

**YENİ GELİŞTİRİLEN DENTİN BAĞLAYICI  
SİSTEMLERİN SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN  
İNCELENMESİ**

**Mehmet Gökhan TEKİN  
İnönü Üniversitesi ve Selçuk Üniversitesi  
Diş Hastalıkları ve Tedavisi**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Muhammet YALÇIN  
Ortak Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ali Rıza ÇETİN  
Doktora Tezi-2015**

**T.C.**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YENİ GELİŞTİRİLEN**  
**DENTİN BAĞLAYICI SİSTEMLERİN**  
**SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN**  
**İNCELENMESİ**

**Mehmet Gökhan TEKİN**

**İnönü Üniversitesi ve Selçuk Üniversitesi**  
**Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı**  
**Ortak Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Muhammet YALÇIN**

**Ortak Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Ali Rıza ÇETİN**


**MALATYA**

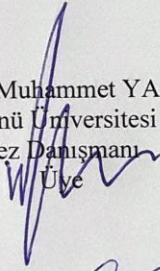
**2015**

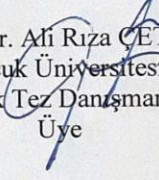
## KABUL VE ONAY SAYFASI


İnönü Üniversitesi ile Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüleri Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı Ortak Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Mehmet Gökhan TEKİN'in "Yeni Geliştirilen Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Sitotoksik Etkilerinin İncelenmesi"** konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

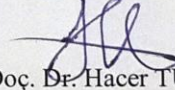
Tez Savunma Tarihi: 15/04/ 2015

  
Doç. Dr. Bayram İNCE  
Dicle Üniversitesi  
Jüri Başkanı

  
Doç. Dr. Muhammet YALÇIN  
İnönü Üniversitesi  
Tez Danışmanı  
Üye

  
Doç. Dr. Ali Rıza ÇETİN  
Selçuk Üniversitesi  
Ortak Tez Danışmanı  
Üye

  
Doç. Dr. Emrullah BAHŞI  
Dicle Üniversitesi  
Üye

  
Yrd. Doç. Dr. Hacer TURGUT  
İnönü Üniversitesi  
Üye

### ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../2015 tarih ve 2015/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ  
Enstitü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
TABLolar DİZİNİ .....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Dentin Bağlayıcı Sistemler .....	3
2.1.1. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Sınıflaması.....	3
2.1.1.1.Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Kronolojik Gelişim Sıralamasına Göre Sınıflandırma .....	3
2.1.1.2.Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Smear Tabakası Üzerine Etkisine Göre Sınıflandırma .....	4
2.1.1.3. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Klinik Uygulama Basamaklarına Göre Sınıflandırma .....	4
2.1.1.3.1. Total Etch (Etch and Rinse) Bağlayıcı Sistemler .....	5
2.1.1.3.2. Self Etch Bağlayıcı Sistemler .....	5
2.1.1.3.2.1. Self Etch Bağlayıcı Sistemlerin Yapısı.....	6
2.1.1.3.3. Cam İyonomer Bağlayıcı Sistemler .....	8

2.2. Işıkla Sertleşen Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Polimerizasyonunda	
Kullanılan Işık Kaynakları.....	8
2.2.1. Kuartz- Tungstren- Halojen Işık Kaynakları (QTH) .....	8
2.2.2. Light- Emitting Diodes Işık Kaynakları (LED).....	9
2.2.3. Plazma Ark Işık Kaynakları (PAC) .....	9
2.2.4. Argon Lazer Işık Kaynakları .....	9
2.3. Biyouyumluluk .....	9
2.3.1. Biyolojik Uyumluluğun Değerlendirilmesi .....	10
2.3.1.1. İn Vitro Testler (birincil ya da eleme testleri) .....	10
2.3.1.1.1. Sitotoksikite testleri.....	10
2.3.1.1.2. İn Vivo Hayvan Testleri (ikincil testler).....	11
2.3.1.1.3. Kullanım Testleri .....	11
2.3.2. Hücre Kültürleri.....	12
2.3.2.1. Hücre Kültürlerinin Sınıflandırılması.....	12
2.3.2.2. Hücre Kültürlerinde Kullanılan Hücre Hatları .....	13
2.3.2.3. Hücre Kültürü Test Yöntemleri .....	13
2.3.3. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Biyouyumluluk Değerlendirilmesi .....	14
3. MATERYAL VE METOT .....	16
3.1. Çalışmada Kullanılan Materyaller .....	17
3.2. Fibroblastların elde edilmesi.....	18
3.3. Test Materyal Örneklerinin Hazırlanması .....	22

3.4. Sitotoksisite Testinin Yapılması .....	24
3.5. Verilerin İstatistiksel Olarak Analizi .....	27
4. BULGULAR.....	28
4.1. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 24, 48 ve 72 Saat Sonraki Kalan Canlı Hücre Sayılarının Karşılaştırılması.....	28
4.2. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 24 Saat Sonunda Kalan Canlı Hücre Sayılarının Karşılaştırılması .....	29
4.2.1. 3M ESPE Universal Single Bond' un farklı konsantrasyonlarının 24 saat sonraki canlı hücre sayısı üzerine etkisi .....	29
4.2.2. Clearfil S <sup>3</sup> Bond Plus' ın farklı konsantrasyonlarının 24 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi.....	30
4.2.3. Gaenial Bond' un farklı konsantrasyonlarının 24 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi .....	32
4.3. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 48 Saat Sonunda Kalan Canlı Hücre Sayılarının Karşılaştırılması .....	33
4.3.1. 3M ESPE Universal Single Bond' un farklı konsantrasyonlarının 48 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi.....	33
4.3.2. Clearfil S <sup>3</sup> Bond Plus' ın farklı konsantrasyonlarının 48 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi.....	35
4.3.3. Gaenial Bond' un farklı konsantrasyonlarının 48 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi .....	36

4.4. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 72 Saat Sonunda Kalan Canlı Hücre	
Sayılarının Karşılaştırılması .....	37
4.4.1. 3M ESPE Universal Single Bond' un farklı konsantrasyonlarının 72	
saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi.....	38
4.4.2. Clearfil S <sup>3</sup> Bond Plus' un farklı konsantrasyonlarının 72 saat sonraki	
canlı hücre sayıları üzerine etkisi.....	39
4.4.3. Gaenial Bond' un farklı konsantrasyonlarının 72 saat sonraki canlı	
hücre sayıları üzerine etkisi .....	41
4.5. Polimerize Edilen Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Hücre	
Canlılığı Değerlendirmeleri .....	42
4.5.1. Polimerize Edilen Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 24 Saat Sonraki	
Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri .....	42
4.5.2. Polimerize Edilen Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 48 Saat Sonraki	
Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri .....	44
4.5.3. Polimerize Edilen Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 72 Saat Sonraki	
Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri .....	45
4.6. Farklı Konsantrasyonlarda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin	
24, 48 ve 72 Saat Sonunda Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri.....	46
4.6.1. 1/1000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin	
24 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri .....	46
4.6.2. 1/1000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin	

48 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri .....	47
4.6.3. 1/1000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin	
72 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri .....	48
4.6.4. 1/2000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin	
24 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri .....	49
4.6.5. 1/2000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin	
48 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri .....	49
4.6.6. 1/2000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin	
72 Saat Sonraki Sitotoksisite Değerlendirmeleri .....	50
4.6.7. 1/4000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin	
24 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri .....	51
4.6.8. 1/4000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin	
48 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri .....	51
4.6.9. 1/4000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin	
72 Saat Sonraki Sitotoksisite Değerlendirmeleri .....	52
5. TARTIŞMA .....	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	60
KAYNAKLAR .....	62
EKLER.....	71
EK. 1. Etik Kurul Onayına Gerek Olmadığına Dair Belge .....	71
EK. 2. ÖZGEÇMİŞ.....	72



## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bütün akademik faaliyetlerimde ve bu tezin hazırlanmasından sonlandırılmasına kadar, çalışmanın her aşamasında yardım, öneri ve desteğini hep hissettiğim, akademik ve manevi olarak bana çok şeyler kazandıran danışman hocam Doç. Dr. Muhammet YALÇIN'a;

Kısa dönemde beni hem insani hem de bilimsel olarak geliştiren ikinci danışmanım Doç. Dr. Ali Rıza ÇETİN'e ve Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve asistanlarına;

Doktora eğitimim boyunca desteklerini hep hissettiğim Yrd. Doç. Dr. Hacer TURGUT'a, Yrd. Doç. Dr. Burak DAYI'ya, Yrd. Doç. Dr. Halenur ALTAN'a ve çalışma arkadaşlarım Dr. Dt. Reyhan ŞİŞMAN, Öğr. Gör. Dt. Enis ŞİMŞEK'e ve Arş. Gör. Dt. Hakan KAMALAK'a;

Materyallerin hücre kültürlerine uygulanması aşamasında sabırla bana yardımcı olan çalışma arkadaşım Arş. Gör. Dt. Mehmet ADIGÜZEL'e ve Mustafa Kemal Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Bölümü çalışanlarına;

Hücre kültürlerinin hazırlanması ve sonuçların değerlendirilmesinde emeğini esirgemeyen Doç. Dr. Bülent GÖĞEBAKAN'a ve asistanı Nilüfer BİLGİÇ'e;

İstatistiksel değerlendirmelerindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Saim YOLOĞLU'na ve Ertuğrul SAMİ'ye;

Bugünlere gelmeme vesile olan ve hayatımın her anında hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan çok sevgili anne ve babama,

Sonsuz bir sabırla beni her zaman destekleyen sevgili eşim ve canım kızıma;

Sonsuz teşekkür ederim...

## ÖZET

### Yeni Geliştirilen Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Sitotoksik Etkilerinin İncelenmesi

**Amaç:** Dentin bağlayıcı sistemlerin canlı pulpa-dentin kompleksi ile yakın ilişkide bulunacağı için pulpa dokusundaki etkileri önemlidir. Bu çalışmadaki amacımız, farklı içerik ve özelliklere sahip tek aşamalı üç dentin bağlayıcı sistemin insan diş pulpası fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini tetrazolium tuzu 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide testi (MTT) kullanılarak 24, 48 ve 72 saatlik süreler sonunda değerlendirmektir.

**Materyal ve Metot:** Bu çalışmada 3M ESPE Universal Single Bond, Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus ve GC-Gaenial bond gibi tek aşamalı dentin bağlayıcı sistemler test edildi. Kontrol grubu olarak sadece serum içeren kültür ortamı kullanıldı. Dentin bağlayıcı sistemlerin polimerizasyon öncesi ve polimerizasyon sonrası sitotoksik etkileri MTT testi ile değerlendirildi. Elde edilen veriler IBM SPSS Statistics 20.0 paket programı ile değerlendirildi. Nicel veriler ortalama ve standart sapmalarla özetlendi.

**Bulgular:** Dentin bağlayıcı sistemlerin canlı hücre sayıları üzerindeki etkileri karşılaştırıldıklarında Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus grubu sitotoksik etki açısından anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Gaenial Bond grubu ise sitotoksik etki açısından daha düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Polimerize edilmeden uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerin tümünde 1/1000' lik dilüsyonlarında canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır ( $p<0.05$ ). Tüm dentin bağlayıcı sistemler farklı zaman ve farklı konsantrasyonlarda en az iki defa kontrol grubuna göre anlamlı derecede canlı hücre sayısında artış göstermiştir ( $p<0,05$ ).

**Sonuç:** Yeni geliştirilen dentin bağlayıcı sistemlerin, uygulama kolaylığı sağlaması açısından avantajları bulunsa da hücre canlılığı açısından bazı dezavantajları bulunabilir. Bu nedenle dentin bağlayıcı sistemlerin biyolojik uyumunun artırılması için çeşitli tedbirlerin alınması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Dentin bağlayıcı sistem, Sitotoksik etki, Diş Pulpası Fibroblast Hücreleri

## ABSTRACT

### Investigation of Cytotoxic Effects of New Developed Dentin Bonding Systems

**Objective:** The effects on the pulp of dentin bonding systems are significant for being close relationship with vital dentin-pulp complex. The aim of this study, three one-step dentin bonding systems which have different contents and features, evaluates cytotoxic effects on human dental pulp fibroblast cells by using tetrazolium salt 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide test (MTT assay) for 24, 48 and 72 hours.

**Materials and Methods:** In this study, one-step dentin bonding systems such as 3M ESPE Universal Single Bond, Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus, GC-Gaenial bond, were tested. Culture medium containing only serum was used as control group. Dentin bonding systems were assessed cytotoxic effects before and after polymerization by MTT assay. The obtained data was evaluated with Statistics of IBM SPSS 20.0 software package. Quantitative data was summarized by means and standard deviations.

**Results:** The cytotoxic effect of Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus group was significantly observed higher as compared to their effects on viable cell counts of the dentin bonding systems. Gaenial Bond group was significantly observed lower cytotoxic effect ( $p < 0.05$ ). The count of viable cells significantly decreased in all of nonpolymerized dentin bonding systems of 1/1000 dilution ( $p < 0.05$ ). Different times and different concentrations of all dentin bonding systems significantly increased the count of viable cells compared to the control group at least twice ( $p < 0.05$ ).

**Result:** New developed dentin bonding systems may have some disadvantages on the viability of cells, although there are advantages in terms of providing easiness of application. Therefore various measures should be taken for improving the biocompatibility of dentin bonding systems.

**Keywords:** Dentin bonding systems, Cytotoxic effect, Dental Pulp Fibroblast Cells

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>MTT</b>	: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
<b>LED</b>	: Light emitting diodes
<b>HEMA-PO<sub>4</sub></b>	: Hidroksi etil metakrilat -fosfat
<b>HEMA</b>	: Hidroksi etil metakrilat
<b>TEGDMA</b>	: Trietilen glikol dimetakrilat
<b>PENTA</b>	: Dipenta eritritol penta-akrilat monofosfat
<b>HPMA</b>	: 2 -Hidroksi propil metakrilat
<b>HPPMA</b>	: 2 –hidroksi-3 -fenoksipropil
<b>BisGMA</b>	: Bisfenol A- Glisidil Metakrilat
<b>UDMA</b>	: Uretan dimetakrilat
<b>BPO</b>	: Benzoil peroksit
<b>TBB</b>	: Tri-n-butylborone
<b>PPD</b>	: 1-fenil-1,2 propandiketon
<b>BHT</b>	: Butilat hidroksitoluen
<b>MEHQ</b>	: Monometil eter hidrokinon
<b>MDPB</b>	: Metakriloksidodecilpridinyumbromid
<b>mW</b>	: Miliwatt
<b>PBS 1X</b>	: Fosfatla tamponlanmış salin
<b>DMEM</b>	: Dulbecco's modified eagle medium
<b>MEM<math>\alpha</math></b>	: Modified eagle medium $\alpha$

<b>FBS</b>	: Fetal bowine serum
<b>FCS</b>	: Fetal calf serum
<b>DMSO</b>	: Dimetil sülfoksit
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>cm</b>	: Santimetre

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 3. 1.</b> Çalışmada kullanılan tek aşamalı dentin bağlayıcı materyaller. ....	17
<b>Şekil 3. 2.</b> Çalışmada kullanılan çekilmiş üçüncü büyük azı dişleri ve % 70 lik etanol solüsyonu. ....	19
<b>Şekil 3. 3.</b> Çalışmada kullanılan dişlerin temizlendiği steril plastik petri kapları ve çıkarılan pulpa dokusunun muhafaza edildiği steril PBS 1X (Gibco, Carlsbad, US) solüsyonunu bulunduran falkon şişeler .....	19
<b>Şekil 3. 4.</b> Laminar akışlı steril kabin. ....	20
<b>Şekil 3. 5.</b> Faz kontrast mikroskobu ve pulpa fibroblast hücrelerinin görüntüsü.....	21
<b>Şekil 3. 6.</b> CO <sub>2</sub> ' li inkübatör .....	21
<b>Şekil 3. 7.</b> Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bağlayıcı ajanların 24 kuyucuklu platelerdeki görüntüsü.....	22
<b>Şekil 3. 8.</b> Polimerize edilmiş bağlayıcı sistemlerin 0,22 µm şırınga ile steril olarak filtrelenmesi .....	23
<b>Şekil 3. 9.</b> Polimerize edilmiş bağlayıcı sistemlerden 24 saat sonra alınan ekstraktların görüntüsü. ....	24
<b>Şekil 3. 10.</b> Kuyucuklara MTT solüsyonunun eklenmesi .....	25
<b>Şekil 3. 11.</b> MTT solüsyonu uzaklaştırılan kuyucuklara DMSO uygulanması .....	25
<b>Şekil 3. 12.</b> Kolorometrik mikroplaka okuyucu .....	26
<b>Şekil 3. 13.</b> MTT solüsyonundaki renk değişimi.....	27

<b>Şekil 4. 1.</b> 3 M ESPE Universal Single Bond 24 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik.....	29
<b>Şekil 4. 2.</b> Clearfil S <sup>3</sup> Bond Plus 24 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik.....	30
<b>Şekil 4. 3.</b> Gaenial Bond 24 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik.....	32
<b>Şekil 4. 4.</b> 3M ESPE Universal Single Bond 48 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik.....	33
<b>Şekil 4. 5.</b> Clearfil S <sup>3</sup> Bond Plus' un 48 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik .....	35
<b>Şekil 4. 6.</b> Gaenial Bond'un 48 saat sonraki MTT testi sonuç. gösteren grafik.....	36
<b>Şekil 4. 7.</b> 3M ESPE Universal Single Bond' un 72 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik.....	38
<b>Şekil 4. 8.</b> Clearfil S <sup>3</sup> Bond Plus' un 72 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik .....	39
<b>Şekil 4. 9.</b> Gaenial Bond'un 72 saat sonraki MTT testi sonuç. gösteren grafik.....	41
<b>Şekil 4. 10.</b> Polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerin 24 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik.....	42
<b>Şekil 4. 11.</b> Polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerin 48 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik.....	44
<b>Şekil 4. 12.</b> Polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerin 72 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik .....	45

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 3.1.</b> Çalışmada kullanılan tek aşamalı dentin bağlayıcı sistemler .....	18
<b>Tablo 4.1.</b> 3 M ESPE Universal Single Bond 24 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	29
<b>Tablo 4.2.</b> Clearfil S <sup>3</sup> Bond Plus 24 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	31
<b>Tablo 4.3.</b> Gaenial Bond 24 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	32
<b>Tablo 4.4.</b> 3M ESPE Universal Single Bond 48 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	34
<b>Tablo 4.5.</b> Clearfil S <sup>3</sup> Bond Plus 48 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	35
<b>Tablo 4.6.</b> Gaenial Bond 48 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	37
<b>Tablo 4.7.</b> 3M ESPE Universal Single Bond 72 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	38
<b>Tablo 4.8.</b> Clearfil S <sup>3</sup> Bond Plus 72 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	40
<b>Tablo 4.9.</b> Gaenial Bond 72 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	41



<b>Tablo 4.10.</b> Polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerde 24 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	43
<b>Tablo 4.11.</b> Polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerde 48 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	44
<b>Tablo 4.12.</b> Polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerde 72 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	46
<b>Tablo 4.13.</b> 1/1000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 24 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	47
<b>Tablo 4.14.</b> 1/1000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 48 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	47
<b>Tablo 4.15.</b> 1/1000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 72 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	48
<b>Tablo 4.16.</b> 1/2000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 24 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	49
<b>Tablo 4.17.</b> 1/2000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 48 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	50
<b>Tablo 4.18.</b> 1/2000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 72 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	50
<b>Tablo 4.19.</b> 1/4000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 24 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması .....	51

**Tablo 4.20.** 1/4000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 48 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması ..... 52

**Tablo 4.21.** 1/4000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 72 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması ..... 52

# 1. GİRİŞ

Diş hekimliğinde dentin bağlayıcı sistem araştırmalarının esas amacı: sabit ve güçlü bir bağlantı sağlayabilmek ve sadece mekanik olarak değil, aynı zamanda biyolojik ve estetik açıdan uyumlu bir bağlantıyı mümkün kılmaktır. Bunun sonucunda farklı içerik ve özelliklere sahip değişik sistemler üretilmiş ve klinik kullanıma sunulmuştur. Bu sistemler diş dokularıyla direkt olarak temas etmektedir. Dolayısıyla bu durum: uygun materyallerin seçiminde, materyallerin fiziksel, kimyasal ve estetik özelliklerinin yanı sıra biyolojik özelliklerinin de uyumlu olmasını göz önünde bulundurma gereksinimini ortaya çıkarmaktadır (1).

Günümüzde geleneksel kavite prensiplerine bağlı olarak tutuculuğu arttırmak amacıyla sağlıklı diş dokusunun kaldırılması yöntemi, bağlayıcı sistemlerin geliştirilmesiyle terk edilmiştir. Dentin bağlayıcı sistemlerle beraber sağlıklı diş dokusunun minimal kaybıyla maksimum düzeyde tedavi imkanı sağlanabilmektedir. Dentin bağlayıcı sistemler “hibridizasyon” adı verilen bir doku mühendisliği uygulamasıyla dentin dokusuna bağlanabilmektedir (2). Hibridizasyon, dentinde serbestleşen kollojen fibrillerin dentin bağlayıcı sistemler ile ara bağlantı oluşturacak şekilde sarmal bir yapı oluşturması temeline dayanmaktadır. Böylece hidrofobik yapıdaki rezin içerikli dolgu materyallerinin (rezin kompozit) dentin gibi nemli bir dokuya bağlanması sağlanabilmektedir (3). Ancak dentin dokusundaki nemlilik durumu dentin bağlayıcı sistemlerin tam polimerizasyonunu engellemektedir. Bunun sonucunda polimerize olmayan monomerler dentin tübüllerinden ilerleyerek pulpa dokusuna ulaşmaktadır. Bu monomerler farklı düzeylerde pulpal hasarlara neden olabilmektedir (4).

Diş hekimliğinde kullanılan dentin bağlayıcı sistemlerin pulpa hücrelerinde oluşturabileceği toksik etki, biyouyumluluk çalışmalarının önemini arttırmaktadır. Bu materyaller klinik kullanıma başlamadan önce in vitro testler ile değerlendirilmeli, sonrasında hayvan deneylerindeki sonuçlar göz önünde bulundurularak klinik kullanıma geçilmelidir (5).

Dentin bağlayıcı sistemlerin pulpadaki toksik etkisi, diş preparasyonu sonrasında kalan dentin kalınlığıyla doğrudan ilişkilidir. Özellikle 0,5 mm ve altındaki dentin kalınlıklarında, pulpa rezin içerikli sistemlerin akut toksik etkilerine maruz kalmaktadır.

Çünkü pulpaya yaklaşıkça dentin túbüllerinin çapları giderek artmaktadır (6). Dentin bağlayıcı sistemlerin bu etkisi, pulpa nekrozuna, programlanmış hücre ölümüne (apoptoz) ve sağlıklı pulpa gelişiminin engellenmesine neden olabilmektedir (7).

Dentin kalınlığının 0,5 mm ve altında olduğu durumlarda kalan dentin dokusu fiziksel bir bariyer görevi görse de fonksiyonel olarak direkt pulpa açılımına yakın düzeyde geçirgendir, bu nedenle “fonksiyonel ekspoz sahası” olarak adlandırılmaktadır (8).

Günümüz diş hekimliğinde kullanılan dentin bağlayıcı sistemlerin biyolojik özelliklerinin uyumlu olmaları ile birlikte uygulama aşamalarının basitleştirilmiş olması tercih edilme nedenlerinden biridir. Tek aşamalı dentin bağlayıcı sistemlerin üretilmesi ile uygulama aşamaları basitleştirilmiştir. Bu nedenle tek aşamalı dentin bağlayıcı sistemlerin geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. Bu çalışmadaki amacımız tek aşamalı üç dentin bağlayıcı sistemin laboratuvar ortamında izolasyonları ve karakterizasyonları yapılmış diş pulpası fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini 24, 48 ve 72 saatlik süreler sonunda değerlendirmektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Dentin bağlayıcı sistemler, dentin ile güçlü bir bağlantı oluşturmak için üretilmiştir. Diş dokusu ile restoratif materyal arasındaki tutuculuğu arttırmak ve mikrosızıntıyı azaltmak amacıyla kullanılmaktadır (9). Bu sistemlerin kullanılması ile diş dokusu ve restorasyon arasında mikromekanik tutuculuk sağlanmaktadır. Ağız sıvıları ve bakteri geçişi engellenerek hassasiyet, kenar renklenmesi ve sekonder çürük gibi problemler ortadan kaldırılmaktadır (10).

### 2.1. Dentin Bağlayıcı Sistemler

Diş sert dokusu ile restoratif materyaller arasındaki adezyonun temel mekanizması, dişteki inorganik kısım ile rezin içeriğinin yer değiştirmesidir (11). Dişteki kalsiyum- fosfatın uzaklaştırılması ile mine ve dentin dokusunda mikropöröz bir yapının oluşması sağlanmaktadır. Bunun sonucunda oluşan mikropöröz yapıya rezin penetre olup polimerize edilmektedir (12). Günümüzde bağlayıcı sistemlere fonksiyonel monomerler eklenerek diş sert dokusu ile arasındaki kimyasal bağlanmanın yararları üzerinde durulmaktadır.

#### 2.1.1. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Sınıflaması:

Adeziv diş hekimliğindeki gelişmelerle birlikte dentin bağlayıcı sistemler: kronolojik gelişim sıralamasına göre sınıflandırılmıştır (13). Ayrıca dentin bağlayıcı sistemler, sistemin smear tabakası üzerine etkisine göre smear tabakasını kaldıran, çözen ve modifiye eden bağlayıcı sistemler olarak üçe ayrılmaktadır. Bununla beraber, bu sistemler klinik uygulama basamaklarına göre de sınıflandırılabilmektedir (11).

##### 2.1.1.1. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Kronolojik Gelişim Sıralamasına Göre

##### Sınıflandırma:

a) 1. nesil bağlayıcı sistemler: Gliserofosforik asit dimetakrilat siyanoakrilatlardır. İnorganik yapıya iyonik ve kovalent bağlarla bağlanırlar. Düşük bağlanma değerlerine sahip sistemlerdir.(Cosmic Bond)

- b) 2. nesil bağlayıcı sistemler: Polimerize olabilen fosfatların BisGMA rezinlere ilave edilmesiyle geliştirilmiştir. İnorganik yapıya iyonik bağlarla bağlanırlar. Düşük bağlanma değerlerine sahip sistemlerdir.(Clearfil Bond)
- c) 3. nesil bağlayıcı sistemler: İnorganik yapıya iyonik bağlarla bağlanır. Ek olarak smear tabakası modifiye edilerek veya uzaklaştırılarak mekanik tutuculuktan faydalanılır. Öncesinde dentin fosforik asitle asitlenmektedir. Daha yüksek bağlanma değerlerine sahip sistemlerdir.(Scotchbond 2)
- d) 4. nesil bağlayıcı sistemler: Üç aşamalı bir sistemdir. Asitleme sonrası primer ve bağlayıcı ajanın uygulandığı (3 basamaklı total-etch sistem), hibridizasyon mekanizması ile rezin tagların oluşturulduğu sistemdir. Yüksek bağlanma değerlerine sahip sistemlerdir.(Opti Bond FL)
- e) 5. nesil bağlayıcı sistemler: İki aşamalı bir sistemdir. Asitleme sonrası primer ve bağlayıcı ajanın tek bir solüsyonda birleştirilmiş olarak uygulandığı ( Tek şişe total-etch sistem) sistemdir. Yüksek bağlanma değerine sahip sistemlerdir.(Single Bond)
- f) 6. nesil bağlayıcı sistemler: İki aşamalı bir sistemdir. Önce kendinden asitli primer sonra bağlayıcı ajanın uygulandığı (Self- etch sistem) sistemlerdir. Yüksek bağlanma değerine sahip sistemlerdir.(Clearfil SE Bond)
- g) 7. nesil bağlayıcı sistemler: Kendinden asitli primerin ve bağlayıcı ajanın tek bir solüsyonda birleştirilmiş (all-in-one) sistemdir. Yüksek bağlanma değerine sahip sistemlerdir.(Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus) (11)

#### **2.1.1.2.Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Smear Tabakası Üzerine Etkisine Göre**

##### **Sınıflandırma:**

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

#### **2.1.1.3. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Klinik Uygulama Basamaklarına Göre**

##### **Sınıflandırma:**

- a) Total- etch bağlayıcı sistemler
- b) Self etch bağlayıcı sistemler
- c) Cam iyonomer bağlayıcı sistemler

Kronolojik gelişim sıralamasına göre yapılan sınıflamanın bilimsel olarak yeterli olmaması, smear tabakası üzerindeki etkiye göre sınıflandırmanın uygulama basamakları hakkında tam bilgi vermemesi nedeniyle dentin bağlayıcı sistemlerin uygulama basamaklarının sayısına göre sınıflandırma genel olarak kullanılmaktadır. Bu sınıflandırma diş dokusu ile etkileşimin ön planda olduğu sınıflamadır (11).

#### **2.1.1.3.1. Total Etch (Etch and Rinse) Bağlayıcı Sistemler:**

Mine ve Dentin tabakasına %34-37'lik fosforik asit uygulaması sonrası smear tabakasının tamamen kaldırılmasıyla gerçekleşmektedir. İki uygulama yöntemi bulunmaktadır.

- a) Üç aşamalı etch-rinse sistemler (asitleme+primer uygulama+bağlayıcı ajan uygulama)
- b) İki aşamalı etch-rinse sistemler (asitleme-primer+bağlayıcı ajan uygulama) (14).

Total etch bağlayıcı sistemler mine ve dentin tabakasına yüksek bağlanma değeri göstermektedir. Fakat dentine uygulanması açısından teknik hassasiyeti yüksektir. Aseton, etanol ve su bazlı sistemlerin dentin yüzeyindeki nemden etkilendiği bildirilmiştir (15).

Günümüzde total- etch sistemlerin klinik olarak kabul edilebilir bağlanma etkinliği bulunmaktadır.

#### **2.1.1.3.2. Self Etch Bağlayıcı Sistemler**

Self etch bağlayıcı sistemlerde ayrıca bir asitleme ve yıkama safhası bulunmamaktadır. Dolayısıyla uygulama süresi kısalmaktadır. Uygulamadaki teknik hassasiyet azalmıştır. Etki mekanizması smear tabakasının asidik monomerler ile çözülmesi veya modifiye edilmesi temeline dayanmaktadır (16). Self etch bağlayıcı sistemler içeriğindeki asidik monomer ile mine ve dentinde pürüzlendirme yaparken, aynı zamanda primer ile de rezin infiltrasyonu sağlamaktadır. Yıkama yapılmamaktadır ve çözülmüş smear tabakası ve demineralizasyon ürünleri, adeziv rezin ile iç içe bulunmaktadır (17). Böylece monomer infiltrasyonu sağlanarak smear tabakası çözülmektedir, monomerler hibrit tabakanın yapısına katılmakta ve bağlanma yüzeyinin parçası haline gelmektedir.

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

İki basamaklı self-etch adeziv sistemler: Mine ve dentin yüzeyine self-etch kendinden asitli primer uygulaması sonrası bağlayıcı ajanın uygulaması şeklinde kullanılmaktadır. Tek basamaklı self-etch adeziv sistemler: kendinden asitli primer ve bağlayıcı ajan tek bir solüsyonda toplanmış ve uygulama basamağı tek aşamaya indirgenmiştir (18).

Self-etch bağlayıcı sistemler pH değerine göre üçe ayrılmaktadır. Kuvvetli ( $pH \leq 1$ ), orta ( $pH \sim 1,5$ ) ve zayıf ( $pH \geq 2$ ) asitleme kapasitesine sahip sistemler olarak sınıflandırılmaktadır. Zayıf self-etch sistemlerde resin uzantılarının yeterli olmaması ve hibrit tabakanın ince oluşması nedeniyle mikromekanik tutuculuğun yeterli olmadığı düşünülmektedir. Kuvvetli self-etch sistemlerde ise resin uzantılarının yeterli derecede olması ve hibrit tabakanın kalın olması sayesinde mikromekanik tutuculuğun yeterli düzeyde olduğu düşünülmektedir (19).

#### **2.1.1.3.2.1. Self Etch Bağlayıcı Sistemlerin Yapısı**

Tek aşamalı dentin bağlayıcı sistemler son yıllarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu sistemler asidik monomer (hidrofilik), aktive edilen monomer, bağlayıcı resin, fotoinitiatör sistem ve çözücüler içermektedir (20).

a) Monomerler: Self-etch sistemlerde monomer üç fonksiyonel gruba ayrılmaktadır (21).

- 1- Self etch adeziv monomer bileşenler (HEMA-  $PO_4$ )
- 2- Monofonksiyonel monomer (HEMA)
- 3- Çapraz bağlı monomer (TEGDMA, PENTA)

Self etch adeziv monomer bileşenler, mine ve dentin tabakası ile bağlayıcı ajan arasındaki bağlanmadan sorumludur. Self etch bağlayıcı sistemlerde mine ve dentini eş zamanlı olarak demineralize eder ve primerin dentine infiltrasyonunu sağlar (22).

Monofonksiyonel monomerler, monofonksiyonel ve difonksiyonel asidik olmayan metakrilat monomerlerdir. HEMA, HPMA (2 hidroksi propil metakrilat) veya HPPMA (2-hidroksi-3- fenoksipropil) sıklıkla kullanılan monomerlerdir (21).



HEMA hidrofilik yapıda primer ajandır. Genellikle bağlanma dayanımını arttırmaktadır. Ancak, HEMA suyun hibrit tabakadan uzaklaşmasını engellemektedir. Böylece hibrit tabakada su tutar. Bunun nedeni ise HEMA' nın suyun buharlaşma basıncını düşürmesidir (23).

Günümüzde çoğu tek aşamalı self- etch bağlayıcı sistem HEMA içermektedir. Dentin dokusunda ıslatıcı ajan olarak kullanılır ve rezinin kollajenler içerisine penetrasyonunu sağlamaktadır. HEMA' nın olumsuz etkisi restorasyon ile diş dokusu arayüzeyinde hidrojel halinde su tutmasıdır. Bu yüzeyde meydana gelen suyun uzaklaştırılması çok zordur (24).

Çapraz bağlı monomerler, dimetakrilat monomerlerdir. Polimerizasyon oranını arttırmaktadır. BisGMA, UDMA ve TEGDMA çapraz bağlı monomer dimetakrilattır. Akışkanlık, yüksek reaktivite, suda çözünme ve polimerizasyon büzülmesi göstermektedir (25).

b) Başlatıcılar: kimyasal ve foto başlatıcılar olarak ikiye ayrılmaktadır.

Kimyasal başlatıcılar etanol ve asetonda çözünmektedir, ancak suda çözünmesi sınırlı miktarlardadır. Benzoil peroksit (BPO) ve tri-n-butylborone (TBB) sık kullanılan kimyasal başlatıcılardır.

Foto başlatıcılar ise, 360-510 nm dalga boyunda geniş spektrumlu ışığı absorbe etmektedir. Komforokinon ve 1-phenyl-1,2 propanedione (Diketon PPD) sık kullanılan foto başlatıcılardır (26).

c) İnhibitörler: Bağlayıcı sistemin taşınma ve saklama koşullarında kendiğinden polimerizasyonunu engeller. Butylated Hidroksitoluene (BHT) ve Monomethyle ether hydroquinone (MEHQ) sık kullanılan inhibitörlerdir (27).

d) Çözücüler: dentin tabakası nemli bir ortamdır. Bu ortamda hidrofilik bağlayıcı sistemlerin kullanılması gereklidir. Asidik monomer ile diş dokusundaki çözünme sonucu açığa çıkan kalsiyum iyonları çözülmemektedir. Çözünme sürecinde su gerekli olmaktadır. Bu nedenle self- etch ve primer sistemler su bazlı olmaktadır. Su, etanol ve aseton sık kullanılan çözücülerdir (27).

e) Doldurucular: Bağlayıcı sistemin bağlanma dayanımını ve fiziksel özelliklerini arttırmaktadır. Fakat bağlayıcı sistemin penetrasyonunda olumsuz etkisi olduğu

düşünülmektedir. Silika, fluor salan doldurucular ve radyoopasite sağlayan doldurucular sık kullanılan dolduruculardır (21).

f) Antimikrobiyal ajanlar: Bağlayıcı sistemlerin yapısına eklenebilen Metakriloksidodecylpridinyumbromid (MDPB) maddesi antimikrobiyal etkinliği olan bir maddedir. Dentin kanallarında bulunan bakterilere etki etmektedir. Ayrıca bağlayıcı sistemlerin etkinliğini arttırdığı düşünülmektedir (21).

### **2.1.1.3.3. Cam İyonomer Bağlayıcı Sistemler**

Cam iyonomer bağlayıcı sistemlerde mine ve dentinde herhangi bir yüzey uygulaması gerektirmeden uygulanabilen bir dental materyaldir. Uygulama öncesi polialkenoik asit uygulamasıyla bağlanma değeri anlamlı derecede yükseltilmiştir. Resin içerikli sistemler ve cam iyonomer sistemler arasındaki fark cam iyonomer sistemler daha yüksek molekül ağırlıklı polikarboksilik polimerleri içermektedir. Böylece cam iyonomer sistemlerin infiltrasyonu zayıftır ve daha ince bir hibrit tabaka oluşturmaktadır (28).

## **2.2. Işıklı Sertleşen Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Polimerizasyonunda Kullanılan Işık Kaynakları**

### **2.2.1. Kuartz- Tungstren- Halojen Işık Kaynakları (QTH)**

Halojen ışık kaynakları içerisinde, tungstren filament filtre ile geniş spektrumda oluşan ışığı belirli bir dalga boyuna indirgemektedir. Bu sırada yüksek ısı oluşmaktadır. Fanlar aracılığıyla oluşan ısının düşürülmesi sağlanmaktadır. Işık gücü  $400 \text{ mW/cm}^2$  ve  $1000 \text{ mW/cm}^2$  arasında değişmektedir. Işığın gücü ve uygulama süresi ayarlanabilmektedir (29, 30).

Halojen ışık kaynakları diş hekimliğinde uzun yıllar yaygın olarak kullanılmasına rağmen reflektör ve filtredeki kullanım süresine bağlı olarak etkinliğinin azalması ve yüksek ısı oluşturması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Günümüzde farklı ışık kaynaklarının kullanımı artmaktadır (31, 32).

### **2.2.2. Light- Emitting Diodes Işık Kaynakları (LED)**

Elektronları iki ayrı iletken bünyesinde barındıran LED ışık kaynakları yaklaşık 455-486 nm dalga boyunda ışık sağlamaktadır. Bu aralık rezin içerikli sistemlerde bulunan başlatıcıları aktive etmek için yeterlidir (33). LED ışık kaynakları filtre gerektirmemektedir, kullanımını kolay ve uzun ömürlüdür (34).

### **2.2.3. Plazma Ark Işık Kaynakları (PAC)**

Plazma ark lambaları yüksek yoğunlukta beyaz ışık filtre edilip oluşan ısının engellenmesi mekanizmasına sahiptir. Oluşan mavi ışık 400-500 nm dalga boyundadır. Uygulama süresi yüksek ışık gücünde azaltılmıştır. Maliyeti yüksek bir ışık cihazıdır (35).

### **2.2.4. Argon Lazer Işık Kaynakları**

Argon lazer ışık kaynakları 405-502 nm dalga boylarında ışık üretmektedir. Polimerizasyonun başlatıcısı kamforokinon' u aktive edebilen tek lazer sistemidir. Polimerizasyon süresini azaltmaktadır (36). Kızıl ötesi ışıklar olmadığı için pulpa ve çevresinde ısı artışına neden olmamaktadır. Ancak pahalı ve taşınması zordur (33).

## **2.3. Biyouyumluluk**

Biyouyumluluk, bir materyalin kendine özgü yöntemle canlı dokuya uygulanması sonrasında, canlı dokuda uygun konak cevabı oluşturabilme yeteneğidir (37). Bu durum, biyouyumlu bir materyalin olumsuz konak doku cevabı oluşturmamasını, materyalden zararlı bir madde salınmamasını, materyalin lokal ve sistemik olarak karsinojen olmamasını gerektirmektedir. Doku ile temas halinde iken, biyouyumlu olmayan materyal metabolizmanın normal işleyişini değiştirebilir. Dokuda fiziksel ve kimyasal etkilere, hücrelerin dejenerasyonuna ve ölümüne neden olabilmektedir (38).

Diş hekimliğinde kullanılan dental materyallerin biyouyumlu kabul edilebilmesi için bazı kriterlere sahip olması gerekmektedir (39):

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

Dental materyaller ağız içindeki yumuşak dokuyu, pulpa dokusunu, kök kanallarını, dişin sert dokusunu ve ağız dışını etkileyebilen materyallerdir (38, 40).

### **2.3.1. Biyolojik Uyumluluğun Değerlendirilmesi**

Günümüzde dental materyallerin biyolojik olarak kabul edilebilirliğini saptamak için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (41):

1. İn vitro testler (birincil ya da eleme testleri)
2. İn vivo hayvan testleri (İkincil testler)
3. Kullanım testleri

#### **2.3.1.1. İn Vitro Testler (birincil ya da eleme testleri)**

İn vitro testler hızlı sonuç alınabilen, standardize edilebilir ve ucuz testlerdir. Bu testlerde, deney ortamı kontrolü kolaydır, ancak in vivo ortamla ilişkisi tartışmalıdır (41). Yapılan testler, LD50 ağız içi test, LD50 karın içi test, dominant letal testi, styles testi, soluma testi, hemoliz testi, ames testi ve sitotoksisite testleridir (42).

##### **2.3.1.1.1. Sitotoksisite testleri**

İn vitro sitotoksisite testlerinde kültür ortamında bulunan hücelere test materyali uygulanmaktadır. Sonucunda hücre sayısı ve büyüme hızı değerlendirilmektedir. Testte öncelikle hücrelerin bir hücre kültür kabına yapışması sağlanmaktadır. Sonrasında test materyali uygulanmaktadır. Belli bir süre geçtikten sonra canlı hücre sayısının ve hücre proliferasyonunun değerlendirilmesi sağlanmaktadır. Zamanla hücre sayısı ve proliferasyonundaki azalma materyalin sitotoksik olduğunu, kontrol grubuna göre artan hücre sayısı ve proliferasyonundaki artış ise materyalin proliferatif olduğunu göstermektedir (43).

İn vitro sitotoksisite testleri biyoyumluluk testleri arasında en yaygın kullanılan test yöntemidir (40, 44, 45). Bu testte:

1. Test materyalinin diğer metabolizmalardan bağımsız, hücre metabolizmasındaki etkisi spesifik bir fonksiyon üzerinde test edilebilmektedir.
2. Maliyeti düşüktür. Çok sayıda örnek, kısa zamanda test edilebilmektedir.
3. Kantitatif veriler elde edilebilmektedir.
4. Standardize edilebilir test koşulları sağlanabilmektedir.

İn vitro sitotoksisite testlerinde, her testte tek tür hücre tipi kullanılmaktadır. Kültür hücreleri ile konak doku hücreleri arasında benzerlik olmayabilmektedir. Ayrıca in vivo şartlarda meydana gelen metabolik cevaplar kültür ortamında oluşmamaktadır, uzun dönemde oluşacak metabolik cevap ölçülememektedir (44, 45).

İn vitro sitotoksisite testlerinde hücre kültürü, hücre organelleri, doku ve organ kültürleri kullanılabilir. Hücre kültürleri dental materyallerin sitotoksisite testleri için en çok kullanılan sistemlerdir (44).

### **2.3.1.2. İn Vivo Hayvan Testleri (ikincil testler)**

İn vivo hayvan testlerinde bir memeli hayvan organizması kullanılmaktadır. Deney materyali, fare, köpek, kedi, koyun, keçi ve maymun gibi deney hayvanlarına uygulanmaktadır. İn vitro testlere göre daha kapsamlı sonuçlar elde edilir. Ancak değişkenlerin kontrol altına alınması zordur, testler zaman alıcı ve pahalıdır. Ayrıca hayvan türleriyle insandaki metabolik yanıtın aynı olacağı tartışmalıdır ve etik problemler ortaya çıkmaktadır (37, 46).

### **2.3.1.3. Kullanım Testleri**

İn vitro ve in vivo hayvan testlerinden başarıyla geçen ve biyoyumlu olduğu düşünülen materyaller daha sonra insan üzerinde denenmektedir. Kullanım testleri gönüllü insanlarda yapılmaktadır. Pahalı, zaman alıcı, kontrol edilmesi zor ve etik açıdan tartışmalı bir yöntem olmasına rağmen gerçeğe en yakın cevap alınan test metodudur (37, 47).

### **2.3.2. Hücre Kültürleri**

Hücre kültürleri canlı dokulardan alınan parçaların laboratuvar ortamında uygun koşullarda yaşama ve üremeleri sağlanılarak deney materyallerinin kültürler üzerindeki etkilerini saptamak için kullanılan bir yöntemdir. Hücre yapısının, fizyolojik özelliklerinin, patolojik değişikliklerinin, üremesinin ve tamir mekanizmasının değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (39).

Hücre kültürleri canlı dokuların vücut dışında yaşatılmasını ve çoğaltılmasını sağlamaktadır. Böylece canlı dokuların gelişimi taklit edilmiş olur. Bireysel faktörlerden etkilenmez ve tekrarlanabilen uygulamalardır. Canlı hayvanlar öldürülmemektedir. Bu nedenlerle yaygın bir kullanım alanı vardır (48).

Hücre kültürleri materyallerin sitotoksitesini yalnızca başlangıç aşamasında göstermekte uzun dönemde sitotoksitenin ne düzeyde olacağıyla ilgili herhangi bir bilgi vermemektedir. Ayrıca steril koşulların sağlanması zorluğu, çok sayıda hücre üretmenin zaman alıcı olması ve hücre kültürü hazırlanması ve incelenmesinin uzmanlık gerektirmesi gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır (44).

#### **2.3.2.1. Hücre Kültürlerinin Sınıflandırılması**

Canlı dokulardan elde edilen hücre kültürleri üç grupta toplanmaktadır.

1. Primer hücre kültürleri
2. Devamlı hücre kültürleri
3. Diploid hücre kültürleri

Primer hücre kültürleri: direkt olarak dokudan elde edilmektedir. Orijinal doku hücreleriyle benzer özellikler taşımaktadır. Primer hücre kültürleri ilk pasajdan sonra bir kültür ortamından diğerine taşınmaktadır. Bu işleme subkültür adı verilmektedir. Yeni üretilen hücreler fonksiyonel özellikleri aynı olan hücre hatlarını oluşturmaktadır. Primer hücre kültürleri toksik maddeye karşı daha hassastır. İlerleyen günlerde orijinal özelliklerini kaybedip farklılaşabilmektedir (49, 50).

Devamlı hücre kültürleri, subkültürü sonsuz olarak alınabilen, genetik ve metabolik olarak orijinali olan dokulardan ayrı olarak geliştirilmiş kültürlerdir. Hücrelerin % 85' i orijinal dokunun genetik ve metabolik benzerlik göstermektedir.

Diploid hücre kültürleri: bazı hücrelerin kromozom yapıları kaybolabilir ve yerine farklı yapıda kromozom gelişebilmektedir. Bu hücrelerin diğer ismi pseudodiploid hücredir. Homojenize edilebilir, standardize edilebilir ve tekrarlanabilir hücre kültürleridir (51, 52).

### **2.3.2.2. Hücre Kültürlerinde Kullanılan Hücre Hatları**

İn vitro hücre kültürü çalışmalarında dental materyallerin etkisinin inceleneceği hücre tipi önemli bir faktördür. Çalışmalarda devamlı hücre hatları (cell line) HELA, 3T3 ve L 929 hücreleri kullanılmaktadır. Aynı zamanda primer/ diploid hücre hatları olan gingival, mukozal ve pulpal fibroblastlar kullanılmaktadır (53). Son yıllarda diş pulpası kök hücreleri de kullanılmaktadır (54). Hücre kültürü çoğaltılarak veya ticari olarak elde edilebilen devamlı hücre hatları uygun ortam oluşturulduğunda sürekli üreme potansiyeline sahip olmaktadır (53). Ancak primer hücre hatları yavaş üremektedir ve yaşam süreleri kısıtlı olmaktadır (44). Buna rağmen primer hücre hatları orijinal doku hücrelerine benzerlikleri nedeniyle spesifik metabolik yanıt açısından canlı organizmaya en yakın deneysel koşullar oluşturulmasını sağlamaktadır (55).

### **2.3.2.3. Hücre Kültürü Test Yöntemleri**

Dental materyallerin biyouyumluluğunun test edilmesi için in vitro test yöntemleri kullanılmaktadır. Bunlar direkt temas testleri ve indirekt temas testleridir (56).

Direkt temas testinde iki yöntem bulunmaktadır. Birincisi, dental materyallerin direkt kültür hücrelerinin üzerine uygulanmasıdır. İkincisinde ise dental materyallerin bir sıvı (serum içeren veya içermeyen ortam, fizyolojik tuz solüsyonu) içerisinde çözünen bileşenlerinin (ekstrakt) direkt kültür hücrelerinin üzerine uygulanmasıdır (57).

İndirekt temas testinde dental materyaller ile hücre kültürü arasında dentin veya dentini taklit eden bir bariyer sistem yerleştirilerek difüzyon yoluyla materyalin hücre

kültürü üzerindeki etkisi incelenmektedir. Bariyer sistemler agar, milipor filtre veya farklı kalınlıklardaki dentin kesitlerinden elde edilebilmektedir (58).

Sitotoksisite deneyleri sonrasında sitotoksik etkinin değerlendirilmesinde membran bütünlük testi ve metabolik bozulma testi kullanılmaktadır (56).

Membran bütünlük testinde, hücre ölümünün hücre membranı geçirgenliğini arttırdığı düşünülerek yapılan değerlendirme yöntemidir. Membran geçirgenliğini belirlemek için bazı spesifik boyalar kullanılmaktadır. Böylece canlı ve ölü hücreler belirlenebilmektedir.

Metabolik bozulma testinde, uygulanan materyallerin hücrenin enzimatik aktivitesinde oluşturduğu değişiklikler incelenerek yapılan test değerlendirme yöntemidir. Spesifik boyama sonrası kolorimetrik bir okuyucu ile renk yoğunluğu incelenerek canlı- ölü hücre sayıları belirlenebilmektedir (59).

MTT Testi (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) sitotoksisite deneyleri sonrasında sonuçların değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan enzimatik bir testtir. Hücre kültüründe canlı kalabilen hücrelerin sayısını kolorimetrik bir yöntemle hesaplamamızı sağlamaktadır. Bu değerlendirme yöntemi MTT boyasının canlı hücrelerdeki mitokondride bulunan tetrozolyum halkasını kırabilme prensibine dayanmaktadır (60). Mitokondri enzimi olan süksinat dehidrogenaz tetrozolyum halkasını kırması sonucu sarı renkli MTT boyası canlı hücrelerde mavi-mor renklere boyanmaktadır, ölü hücrelerde boyanmamaktadır. Optik yoğunluk ölçülerek deney materyallerinin hücre canlılığı üzerindeki etkileri belirlenmiş olmaktadır (59).

### **2.3.3. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Biyouyumluluk Değerlendirilmesi**

Dentin bağlayıcı sistemler cansız mine ve canlı dentin dokusunda kullanılmaktadır. Bu sistemler pulpayı etkileyebilmektedir. Bağlayıcı sistemlerin içeriğinde bulunan monomerler sıvı dolu dentin kanallarına penetre olabilmeleri için suda çözünebilir olmaları gerekmektedir. Bağlayıcı sistemlerde bulunan hidrofilik monomerler (TEGDMA veya HEMA) dentin dokusunda ilerleyerek pulpa reaksiyonlarına neden olabilmektedir. Bağlayıcı sistemlerde bulunan hidrofilik, suda çözünebilir monomerler dentin sıvısında yüksek yoğunlukta bulunmaktadır. Kalan



dentin kalınlığı ve dentin geçirgenliğine göre sitotoksik etkinin şiddeti değişebilmektedir (8, 42).

Bağlayıcı sistemlerde bulunan hidrofobik monomerler (BisGMA veya UDMA) hidrofilik monomerlere oranla daha sitotoksik maddelerdir. Hidrofilik monomerler hidrofobik monomerleri dentin kanalları içerisine taşıyarak pulpa dokusunda sitotoksik etki meydana getirmektedir. Bu etki monomerlerin tek tek meydana getirdikleri sitotoksik etkiden daha fazladır (61).

### 3. MATERYAL VE METOT

Çalışmamız dört aşamada gerçekleştirildi:

1. Fibroblastların elde edilmesi
2. Test materyal örneklerinin hazırlanması
3. Sitotoksikite testinin yapılması
4. Verilerin istatistiksel olarak analizi

Öncelikle test için iki adet sağlıklı üçüncü büyük azı dişi kullanıldı. Kullanılan dişler 25-30 yaş aralığında erkek bireylerden elde edildi. Sürme yönleri farklı olan dişlerin gıda retansiyonuna neden olmasını önlemek amacıyla hastaların bilgisi dahilinde dişler çekildi.

Çekilen dişler silindirik fissür frez kullanılarak mine ve sement arasından ayrıldı. Pulpa odasındaki pulpa dokusu steril trinef ve penset kullanılarak çıkarıldı. Diş pulpası parçaları steril PBS 1X içeren falkon şişeye yerleştirildikten sonra hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırıldı.

Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilip karakterizasyonu yapılan pulpa dokusu fibroblast hücreleri %80 yoğunluğa ulaşıncaya kadar uygun saklama koşullarında bekletildi.

Dentin bağlayıcı sistemlerin polimerize edilmeden 1/1000, 1/2000 ve 1/4000 oranlarında dilüsyonları hazırlandı. 100 µl dentin bağlayıcı sistemin polimerizasyonu gerçekleştirildikten sonra ekstraktları elde edildi. Her grup için 8'er solüsyon hazırlandı (8 kuyucu). Her kuyucuğa 5000 hücre ekildi.

Dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksik etkilerinin incelenmesinde MTT testi kullanıldı. Kolorimetrik mikropilaka okuyucu ile testin sonuçları değerlendirildi.

Verilerin istatistiksel analizinde, normallik testi Kolmogorov Smirnov Testi ile değerlendirildi, gruplar arasında farklılık incelenirken, normal dağılmayan değişkenlerde ikili gruplarda Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney-U Testi, ikiden fazla gruplarda ise Kruskal Wallis Testi kullanıldı. Normal dağılım özelliği gösteren çoklu karşılaştırmalarda one way ANOVA testi ve post-hoc Tukey testi kullanıldı.

### 3.1. Çalışmada Kullanılan Materyaller

Bu çalışmada 3 farklı tek aşamalı dentin bağlayıcı sistem kullanıldı (Şekil 3.1), (Tablo 3.1).

1. 3M ESPE Universal Adhesive Single Bond (M)
2. Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus (S)
3. GC-Gaenial Bond (G)



Şekil 3. 1. Çalışmada kullanılan tek aşamalı dentin bağlayıcı materyaller.

**Tablo 3.1.** Çalışmada kullanılan tek aşamalı dentin bağlayıcı sistemler

<u>Dentin Bağlayıcı Sistem</u>	<u>İçerik</u>	<u>Lot No</u>	<u>Tipi</u>	<u>Üretici Firma</u>
<i>3M ESPE Single Bond Universal Adhesive</i>	MDP Phosphate monomer, dimethacrylate resins, HEMA, Vitrebond Copolymer, Filler, Ethanol, Water, Initiators, Silane	517570	Işıklı sertleşen tek aşamalı dentin bağlayıcı ajan	3M ESPE Almanya
<i>Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus</i>	MDP, Bis-GMA, HEMA, hydrofobic dimetacrylate, di-camphorquinone, ethyl alcohol, water, silonized colloidal silica, sodium fluoride, hydrophilic aliphatic dimethacrylate, hydrophobic aliphatic methacrylate	7W0015	Işıklı sertleşen tek aşamalı dentin bağlayıcı ajan	Kuraray Japonya
<i>Gaenial Bond</i>	4-MET, Phosphoric acid ester monomer, Dimetacrylate monomers, Distilled water, Acetone, Silicone dioxide, Photo- initiator	1310161	Işıklı sertleşen tek aşamalı dentin bağlayıcı ajan	GC Japonya

### 3.2. Fibroblastların elde edilmesi

Bu çalışmada fibroblastları elde etmek için, kaynak olarak sağlıklı iki adet üçüncü büyük azı dişi kullanıldı; dişlerin çekim işlemleri diş hasarını önlemek için basit tutulmaya çalışıldı.



**Şekil 3.2.** Çalışmada kullanılan çekilmiş üçüncü büyük azı dişleri ve % 70 lik etanol solüsyonu.

Çekimin hemen sonrasında, üçüncü büyük azı dişleri,% 70 etanol ile ıslatılmış gazlı bez ile temizlendi; ardından steril saf suyla yıkandı.



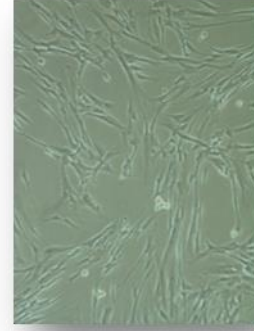
**Şekil 3.3.** Çalışmada kullanılan dişlerin temizlendiği steril plastik petri kapları ve çıkarılan pulpa dokusunun muhafaza edildiği steril PBS 1X (Gibco, Carlsbad, US) solüsyonunu bulunduran falkon şişeler

Üst kesici forseps ile tutulmuş olan dişler, mine ve sement arasından silindirik bir frez kullanılarak su soğutması altında kesildi. Kesim aynı hat üzerinde yapıldı ve diş parçaları steril PBS 1X (Gibco, Carlsbad, US) içeren bir falkon şişe içine yerleştirildi. Numuneler hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırıldı ve laminar akışlı bir kabin içinde petri kaplarına yerleştirildi.



**Şekil 3.4.** Laminar akışlı steril kabin.

Örneklerden steril trinef ve penset kullanılarak diş pulpası izole edildi. Hücresel ayrılma, 37° C'de 60 dakika boyunca 3 mg/ml kollajenaz tip I ile bölünmüş pulpa dokusunun sindirilmesi ile tamamlandı. Hücreler daha sonra, bir insülin şırıngası kullanılarak ayrıldı ve 1800 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüje edildi. Hücre fraksiyonu, steril PBS 1X ile iki kere yıkandı ve oda sıcaklığında 1800 rpm'de 10 dakika boyunca tekrar santrifüje tabi tutuldu.



**Şekil 3.5.** Faz kontrast mikroskobu ve pulpa fibroblast hücrelerinin görüntüsü

Elde edilen fibroblastlar; DMEM #Hams F12 ile desteklenen % 10 FBS, 2 ML-glutamin, 100 mg/ml desteklenmiş penisilin G, 100 ug/ml streptomisin ve % 1 Fungizone içinde kültüre edildi ve 3 hafta boyunca 37 ° C'lik sıcaklıkta nemli % 95 hava ve % 5 CO<sub>2</sub> 'de inkübe edildi. Hücreler % 80 yoğunluğa ulaşıncaya kadar ortam her 3 günde bir yenilendi.



**Şekil 3.6.** CO<sub>2</sub>' li inkübatör

### 3.3. Test Materyal Örneklerinin Hazırlanması

Üç materyalin sitotoksitesi polimerize edilmeden ve polimerize edilerek her iki koşulda test edildi. Gruplarda cell line ( hücre hattı) kullanıldı.

*Partikül süspansiyonlarının hazırlanması:*

Çalışmada kullanılan dentin bağlayıcı ajanlar polimerize edilmeden 1/1000, 1/2000, 1/4000 konsantrasyonlarında DMEM (500 ml) ve Penisilin (5 ml) besiyerinde seri dilüsyonlar hazırlanarak deneylerde kullanıldı. Her grup için 8' er solüsyon hazırlandı.



**Şekil 3.7.** Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bağlayıcı ajanların 24 kuyucuklu platelerdeki görüntüsü.

Konsantrasyonların hazırlanması esnasında bağlayıcı sistemler hücre canlılığının devam etmesi için gerekli olan DMEM (500 ml) ve Penisilin (5 ml) ile karıştırılarak aşağıdaki oranlarda karıştırıldı.

Örneklerin 1/1000 konsantrasyonda hazırlanması için:

Her kuyucukta 500 µl besiyeri için 0,5 µl bağlayıcı ajan kullanıldı.

Her deney grubu için 8 kuyucuk kullanıldığı için 4000 µl besiyeri ve 4 µl bağlayıcı ajan kullanıldı.



Çalışmanın 24, 48 ve 72 saat sonraki sonuçları için üç ayrı plate kullanıldı.

Toplam 12000 µl besiyeri ve 12 µl bağlayıcı ajan kullanıldı.

Örneklerin 1/2000 konsantrasyonda hazırlanması için:

Her kuyucukta 500 µl besiyeri için 0,25 µl bağlayıcı ajan kullanıldı.

Her deney grubu için 8 kuyucuk kullanıldığı için 4000 µl besiyeri ve 2 µl bağlayıcı ajan kullanıldı.

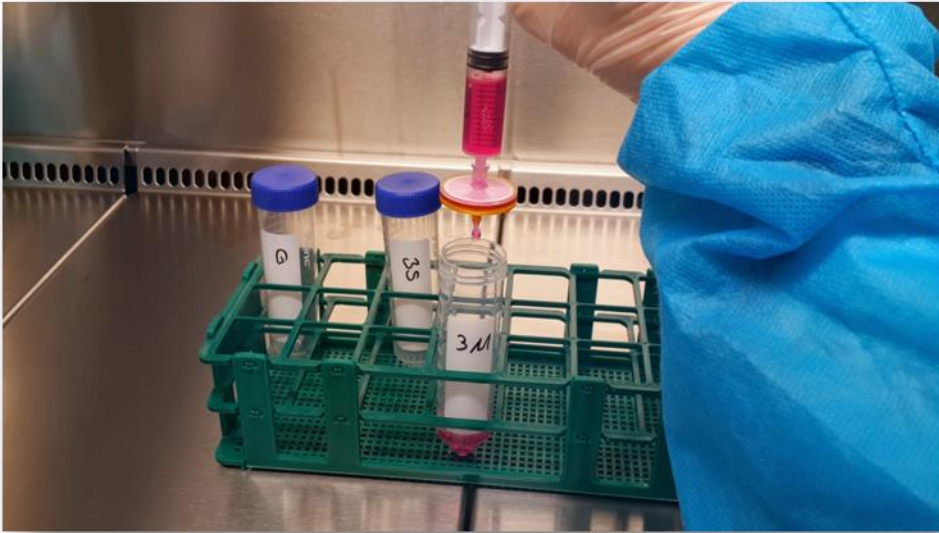
Toplam 12000 µl besiyeri ve 6 µl bağlayıcı ajan kullanıldı.

Örneklerin 1/4000 konsantrasyonda hazırlanması için:

Her kuyucukta 500 µl besiyeri için 0,125 µl bağlayıcı ajan kullanıldı.

Her deney grubu için 8 kuyucuk kullanıldığı için 4000 µl besiyeri ve 1 µl bağlayıcı ajan kullanıldı.

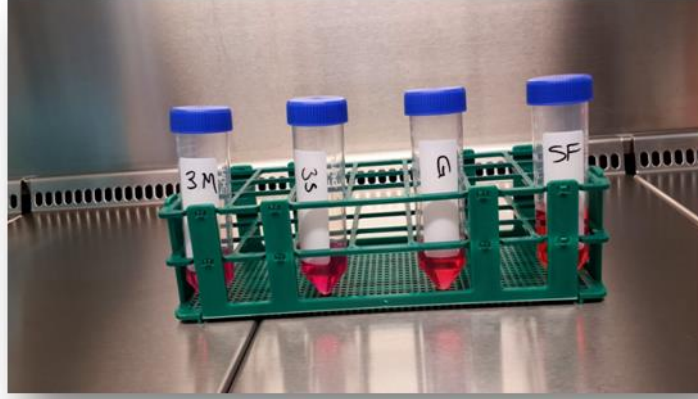
Toplam 12000 µl besiyeri ve 3 µl bağlayıcı ajan kullanıldı.



**Şekil 3.8.** Polimerize edilmiş bağlayıcı sistemlerin 0,22 µm şırınga ile steril olarak filtrelenmesi

Polimerizasyon sonrası hücre canlılığı değerlendirilmesi için her bağlayıcı ajandan 100 µl'lik kısmı 10 ml'lik steril ışığı geçirgen falkon şişelere yerleştirildi ve

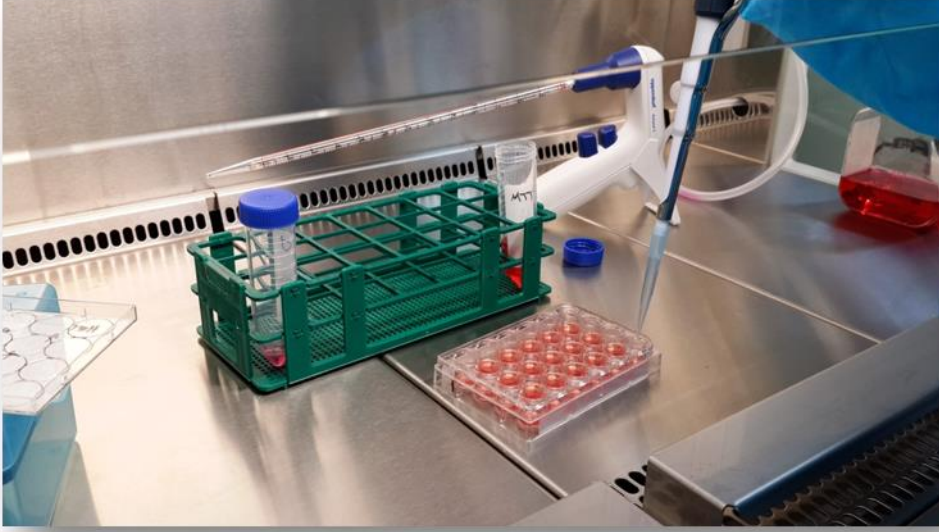
LED ışık kaynağıyla 40 sn ışınlandı (Monitex Blue Light Bt-1200, Monitex Industrial Co., New Taipei City, Taiwan). Sonrasında DMEM ( her küçük şişeye 5 mL ) eklendi ve 37 °C’de 24 saat bırakıldı. Alınan özüt medyumunu 0,22 µm şırınga ile steril olarak filtrelendi. 100 µl’lik özüt medyumunu hücrelere eklendi( son hacim 200 µl olana kadar).



**Şekil 3.9.** Polimerize edilmiş bağlayıcı sistemlerden 24 saat sonra alınan ekstraktların görüntüsü.

### 3.4. Sitotoksisite Testinin Yapılması

İnsan diş pulpa fibroblastı hücre hattı MEM $\alpha$  besiyerinde kültüre edildi. Hücre kültürleri 96 kuyucuklu ‘plate’ lerde %70-80 oranında yoğunluğa hazır hale geldiklerinde DMEM (500 ml) ve Penisilin (5 ml) vasatında 24 saat tutulduktan sonra 24, 48 saat ve 72 saat boyunca 1/1000, 1/2000, 1/4000 oranlarında 3M ESPE Universal Adhesive Single Bond, Clearfil S<sup>3</sup> bond Plus, GC-Gaenial bond ve %10 fetal calf serum (FCS) içinde bekletilen hücreler ile ayrı ayrı inkübe edildi.



**Şekil 3.10.** Kuyucuklara MTT solüsyonunun eklenmesi

Hücrelerin canlılığı tetrazolium tuzu 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)'un çözünmez formazan boyasına metabolik aktivitenin bir göstergesi olan mitokondriyal enzimler tarafından indirgenmesi esasına dayanan, bu şekilde canlı hücre sayısını yansıtan yöntem ile değerlendirildi.



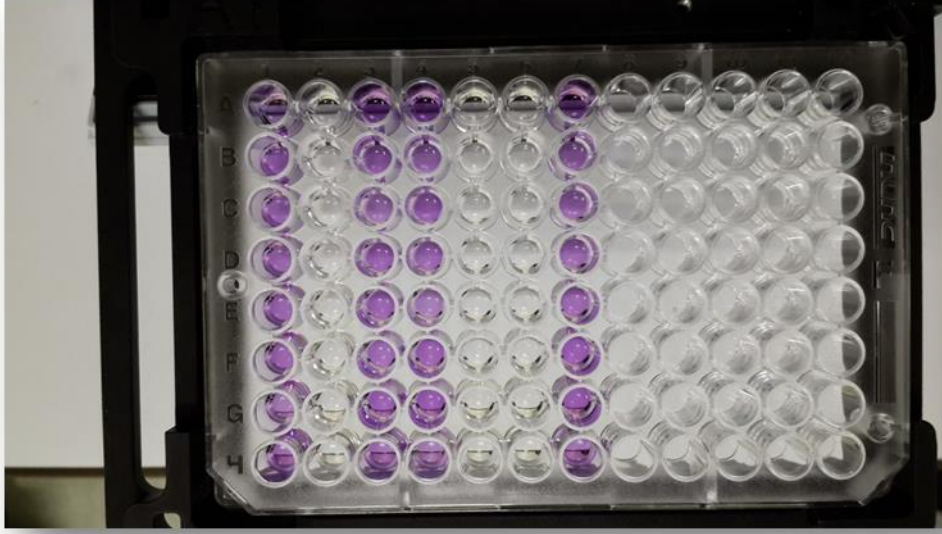
**Şekil 3.11.** MTT solüsyonu uzaklaştırılan kuyucuklara DMSO uygulanması

Kültür vasatı 1mg/ml MTT (Sigma) içeren SF vasatı ile değiştirilerek 37°C'de 15 dakika süre ile inkübe edildi. Daha sonra MTT solüsyonu döküldü ve hücrelerin üzerine dimetil sülfoksit (DMSO, Sigma) uygulandı. Renkteki değişim kolorometrik bir okuyucu ile 550 nm'de okundu.



**Şekil 3.12.** Kolorometrik mikroplaka okuyucu

Değerlendirilen her bir materyalin polimerizasyon sonrası hücre canlılığı değerlendirilmesi için her adezivden 100 µl'lik kısmı 10 ml' lik steril küçük şişelere yerleştirildi ve 40 sn ışınlandı. Sonrasında DMEM ( her küçük şişeye 5 ml ) eklendi ve 37 °C'de 24 saat bırakıldı. Alınan özüt medyumunu 0,22 µm şırınga ile steril olarak filtrelendi. 100 µl'lik özüt medyumunu hücrelere eklendi ( son hacim 200 µl olana kadar) ve 24, 48 ve 72 saat sonunda sonuçlar incelendi.



**Şekil 3. 13.** MTT solüsyonundaki renk değişimi

Kuyucuklar negatif kontrol olarak kullanılacak olan DMEM 100  $\mu$ l' lik kısmı ile işlem gördü. Üretim periyodunun sonunda hücre sayıları (MTT) ile değerlendirildi. Materyaller aseptik koşullarda üretici firmanın talimatlarına göre hazırlandı.

### **3.5. Verilerin İstatistiksel Olarak Analizi**

Bu çalışmada elde edilen veriler IBM SPSS Statistics 20.0 paket programı ile değerlendirildi. Nicel veriler, ortalama ve standart sapmalarla özetlendi. Değişkenlerin dağılım özelliği Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi. Gruplar arasında farklılık incelenirken, normal dağılmayan değişkenlerde ikiden fazla gruplarda Kruskal Wallis Testi kullanıldı, ikili karşılaştırmalarda ise Bonferroni düzeltilmiş Mann Whitney-U Testi kullanıldı. Normal dağılım özelliği gösterenlerde ikiden fazla gruplarda one-way ANOVA testi ve post-hoc Tukey testi kullanıldı. P değerleri 0.05' in altındaki değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

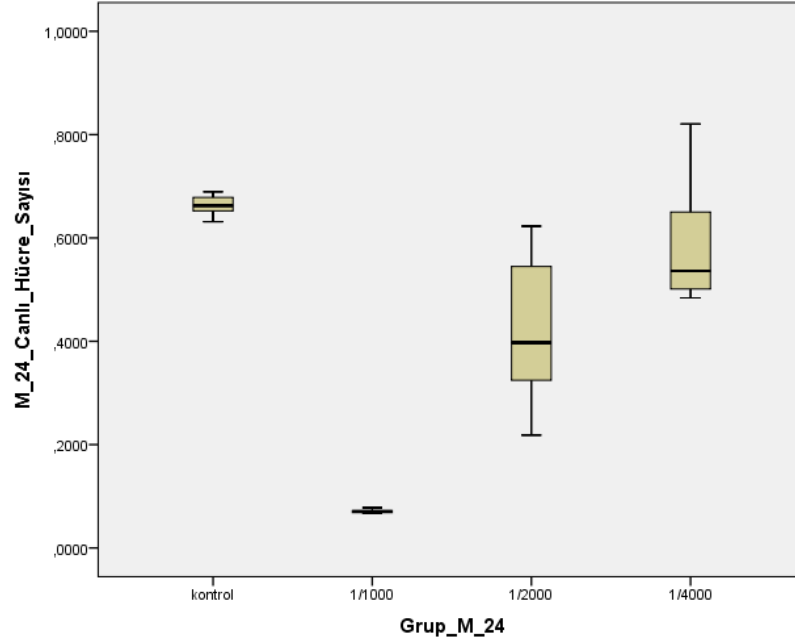
### 4.1. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 24, 48 ve 72 Saat Sonraki Kalan Canlı

#### Hücre Sayılarının Karşılaştırılması

Çalışmada kullandığımız tek aşamalı dentin bağlayıcı sistemlerin pulpa fibroblast hücreleri üzerine direk temas test metodu kullanılarak 24, 48 ve 72 saat maruziyeti sonrası sitotoksite değerlendirmelerinde, MTT Testi sonucu elde edilen optik yoğunluklara ait Ortalama  $\pm$  Standart Sapma değerleri tabloda verilmiştir. Kontrol grubu olarak besiyeri sıvısı (DMEM) kullanılmıştır. Optik yoğunluk değerinin 0.00'a yaklaşması, materyalin hücreler üzerinde canlı hücre sayısını azalttığı anlamına gelmektedir. Değer yükseldikçe hücre canlılığı üzerindeki etki de azalacaktır.

## 4.2. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 24 Saat Sonunda Kalan Canlı Hücre Sayılarının Karşılaştırılması

### 4.2.1. 3M ESPE Universal Single Bond'un farklı konsantrasyonlarının 24 saat sonraki canlı hücre sayısı üzerine etkisi



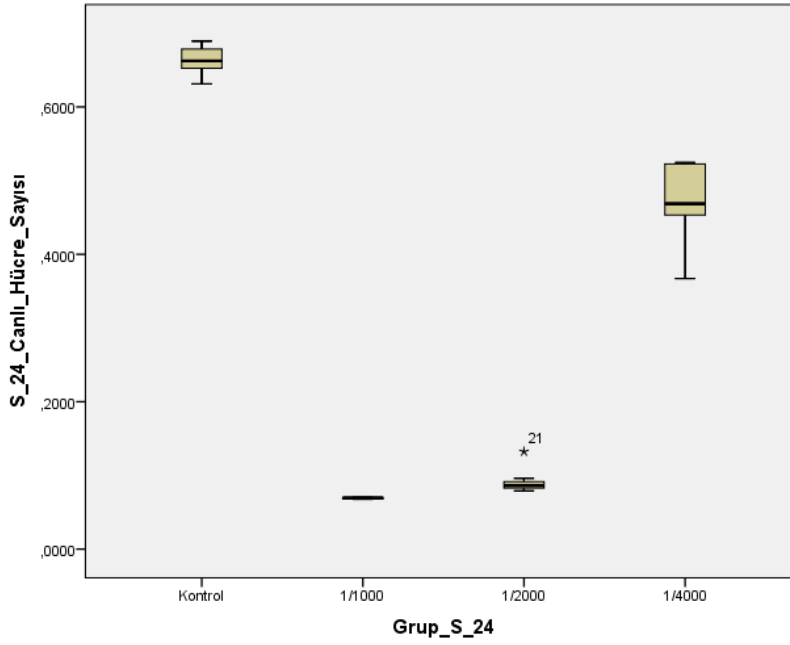
Şekil 4.1. 3 M ESPE Universal Single Bond 24 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik

Tablo 4.1. 3 M ESPE Universal Single Bond 24 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

M-24	N	Ortalama± SS	P değeri			
			Kontrol	1/1000	1/2000	1/4000
Kontrol	8	0,66 ± 0,02		0,000	0,000	0,344
1/1000	8	0,07 ± 0,00			0,000	0,000
1/2000	8	0,42 ± 0,14				0,008
1/4000	8	0,58 ± 0,12				

3M ESPE Universal Single Bond' un 24 saat sonraki 1/1000 ve 1/2000 konsantrasyonlarında canlı hücre sayısı kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalırken, 1/4000 konsantrasyonu ile kontrol grubu arasında ise hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. 1/1000 konsantrasyonda, 1/2000 ve 1/4000 konsantrasyona göre, 1/2000 konsantrasyonda ise 1/4000 konsantrasyona göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır.

#### 4.2.2. Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'ın farklı konsantrasyonlarının 24 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi



Şekil 4.2. Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus 24 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik



**Tablo 4.2.** Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus 24 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

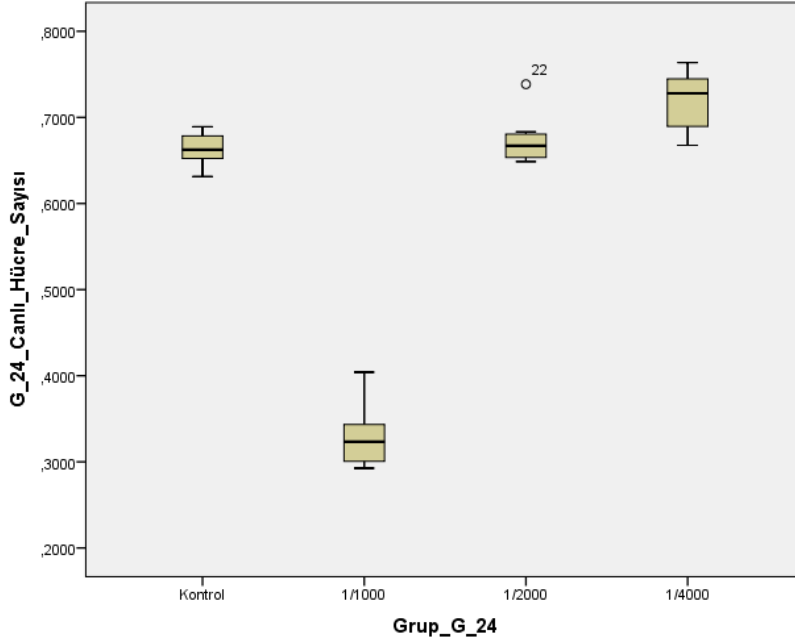
S-24	N	Ortalama± SS	P değeri			
			Kontrol	1/1000	1/2000	1/4000
Kontrol	8	0,66 ± 0,01		,001	,001	,001
1/1000	8	0,07 ± 0,00			,001	,001
1/2000	8	0,09 ± 0,01				,001
1/4000	8	0,47 ± 0,05				

(Bonferroni düzeltmesi p<0,00833)

Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'ın 24 saat sonraki 1/1000, 1/2000 ve 1/4000 konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır.

1/1000 konsantrasyonda ise 1/2000 ve 1/4000 konsantasyona göre, 1/2000 konsantasyonda 1/4000 konsantrasyona göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır.

### 4.2.3. Gaenial Bond'un farklı konsantrasyonlarının 24 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi



Şekil 4.3. Gaenial Bond 24 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik

Tablo 4.3. Gaenial Bond 24 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

G-24	N	Ortalama± SS	P değeri			
			Kontrol	1/1000	1/2000	1/4000
Kontrol	8	0,66 ± 0,01		0,000	0,908	0,006
1/1000	8	0,32 ± 0,03			0,000	0,000
1/2000	8	0,67 ± 0,02				0,029
1/4000	8	0,71 ± 0,03				

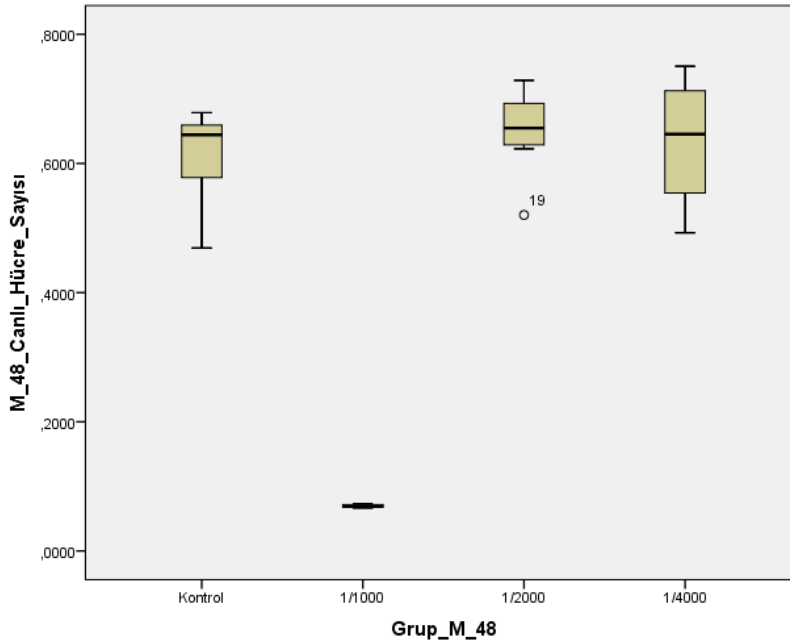
Gaenial Bond' un 24 saat sonraki 1/1000 konsantrasyonda kontrol grubuna göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalırken, 1/4000 konsantrasyonda kontrol grubuna

göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak artmıştır. 1/2000 konsantrasyonda ise kontrol grubu ile arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

1/1000 konsantrasyonda, 1/2000 ve 1/4000 konsantrasyona göre, 1/2000 konsantrasyonda ise 1/4000 konsantrasyona göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır.

### 4.3. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 48 Saat Sonunda Kalan Canlı Hücre Sayılarının Karşılaştırılması

#### 4.3.1. 3M ESPE Universal Single Bond'un farklı konsantrasyonlarının 48 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi



Şekil 4.4. 3M ESPE Universal Single Bond 48 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik

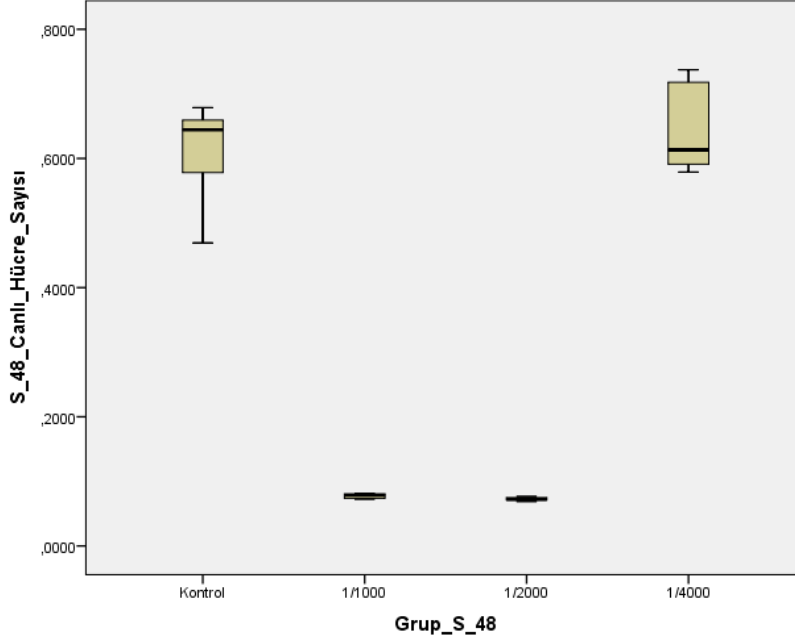
**Tablo 4.4.** 3M ESPE Universal Single Bond 48 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

M-48	N	Ortalama± SS	P değeri			
			Kontrol	1/1000	1/2000	1/4000
Kontrol	8	0,61 ± 0,08		0,001	0,401	0,529
1/1000	8	0,07± 0,00			0,001	0,001
1/2000	8	0,65 ± 0,06				0,834
1/4000	8	0,63 ± 0,09				

(Bonferroni düzeltmesi  $p < 0,00833$ )

3M ESPE Universal Single Bond' un 48 saat sonraki 1/1000 konsantrasyonda canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır. 1/2000 ve 1/4000 konsantrasyonları kontrol grubuna göre hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. 1/1000 konsantrasyonda 1/2000 ve 1/4000 konsantrasyona göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır. 1/2000 konsantrasyon ile 1/4000 konsantrasyon arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

#### 4.3.2. Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'ın farklı konsantrasyonlarının 48 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi



Şekil 4.5. Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'un 48 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik

Tablo 4.5. Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus 48 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

S-48	N	Ortalama± SS	P değeri			
			Kontrol	1/1000	1/2000	1/4000
Kontrol	8	0,61 ± 0,08		0,001	0,001	0,834
1/1000	8	0,08± 0,00			0,013	0,001
1/2000	8	0,07 ± 0,00				0,001
1/4000	8	0,65 ± 0,67				

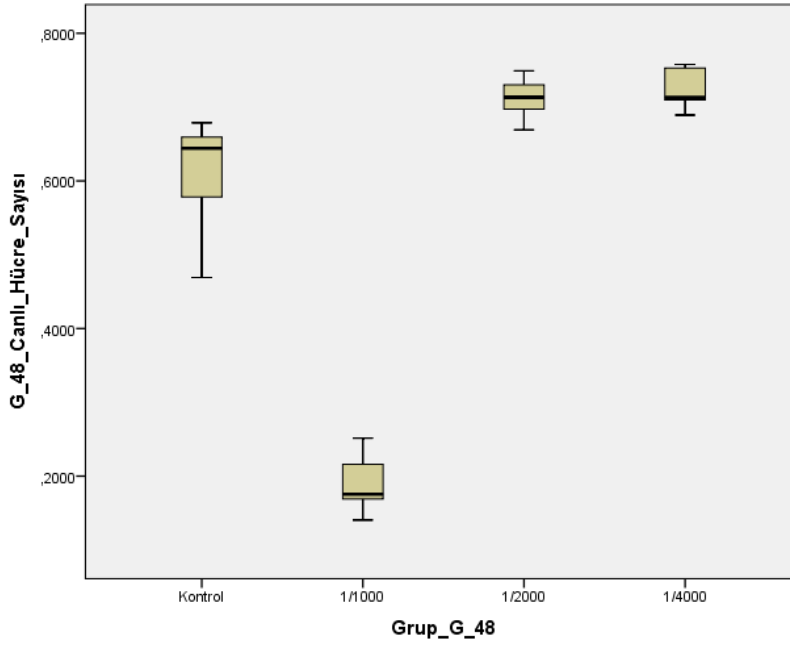
(Bonferroni düzeltmesi p<0,00833)

Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'ın 48 saat sonraki 1/1000 ve 1/2000 konsantrasyonda kontrol grubuna göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır. 1/4000

konsantrasyonda kontrol grubuna göre hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

1/1000 ve 1/2000 konsantrasyonda 1/4000 konsantrasyona göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır. 1/1000 konsantrasyon ile 1/2000 konsantrasyon arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

#### 4.3.3. Gaenial Bond'un farklı konsantrasyonlarının 48 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi



Şekil 4.6. Gaenial Bond'un 48 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik

**Tablo 4.6.** Gaenial Bond 48 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

G-48	N	Ortalama± SS	P değeri			
			Kontrol	1/1000	1/2000	1/4000
Kontrol	8	0,61 ± 0,08		0,001	0,001	0,001
1/1000	8	0,19 ± 0,04			0,001	0,001
1/2000	8	0,71 ± 0,03				0,529
1/4000	8	0,72 ± 0,03				

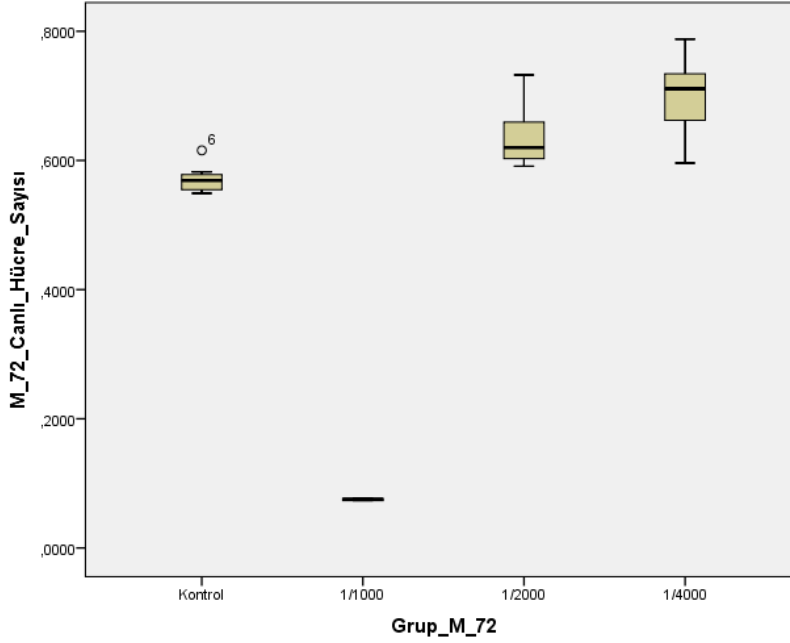
(Bonferroni düzeltmesi  $p < 0,00833$ )

Gaenial Bond'un 48 saat sonraki 1/1000 konsantrasyonda kontrol grubuna göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalırken, 1/2000 ve 1/4000 konsantrasyonda kontrol grubuna göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak artmıştır.

1/1000 konsantrasyonda, 1/2000 ve 1/4000 konsantrasyonlarına göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır. 1/2000 konsantrasyon ile 1/4000 konsantrasyon arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

#### 4.4. Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 72 Saat Sonunda Kalan Canlı Hücre Sayılarının Karşılaştırılması

#### 4.4.1. 3M ESPE Universal Single Bond'un farklı konsantrasyonlarının 72 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi



Şekil 4.7. 3M ESPE Universal Single Bond'un 72 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik

Tablo 4.7. 3M ESPE Universal Single Bond 72 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

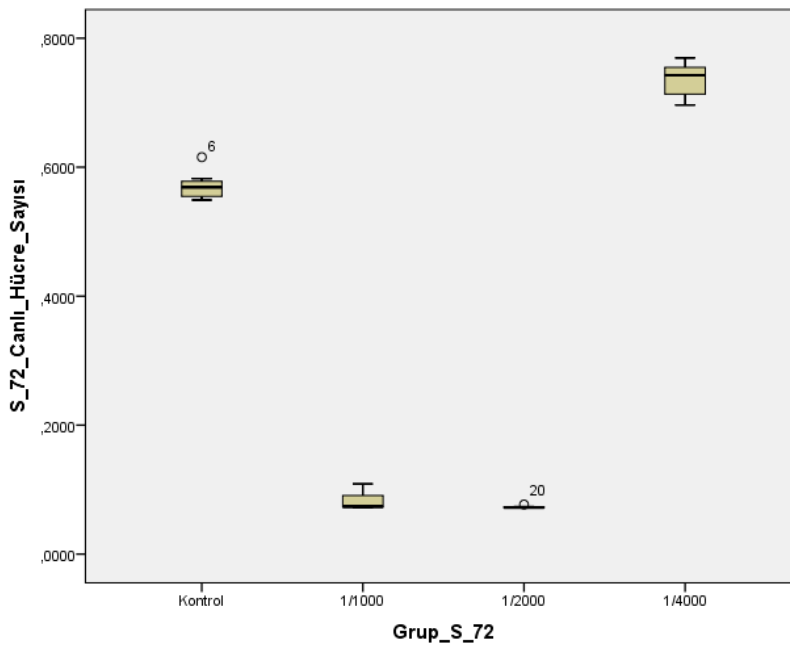
M-72	N	Ortalama± SS	P değeri			
			Kontrol	1/1000	1/2000	1/4000
Kontrol	8	0,57 ± 0,02		0,000	0,014	0,000
1/1000	8	0,08 ± 0,00			0,000	0,000
1/2000	8	0,64 ± 0,05				0,016
1/4000	8	0,70 ± 0,06				

3M ESPE Universal Single Bond' un 72 saat sonraki 1/1000 konsantrasyonda kontrol grubuna göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır, 1/2000 ve 1/4000



konsantrasyonda kontrol grubuna göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak artmıştır. 1/1000 konsantrasyonda 1/2000 ve 1/4000 konsantasyonlarına göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır. 1/2000 konsantasyonda 1/4000 konsantrasyona göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır.

#### 4.4.2. Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'un farklı konsantrasyonlarının 72 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi



Şekil 4.8. Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'un 72 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik

**Tablo 4.8.** Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus 72 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

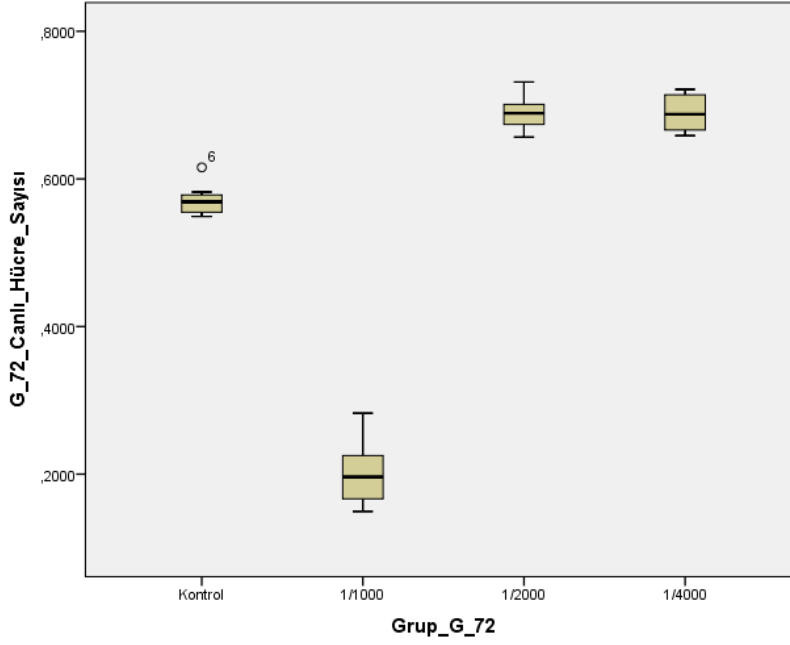
S-72	N	Ortalama± SS	P değeri			
			Kontrol	1/1000	1/2000	1/4000
Kontrol	8	0,57 ± 0,02		0,001	0,001	0,001
1/1000	8	0,08 ± 0,02			0,035	0,001
1/2000	8	0,07 ± 0,00				0,001
1/4000	8	0,74 ± 0,03				

(Bonferonni düzeltmesi p<0,00833)

Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'ın 72 saat sonraki 1/1000 ve 1/2000 konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalırken, 1/4000 konsantrasyonda kontrol grubuna göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak artmıştır.

1/1000 ile 1/2000 konsantrasyonlar arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. 1/1000 ve 1/2000 konsantrasyonlarda 1/4000 konsantrasyonuna göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır.

#### 4.4.3. Gaenial Bond'un farklı konsantrasyonlarının 72 saat sonraki canlı hücre sayıları üzerine etkisi



Şekil 4.9. Gaenial Bond'un 72 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik

Tablo 4.9. Gaenial Bond 72 saat sonraki kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

G-72	N	Ortalama± SS	P değeri			
			Kontrol	1/1000	1/2000	1/4000
Kontrol	8	0,57 ± 0,02		0,000	0,000	0,000
1/1000	8	0,20 ± 0,04			0,000	0,000
1/2000	8	0,69 ± 0,02				1
1/4000	8	0,69 ± 0,03				

Gaenial Bond'un 72 saat sonraki 1/1000 konsantrasyonda kontrol grubuna göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalırken, 1/2000 ve 1/4000 konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır.

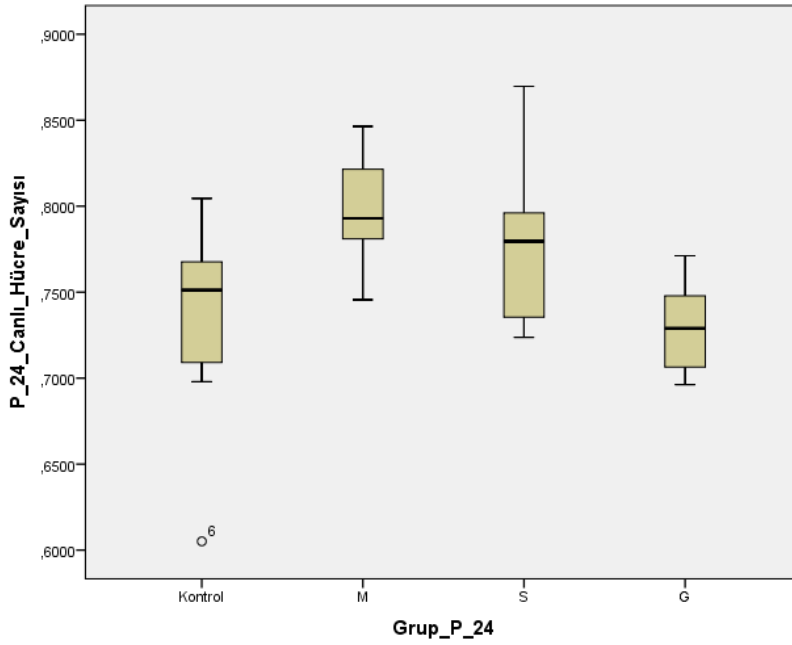
1/1000 konsantrasyonda, 1/2000 ve 1/4000 konsantrasyonlara göre canlı hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır. 1/2000 konsantrasyonda 1/4000 konsantrasyona göre hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

#### 4.5. Polimerize Edilen Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Hücre Canlılığı

##### Değerlendirmeleri:

#### 4.5.1. Polimerize Edilen Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 24 Saat Sonraki Hücre

##### Canlılığı Değerlendirmeleri:



**Şekil 4. 10.** Polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerin 24 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik

**Tablo 4.10.** Polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerde 24 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

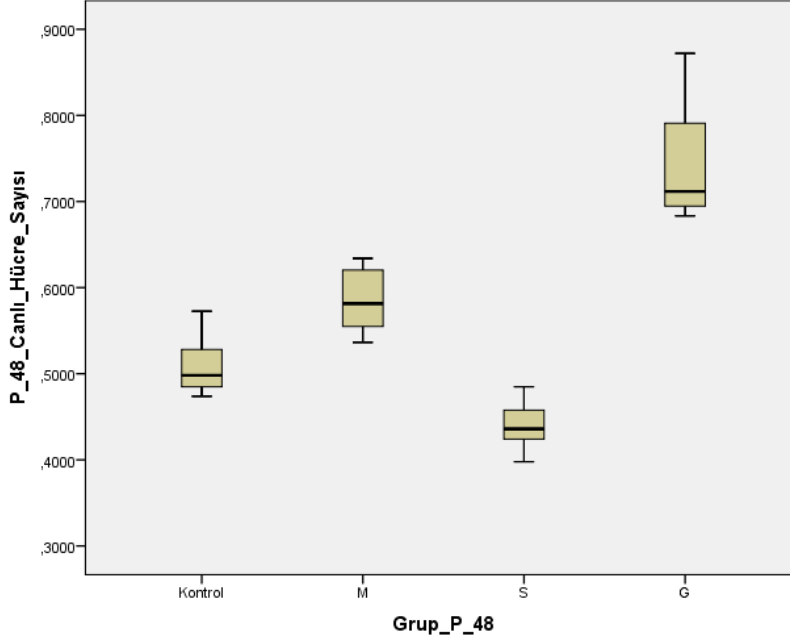
P-24	N	Ortalama± SS	P değeri			
			Kontrol	M	S	G
Kontrol	8	0,73 ± 0,06		0,032	0,217	0,998
M	8	0,80 ± 0,03			0,780	0,021
S	8	0,78 ± 0,04				0,158
G	8	0,73 ± 0,03				

Polimerize edilmiş dentin bağlayıcı sistemlerde 24 saat sonra 3M ESPE Universal Single Bond'da kontrol grubuna göre canlı hücre sayısını anlamlı derecede arttırırken, polimerize edilmiş Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus ve Gaenial Bond'da kontrol grubuna göre hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Gaenial Bond'da, 3M ESPE Universal Single Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalırken, Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus ile arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. 3M ESPE Universal Single Bond ve Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus arasında hücre canlılığı açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

#### 4.5.2. Polimerize Edilen Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 48 Saat Sonraki Hücre

#### Canlılığı Değerlendirmeleri:



**Şekil 4. 11.** Polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerin 48 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik

**Tablo 4.11.** Polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerde 48 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

P-48	N	Ortalama± SS	P değeri			
			Kontrol	M	S	G
Kontrol	8	0,51 ± 0,03		0,003	0,002	0,001
M	8	0,59 ± 0,04			0,001	0,001
S	8	0,44 ± 0,03				0,001
G	8	0,74 ± 0,78				

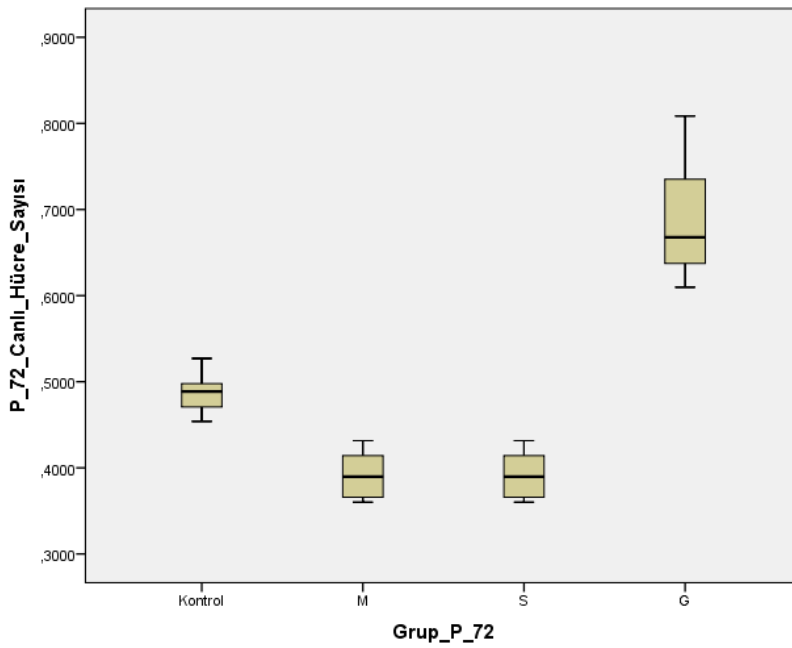
(Bonferroni düzeltmesi  $p < 0,00833$ )

Polimerize edilmiş dentin bağlayıcı sistemlerde 48 saat sonra 3M ESPE Universal Single Bond ve Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'ta kontrol grubuna göre canlı hücre

sayısı anlamlı derecede artarken, polimerize edilmiş Gaenial Bond'da kontrol grubuna göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır.

Gaenial Bond'da, 3M ESPE Universal Single Bond'a ve Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede artmıştır. Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus, 3M ESPE Universal Single Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır.

#### 4.5.3. Polimerize Edilen Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 72 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri:



Şekil 4.12. Polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerin 72 saat sonraki MTT testi sonuçlarını gösteren grafik

**Tablo 4.12.** Polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerde 72 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

P-72	N	Ortalama± SS	P değeri			
			Kontrol	M	S	G
Kontrol	8	0,49 ± 0,02		0,001	0,001	0,000
M	8	0,39 ± 0,03			1	0,000
S	8	0,39 ± 0,03				0,000
G	8	0,69 ± 0,07				

Polimerize edilmiş dentin bağlayıcı sistemlerde 72 saat sonra 3M ESPE Universal Single Bond ve Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus’da kontrol grubuna göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalırken, polimerize edilmiş Gaenial Bond’da kontrol grubuna göre artmıştır.

3M ESPE Universal Single Bond’da Gaenial Bond’ a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalırken, Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus ile arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. 3M ESPE Universal Single Bond ve Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus arasında hücre canlılığı açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

#### **4.6. Farklı Konsantrasyonlarda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 24, 48 ve72 Saat Sonunda Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri**

##### **4.6.1. 1/1000’lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 24 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri**



**Tablo 4.13.** 1/1000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 24 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

1/1000(t 24)	N	Ortalama± SS	P değeri		
			M	S	G
M	8	0,07 ± 0,00		0,985	0,000
S	8	0,07 ± 0,00			0,000
G	8	0,33 ± 0,04			

1/1000'lik konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerin 24 saat sonra 3M ESPE Universal Single Bond ve Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus arasında hücre canlılığı açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Ancak Gaenial Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır.

#### 4.6.2. 1/1000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 48 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri

**Tablo 4.14.** 1/1000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 48 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

1/1000(t 48)	N	Ortalama± SS	P değeri		
			M	S	G
M	8	0,07 ± 0,00		0,001	0,001
S	8	0,08 ± 0,00			0,001
G	8	0,19 ± 0,04			

(Bonferroni düzeltmesi p<0,016)

1/1000'lik konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerin 48 saat sonra 3M ESPE Universal Single Bond'da, Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'a ve Gaenial Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır. 3M ESPE Universal Single Bond'da ise Gaenial Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır.

#### 4.6.3. 1/1000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 72 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri

**Tablo 4.15.** 1/1000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 72 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

1/1000(t 72)	N	Ortalama± SS	P değeri		
			M	S	G
M	8	0,08 ± 0,00		0,599	0,001
S	8	0,08 ± 0,02			0,001
G	8	0,20 ± 0,04			

(Bonferonni düzeltmesi p<0,016)

1/1000'lik konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerin 72 saat sonra 3M ESPE Universal Single Bond ve Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'da Gaenial Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır. 3M ESPE Universal Single Bond ile Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus arasında hücre canlılığı açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

#### 4.6.4. 1/2000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 24 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri

**Tablo 4.16.** 1/2000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 24 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

1/2000(t 24)	N	Ortalama± SS	P değeri		
			M	S	G
M	8	0,42 ± 0,14		,001	,001
S	8	0,09 ± 0,02			,001
G	8	0,67 ± 0,03			

(Bonferroni düzeltmesi  $p<0,016$ )

1/2000'lik konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerin 24 saat sonra Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'da, 3M ESPE Universal Single Bond ve Gaenial Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır. 3M ESPE Universal Single Bond'da ise Gaenial Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır.

#### 4.6.5. 1/2000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 48 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri

**Tablo 4.17.** 1/2000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 48 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

1/2000(t 48)	N	Ortalama± SS	P değeri		
			M	S	G
M	8	0,65 ± 0,06		0,000	0,014
S	8	0,07 ± 0,00			0,000
G	8	0,71 ± 0,03			

1/2000'lik konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerin 48 saat sonra Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'da, 3M ESPE Universal Single Bond ve Gaenial Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır. 3M ESPE Universal Single Bond'da ise Gaenial Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır.

#### 4.6.6. 1/2000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 72 Saat Sonraki Sitotoksiste Değerlendirmeleri

**Tablo 4.18.** 1/2000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 72 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

1/2000(t 72)	N	Ortalama± SS	P değeri		
			M	S	G
M	8	0,64 ± 0,04		0,000	0,005
S	8	0,07 ± 0,00			0,000
G	8	0,69 ± 0,02			

1/2000'lik konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerin 72 saat sonra, Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'da, 3M ESPE Universal Single Bond'a ve Gaenial Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır. 3M ESPE Universal Single Bond'da ise Gaenial Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır.

#### 4.6.7. 1/4000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 24 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri

**Tablo 4.19.** 1/4000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 24 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

1/4000(t 24)	N	Ortalama± SS	P değeri		
			M	S	G
M	8	0,58 ± 0,12		0,023	0,007
S	8	0,47 ± 0,05			0,000
G	8	0,72 ± 0,04			

1/4000'lik konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerin 24 saat sonra Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus'da, 3M ESPE Universal Single Bond ve Gaenial Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır. 3M ESPE Universal Single Bond ise Gaenial Bond'a göre canlı hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır.

#### 4.6.8. 1/4000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 48 Saat Sonraki Hücre Canlılığı Değerlendirmeleri

**Tablo 4.20.** 1/4000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 48 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

1/4000(t 48)	N	Ortalama± SS	P değeri		
			M	S	G
M	8	0,63 ± 0,09		0,834	0,036
S	8	0,65 ± 0,07			0,059
G	8	0,72 ± 0,03			

(Bonferroni düzeltmesi  $p < 0,016$ )

1/4000'lik konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerin 48 saat sonra Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus, 3M ESPE Universal Single Bond ve Gaenial Bond'un arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

#### 4.6.9. 1/4000'lik Konsantrasyonda Uygulanan Dentin Bağlayıcı Sistemlerin 72 Saat Sonraki Sitotoksiste Değerlendirmeleri

**Tablo 4.21.** 1/4000 konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemler 72 saat sonra kalan canlı hücre sayılarının karşılaştırılması

1/4000(t 72)	N	Ortalama± SS	P değeri		
			M	S	G
M	8	0,70 ± 0,06		0,206	0,870
S	8	0,74 ± 0,03			0,083
G	8	0,69 ± 0,03			

1/4000'lik konsantrasyonda uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerin 72 saat sonra Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus, 3M ESPE Universal Single Bond ve Gaenial Bond'un arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

## 5. TARTIŞMA

Diş hekimliğinde farklı içerik ve özelliklere sahip değişik materyaller üretilmektedir. Bu materyaller diş dokularıyla direkt temas etmektedir. Kullanılan materyallerin fiziksel ve mekanik özelliklerinin yanı sıra biyolojik özelliklerinin uyumlu olması göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Biyolojik özellikleri uyumlu olmayan materyaller lokal, sistemik toksisite ve alerji gibi bazı olumsuz doku reaksiyonlarına neden olabilmektedir (38, 62).

Literatürde rezin içerikli dental materyallerden polimerize edilmeden veya polimerizasyon sonrası farklı monomerler salınabileceği bildirilmiştir (63-65). Materyalden salınan monomerler ve uygulanan yüzeyin özellikleri materyalin biyolojik uyumluluğunu belirlemektedir (66). Dentin kanalları gibi nemli bir ortama uygulanan polimerize edilmemiş monomerler dentin tübüllerinden pulpaya ulaşabilmektedir. Salınan monomerlerin pulpada biyolojik etkilere yol açtığı belirlenmiştir (67, 68). Çalışmamızda diş hekimliğinde yaygın kullanım alanı olan ve yeni geliştirilen üç tek aşamalı self etch dentin bağlayıcı sistemin pulpa fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Dental materyallerin sitotoksisite çalışmalarında genellikle hayvan deneyleri ve hücre kültür testleri kullanılmaktadır. Hayvan deneyleri uzun zaman almaktadır, pahalıdır ve etik problemler ortaya çıkarmaktadır (69). Ancak hücre kültürü testleri, şartların kontrol edilebilir olması ve hücre sitotoksisite mekanizmasını anlamamızı sağlayan, uygulanması kolay çalışmalardır. Hücre kültürü çalışmalarının sonuçları standardize edilebilmektedir. Bunun nedeni çalışmanın aynı koşul ve şartlarda tekrar edilebilmesi olanağıdır. Ayrıca in vitro çalışmalar in vivo çalışmalar için yönlendirici olmaktadır (40, 70). Tüm bu nedenlerden dolayı, çalışmamızda dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksik etkileri hücre kültür testi kullanılarak araştırılmıştır.

Dental materyallerin biyolojik uyumu in vitro koşullarda test edilirken, çalışmaları birbiriyle kıyaslamak için standardize edilmiş çalışmaların üzerinde durulmaktadır (71). Bunun nedeni, farklı test yöntemleri ile aynı materyal için farklı sonuçlar elde edilebilmesidir (72). Çalışmanın tekrarlanabilir olması ve farklı koşullarda elde edilen verilerin karşılaştırılabilir olması gibi avantajları bulunmaktadır. Ancak, standardize edilmiş uygulamalar zaman alıcıdır. Yeni test yöntemlerinin geliştirilmesine

engel olabilmektedir. Bunun nedeni, gelişen teknolojinin, standartların devamlılık isteyen gelişimini güçlendirmiş olabileceğidir (40). Deney koşulları uygun olursa standart test yöntemleri kullanılması ve kullanılmadığı durumlarda ise açıklayıcı nedenlerinin belirtilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (44). Çalışmamızda ISO 7405 (73) ve ISO 10993:5 (57)'da in vitro sitotoksikite testlerinde kullanılması önerilen direkt temas testi kullanılmıştır.

Dental materyallerin sitotoksik etkilerinin değerlendirildiği in vitro testlerde materyallerin in vivo ortamda oluşan temas şekilleri taklit edilmeye çalışılmaktadır (71). Hücre kültürlerine uygulanan materyalin hücre ile temas şekline göre direkt temas testi (74), ekstrakt yöntemi (75) veya bariyer olarak kullanılan bir maddenin bulunduğu indirekt temas testi (76) kullanılmaktadır. İndirekt temas testi kalan dentin tabakasını taklit eden bariyerlerin kullanıldığı bir yöntem olmasına rağmen dentin geçirgenliğinin değişkenlik göstermesi ve bariyer test düzeneğinin hazırlanmasındaki zorluklar nedeniyle direkt temas testi sıklıkla kullanılmaktadır (75, 76). Bu nedenle, çalışmamızda direkt temas testi kullanılmıştır.

Dentin bağlayıcı sistemler pulpayla direkt temas etmemektedir. Ancak, pulpa rezin içerikli sistemlerin akut toksik etkilerine maruz kalmaktadır. Bunun nedeni, çürüğün temizlenmesi sırasında pulpaya yaklaştıkça dentin tübüllerinin çaplarının giderek artmasıdır (6). Dentin bağlayıcı sistemlerin toksik etkisi de, pulpa nekrozuna, programlanmış hücre ölümüne (apoptoz) ve sağlıklı pulpa gelişiminin engellenmesine neden olabilmektedir (7). Çalışmamızda dentin bağlayıcı sistemlerden elde edilen 1/1000, 1/2000 ve 1/4000 oranlarındaki seri dilüsyonlar hücrelerin inkübe edildikleri kuyucuklara yerleştirilmiş, hücreler bağlayıcı ajanlarla direkt olarak temas ettirilmiştir. Böylece dentin geçirgenliğindeki değişiklikler elimine edilmiş ve bağlayıcı ajanın farklı oranlardaki seri dilüsyonlarının hücreler üzerindeki sitotoksik etkileri gözlemlenmiştir.

Direkt temas testi ve ekstrakt yönteminde uygulanacak materyallerin hem direkt temasında, hem de hücrelerden uzakta oluşturabileceği etkiler belirlenebilmektedir. Ayrıca, materyal ekstraktlarının bir diğer avantajı ise, seri dilüsyonlar hazırlanarak doz-cevap ilişkisinin gözlemlenebilmesine olanak tanınması ve test edilen hücreler üzerindeki ideal konsantrasyonun belirlenmesine yardımcı olabilmesidir (77).

Direkt temas testinde, hücre ve materyaller direkt olarak temas ettikleri için klinik uygulamalara göre daha yüksek sitotoksik etki gösterebilmektedir. Ancak bu



yöntem klinik olarak bire bir uyumlu olmasa da tarama ve değerlendirme testleri olarak kabul edilmektedir (44).

İn vitro hücre kültürü çalışmalarında materyallerin etkisinin inceleneceği hücre tipi önemli bir faktördür (57). Bu sebeple, materyallerin uygulandığı doku diş pulpası ise, pulpanın temel hücreleri olan fibroblastlar veya odontoblastlar bu çalışmalar için uygun hücre tipleridir (78, 79). Çalışmalarda devamlı hücre hatları (cell line) HELA, 3T3 ve L 929 hücreleri de kullanılmaktadır. Aynı zamanda primer/ diploid hücre hatları olan gingival, mukozal ve pulpal fibroblastlar kullanılmaktadır (53). Çalışmamızda diş pulpasının asıl hücreleri olan fibroblast hücreleri (80) kullanılmış ve böylece uygulanan materyalin diş pulpası hücreleri üzerindeki etkisine en benzer sonuçların elde edilmesi amaçlanmıştır.

İn vitro sitotoksikite çalışmalarında diş pulpası kök hücreleri, kolayca elde edilebilmesi ve deneyler için yeterli hücre sayısına kolayca ulaşabilmesi nedenlerinden dolayı sıklıkla kullanılabilir. Shafei ve arkadaşları rezin kompozitlerin sitotoksik etkilerini incelemek için pulpa fibroblastlarını ve diş pulpası kök hücrelerini kullandıklarında pulpa fibroblastlarının daha duyarlı olduğu sonucuna ulaşmışlardır (54). Çalışmamızda pulpa fibroblast hücrelerini kullanarak daha hassas sonuçlar elde edilmesi planlanmıştır.

Hücre kültürü çoğaltılarak veya ticari olarak elde edilebilen devamlı hücre hatları uygun ortam oluşturulduğunda sürekli üreme potansiyeline sahip olmaktadır (53). Ancak primer hücre hatları yavaş üremektedir ve yaşam süreleri kısıtlı olmaktadır (44). Buna rağmen primer hücre hatları orijinal doku hücrelerine benzerlikleri nedeniyle spesifik metabolik yanıt açısından canlı organizmaya en yakın deneysel koşullar oluşturulmasını sağlamaktadır (55). Bu nedenle çalışmamızda primer hücre hatları üzerinde çalışılmıştır.

Farklı bireylerden aynı türde doku hücreleri elde edilmesine rağmen hücre kültürü ortamında farklı reaksiyonlar gösterebilmektedir. Moule ve arkadaşları pulpa fibroblast hücreleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, elde edilen fibroblast hücrelerinin, proliferatif aktiviteleri esnasında yüksek oranda bir çeşitlilik olduğunu bildirmişlerdir. Bu çeşitliliğin kişinin yaşı, alınan dokunun kaynağı ve pasaj sayısı ile ilgili olmadığını belirtmişlerdir (81). Bu sorunlara engel olabilmek için diğer hücre dizinleri kullanılabilir. Ancak orijinal doku hücresine benzemeyen bu hücrelerin, spesifik

metabolik yanıt geliřtirmesinin zor olabileceđi dűřünűlműřtür. Bu nedenle, çalıřmamızda orijinal dokuya benzeyen primer fibroblast hűcre hatları kullanılmıřtır.

Test edilecek materyallerin hűcre kűltűrleri űzerindeki sitotoksik etkilerinin incelenmesi için çeřitli yűntemler kullanılmaktadır. Canlı kalan hűcrelerin sayılması, proliferasyon oranının deđerlendirilmesi, hűcredeki molekűler sentez veya enzim aktivitesinin belirlenmesi bu yűntemlerden bazılarıdır (71).

Sitotoksisite testleri hűcre kűltűrű deđerlendirmelerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Hűcrelerin ۆlűmű en ۆnemli deđerlendirme kriteri olarak gۆrűlmektedir. Yapılan çalıřmaların bűyűk bir çođunluđunda sitotoksisite deđerlendirmeleri, Sűksinik Dehidrogenaz isimli mitokondri enziminin aktivitesine bađlı olan MTT testi kullanılarak deđerlendirilmiřtir (82-85).

Çalıřmamızda, diř hekimliđinde yaygın kullanım alanı olan dentin bađlayıcı sistemlerin sitotoksik etkilerinin deđerlendirilmesi için direkt temas testi kullanılmıř ve farklı oranlarda dilűsyonlar ile bađlayıcı sistem bileřenleri insan diři pulpa fibroblastlarının űzerine uygulanmıřtır. Bűtűn materyallerde 1/1000' lik dilűsyonlarda canlı hűcre sayısının azalması, konsantrasyon azaldıkça hűcre canlılıđı űzerindeki etkinin azalması materyalde bulunan zararlı monomer miktarının da orantılı olarak azalmasına bađlı olduđu dűřünűlműřtür. Materyallerin dilűe edilmesi sitotoksik etkilerini azaltmaktadır. Ancak, dilűe edilen materyalin fiziksel ve mekanik ۆzelliklerinin arařtırılması gerekecektir. Bununla birlikte bűtűn materyallerde en az iki defa (farklı zamanlarda, farklı oranlarda) kontrol grubuna gۆre canlı hűcre sayısının arttıđı gۆzlenmiřtir. Bu etkinin kullandıđımız materyallerin karsinojenik etkisinin olabileceđini aklımıza getirmektedir. Bađlayıcı sistemlerin kullanılmasının sađladıđı klinik ۆnemi kabul etmekteyiz ancak çalıřmamızda gۆzlemlediđimiz proliferatif etkinin tam olarak ne anlama geldiđi hakkındaki dűřűncemizi gerçekleřtirmek için gelecek çalıřmalar planlanmıřtır.

Dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksik etkisinin değişkenlik gۆstermesi nedeniyle, bu etkiye neden olan bileşenlerin tespit edilebilmesi için çalışmalar yapılmıştır ve bağlayıcı sistemlerin içeriğindeki monomerlerin bu etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (86, 87).

Dentin bağlayıcı sistemlerde bulunan TEGDMA ve HEMA gibi monomerler dentin tübülleri aracılığıyla pulpaya ulaşabilir ve yüksek konsantrasyonlarda pulpada hasar oluşturabilir (61). Chen ve arkadaşları 1/1000, 1/2000 ve 1/4000 oranlarında kullandıkları dentin bağlayıcı sistemlerin pulpa fibroblastları üzerindeki sitotoksik etkilerini inceledikleri çalışmada 1/1000 oranındaki dilüsyonlarda sitotoksik etkiyi en yüksek değerde bulmuşlardır. Ayrıca monomerlerin birbiriyle etkileşimlerini de farklı pulpa reaksiyonlarını açıklayabileceğini belirtmişlerdir. Operatif işlemler, kalan dentin kalınlığı ve dentin geçirgenliğine bağlı olarak pulpal yanıtın değişebileceğini bildirmişlerdir (88).

Farklı dentin bağlayıcı sistemlerin ( Clearfil Protect Bond, Adper Stochbond, Xeno III, Prime& Bond NT) sitotoksik etkilerinin karşılaştırıldığı çalışmada en fazla toksisite Xeno III sistemde görülmüştür. Ardından Clearfil Protect Bond toksik bulunmuştur. Protect Bond' un primer kısmı Bond kısmından 3 kat daha fazla toksik bulunmuştur. Bunun nedeninin primer kısımda bulunan MDPB monomeri olabileceğini bildirmişlerdir (89). Çalışmamızda benzer şekilde MDP monomeri içeren Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus ve 3M ESPE Universal Single Bond kontrol grubuna ve Gaenial Bond' a göre anlamlı derecede sitotoksik bulunmuştur. MDP monomeri antibakteriyel bir kimyasal maddedir. Bu maddenin diğer monomere benzediği veya daha düşük sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir (90, 91).

Dentin Bağlayıcı sistemlerde bulunan HEMA, TEGDMA ve UDMA gibi rezin monomerler sitotoksik etki göstermektedir. Ayrıca çözücü nitelikte olan diğer monomerler ve bu bileşenlerin birbirleriyle etkileşiminin de sitotoksik etkiyi arttırabileceğini düşünülmektedir (61, 82). Bu durum sitotoksik etkinin sadece MDP monomer içeriğine bağlı olmadığını göstermektedir. Rezin içerikli dental materyallerin sitotoksik etkisi suda çözünebilen bileşenlerinin kültür medyumuna içerisindeki konsantrasyonu ile ilgili olabilir. Dentin bağlayıcı sistemlerin farklı rezin monomer oranları bu materyallerin farklı sitotoksik cevaplarını açıklayabilir (88). Dentin bağlayıcı sistemlerin polimerize edilmemiş kısmının ağırlık olarak % 10-20'sinin kültür medyumunda çözünmekte olduğunu, polimerize edilmiş kısmının % 1,5-2,5' inin çözündüğü bildirilmiştir (92). Çalışmamızda polimerize edilmemiş bağlayıcı sistemlerin sitotoksik etki açısından polimerize edilmiş bağlayıcı sistemlere göre genel olarak anlamlı derecede sitotoksik etki gösterdiği saptanmıştır.

Polimerize edilmeden uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerde oluşan sitotoksik etkinin materyallerin içeriğindeki asidik ajan olabileceği belirtilmiştir. Seri dilüsyonların hazırlanması sırasında kültür medyumunun renginin kırmızıdan sarıya dönmesini materyallerin asidik özelliğine bağlanmıştır (93). Çalışmamızda kullandığımız dentin bağlayıcı sistemlerde bulunan polialkenoik asit içeriğinin sitotoksik etkinin artmasında etkili olduğu düşünülmüştür.

Üç farklı dentin bağlayıcı sistemin (Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus, XP Bond ve AdheSE Bond) fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri incelenmiştir. Bağlayıcı sistemler arasında XP Bond en sitotoksik ajan olarak bulunmuştur. AdheSE Bond ise çok az sitotoksik etki göstermiştir (94). Bu sonucun XP Bond' un içeriğinde bulunan UDMA ve TEGDMA monomerleri ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca rezinin moleküler ağırlığına ve bileşenlerin tipine bağlı olabileceği bildirilmiştir. Bu monomerlerden HEMA'nın düşük moleküler ağırlığa sahip olduğunu BisGMA, UDMA ve TEGDMA'dan daha az toksik olduğu bildirilmiştir. Benzer çalışmalarda BisGMA ve UDMA resin monomerler fibroblast hücreleri üzerinde yüksek sitotoksik etki gösterirken HEMA ve TEGDMA'nın ise orta derecede sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir (61, 95, 96). Çalışmamızda BisGMA içeriğine sahip Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus' un diğer bağlayıcı sistemlere göre anlamlı derecede sitotoksik etki gösterdiği görülmektedir. Ayrıca bu sistemde bulunan florid'in sitotoksik etkiyi şiddetlendirdiği düşünülmüştür. Aynı zamanda Gaenial Bond'un içeriğinden diğer iki bağlayıcı sistemde bulunan HEMA resin monomeri çıkarılmıştır. Bu durumun Gaenial Bond sistemin diğer sistemlere göre daha az sitotoksik etki göstermesinde etkili olduğu düşünülmüştür.

Dentin bağlayıcı sistemlerde bulunan resin monomerlerin pulpa üzerindeki sitotoksik etkisinde dentin dokusunun bariyer özelliği göz önünde bulundurulmalıdır. Farklı bağlayıcı sistemlerle yapılan, dentin geçirgenliğinin etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada yüksek geçirgenliğe sahip dentin dokusunun daha fazla difüzyon gösterdiği belirtilmiştir. Bununla birlikte bu difüzyonun dentin geçirgenliğinden çok materyalin içeriğine bağlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca test edilen materyallerin sitotoksik etkisi zamanla azalmıştır. Zamanla sitotoksik etkide anlamlı derecede düşüş görüldüğü bildirilmiştir (97).

Dentin bağlayıcı sistemlerin dentin tabakasına uzun süreli temas etmesi ile içeriğindeki monomerlerin etkisini arttırdığı bildirilmiştir. Monomerlerin temas etme

süresinin dentin bağlayıcı sistemlerin toksisitesi üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (61). Bu nedenle çalışmamızda kısa, orta ve uzun dönemde meydana gelen sitotoksik etkinin değerlendirilmesi amacıyla test materyalleri üç farklı zaman diliminde (24,48 ve 72 saat) uygulanmıştır. Dentin bağlayıcı sistemlerin süreye bağlı olarak sitotoksik etkilerinin değişkenlik gösterdiği gözlemlenmiştir.

Kullandığımız dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksik etkisinin zamana bağlı olarak değişkenlik gösterdiği (24, 48 ve 72 saat) sonucuna ulaşılmıştır. Bağlayıcı sistemlerin kültür hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin ilk temas ettiği zamanda akut olarak meydana geldiği, sitotoksik etkinin geçen zamana bağlı olmadığı, bağlayıcı sistemlerin içeriğindeki resin monomer ve diğer bileşenlerin bu etkiyi oluşturabileceği düşünülmüştür.

Yasuda ve arkadaşları tek aşamalı beş dentin bağlayıcı sistemin (AQ Bond Plus, Clearfil Tri-S Bond, G-bond, Adper Prompt ve Absolute) insan pulpa hücresi ve odontoblast benzeri hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerini inceledikleri çalışmada polimerize edilmiş örneklerin polimerize edilmeden uygulanan örneklerden daha az sitotoksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Sitotoksik etkinin zamana bağlı olarak ortaya çıktığını 72 saat sonundaki hücre canlılık oranının 24 saat sonraki hücre canlılık oranına göre anlamlı olarak daha az olduğunu belirtmişlerdir (98). Benzer bir çalışmada 24 ve 48 saat sonra en fazla sitotoksik etkiyi BisGMA grubunun gösterdiği, sonrasında UDMA ve TEGDMA' nın bu etkiyi sırayla izlediği ifade edilmiştir (99).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Tek aşamalı uygulanıp polimerize edilebilen üç farklı dentin bağlayıcı sistemin kullanıldığı polimerizasyon öncesi ve sonrası sitotoksitelerinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen bulgulara göre;
- İncelenen dentin bağlayıcı sistemler birbiriyle karşılaştırıldıklarında Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus grubu sitotoksik etki açısından anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Bu durumun Clearfil S<sup>3</sup> Bond Plus grubunun içeriğinde bulunan BisGMA, HEMA ve florid monomerleriyle ilgili olabileceğini düşünmekteyiz.
- Çalışmada kullandığımız tek aşamalı dentin bağlayıcı sistemler birbiriyle karşılaştırıldıklarında Gaenial Bond grubu sitotoksik etki açısından anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. Bu durum, Gaenial Bond grubunun BisGMA, MDP ve HEMA monomerlerini yapısında bulundurmamasından kaynaklanmış olabilir.
- Polimerize edilmeden uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerin tümünde 1/1000' lik dilüsyonları anlamlı derecede en fazla sitotoksik etki gösterirken, konsantrasyon azaldıkça sitotoksik etkinin azaldığı görülmüştür. Bu durum bağlayıcı sistemlerdeki sitotoksik etkinin monomer miktarının orantılı olarak azalmasına bağlı olduğu anlamına gelebilir.
- Polimerize edilmeden uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerin insan pulpa fibroblastları üzerindeki sitotoksik etkisi polimerize edilmiş dentin bağlayıcı sistemlere göre değişkenlik göstermektedir.
- Bu çalışmada dentin bağlayıcı sistemlerin zamana bağlı olarak gösterdikleri sitotoksik etki değişkenlik göstermiştir. Bağlayıcı sistemlerin kültür hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini ilk temas ettiği anda akut olarak meydana geldiğini, sitotoksik etkinin asıl nedeninin bağlayıcı sistemlerin içeriğindeki rezin monomer ve diğer bileşenlerin olduğunu düşünmekteyiz.

- Tüm dentin bağlayıcı sistemler farklı zaman ve farklı konsantrasyonlarda en az iki defa kontrol grubuna göre proliferatif etki göstermiştir. Bu etki, kullandığımız sistemlerin karsinojen olabileceğini aklımıza getirmektedir. Proliferatif etkinin tam olarak ne anlama geldiği hakkındaki düşüncemizi gerçekleştirmek için gelecekte çalışmalar planlanmıştır.

Bu sonuçlar doğrultusunda dentin bağlayıcı sistemlerin uygulama kolaylığı sağlaması açısından bazı avantajları bulunsa da sitotoksik etki açısından bazı dezavantajları bulunabilir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar test edilen dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksik etkileriyle ilgili olarak ön bilgi vermektedir. Bu sonuçların klinik geçerliliği için ileri in vitro testler yapılması ve hayvan testleri ile sonuçların desteklenmesi gerekmektedir.

Dentin bağlayıcı sistemlerin kullanılmasının sağladığı klinik önemi kabul etmekteyiz ancak çalışmamızda gözlemlediğimiz proliferatif etkinin incelenmesi gerekmektedir.

Kullanılan bağlayıcı sistemlerin diş hekimliğindeki önemi ve yeri gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle dentin bağlayıcı sistemlerin biyolojik uyumunun artırılması için çeşitli tedbirlerin alınması gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Van Meerbeek, B., Inoue, S., Perdigao, J., Lambrechts, P. C., Vanherle, G. (2001). Fundamentals of Operative Dentistry. A Contemporary Approach. *Enamel and dental adhesion*. Illinois, Quintessece Publishing Co, Ltd. (In Schwartz RS, Summitt JB, Robbins JW, Dos Santos JJ.). 178–235.
2. Watanabe, I., Nakabayashi, N., Pashley, D. (1994). Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. *Journal of dental research*. 73 (6). 1212-1220.
3. Kim, Y. K., Mai, S., Mazzoni, A., Liu, Y., Tezvergil-Mutluay, A., Takahashi, K. ve diğ erleri. (2010). Biomimetic remineralization as a progressive dehydration mechanism of collagen matrices--implications in the aging of resin-dentin bonds. *Acta Biomater*. 6 (9). 3729-3739.
4. Teixeira, H. M., Do Nascimento, A. B., Hebling, J., De Souza Costa, C. A. (2006). In vivo evaluation of the biocompatibility of three current bonding agents. *J Oral Rehabil*. 33 (7). 542-550.
5. Saw, T. Y., Cao, T., Yap, A. U., Lee Ng, M. M. (2005). Tooth slice organ culture and established cell line culture models for cytotoxicity assessment of dental materials. *Toxicol In Vitro*. 19 (1). 145-154.
6. Samuelsen, J. T., Dahl, J. E., Karlsson, S., Morisbak, E. Becher, R. (2007). Apoptosis induced by the monomers HEMA and TEGDMA involves formation of ROS and differential activation of the MAP-kinases p38, JNK and ERK. *Dent Mater*. 23 (1). 34-39.
7. Samuelsen, J. T., Holme, J. A., Becher, R., Karlsson, S., Morisbak, E., Dahl, J. E. (2008). HEMA reduces cell proliferation and induces apoptosis in vitro. *Dent Mater*. 24 (1). 134-140.
8. Pashley, D. H., Pashley, E. L., Carvalho, R. M., Tay, F. R. (2002). The effects of dentin permeability on restorative dentistry. *Dent Clin North Am*. 46 (2). 211-245, v-vi.
9. Doughles, W. H. (1989). Clinical status of dentine bonding agents. *Journal of Dentistry*. 17. 214-215.
10. Duke, E. S. (1993). Adhesion and its application with restorative materials. *Dent Clin North Am*. 37 (3). 329-340.



11. Van Meerbeek, B., Vargas, S., Inoue, S., Yoshida, Y., Peumans, M., Lambrechts, P., Vanherle, G. (2001). Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Operative Dentistry*. 6. 119-144.
12. Van Meerbeek, B., Perdigao, J., Lambrechts, P., Vanherle, G. (1998). The clinical performance of adhesives. *Journal of Dentistry*. 26 (1). 1-20.
13. Kugel, G., Ferrari, M. (2000). The science of bonding: from first to sixth generation. *J Am Dent Assoc*. 131 Suppl. 20S-25S.
14. Perdigao, J. (2010). Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater*. 26 (2). e24-37.
15. Swift, E. J., Jr. Bayne, S. C. (1997). Shear bond strength of a new one-bottle dentin adhesive. *Am J Dent*. 10 (4). 184-188.
16. Van Meerbeek, B., De Munck, J., Yoshida, Y., Inoue, S., Vargas, M., Vijay, P. ve diğeri. (2003). Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*. 28 (3). 215-235.
17. De Munck, J., Van Landuyt, K., Peumans, M., Poitevin, A., Lambrechts, P., Braem, M. ve diğeri. (2005). A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*. 84 (2). 118-132.
18. Tay, F. R., Pashley, D. H. (2001). Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater*. 17 (4). 296-308.
19. Yoshida, Y., Nagakane, K., Fukuda, R., Nakayama, Y., Okazaki, M., Shintani, H. ve diğeri. (2004). Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res*. 83 (6). 454-458.
20. Kimyai, S., Oskoe, S. S. (2006). Effect of 1-bottle light-cured adhesive acidity on microleakage of a self-cured composite. *Oper Dent*. 31 (6). 694-698.
21. Moszner, N., Salz, U., Zimmermann, J. (2005). Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: a systematic review. *Dent Mater*. 21 (10). 895-910.
22. Hashimoto, M., Fujita, S., Endo, K. (2011). Bonding of self-etching adhesives on dehydrated dentin. *J Adhes Dent*. 13 (1). 49-54.
23. Hiraishi, N., Breschi, L., Prati, C., Ferrari, M., Tagami, J., King, N. M. (2007). Technique sensitivity associated with air-drying of HEMA-free, single-bottle, one-step self-etch adhesives. *Dent Mater*. 23 (4). 498-505.

24. Furukawa, M., Shigetani, Y., Finger, W. J., Hoffmann, M., Kanehira, M., Endo, T. ve diğerleri. (2008). All-in-one self-etch model adhesives: HEMA-free and without phase separation. *J Dent.* 36 (6). 402-408.
25. Silva e Souza, M. H., Jr. Carneiro, K. G., Lobato, M. F., Silva e Souza Pde, A.de Goes, M. F. (2010). Adhesive systems: important aspects related to their composition and clinical use. *J Appl Oral Sci.* 18 (3). 207-214.
26. Ikemura, K., Endo, T. (2010). A review of our development of dental adhesives--effects of radical polymerization initiators and adhesive monomers on adhesion. *Dent Mater J.* 29 (2). 109-121.
27. Hashimoto, M. (2010). A review--micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 92 (1). 268-280.
28. Yoshida, Y., Van Meerbeek, B., Nakayama, Y., Snauwaert, J., Hellemans, L., Lambrechts, P. ve diğerleri. (2000). Evidence of chemical bonding at biomaterial-hard tissue interfaces. *J Dent Res.* 79 (2). 709-714.
29. Hackman, S. T., Pohjola, R. M., Rueggeberg, F. A. (2002). Depths of cure and effect of shade using pulse-delay and continuous exposure photo-curing techniques. *Oper Dent.* 27 (6). 593-599.
30. Yoon, T. H., Lee, Y. K., Lim, B. S., Kim, C. W. (2002). Degree of polymerization of resin composites by different light sources. *J Oral Rehabil.* 29 (12). 1165-1173.
31. Soh, M. S., Yap, A. U., Siow, K. S. (2004). Comparative depths of cure among various curing light types and methods. *Oper Dent.* 29 (1). 9-15.
32. Soh, M. S., Yap, A. U., Siow, K. S. (2003). The effectiveness of cure of LED and halogen curing lights at varying cavity depths. *Oper Dent.* 28 (6). 707-715.
33. Caughman, W. F., Rueggeberg, F. A. (2002). Shedding new light on composite polymerization. *Oper Dent.* 27 (6). 636-638.
34. Mills, R. W., Uhl, A., Blackwell, G. B., Jandt, K. D. (2002). High power light emitting diode (LED) arrays versus halogen light polymerization of oral biomaterials: Barcol hardness, compressive strength and radiometric properties. *Biomaterials.* 23 (14). 2955-2963.
35. Sharkey, S., Ray, N., Burke, F., Ziada, H., Hannigan, A. (2001). Surface hardness of light-activated resin composites cured by two different visible-light sources: an in vitro study. *Quintessence Int.* 32 (5). 401-405.

36. Tarle, Z., Meniga, A., Ristic, M., Sutalo, J., Pichler, G., Davidson, C. L. (1998). The effect of the photopolymerization method on the quality of composite resin samples. *J Oral Rehabil.* 25 (6). 436-442.
37. Wataha, J. C. (2001). Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J Prosthet Dent.* 86 (2). 203-209.
38. Edgerton, M., Levine, M. J. (1993). Biocompatibility: its future in prosthodontic research. *J Prosthet Dent.* 69 (4). 406-415.
39. Anusavice, K. J., Phillips, R. W., Shen, C., Rawls, H. R. (2012). *Phillips' science of dental materials* Elsevier Health Sciences.
40. Hanks, C. T., Wataha, J. C., Sun, Z. (1996). In vitro models of biocompatibility: a review. *Dental Materials.* 12 (3). 186-193.
41. Powers, J. M., Sakaguchi, R. L. (2006). *Craig's Restorative Dental Materials, 13/e* Elsevier India.
42. Schmalz, G. (2002). Materials science: biological aspects. *Journal of dental research.* 81 (10). 660-663.
43. Craig, R. (1997). Prosthetic applications of polymers. *Restorative dental materials.* 11.
44. Schmalz, G. (1994). Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials--advantages and limitations. *J Dent.* 22 Suppl 2. S6-11.
45. Freshney, I. (2001). Application of cell cultures to toxicology. *Cell Biol Toxicol.* 17 (4-5). 213-230.
46. Schmalz, G., Schuster, U., Nuetzel, K., Schweikl, H. (1999). An in vitro pulp chamber with three-dimensional cell cultures. *J Endod.* 25 (1). 24-29.
47. Cao, T., Saw, T. Y., Heng, B. C., Liu, H., Yap, A. U. Ng, M. L. (2005). Comparison of different test models for the assessment of cytotoxicity of composite resins. *J Appl Toxicol.* 25 (2). 101-108.
48. Freshney, R. I. (1987) *Culture of animal cells, a manual of basic technique.* Wiley Blackwell. 6. Edition
49. Thonemann, B., Schmalz, G., Hiller, K. A., Schweikl, H. (2002). Responses of L929 mouse fibroblasts, primary and immortalized bovine dental papilla-derived cell lines to dental resin components. *Dent Mater.* 18 (4). 318-323.
50. Caughman, W. F., Caughman, G. B., Dominy, W. T., Schuster, G. S. (1990). Glass ionomer and composite resin cements: effects on oral cells. *J Prosthet Dent.* 63 (5). 513-521.

51. Freshner, A. C. C., *A Practical Approach* (1992) Oxford/New York, IRL Press, Oxford University Press.
52. Stanley, H. (1992). Biological evaluation of dental materials. *International dental journal*. 42 (1). 37-46.
53. Feigal, R. J., Yesilsoy, C., Messer, H. H., Nelson, J. (1985). Differential sensitivity of normal human pulp and transformed mouse fibroblasts to cytotoxic challenge. *Arch Oral Biol*. 30 (8). 609-613.
54. Shafiei, F., Tavangar, M. S., Razmkhah, M., Attar, A., Alavi, A. A. (2014). Cytotoxic effect of silorane and methacrylate based composites on the human dental pulp stem cells and fibroblasts. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 19 (4). e350-358.
55. Al-Nazhan, S., Spangberg, L. (1990). Morphological cell changes due to chemical toxicity of a dental material: an electron microscopic study on human periodontal ligament fibroblasts and L929 cells. *J Endod*. 16 (3). 129-134.
56. Murray, P. E., García Godoy, C., García Godoy, F. (2007). How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet)*. 12 (3). 258-266.
57. ISO 10993-5. (1999). Biological evaluation of medical devices, Part 5: Test for in vitro cytotoxicity. In vitro methods. *Technical Report*.
58. Tuncer, S., Demirci, M. (2011). Dental materyallerde biyouyumluluk değerlendirmeleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi Dergisi*. (2).
59. Galluzzi, L., Aaronson, S. A., Abrams, J., Alnemri, E. S., Andrews, D. W., Baehrecke, E. H. ve diğerleri. (2009). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death Differ*. 16 (8). 1093-1107.
60. McGahon, A. J., Martin, S. J., Bissonnette, R. P., Mahboubi, A., Shi, Y., Mogil, R. J. ve diğerleri. (1995). The end of the (cell) line: methods for the study of apoptosis in vitro. *Methods Cell Biol*. 46. 153-185.
61. Ratanasathien, S., Wataha, J. C., Hanks, C. T., Dennison, J. B. (1995). Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. *J Dent Res*. 74 (9). 1602-1606.
62. Schweikl, H., Hiller, K. A., Bolay, C., Kreissl, M., Kreismann, W., Nusser, A. ve diğerleri. (2005). Cytotoxic and mutagenic effects of dental composite materials. *Biomaterials*. 26 (14). 1713-1719.

63. Ruyter, I. (1995). Physical and chemical aspects related to substances released from polymer materials in an aqueous environment. *Advances in Dental Research*. 9 (4). 344-347.
64. Geurtsen, W., Spahl, W., Leyhausen, G. (1999). Variability of cytotoxicity and leaching of substances from four light-curing pit and fissure sealants. *J Biomed Mater Res*. 44 (1). 73-77.
65. Gerzina, T. M., Hume, W. R. (1996). Diffusion of monomers from bonding resin-resin composite combinations through dentine in vitro. *J Dent*. 24 (1-2). 125-128.
66. Geurtsen, W. (2000). Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit Rev Oral Biol Med*. 11 (3). 333-355.
67. Stanislawski, L., Lefevre, M., Bourd, K., Soheili-Majd, E., Goldberg, M., Perianin, A. (2003). TEGDMA-induced toxicity in human fibroblasts is associated with early and drastic glutathione depletion with subsequent production of oxygen reactive species. *J Biomed Mater Res A*. 66 (3). 476-482.
68. Lefevre, M., Amjaad, W., Goldberg, M., Stanislawski, L. (2005). TEGDMA induces mitochondrial damage and oxidative stress in human gingival fibroblasts. *Biomaterials*. 26 (25). 5130-5137.
69. Schmalz, G., Schuster, U., Thonemann, B., Barth, M., Esterbauer, S. (2001). Dentin barrier test with transfected bovine pulp-derived cells. *J Endod*. 27 (2). 96-102.
70. Hensten-Pettersen, A. (1988). Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. *Int Endod J*. 21 (2). 89-99.
71. Schmalz, G. (1997). Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Investig*. 1 (4). 154-162.
72. Schmalz, G., Garhammer, P., Schweiki, H. (1996). A commercially available cell culture device modified for dentin barrier tests. *J Endod*. 22 (5). 249-252.
73. ISO 7405. (1997). Preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry. *Test methods*.
74. Schedle, A., Franz, A., Rausch-Fan, X., Spittler, A., Lucas, T., Samorapoompichit, P. ve diğeri. (1998). Cytotoxic effects of dental composites, adhesive substances, compomers and cements. *Dent Mater*. 14 (6). 429-440.

75. Selimovic-Dragas, M., Huseinbegovic, A., Kobaslija, S., Hatibovic-Kofman, S. (2012). A comparison of the in vitro cytotoxicity of conventional and resin modified glass ionomer cements. *Bosn J Basic Med Sci.* 12 (4). 273-278.
76. Wataha, J. C., Rueggeberg, F. A., Lapp, C. A., Lewis, J. B., Lockwood, P. E., Ergle, J. W. ve diğeri. (1999). In vitro cytotoxicity of resin-containing restorative materials after aging in artificial saliva. *Clin Oral Investig.* 3 (3). 144-149.
77. Keiser, K., Johnson, C. C., Tipton, D. A. (2000). Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *J Endod.* 26 (5). 288-291.
78. Thonemann, B., Schmalz, G. (2000). Bovine dental papilla-derived cells immortalized with HPV 18 E6/E7. *Eur J Oral Sci.* 108 (5). 432-441.
79. Galler, K. M., Schweikl, H., Thonemann, B., D'Souza, R. N., Schmalz, G. (2006). Human pulp-derived cells immortalized with Simian Virus 40 T-antigen. *Eur J Oral Sci.* 114 (2). 138-146.
80. Baume, L. J. (1979). The biology of pulp and dentine. A historic, terminologic-taxonomic, histologic-biochemical, embryonic and clinical survey. *Monographs in oral science.* 8. 1-220.
81. Moule, A. J., Li, H., Bartold, P. M. (1995). Donor variability in the proliferation of human dental pulp fibroblasts. *Aust Dent J.* 40 (2). 110-114.
82. Hashieh, I. A., Cosset, A., Franquin, J. C., Camps, J. (1999). In vitro cytotoxicity of one-step dentin bonding systems. *J Endod.* 25 (2). 89-92.
83. Schmalz, G., Schuster, U., Koch, A., Schweikl, H. (2002). Cytotoxicity of low pH dentin-bonding agents in a dentin barrier test in vitro. *J Endod.* 28 (3). 188-192.
84. Becher, R., Kopperud, H. M., Al, R. H., Samuelsen, J. T., Morisbak, E., Dahlman, H. J. ve diğeri. (2006). Pattern of cell death after in vitro exposure to GDMA, TEGDMA, HEMA and two compomer extracts. *Dent Mater.* 22 (7). 630-640.
85. Sengun, A., Buyukbas, S., Hakki, S. S. (2006). Cytotoxic effects of dental desensitizers on human gingival fibroblasts. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 78 (1). 131-137.

86. Hanks, C. T., Strawn, S. E., Wataha, J. C., Craig, R. G. (1991). Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *J Dent Res.* 70 (11). 1450-1455.
87. Yoshii, E. (1997). Cytotoxic effects of acrylates and methacrylates: relationships of monomer structures and cytotoxicity. *J Biomed Mater Res.* 37 (4). 517-524.
88. Chen, R. S., Liu, C. C., Tseng, W. Y., Jeng, J. H., Lin, C. P. (2003). Cytotoxicity of three dentin bonding agents on human dental pulp cells. *J Dent.* 31 (3). 223-229.
89. Grobler, S. R., Oliver, A., Moodley, D., Van Wyk Kotze, T. J. (2008). Cytotoxicity of recent dentin bonding agents on mouse fibroblast cells. *Quintessence Int.* 39 (6). 511-516.
90. Imazato, S., Ebi, N., Tarumi, H., Russell, R. R., Kaneko, T., Ebisu, S. (1999). Bactericidal activity and cytotoxicity of antibacterial monomer MDPB. *Biomaterials.* 20 (9). 899-903.
91. Imazato, S., Kuramoto, A., Takahashi, Y., Ebisu, S., Peters, M. C. (2006). In vitro antibacterial effects of the dentin primer of Clearfil Protect Bond. *Dent Mater.* 22 (6). 527-532.
92. Kaga, M., Noda, M., Ferracane, J. L., Nakamura, W., Oguchi, H., Sano, H. (2001). The in vitro cytotoxicity of eluates from dentin bonding resins and their effect on tyrosine phosphorylation of L929 cells. *Dent Mater.* 17 (4). 333-339.
93. Costa, C. A., Vaerten, M. A., Edwards, C. A., Hanks, C. T. (1999). Cytotoxic effects of current dental adhesive systems on immortalized odontoblast cell line MDPC-23. *Dent Mater.* 15 (6). 434-441.
94. Koulaouzidou, E. A., Papazisis, K. T., Yiannaki, E., Palaghias, G., Helvatjoglou-Antoniades, M. (2009). Effects of dentin bonding agents on the cell cycle of fibroblasts. *J Endod.* 35 (2). 275-279.
95. Geurtsen, W., Lehmann, F., Spahl, W., Leyhausen, G. (1998). Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. *J Biomed Mater Res.* 41 (3). 474-480.
96. Rakich, D. R., Wataha, J. C., Lefebvre, C. A., Weller, R. N. (1998). Effects of dentin bonding agents on macrophage mitochondrial activity. *J Endod.* 24 (8). 528-533.

97. Bouillaguet, S., Virgillito, M., Wataha, J., Ciucchi, B., Holz, J. (1998). The influence of dentine permeability on cytotoxicity of four dentine bonding systems, in vitro. *J Oral Rehabil.* 25 (1). 45-51.
98. Yasuda, Y., Inuyama, H., Maeda, H., Akamine, A., Nor, J. E., Saito, T. (2008). Cytotoxicity of one-step dentin-bonding agents toward dental pulp and odontoblast-like cells. *J Oral Rehabil.* 35 (12). 940-946.
99. Reichl, F. X., Esters, M., Simon, S., Seiss, M., Kehe, K., Kleinsasser, N. ve diğeri. (2006). Cell death effects of resin-based dental material compounds and mercurials in human gingival fibroblasts. *Arch Toxicol.* 80 (6). 370-377.



## **EKLER**

### **EK. 1. Etik Kurul Onayına Gerek Olmadığına Dair Belge**

13 nisan 2013 tarih ve 28617 sayı ile T.C. Resmi Gazetede yayınlanan ‘Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik’ in Birinci Bölümünün 2. Maddesinin 1.Fıkrası (Bu Yönetmelik, biyoyararlanım ve biyoeşdeğerlik çalışmaları dâhil, ruhsat veya izin alınmış olsa dahi insanlar üzerinde yapılacak olan ilaç, tıbbi ve biyolojik ürünler ile bitkisel ürünlerin klinik araştırmaları, klinik araştırma yerlerini ve bu araştırmaları gerçekleştirecek gerçek veya tüzel kişileri kapsar.) gereğince tezimin bir klinik araştırma değil sadece laboratuvar çalışması olması sebebiyle Etik Kurul kararı alınmamıştır.

## **EK. 2. ÖZGEÇMİŞ**

1986 yılında Gaziantep’ te doğdum. İlkokul öğrenimimi Dr. Cemil Karslıgil İlköğretim Okulu’ nda, ortaokulu Mehmet Hayri Akınal Anadolu Lisesi’ nde, lise öğrenimimi ise Vehbi Dinçerler Fen Lisesi’ nde tamamladıktan sonra 2004 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’ ni kazandım. 2010 yılında mezun olarak 1 yıl Gaziantep’ te serbest dişhekimisi olarak çalıştım. 2011 yılında İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı’nda doktora eğitimime başladım ve halen aynı Anabilim Dalı’nda devam etmekteyim. Evli ve bir çocuk babasıyım.