to Denture Base Polymers in Formaldehyde-Sensitized Guinea Pigs. *J Prosthet Dent* 1984; 52: 292-299.

51. Bessing C, Kallus T. Evaluation of Tissue Response to Dental Alloys by Subcutaneous Implantation. *Acta Odontol Scand* 1987; 45: 247-255.
52. Edgerton M, Levine MJ. Biocompatibility: Its Future in Prosthodontic Research. *J Prosthet Dent* 1993; 69: 406-415.
53. Freshney RI. *Animal Cell Culture: A Practical Approach*. IRL Press Limited, Oxford, 1986.
54. Sharp JA. *An Introduction to Animal Tissue Culture*. The Camelot Press Ltd., Southampton, 1977.
55. Davis JM. *Basic Cell Culture. A Practical Approach*. Oxford University Press INC., New York, 1996.
56. Poul J. *Cell and Tissue Culture*. 4th ed., Edinburgh, London, 1970.
57. Mutlu İ. *Hücre Kültürü ve Diş Hekimliğindeki Uygulamaları*. GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diş Hekimliği Bilimleri Merkezi, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D. Başkanlığı Semineri, Ankara, 2003.
58. Hart IR. Tumor Cell Hybridization and Neoplastic Progression. *Symp Fundam Cancer Res* 1983; 36: 133–143.

59. Green H, Kehinde O, Thomas J. Growth of Cultured Human Epidermal Cells into Multiple Epithelia Suitable for Grafting. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 5665–5668.

60. Spier RE, Griffiths JB. *Animal Cell Biotechnology. Volume 1: Cell Biology Experimental Aspects.* Academic Pres Inc., London, 1985.

61. Mjör IA, Hensten-Pettersen A. The Biological Compatibility of Alternative Alloys. *Int Dent J* 1983; 33: 35–40.

62. Feigal RJ, Yeşilsoy C, Messer HH, Nelson J. Differential Sensitivity of Normal Human Pulp and Transformed Mouse Fibroblasts to Cytotoxic Challenge. *Arch Oral Biol* 1985; 30: 609–613.

63. Poot A, Beugeling T, Dekker A, Spijkers J, Van Mourik JA, Feijen J, Bantjes A, Van Aken WG. Dependence of Endothelial Cell Growth on Substrate-Bound Fibronectin. *Clin Mater* 1992; 11: 151–155.

64. Kang UJ, Fisher LJ, Joh TH, O'Malley KL, Gage FH. Regulation of Dopamine Production by Genetically Modified Primary Fibroblasts. *J Neurosci* 1993; 13: 5203–5211.

65. International Organization for Standardization. Biological Evaluation of Medical Devices-Part 5: Tests for *In Vitro* Cytotoxicity. ISO Standard 10993-5, 1999.
66. Taira M, Nakao H, Matsumoto T, Takahashi J. Cytotoxic Effect of Methyl Methacrylate on 4 Cultured Fibroblasts. *Int J Prosthodont* 2000; 13: 311-315.
67. Erkoçak A. Genel Histoloji. 4. Baskı. Okan Dağıtımçılık, Yayıncılık Ltd. Şti., İstanbul, 1983.
68. Yeşilsoy C, Feigal RJ. Effects of Endodontic Materials on Cell Viability across Standard Pore Size Filters. *J Endod* 1985; 1: 401-407.
69. Schmalz G. Agar Overlay Method. *Int Endod J* 1988; 21: 59-66.
70. Sjogren G, Sletten G, Dahl JE. Cytotoxicity of Dental Alloys, Metals, and Ceramics Assessed by Millipore Filter, Agar Overlay, and MTT Tests. *J Prosthet Dent* 2000; 84: 229-236.
71. Wennberg A. *In Vitro* Assessment of the Biocompatibility of Dental Materials-the Millipore Filter Method. *Int Endod J* 1988; 21: 67-71.
72. Spangberg LS, Al-Nazhan SA. The Radiochromium Release Method for Evaluation of Cytotoxicity *In Vitro*. *Int Endod J* 1988; 21: 72-78.

73. Freshney RI. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique. Quintessence Publishing Co. Inc., London, 1987.
74. Jenkins N. Animal Cell Biotechnology Methods and Protocols. Bioprocess Research and Development Eli Lilly&Co. Humana Press, New Jersey, 1999.
75. Li JK, Chang WH, Lin CH, Ruaan RC, Liu HC, Sun JS. Cytokine Release from Osteoblasts in Response to Ultrasound Stimulation. *Biomaterials* 2003; 24: 2379–2385.
76. Lewis CW, Smith JE, Anderson JG, Freshney RI. Increased Cytotoxicity of Food-Borne Mycotoxins toward Human Cell Lines in vitro via Enhanced Cytochrome p450 Expression using the MTT Bioassay. *Mycopathologia* 1999; 148: 97–102.
77. Al RH, Dahl JE, Morisbak E, Polyzois GL. Irritation and Cytotoxic Potential of Denture Adhesives. *Gerodontology* 2005; 22: 177-183.
78. Yu RY, Zhou YS, Feng HL, Liu XY. Biocompatibility Test of Polymethylmethacrylate Denture Base Resin Containing Silver-Supported Antimicrobial Agent STR-1 at Nanometer Level. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2006; 38: 522-524.

79. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Cytotoxicity of Denture Base Resins: Effect of Water Bath and Microwave Postpolymerization Heat Treatments. *Int J Prosthodont* 2004; 17: 340-344.
80. Campanha NH, Pavarina AC, Giampaolo ET, Machado AL, Carlos IZ, Vergani CE. Cytotoxicity of Hard Chairside Reline Resins: Effect of Microwave Irradiation and Water Bath Postpolymerization Treatments. *Int J Prosthodont* 2006; 19:195-201.
81. Abe Y, Ueshige M, Takeuchi M, Ishii M, Akagawa Y. Cytotoxicity of Antimicrobial Tissue Conditioners Containing Silver-Zeolite. *Int J Prosthodont* 2003; 16: 141-144.
82. Dahl JE, Frangou-Polyzois MJ, Polyzois GL. *In Vitro* Biocompatibility of Denture Relining Materials. *Gerodontology* 2006; 23: 17-22.
83. Nishijima M, Hashimoto Y, Nakamura M. Cytocompatibility of New Phthalate Ester-Free Tissue Conditioners *In Vitro*. *Dent Mater J* 2002; 21: 118-132.
84. Okita N, Hensten-Pettersen A. *In Vitro* Cytotoxicity of Tissue Conditioners. *J Prosthet Dent* 1991; 66: 656-659.

85. Lemon JC, Chambers MS. Locking Retentive Attachment for an Implant-Retained Auricular Prosthesis. *J Prosthet Dent* 2002; 87: 336–338.

86. Garcia R, Leon BLT, Oliveira VMB. Effect of a Denture Cleanser on Weight, Surface Roughness and Tensile Bond Strength of Two Resilient Denture Liners. *J Prosthet Dent* 2003; 89: 489–494.

87. Dootz ER, Koran A, Craig RG. Physical Property of Comparison of 11 Soft Denture Lining Materials as a Function of Accelerated Aging. *J Prosthet Dent* 1993; 69: 114–119.

88. Çal E, Kesercioğlu A, Şen BH, Çilli F. Comparison of the Hardness and Microbiologic Adherence of Four Permanent Denture Soft Liners. *Gen Dent* 2006; 54: 28–32.

89. Meşe A, Güzel KG, Uysal E. Effect of Storage Duration on Tensile Bond Strength of Acrylic or Silicone-Based Soft Denture Liners to a Processed Denture Base Polymer. *Acta Odontol Scand* 2005; 63: 31–35.

90. Kleinsasser NH, Wallner BC, Harreus UA, Kleinjung T, Folwaczny M, Hickel R, Kehe K, Reichl FX. Genotoxicity and Cytotoxicity of Dental Materials in Human Lymphocytes as Assessed by the Single Cell Microgel Electrophoresis (Comet) Assay. *J Dent* 2004; 32: 229–234.

91. Al-Nazhan S, Spangberg L. Morphological Cell Changes due to Chemical Toxicity of a Dental Material: An Electron Microscopic Study on Human Periodontal Ligament Fibroblast and L929 Cells. *J Endod* 1990; 16: 129–134.
92. Dammaschke T, Stratmann U, Mokrys K, Ott KHR. Histocytological Evaluation of the Reaction of Rat Pulp Tissue to CarisolvTM. *J Dent* 2001; 29: 283–290.
93. Schuster U, Schmalz G, Thonemann B, Mendel N, Metzl C. Cytotoxicity Testing with Three-Dimensional Cultures of Transfected Pulp-Derived Cells. *J Endod* 2001; 27: 259–265.
94. Wataha JC, Lockwood PE, Nelson SK, Bouillaguet S. Long-Term Cytotoxicity of Dental Casting Alloys. *Int J Prosthodont* 1999; 12: 242–248.
95. Rollin BE. The Regulation of Animal Research and the Emergence of Animal Ethics: a Conceptual History. *Theor Med Bioeth* 2006; 27: 285–304.
96. Prentice E, Jameton A, Antonson D, Zucker I. Prior Ethical Review of Animal versus Human Subjects. *Invest Radiol* 1988; 23: 695–697.

97. Smith SJ, Evans RM, Sullivan-Fowler M, Hendee WR. Use of Animals in Biomedical Research. Historical Role of the American Medical Association and the American Physician. *Arch Intern Med* 1988; 148: 1849–1853.
98. Botham P, Purchase I. Why Laboratory Rats are Here to Stay. *New Sci* 1992; 134: 29–30.
99. Tai KW, Chang YC. Cytotoxicity Evaluation of Perforation Repair Materials on Human Periodontal Ligament Cells *In Vitro*. *J Endod* 2000; 26: 395–397.
100. Huang FM, Tai KW, Hu CC, Chang YC. Cytotoxic Effects of Denture Base Materials on a Permanent Human Oral Epithelial Cell Line and on Primary Human Oral Fibroblasts *In Vitro*. *Int J Prosthodont* 2001; 14: 439–443.
101. Nahid M, Bottenberg P. Importance of Cell Cultures in Biocompatible Dental Materials Research. *Rev Belge Med Dent* 2003; 58: 189–196.
102. Spangberg LSW. The Study of Biological Properties of Endodontic Biomaterials in Experimental Endodontics, Spangberg LSW, ed., CRC Pres, Baco Raton, Florida, 1990.

103. Wataha JC, Craig RG, Hanks CT. Precision of and New Methods for Testing *In Vitro* Alloy Cytotoxicity. *Dent Mater* 1992; 8: 65–70.

104. Huang FM, Chang YC. Cytotoxicity of Resin-Based Restorative Materials on Human Pulp Cell Cultures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2002; 94: 361–365.

105. Mosmann T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J Immunol Methods* 1983; 65: 55–63.

106. Ferrari M, Fornasiero MC, Isetta AM. MTT Colorimetric Assay for Testing Macrophage Cytotoxic Activity *In Vitro*. *J Immunol Methods* 1990; 131: 165–172.

107. Bean TA, Zhuang WC, Tong PY, Eick JD, Chappelow CC, Yourtee DM. Comparison of Tetrazolium Colorimetric and ⁵¹Cr Release Assays for Cytotoxicity Determination of Dental Biomaterials. *Dent Mater* 1995; 11: 327–331.

108. Jakoby W, Pastan IH. *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York, 1979.

109. Schedle A, Samorapoompichit P, Rausch-Fan X, Spittler A, Lucas T, Samorapoompichit P, Sperr W, Boltz-Nitulescu G. Response of L-929 Fibroblasts, Human Gingival Fibroblasts, and Human Tissue Mast Cells to Various Metal Cations. *J Dent Res* 1995; 74: 1513–1520.
110. Thonemann B, Schmalz G, Hiller KA, 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.
111. Wright PS. Composition and Properties of Soft Lining Materials or Acrylic Dentures. *J Dent* 1981; 9: 210–223.
112. Jones DW, Sutow EJ, Hall GC, Tobin WM, Graham BS. Dental Soft Polymers: Plasticizer Composition and Leachability. *Dent Mater* 1988; 4: 1–7.
113. Lovas J, Howell R, Pyke S, Jones DW. Cytotoxicity of Esters Leachable from Denture Soft Lining Polymers. [Abstract] *J Dent Res* 1988; 67: 226.
114. Hashimoto Y, Kawaguchi M, Miyazaki K, Nakamura M. Estrogenic Activity of Tissue Conditioners *In Vitro*. *Dent Mater* 2003; 19: 341–346.
115. Harris CA, Henttu P, Parker MG, Sumpter JP. The Estrogenic Activity of Phthalate Esters *In Vitro*. *Environ Health Perspect* 1997; 105: 802–811.

116. Sharpe RM, Fisher JS, Miller MM, Jobling S, Sumpter JP. Gestational and Lactational Exposure of Rats to Xenoestrogens Results in Reduced Testicular Size and Sperm Production. *Environ Health Perspect* 1995; 103: 1136–1143.
117. Jobling S, Reynolds T, White R, Parker MG, Sumpter JP. A Variety of Environmentally Persistent Chemicals, Including Some Phthalate Plasticizers, are Weakly Estrogenic. *Environ Health Perspect* 1995; 103: 582–587.
118. Harsanyi BB, Foong WC, Howel RE, Hidi P, Jones DW. Hamster Cheek-Pouch Testing of Dental Soft Polymers. *J Dent Res* 1991; 70: 991–996.
119. Albro PW. The Biochemical Toxicology of di (2-ethylhexyl) and Related Phthalates: Testicular Atrophy and Hepatocarcinogenesis. *Rev Biochem Toxicol* 1986; 8: 73–119.
120. Thomas JA, Thomas MJ. Biological Effects of di-(2-ethylhexyl) Phthalates and Other Phthalic Acid Esters. *Crit Rev Toxicol* 1984; 13: 283–317.
121. Moore NP. The Oestrogenic Potential of the Phthalate Esters. *Reprod Toxicol* 2000; 14: 183–192.

122. Harrison PT, Holmes P, Humfrey CD. Reproductive Health in Humans and Wildlife: Are Adverse Trends Associated with Environmental Chemical Exposure? *Sci Total Environ* 1997; 205: 97–106.
123. Chatterjee S, Dutta TK. Metabolism of Butyl Benzyl Phthalate by *Gordonia* Sp. Strain MTCC 4818. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 12: 36–43.
124. Graham BS, Jones DW, Sutow EJ. An *In Vivo* and *In Vitro* Study of the Loss of Plasticizer from Soft Polymer-Gel Materials. *J Dent Res* 1991; 70: 870–873.
125. Larsen IB, Munksgaard EC. Effect of Human Saliva on Surface Degradation of Composite Resins. *Scand J Dent Res* 1991; 99: 254-256.
126. Niino T, Ishibashi T, Ishiwata H, Takeda K, Onodera S. Characterization of Human Salivary Esterase in Enzymatic Hydrolysis of Phthalate Esters. *J Health Sci* 2003; 49: 76-81.
127. Munksgaard EC. Plasticizers in Denture Soft-Lining Materials: Leaching and Biodegradation. *Eur J Oral Sci* 2005; 113: 166-169.

128. Munksgaard EC. Leaching of Plasticizers from Temporary Denture Soft Lining Materials. Eur J Oral Sci 2004; 112: 101–104.
129. Ema M, Miyawaki E. Adverse Effects on Development of the Reproductive System in Male Offspring of Rats Given Monobutyl Phthalate, a Metabolite of Dibutyl Phthalate, during Late Pregnancy. Reprod Toxicol 2001; 15: 189-194.
130. Nikawa H, Yamamoto T, Hayashi S, Nikawa Y, Hamada T. Growth and/or Acid Production of *Candida albicans* on Soft Lining Materials *In Vitro*. J Oral Rehabil 1994; 21: 585-594.
131. Nikawa H, Yamamoto T, Hamada T. Effect of Components of resilient Denture-Lining Materials on the Growth, Acid Production and Colonization of *Candida albicans*. J Oral Rehabil 1995; 22: 817-824.
132. Geurtsen W. Biocompatibility of Resin-Modified Filling Materials. Crit Rev Oral Biol Med 2000; 11: 333-355.
133. Park SK, Lee YK, Lim BS, Kim CW. Changes in Properties of Short-Term Use Soft Liners after Thermocycling. J Oral Rehabil 2004; 31: 717-724.
134. Waters MGJ, Jagger RG. Mechanical Properties of an Experimental Denture Soft Lining Material. J Dent 1999; 27: 197-202.

ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Ankara’da doğdum. İlköğrenimimi Ankara Aydınlikevler İlkokulunda, orta ve lise öğrenimimi TED Ankara Kolejinde tamamladım. 1993 yılında Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde başladığım üniversite eğitimimi 1999 yılında tamamladım. 2000 yılında aynı fakültenin Protetik Diş Tedavisi Ana Bilim Dalında doktora öğrencisi olarak göreve başladım. Evliyim. Yabancı dilim İngilizce.