

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

**CAM FİBERLE GÜÇLENDİRİLEN AKRİLİK REZİNLERDE FARKLI POLİMERİZASYON
YÖNTEMLERİNİN REST MONOMER MİKTARINA ETKİSİNİN VE SİTOTOKSİSİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Çiğdem ARSLAN GÜNER

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Özgül KARACAER

ANKARA
Kasım 2007

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

**CAM FİBERLE GÜÇLENDİRİLEN AKRİLİK REZİNLERDE FARKLI POLİMERİZASYON
YÖNTEMLERİNİN REST MONOMER MİKTARINA ETKİSİNİN VE SİTOTOKSİSİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Çiğdem ARSLAN GÜNER

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Özgül KARACAER

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 03/2005-16 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Kasım 2007

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Protetik Diş Tedavisi Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşğıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 01/11/2007

Prof. Dr. Cihan AKÇABOY
Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Arife DOĞAN
Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Ali USANMAZ
ODTÜ

Prof. Dr. Bülent BEK
Cumhuriyet Üniversitesi

Prof. Dr. Özgöl KARACAER
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Şekiller, Resimler, Grafikler	v
Tablolar	viii
Semboller, Kısaltmalar	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Akrilik Rezinler	3
2.1.1. Akrilik Rezinlerin Fiziksel Form ve Bileşimleri	3
2.1.1.1. Toz (Polimer)	3
2.1.1.2. Likit (Monomer)	4
2.1.2. Monomer-Polimer Oranı	5
2.1.3. Polimerizasyon	5
2.1.3.1. Monomer-Polimer Etkileşimi	6
2.1.3.2. Polimerizasyon Aşamaları	6
2.1.4. Akrilik Rezin Materyallerinin Sınıflandırılması	10
2.1.5. Polimerizasyon Yöntemleri	12
2.1.5.1. Isı ile Polimerizasyon	12
2.1.5.2. Oto Polimerizasyon (Kimyasal Olarak Polimerizasyon, Kendi Kendine Polimerizasyon)	13
2.1.5.3. Görünür Işınla Polimerizasyon	14
2.1.5.4. Mikrodalga Enerjisi ile Polimerizasyon	15
2.1.5.5. Gamma Işını ile Polimerizasyon	16
2.1.6. Akrilik Rezinlerin Sahip Olması Gereken Özellikler	16
2.1.7. Akrilik Rezinlerin Fiziksel ve Mekanik Özelliklerinin Güçlendirilmesi	18
2.1.7.1. Cam Fiberler	21
2.1.8. Fiberle Güçlendirilmiş Rezinlerin Başarısını Etkileyen Faktörler	23
2.1.8.1. Fiber Formu	23
2.1.8.2. Fiber Oranı	24
2.1.8.3. Fiberlerin Polimer Matriksteki Yerleşimi	24
2.1.8.4. Fiberlerin Polimer Matriks ile İmpregnasyonu	25
2.1.8.5. Fiberlerin Polimer Matriks İle Uyumluluğu	26
2.1.8.6. Fiber Polimer Matriks Bağlantı Mekanizması	26
2.2. Rest Monomer	27
2.3. Yüksek Performans Sıvı Kromatografi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)	30
2.3.1. Hareketli Faz Hazneleri ve Çözücü Muamele Sistemleri	32
2.3.2. Pompalama Sistemleri	32
2.3.3. Numune Enjeksiyon Sistemleri	32
2.3.4. Sıvı Kromatografi Kolonları	33
2.3.5. Kolon Dolgu Maddeleri	33
2.3.6. Dedektörler	34

2.4.	Biyouyumluluk	34
2.4.1.	Öncül Testler	36
2.4.2.	İkincil Testler	36
2.4.3.	Kullanım Testleri	36
2.4.4.	Sitotoksisite Testi	37
2.4.5.	Hücre Kültürleri	37
2.4.5.1.	Hücre Kültürlerinin Kullanım Alanları	38
2.4.5.2.	Hücre Kültürlerinin Avantajları	39
2.4.5.3.	Hücre Kültürlerinin Dezavantajları	39
2.4.5.4.	Hücre Kültürü Test Yöntemleri	40
2.4.5.4.1.	Agar Overlay Test Yöntemi	40
2.4.5.4.2.	Agarose Test Yöntemi	41
2.4.5.4.3.	Milipore Filtre Test Yöntemi	41
2.4.5.4.4.	Krom Salınım Test Yöntemi	41
2.4.5.4.5.	Model Kavite Test Yöntemi	42
2.4.5.4.6.	Diş Kavite Test Yöntemi	42
2.4.5.4.7.	MTT Test Yöntemi (Mitokondriyal Dehidrogenaz Aktivitesi)	43
3.	GEREÇ ve YÖNTEM	44
3.1.	Rest Monomer Analiz Deneyi	44
3.1.1.	Örneklerin Hazırlanması	44
3.1.2.	Rest Monomer Analizi	48
3.2.	MTT Sitotoksisite Deneyi	53
3.2.1.	Örneklerin Hazırlanması ve Salınım İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi	53
3.2.2.	Hücre Kültürünün Hazırlanması	55
3.2.3.	96 Gözlü Hücre Üretme Kaplarının (Mikroplate) Hazırlanması	56
3.2.4.	MTT Testinin Uygulanması	57
3.3.	İstatistiksel Değerlendirme	58
4.	BULGULAR	59
4.1.	Rest Monomer Analiz Bulguları	59
4.1.1.	Polimerizasyon Yöntemlerinin Rest Monomer Miktarı Üzerindeki Etkisinin Karşılaştırılması	59
4.1.2.	Fiber ile Güçlendirmenin Rest Monomer Miktarı Üzerindeki Etkisinin Karşılaştırılması	62
4.2.	Sitotoksisite Deneyi Bulguları	65
4.2.1.	Polimerizasyon Yöntemlerinin Hücre Canlılığı Üzerindeki Etkisinin İn Vitro Olarak Karşılaştırılması	64
4.2.2.	Fiber İle Güçlendirmenin Sitotoksisite Üzerindeki Etkisinin Karşılaştırılması	70
5.	TARTIŞMA	80
6.	SONUÇLAR	104
7.	ÖZET	106
8.	SUMMARY	108
9.	KAYNAKLAR	110

10.	EKLER	124
11.	ÖZGEÇMİŞ	125

ŞEKİLLER

Şekil 1:	Benzoil peroksit ve azo bileşiklerinden serbest radikallerin oluşması	7
Şekil 2:	Tersiyer aromatik amin ve benzoil peroksit arasındaki kimyasal reaksiyon	8
Şekil 3:	Metil metakrilata ait orantısız sonlanma	9
Şekil 4:	Oksijenin metil metakrilat katılma polimerizasyonuna etkisi	9
Şekil 5:	Üst tam protezde (a) Total ve (b) Parsiyel fiber güçlendirilmesi, (c) Protezdeki orta hat kırılma bölgesi, (d) Üst tam protezde parsiyel fiber uygulama yeri	25
Şekil 6:	A. Polimer/monomer karışımından, pöröz polimerler ile doyurulmuş fiber ve polimer taneciklerine monomerin penetrasyonu. B. Fiberlerin birbirine bağlantısını sağlayan pöröz polimerin plastikleşmesi	26
Şekil 7:	HPLC cihazının şematik görünümü	31
Şekil 8:	Sıvı kromatografide numune sarım	33

RESİMLER

Resim 1:	Araştırmada kullanılan güçlendirme materyali E-cam fiber	44
Resim 2:	Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde kullanılan fiber ile güçlendirilmiş plastik mufla ve polikarbon vidaların görünümü	46
Resim 3:	Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde mikrodalga muflası ve fırınının görünümü	47
Resim 4:	Gammacell 220 cihazı ve akrilik örneklerin cihaz içerisindeki görünümü	47
Resim 5:	Fiber ile güçlendirilerek hazırlanmış akrilik rezin örnekler	48
Resim 6:	Örneklerdeki rest monomer salınımını gerçekleştirmek üzere hazırlanan düzenek	49
Resim 7:	Su banyosunun sıcaklığı kontrol edilerek, örneklerin 6 saat kaynatma işleminin yapılması	50
Resim 8:	Yüksek Performans Likit Kromatografi cihazı (CECIL 1100 HPLC)	51
Resim 9:	Örneklerin 6 gözlü hücre üretme kaplarına yerleştirilmiş görüntüsü	54
Resim 10:	6 gözlü pleylere yerleştirilmiş örneklerin UV ışını ile sterilizasyonu	54
Resim 11:	Steril kabin	55
Resim 12:	İnkübatör	55

Resim 13:	Doku kültürü mikroskobu	56
Resim 14:	Hemasitometre	57
Resim 15:	96 gözlü hücre üretme kabı (mikroplate)	57
Resim 16:	Elisa Reader cihazı	58
Resim 17:	Hücre kontrolün (a) X10 mikroskobik görünümü, (b) X20 mikroskobik görünümü	75
Resim 18:	Isı ile polimerize edilen gruba (1. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat (c) 72. saat, (d) 96. saatteki mikroskobik görünümü (X10).	75
Resim 19:	Oto polimerize gruba (2. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat (c) 72. saatteki, (d) 96. saatteki mikroskobik görünümü (X10).	76
Resim 20:	Mikro dalga ile polimerize edilen gruba (3. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat, (c) 72. saatteki, (d) 96. saatteki mikroskobik görünümü (X10).	76
Resim 21:	Gamma ışını ile polimerize edilen gruba (4. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat, (c) 72. saat, (d) 96. saatteki mikroskobik görünümü (X10).	77
Resim 22:	Fiber ile güçlendirilmiş ısı ile polimerize edilen gruba (5. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat, (c) 72. saat, (d) 96. saatteki mikroskobik görünümü (X10).	77
Resim 23:	Fiber ile güçlendirilmiş oto polimerize gruba (6. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat, (c) 72. saat, (d) 96. saatteki mikroskobik görünümü (X10).	78
Resim 24:	Resim 24: Fiber ile güçlendirilmiş mikro dalga ile polimerize edilen gruba (7. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat, (c) 72. saat, (d) 96. saatteki mikroskobik görünümü (X10).	78
Resim 25:	Fiber ile güçlendirilmiş gamma ışını ile polimerize edilen gruba (8. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat, (c) 72. saatteki, (d) 96. saatteki mikroskobik görünümü (X10).	79

GRAFİKLER

Grafik 1:	Bir örnek solüsyonunun kromatografı	51
Grafik 2:	Bilinen konsantrasyondaki MMA monomerin kromatografı	52
Grafik 3:	Metil metakrilatın (MMA) standart kalibrasyon grafiği	52
Grafik 4:	Polimerizasyon yöntemlerine göre fiber ile güçlendirilmemiş grupların rest monomer miktarı	60
Grafik 5:	Polimerizasyon yöntemlerine göre fiber ile güçlendirilmiş grupların rest monomer miktarı	61
Grafik 6:	Polimerizasyon yöntemlerine göre güçlendirilmemiş	63

	ve güçlendirme işlemi yapılmış grupların rest monomer miktarı	
Grafik7:	Polimerizasyon yöntemlerine göre fiber ile güçlendirilmemiş grupların hücre canlılık değerleri	65
Grafik 8:	Fiber ile güçlendirilmemiş grupların dört inkübasyon süresinde farklı polimerizasyon yöntemlerine göre hücre canlılık değerleri	67
Grafik 9:	Polimerizasyon yöntemlerine göre fiber ile güçlendirilmiş grupların hücre canlılık değerleri	68
Grafik 10:	Dört inkübasyon süresinde fiber ile güçlendirilmiş grupların farklı polimerizasyon yöntemlerine göre hücre canlılık değerleri	70
Grafik 11:	Isı ile polimerize edilen grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri	71
Grafik 12:	Oto polimerize grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri	72
Grafik 13:	Mikro dalga ile polimerize edilen grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri	73
Grafik 14:	Gamma ışını ile polimerize edilen grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri	74

TABLÖLAR

Tablo 1:	Çalışmada yer alan gruplar	45
Tablo 2:	Çalışmada kullanılan materyaller ve polimerizasyon yöntemleri	48
Tablo 3:	Grupların rest monomer değerleri	59
Tablo 4:	Polimerizasyon yöntemlerine göre cam fiber ile güçlendirilmemiş grupların rest monomer miktarlarının karşılaştırılması	61
Tablo 5:	Cam fiber ile güçlendirme yapılmış grupların rest monomer miktarlarının karşılaştırılması	62
Tablo 6:	Grupların hücre canlılık (%) değerleri	64
Tablo 7:	Fiber ile güçlendirilmemiş grupların dört inkübasyon süresinde farklı polimerizasyon yöntemlerine göre hücre canlılık değerleri.	66
Tablo 8:	Fiber ile güçlendirilmiş grupların dört inkübasyon süresinde farklı polimerizasyon yöntemlerine göre hücre canlılık değerleri	69
Tablo 9:	Isı ile polimerize edilen grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri	70
Tablo 10:	Oto polimerize grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri	71
Tablo 11:	Mikroalga ile polimerize edilen grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri	72
Tablo 12:	Gamma ışını ile polimerize edilmiş gruplarda dört inkübasyon süresinde hücre canlılık değerleri	73

SEMBOLLER, KISALTMALAR

°C	Santigrad derece
µm	Mikrometre ($=10^{-6}$ m)
ADA	American Dental Association (Amerikan Diş Hekimleri Birliği)
cm	Santimetre ($=10^{-2}$ m)
cm ²	Santimetrekare
dk	Dakika
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's Medium
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor (Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü)
FBS	Fötal sığır serumu
FTIR	Fourier Transform Infrared Spektrometre
GC	Gaz Kromatografi
GPa	Giga Paskal
gr	Gram
HK	Hücre kontrol grubu
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performans Likit Kromatografi)
ISO	International Organization for Standardization (Uluslararası Standartlar Teşkilatı)
kPa	Kilo Pascal
MHz	Mega hertz
ml	Mililitre ($=10^{-3}$ litre)
mm	Milimetre ($=10^{-3}$ m)
MMA	Metil metakrilat
MPa	Mega Paskal
MTT	[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]
nm	Nanometre ($=10^{-6}$ m)
PBS	Fosfat Tampon Solüsyonu
PFR	Partial Fiber Reinforcement (Parsiyel Fiber Güçlendirmesi)
pH	Bir çözeltinin asitlik veya bazlık derecesini tarif eden ölçü birimi ($=-\log[H^+]$)
PIGF	Primer İnsan Gingival Fibroblast
PMMA	Polimetil metakrilat
ppm	Part per million
SEM	Scanning Electron Microscope
sn	Saniye
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TFR	Total Fiber Reinforcement (Total Fiber Güçlendirilmesi)
TRIAD-VLC	Triad Visible Light Cure
UDMA	Üretan dimetakrilat

UHMWPE	Ultra high molecular weight polyethylene (Ultra yüksek moleküler ağırlıklı polietilen)
UV	Ultraviyole ışını
W	Watt

1. GİRİŞ

Akrilik rezinler yaygın olarak tam ve bölümlü protezlerde kaide plağı olmak üzere ortodontik splint, yer tutucu, kron ve köprü restorasyonları, ölçü kaşıkları ve obtüratörlerin yapımında kullanılmaktadır. Akrilik rezinlerin, kullanımının ve tamirinin kolay olması, ağız içinde stabil oluşu, biyouyumluluğu ve pigment ilave edilmesi ile daha iyi estetik sonuçlar elde edilmesi gibi avantajlarına karşın dayanıklılığı ve sertliği tatmin edici düzeyde değildir. Darbe ve yorulma direnci düşük olduğundan dayanıklılığı yetersizdir ve eşit olmayan çığneme kuvvetleri, kaza ve travma sonucu kırılabilir.

Genel olarak polimetil metakrilatın (PMMA) darbe ve yorulmaya karşı direncini artırmak için 3 yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemler; PMMA' a alternatif olabilecek yeni bir materyalin araştırılması ve geliştirilmesi, PMMA'nın kimyasal yapısının modifikasyonu, PMMA'nın metal güçlendiriciler, karbon-grafit, safir, aramid, çok yüksek molekül ağırlıklı polietilen ve cam fiber gibi çeşitli materyaller ile güçlendirilmesidir. Akrilik rezinin fiber sistemleri ile güçlendirilmesi diğer yöntemlere göre daha avantajlıdır ve yaygın kullanım alanı vardır.

Rezinin polimerizasyonunu başlatmak için pek çok metod kullanılmaktadır. Ancak bu metodların hiçbirinde monomerin polimere tamamıyla dönüşümü sağlanamaz ve rezin içerisinde reaksiyona girmemiş bir miktar rest (artık, rezidüel) monomer bulunur. Protez kaidesinden salınan rest monomerin, komşu oral dokularda lokal irritasyon, inflamasyon, hipersensitivite ve alerjik reaksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir.

Rest monomer miktarının belirlenmesinde, Yüksek Performans Likit Kromatografi (HPLC), Gaz Kromatografi (GC), Gaz-likit Kromatografi, Fourier Transform İnfrared Spektrometre (FTIR), Kızılötesi Spektrofotometri, UV-VIS Spektroskopisi kullanılmaktadır. Yüksek performanslı sıvı kromatografi yöntemi, duyarlılığı, doğru kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan türlerin ayrılmasına uygun olması, sıcaklığa hassas maddelere uygulanabilmesi ve sanayinin ve birçok bilim dalının ilgilendiği maddelere uygulanabilmesi nedeniyle yaygın kullanılmaktadır.

Dental materyallerin dayanıklılık, estetik ve fonksiyon özelliklerinin yanı sıra biyouyumluluk yönü de önemlidir. Biyouyumluluk, üretilmiş materyal ve aletlerin vücut dokuları ve sıvılarıyla olan uygunluğu olarak tanımlanmaktadır. Biyolojik uyum için; materyalin kimyasal yapısı, restorasyonun tasarımı, elde edilme yöntemleri, mekanik özellikleri, doku ile temasının şekli, yeri ve dokunun özellikleri gibi pek çok faktörün bir arada uyum içinde olması gerekmektedir.

Fiber ile güçlendirmenin akrilik rezinin mekanik özellikleri üzerindeki etkisine yönelik pek çok in vitro çalışma bildirilmesine rağmen fiber ile güçlendirilmiş rezinlerin biyouyumluluğu ile ilgili in vitro olarak planlanmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. İn vitro çalışmalar, özellikle çeşitli faktörlerin etkilerini daha detaylı ve birbirinden bağımsız olarak incelenebilmesine olanak sağlar ve klinik çalışmalar için gerekli alt yapıyı oluşturduğundan oldukça önemlidir.

Çalışmamızın amacı; cam fiber ile güçlendirilmiş ve güçlendirilmemiş akrilik rezin materyallerinde dört farklı polimerizasyon yönteminin rest monomer miktarı üzerine etkisinin ve buna bağlı gelişen sitotoksitesinin in-vitro şartlarda L929 fare fibroblastlarında MTT [3-(4,5–dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] test yöntemi ile değerlendirilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akrilik Rezinler

Günümüze kadar protez kaidelerinin yapımında pek çok materyal kullanılmıştır. 1930'lu yıllardan önce vulkanit, nitroselüloz, fenol formaldehit, vinil plastik ve porselen bu amaç için kullanılan materyallerdendir. Bu materyallerin çoğu, bir protez kaidesinde olması gereken özellikleri sağlayamadığından kullanımı bırakılmıştır¹.

İlk akrilik rezin olan Kolladent'in 1935 yılında Imperial kimya sanayi tarafından üretilmesini takiben 1937 yılında Walter H. Write tarafından geliştirilen ısı ile polimerize olan akrilik rezin protez kaidesi yapımında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. 1946 yılından itibaren tüm protez kaidelerinin % 98'i metil metakrilat polimer veya kopolimerinden yapılmaya başlanmıştır¹.

2.1.1. Akrilik Rezinlerin Fiziksel Form ve Bileşimleri

Akrilik rezinler, genel olarak etilen türevi maddelerdir. Diş hekimliğinde en çok kullanılan akrilik rezinler ise, metakrilik asitin metil esteri olan metil metakrilatın polimerizasyonu ile elde edilen polimetil metakrilat polimeridir. Protetik restorasyonlarda zincir polimerizasyonu ile elde edilen akrilik asit ($\text{CH}_2=\text{CHOOH}$) ve metakrilik asit ($\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{COOH}$) kullanılmaktadır^{2, 3}.

Protez kaide yapımında kullanılan akrilik rezinler piyasada toz-likit ve jel halinde bulunurlar. Yaygın olarak kullanılan tipi toz-likit formunda olanıdır^{1, 4}.

2.1.1.1. Toz (Polimer)

Polimer, Yunanca "polimeros" çok parçalı anlamındadır ve poly (çok) ve mer (parça) sözcüklerinin birleşmesinden oluşmaktadır⁵. Poli (metil metakrilat) blokların öğütülmesi ile elde edilen küçük şeffaf küresel tanecikler şeklinde bulunan akrilik tozu, polimerleşmeyen bir sıvı içinde ısıtılmak suretiyle metil metakrilat monomerin polimere dönüşmesi ile elde edilir^{4, 6, 7}.

Akrilik tozu, orijinal halinde şeffaftır ve içerisine çeşitli maddeler ilave edilmiştir. Toz (polimer) içerisine ilave edilen maddeler;

1. Akrilik polimer veya kopolimer tanecikleri

2. Reaksiyon başlatıcı maddeler: Genellikle polimerizasyon reaksiyonunu başlatmak için benzoil peroksit veya daha az kullanılmakla

beraber diizobütil azonitril gibi başlatıcı ajanlar % 0,5–1,5 oranında toza ilave edilmektedir^{1,4,6}.

3. Pigment ve boyalar: Dokulara benzer rengi elde edebilmek amacı ile merkürük sülfid (kırmızı), kadmiyum sülfid (sarı), kadmiyum selenit, ferrik oksit (kahverengi), civa sülfid veya karbon siyahı gibi bileşikler ilave edilmektedir^{1, 4}. Daha önceleri ilave edilen kadmiyum tuzları toksik özelliklerinden dolayı kullanılmamaktadır¹. Bu pigmentler polimer küreciklerine ya başlangıç polimerizasyonu sırasında ya da polimerizasyondan sonra polimer taneciklerin içerisine mekanik olarak karıştırılırlar^{1, 6, 7}.

4. Opaklık verici maddeler: Renkleştirici ajanlara ek olarak çinko veya titanyum oksitler opaklaştırıcı olarak kullanılmaktadır^{1, 4, 6}.

5. Plastikleştirici maddeler: Yüksek moleküler ağırlıklı polimetil metakrilat monomer içerisinde yavaş çözünmektedir. Çözünürlüğü artırmanın çeşitli yolları vardır. Bunlardan biri, etil akrilat miktarını % 5 veya daha az tutarak metil metakrilat ve etil akrilat kopolimeri kullanmaktır. Çözünürlüğü artırmanın ikinci yolu da dibutylfataat [$C_6H_4(COOC_4H_9)_2$] gibi bir plastizeri, ya polimer küreleri öğütme makinesinde öğütülürken ya da direkt olarak monomere eklemektir. Plastikleştiricinin miktarı, rezinin ağız sıvılarında bozunmasını önlemek amacı ile % 8-10 arasında tutulmalıdır. Çözünürlüğü artırmanın üçüncü yolu ise yüksek molekül ağırlıklı poli(metil metakrilat) kürelerini monomerde daha çok çözünen düşük molekül ağırlıklı küreler ile karıştırmaktır. Fakat bu metod rezinin ortalama molekül ağırlığını düşürmektedir^{6, 7}.

6. Organik ve inorganik lifler: Boyanmış sentetik lifler, oral mukozada bulunan kan damarlarını taklit etmek amacı ile eklenmektedir. Cam lifleri ve tanecikleri veya zirkonyum silikat gibi inorganik maddeler akriliğin görünümünü doğallaştırmak için ilave edilmektedir^{1, 6}.

Polimer moleküllerinin fiziksel ve uzaydaki yapısı da polimerin özelliklerinin belirlenmesinde önemlidir ve üç temel tip yapıdan oluşmaktadır^{1, 3}.

2.1.1.2. Likit (Monomer)

Monomer, molekülün yapısında tekrarlanan ve birbirlerine kovalent bağlarla bağlanan en basit yapısal birimdir. Akrilik rezin likitini çoğu durumda metil metakrilat oluşturmaktadır ve akrilik monomerleri ile de modifiye edilebilmektedir^{1, 6}.

1. Ana madde: Likidin temel yapısını oluşturan metil metakrilat (MMA) petrolün yan ürünlerinden elde edilen şeffaf, suda çözünmeyen, 100.8°C sıcaklıkta kaynayan, kendine özgü kokusu olan, toksik, yanıcı ve uçucu bir sıvıdır^{1, 8}.

2. İnhibitör maddeler: Bu monomerler ışık, ısı ve oksijen aracılığı ile polimerize olmaya başladığından, likit içerisine polimerizasyonu önlemek ve yeterli raf ömrü kazandırmak amacı ile inhibitör maddeler ilave edilmektedir. Erken polimerizasyonu önlemek amacı ile eser miktarda hidrokinon (% 0.006 veya daha az) eklenmektedir^{1, 4, 6}.

3. Çapraz bağlantı ajanları: Birçok akrilik protez maddesi % 1- 2 oranında glikol dimetakrilat gibi bir çapraz bağlanma maddesi içerir. Bu madde rezinin çatlama, çizilme, çarpma, yorulma ve ısıya karşı direncini ve sertliğini artırarak, çözünürlüğünü azaltarak materyali daha kuvvetli hale getirir^{2, 6, 8}. Çapraz bağlantı sağlamak için tetra-etilen glikol dimetakrilat (TEG-DMA) ve polietilen glikol dimetakrilat (PEG-DMA), 1,3-propandiol dimetakrilat ve 1,4-bütandiol dimetakrilat ajanları da kullanılmaktadır^{1, 7}.

2.1.2. Monomer-Polimer Oranı

Uygun monomer-polimer oranı, rezin materyalinin sonuç yapısı açısından oldukça önemlidir. Genel olarak polimer oranı fazla olursa reaksiyon zamanı kısalır. Ayrıca rezinin büzülme miktarı da azalır. Dolayısıyla her polimer küreciğinin ıslanabileceği yeterli monomer miktarının kullanılması gerekmektedir. Monomer/polimer oranı hacimce 1/3 oranındadır.

Polimer ve monomer oranı kadar, tozu oluşturan çeşitli boydaki polimer ve pigment partiküllerinin homojen dağılması da önemlidir. Ayrıca toz ve likidin oldukça iyi karışıp meydana gelen hamurun uygun bir polimer-monomer dengesine sahip olması gerekir. Toz ve likitin homojen karışmaması halinde protezin dayanıklılığında azalma, pörözite ve renginde bozulma meydana gelmektedir⁷.

Polimerler inorganik veya organik olabilmektedir. Diş hekimliğinde daha çok organik polimerler kullanılmaktadır^{1, 3, 6, 8}.

2.1.3. Polimerizasyon

Polimerizasyon, çok sayıda düşük moleküler ağırlıklı mer denilen moleküllerin kimyasal olarak birleşmeleri ile yüksek molekül ağırlıklı makro molekül oluşturmaları olarak tanımlanır⁶.

2.1.3.1. Monomer-Polimer Etkileşimi

Polimer içerisinde bulunan monomerin görevi muflaya kolayca yerleştirilebilecek plastik bir kitle oluşturmaktır. Bu tip bir plastikleştirme, monomer içerisinde polimeri kısmen çözmekle gerçekleştirilir. Toz ve likidin fiziksel reaksiyonu sırasında en az dört safha mevcuttur.

1. Safha: Polimer yavaş yavaş monomer içerisinde çökmeye başlar. Bu safhada karışım, kumlu görünümde sıvı ve yapışkan olmayan bir kitle şeklindedir.

2. Safha: Monomer polimer ile etkileşime girmekte ve monomerin etkilediği polimer çözeltiye katılarak monomer içinde dağılmaktadır. Bu safhada karışım yapışkan bir hal alır.

3. Safha: Monomer polimere etki ettikçe kütle çözelti içindeki polimer ile doyarak düzgün, hamurumsu bir şekil alır. Hamur bu aşamada yapışkan değildir ve karıştırma kabının duvarlarına tutunmaz. Bu safhaya genelde hamur veya jel safhası denir ve karışım bu aşamadayken muflaya alınır.

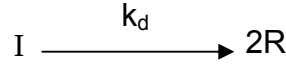
4. Safha: Monomer buharlaşarak veya polimere daha fazla etki ederek hemen hemen yok olur. Kitle daha koheziv ve lastiğimsi bir hal alır. Artık tamamen plastik değildir ve bu aşamada muflalanamaz⁷.

2.1.3.2. Polimerizasyon Aşamaları

Akrilik rezinler, metil metakrilat monomerlerinin "serbest radikal katılma polimerizasyonu" ile polimerize olurlar. Katılma polimerizasyonunda monomer molekülleri çok kısa bir süre içerisinde birbirlerine eklenerek zincir oluştururlar. Bu polimerizasyon metodu serbest radikallerin oluşumuna bağlıdır. Paylaşılmamış elektron içeren bir serbest radikal monomerle reaksiyona girerek zincir büyümesini başlatır⁶.

Serbest radikal polimerizasyonu, başlama, büyüme (çoğalma) ve sonlanma olmak üzere üç aşamaya sahip bir zincir polimerleşmesidir^{3, 6, 8}.

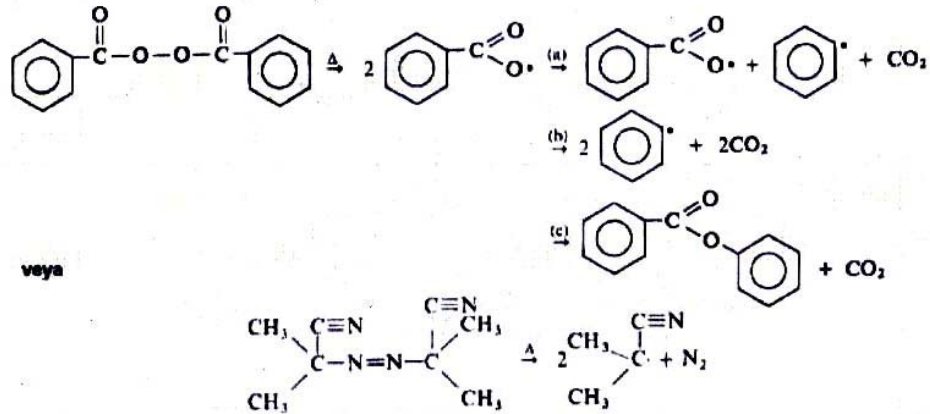
Başlama Aşaması; bu ilk aşama başlatıcıların bozunmasını ve serbest radikallerin (paylaşılmamış elektronu bulunan kimyasal gruplar) oluşmasını içerir ve genellikle iki basamakta gerçekleşir. İlk basamak, başlatıcıdan radikallerin oluşmasıdır.



(I: Başlatıcı; k_d : Başlatıcının ısıya bağlı bozunma hız sabiti; R: Serbest radikal).

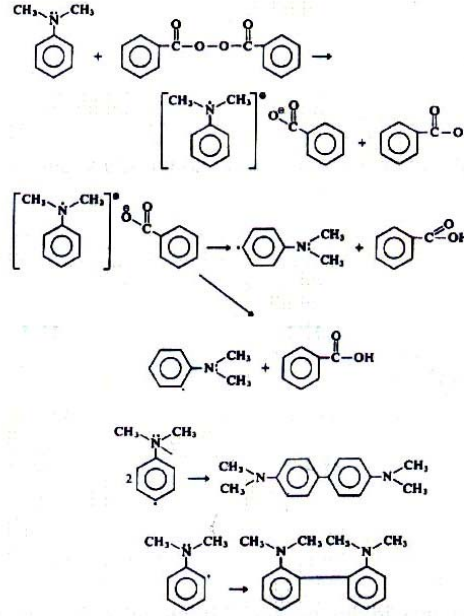
Serbest radikaller, organik peroksit/hidroperoksit veya azo/diazo bileşiklerinin ısıyla bozunması, ışık (ultraviyole) veya yüksek enerjili radyasyon yöntemlerinden birinin kullanımıyla elde edilirler. Protez kaidelerinin yapımında kullanılan akrilik rezinlerin polimerizasyon yöntemlerindeki farklılıklar, serbest radikallerin oluşması için kullanılan enerjinin de farklı olmasına neden olur^{6, 9, 10}.

Şekil 1'de özellikle konvansiyonel ısı ile polimerize olan akrilik rezinlerde başlatıcı olarak en çok kullanılan ve yaklaşık 60°C'de hızla bozulan benzoil peroksitin ve daha az kullanılan azo bileşiklerinin serbest radikal oluşturma mekanizması görülmektedir.



Şekil 1: Benzoil peroksit ve azo bileşiklerinden serbest radikallerin oluşması.

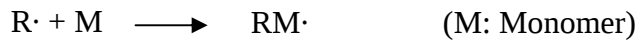
Isı ile polimerize olan rezinlerde polimerizasyon ısı ile başlatılır. Kimyasal olarak polimerize olan akrilik rezin sistemlerinde ise serbest radikaller genellikle benzoil peroksit ve tersiyer aminin reaksiyonuyla oluşturulur (**Şekil 2**).



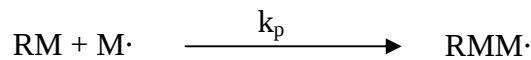
Şekil 2:Tersiyer aromatik amin ve benzoil peroksit arasındaki kimyasal reaksiyon.

Işıkla aktive olan rezin sistemleri ise mavi-mor bölgedeki ışığa maruz kaldığında serbest radikaller oluşur. Polimerleşme için UV, X ve gamma ışınları gibi iyonize ışınlar kullanılabilir. Bu ışınlarla reaksiyonda, rezin içinde kimyasal başlatıcıya (benzoil peroksit) gerek olmayabilir. Ancak 400 nm dalga boyunun üzerindeki görünür ışık, infrared ve radyodalgaları ile doğrudan polimerleşme olmaz. Bunlardan ısı verecek bir düzenleme yapılırsa ısı etkisiyle kimyasal başlatıcı bozunarak serbest radikaller verir ve bu radikaller polimerleşmeyi başlatırlar^{2, 9, 10}.

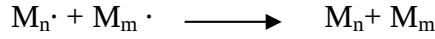
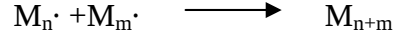
Başlama aşamasının ikinci basamağı serbest radikallerin monomerlere katılma işlemleridir.



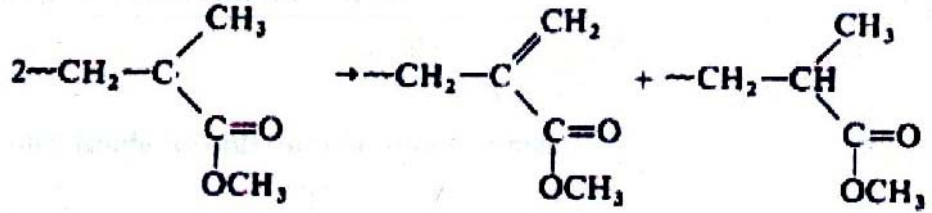
Büyüme aşaması; Bu aşama, monomerlerin aktif merkeze katılmasıyla polimer zincirinin büyüdüğü aşamadır.



Sonlanma aşaması; birleşme veya orantısız sonlanmayla gerçekleşebilir.

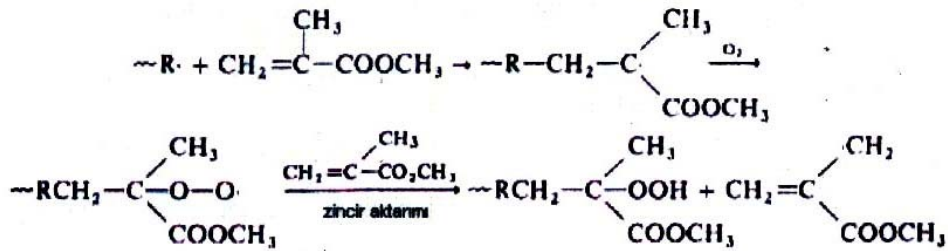


Metil metakrilat polimerizasyonunda orantısız sonlanma **Şekil 3**'teki gibi gerçekleşir.



Şekil 3: Metil metakrilata ait orantısız sonlanma.

Serbest radikallerce başlatılan bir polimerizasyon inhibisyon ve geciktirilmeye de maruz kalır. Geciktirici olarak davranabilen maddeler diğer radikallerle reaksiyona girebilecek kararlı radikaller içerirken, monomerlerle reaksiyona giremezler. İnhibitörler ise normal orandaki polimerizasyonları takip eden indüksiyon periyoduna neden olan kimyasal maddelerdir. Hem inhibitörler hem de geciktiriciler başlatıcı radikallerle reaksiyona girerler ancak inhibitörler daha hızlı, geciktiriciler ise daha yavaş reaksiyon verirler. Sonuç olarak inhibitörler hızlı bir şekilde tüm radikalleri tüketirken, geciktiriciler sadece bazılarını tüketirler ve diğerlerinin zincir büyümesini başlatmalarına izin verirler. Kinon, yüksek konsantrasyonlarda çok etkili bir inhibitördür ancak düşük konsantrasyonlarda sadece geciktirici olarak davranır. Oksijen de serbest radikal katılma polimerizasyonunda ilginç ve önemli bir rol oynar¹⁰.



Şekil 4: Oksijenin metil metakrilat katılma polimerizasyonuna etkisi.

Şekil 4'de görülen peroksit radikali yeni metil metakrilat monomeri ilavesine karşı karardır. Bu da oksijen tarafından polimerizasyonunun geciktirilmesiyle sonuçlanır. Bu yüzden yukarıdaki şekilde de görüldüğü gibi oksijen polimerizasyonu birçok yolla etkileyebilir. Ayrıca oksijen, bazen inhibitör gibi bazen geciktirici gibi hatta katalizör gibi davranabilir.

2.1.4. Akrilik Rezin Materyallerinin Sınıflandırılması

Akrilik rezinler, polimer yapıları ve polimerizasyon tipleri yönünden farklı şekillerde sınıflandırılabilirler;

ISO Spesifikasyon No: 1567'ye Göre¹¹;

Tip 1: Isı ile polimerize olan polimerler

Sınıf 1: Toz ve likit

Sınıf 2: Plastik pat

Tip 2: Otopolimerizan polimerler

Sınıf 1: Toz ve likit

Sınıf 2: Toz ve likit akışkan rezinler

Tip 3: Termoplastik toz içeren polimerler

Tip 4: Işık ile polimerize olan polimerler

Tip 5: Mikrodalga ile polimerize olan polimerler

Polimerizasyon Tipine Göre:

1. Isı ile polimerize olan rezinler

2. Kimyasal olarak polimerize olan rezinler

3. Işık ile polimerize olan rezinler

4. Mikrodalga ile polimerize olan rezinler^{6,12}.

Polimerizasyon Yolu ve Tekniğine Göre :

1. Konvansiyonel basınçla kalıplama tekniği kullanılarak ısı ile polimerize olan akrilik rezinler

a. Doldurucusuz PMMA akrilik rezinler

rezinler b. Çeşitli materyallerin ilavesiyle güçlendirilmiş akrilik

i. Polisülfon

ii. Fiber sistemleri

iii. Metal tel ve partikülleri

2. Enjeksiyonla kalıplama tekniği kullanılarak ısı ile polimerize olan rezinler

a. Poli(metil metakrilat)

b. Polikarbonat

c. Poliamid

d. Polisülfon

3. Kimyasal olarak polimerize olan akrilik rezinler (Otopolimerizan rezinler)

a. Konvansiyonel akrilik rezinler

b. Akışkan akrilik rezinler

rezinler c. Enjeksiyon kalıplama tekniği kullanılan akrilik

4. Işık ile polimerize olan akrilik rezinler

5. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik rezinler^{8,13}

Polimer Yapısına Göre;

1. Poli(akrilik asit ester)

2. Poli(vinil ester)

3. Polistiren

4. Polikarbonat

5. Polisülfon

6. Lastik modifiye poli(metakrilik asit ester)
7. Poli(dimetakrilik asit ester)
8. Poliasetal/Polioksimetilen
9. Kopolimer veya polimer karışım¹¹

2.1.5. Polimerizasyon Yöntemleri

2.1.5.1. Isı ile Polimerizasyon:

Isı ile polimerize edilen rezinlerde reaksiyonu başlatmak için gerekli olan ısı; açık alev, buhar, kuru hava, infrared ısıtma, indüksiyon akımı, otoklav ve etüv gibi kaynaklardan elde edilebilmektedir³.

Isı ile polimerize edilen akrilik rezinler, konvansiyonel basınçla kalıplama ve enjeksiyon ile kalıplama tekniği olarak iki yöntem ile hazırlanabilirler⁷.

Konvansiyonel basınçla kalıplama tekniği, akril hamurunun alçı ya da silikon-alçı kalıplar kullanılarak mufla içindeki protez boşluğuna konulup preslenmesi ve sıcak suda polimerize edilmesidir. Bu yöntem akrilik rezinden kaide plağı elde etmek amacı ile kullanılan klasik bir yöntemdir^{6, 7}.

Enjeksiyon ile kalıplama tekniği; akril hamurun alçı, silikon-alçı ya da hidrokolloid kalıplar içindeki protez boşluğuna basınç altında enjeksiyon yolu ile itilme prensibine bağlıdır^{3, 6, 7}. Enjeksiyon ile akril tepme prensipleri ilk olarak W.E. Wilson tarafından ortaya atılmış, 1942 yılında Pryor tarafından geliştirilmiş ve günümüzde ise daha modern sistemler ile kullanılmaya devam edilmektedir³.

Enjeksiyon ile kalıplama yönteminin konvansiyonel basınç ile kalıplama yöntemine göre bazı avantaj ve dezavantajları olduğu ifade edilmiştir. Teknik, prova kapanışının elimine edilmiş olması, daha homojen bir yapıya sahip kaide plaklarının elde edilmesi ve protez boşluğunun en ince bölgesine kadar rezin ile doldurulması gibi avantajlara sahiptir. Ancak özel mufla ve yardımcı enjeksiyon sistemi gerektirmesi ve pahalı olması dezavantajlarıdır. Her iki metodun boyutsal doğruluk ve fiziksel özellikler açısından karşılaştırıldığı çalışmalarda tartışmalı sonuçlar elde edilmiştir^{3, 6, 7, 14}.

2.1.5.2. Oto Polimerizasyon (Kimyasal Olarak Polimerizasyon, Kendi Kendine Polimerizasyon):

Dental amaçlarla ilk olarak II. Dünya Savaşı sırasında Almanya'da kullanılan kimyasal olarak polimerize olan rezinlere, ısı ile aktive edilerek polimerleştirilen rezinlerden ayırmak amacı ile "kendi kendine polimerize olan" veya "soğuk polimerize olan" veya "oto polimerizan" rezinler denilmiştir. Genellikle tamir akriliği olarak kullanılsa da kaide akriliği olarak da kullanılabilir^{1, 6, 7}.

Isı ile polimerize olan rezinler ile arasındaki fark, benzoil peroksidin aktivasyon şeklidir. Benzoil peroksidi ısıtarak aktive etmek yerine, kimyasal bir aktive edici (dimetil-p-toluidin $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_3)_2$) kullanılarak polimerizasyon oda sıcaklığında gerçekleşir. Dimetil-p-toluidin dışında çeşitli kimyasal aktive edici maddeler kullanılabilir. Aktivatör ve başlatıcının tipi ve konsantrasyonu polimerizasyonun hızı ve derecesinde önemli rol oynar. Ayrıca ısı ile kürlenene rezinlerde olduğu gibi polimerizasyon hızı polimerin partikül boyuna bağlıdır. Partikül boyu ne kadar küçük ise polimerizasyon o kadar hızlı oluşur^{6, 7}.

Kendi kendine kürlenene rezinlerde, monomer ve polimerin karıştırılmasında ve muflaya alma işlemleri sırasında ısı ile kürlenene rezinlerde kullanılan teknikler uygulanmaktadır⁷.

Protezi mufladan çıkarmadan önce kürlenmesi için beklenen süre değişmektedir. Mufla kapatıldıktan sonra 20-30 dakika içinde ilk sertleşme gerçekleşir ancak polimerizasyonun tamamlanması birkaç saat devam eder. Protez kaidesinin boyutsal olarak daha stabil olması için mufla 2 veya 3 saat ya da tüm gece basınç altında bekletilebilir⁶.

Avantajları; oto polimerize rezinlerde, ısı ile polimerize olan rezinlere göre iç gerilimler daha az olduğundan, protezin uyum ve boyutsal stabilitesi daha iyidir, laboratuvar işlemleri daha basit ve kısadır, elastik özellikleri daha iyidir ve polimerizasyon hızlıdır, polimerizasyon sonrası protezdeki vertikal boyut değişikliği ısı ile polimerize olan rezinlere göre daha azdır^{6, 7, 8}.

Dezavantajları; renk stabilitesi tersiyer aminlerde meydana gelen oksidasyondan dolayı kötüdür, yapay dişlerle olan bağlantısı zayıftır, maliyeti yüksektir, polimerizasyon tam olarak tamamlanamaz, artık monomer oranı yüksektir ve metil metakrilat, metakrilik asit ve benzoik asit salınımından dolayı sitotoksik etkiye sahiptir⁶⁻⁸.

Kimyasal olarak aktive olan sistemlerde bir yenilik de dökülebilir tip veya akışkan rezin sistemlerin gelişimidir. Bu teknikte kullanılan polimer tozları son derece ince taneciklere sahiptir. Bunlar

kariştırma ve dökme sırasında lüzumsuz viskozite artışını önlemek için fazla oranda yüksek molekül ağırlıklı polimer içerir^{1, 7}.

Akışkan rezin tekniğinin avantajları; daha iyi doku uyumu, mufladan çıkarma işlemi sırasında porselen dişlerde daha az kırılma, daha az malzeme sarfı ve polisaj işlemlerinin daha basit olmasıdır⁷.

Dezavantajları ise; hava kabarcıklarının oluşması, muflalama sırasında dişlerin kayması ve buna bağılı olarak örtülü kapanış ve okluzal dengesizliklerin meydana gelmesi, ön dişlerin koleleri üzerine az madde gelmesi, plastik dişlere iyi bağlanamaması ve özel muflalama işlemleri nedeniyle hassas bir teknik gerektirmesidir⁷.

2.1.5.3. Görünür Işınla Polimerizasyon:

Görünür ışınla polimerize edilen özel reçinelerle ilgili ilk çalışmalar Ogle ve arkadaşları tarafından 1986 yılında başlamıştır ve bu şekilde polimerize edilen rezinler uzun süredir dental alanda kullanılmaktadır³. Görünür ışınla sertleşen en popüler protez kaide materyali TRIAD-VLC (Triad Visible Light Cure) 'dir. Bu materyal, üretan dimetakrilat matriks, akrilik kopolimer, küçük silika doldurucular ile kamforokinon amin fotoinitiatörünü içermektedir^{1, 6, 8}.

Polimerizasyon, sisteme özgü bir kütleme ünitesi ile sağlanır. Işık kaynağına üniform bir şekilde maruz kalması için protez ünitedeki tabla üzerine yerleştirilerek rotasyon yaptırılır ve yüksek yoğunlukta kuartz halojen lambaları ile oluşturulan 400-500 nm'lik mavi bir ışınla polimerize edilir^{1, 3, 8}.

Görünür ışınla polimerize edilen bu özel akrilik reçine tek bir malzeme olarak tabaka veya çubuk şeklinde piyasada bulunur. Işıkla kontamine olmaması için siyah, opak plastik koruyucular içinde saklanır³.

Bu tür akrilik reçineler kullanım kolaylığı ve pek çok amaca uygun olması nedeniyle çeşitli alanlarda kullanılabilmektedir. Kaide plağı kırıklarının tamirinde, diş ve kroşe ilavelerinde, geçici kaide plağı, kişisel ölçü kaşığı, ortodontik aparey, okluzal splint, kron köprü çalışmalarında geçici restorasyon, çene yüz protezleri, cerrahi stent ve şine yapımında, mevcut protezlerin astarlama işlemlerinde, kayıt materyali olarak ve restoratif diş hekimliğinde dolgu maddesi olarak kullanılmaktadır^{3, 12, 15}.

Görünür ışıkla polimerize olan rezinlerin avantajları; sistemde muflalama, mum eritme ve presleme işlemleri ortadan kalktığından yapım aşamaları kolaydır, çalışma süresi kısadır, doku uyumları iyidir, kimyasal yapılarında metil metakrilat monomeri bulunmaz ve toksik ve alerjik reaksiyon oluşturmazlar^{8, 15}.

Dezavantajları ise; diğer akrilik türleri ile olan bağlantısı ısı ile polimerize olan akrilik rezinler kadar iyi değildir, polimerizasyon aşamasında basınç uygulanmadığından polimerizasyon büzülmesi ve lateral deformasyon oluşmaktadır, polimerizasyon sırasında mikro pörözite ve hava kabarcığı oluşma ihtimali yüksektir^{3, 8}.

2.1.5.4. Mikrodalga Enerjisi ile Polimerizasyon:

Akrilik rezinin polimerizasyonunda kullanılan bir diğer yöntem de mikrodalga enerjisidir. Mikrodalga, elektromagnetik radyasyondur. Çoğunlukla radar ve telekomünikasyon alanlarında kullanılmaktadır. Mikrodalga enerjisi diş hekimliğinde polimerizasyon yöntemi dışında sterilizasyon, alçı ve rövetman modellerin kurutulmasında kullanılmaktadır^{3, 16}.

1968'de Nishii ve Hashimoto, rezinlerin mikrodalga ile aktivasyonu konusunda ilk raporu yayınlamışlardır¹⁷. Ancak metal muflalardan dolayı pörözite ve yetersiz polimerizasyon problemleri oluşmuştur. 1983'de Kimura, bu tip rezinlerde akril hamurunun şekillenmesini ve rezinlerin yüzey sertliğini araştırmıştır. 1984 yılında ise kendi geliştirdiği özel plastik muflanın (FRP- Fiber Reinforced Plastics) her bir yüzeyini 2,5 dakika mikrodalga fırınında tutarak içindeki akrilik örneklerin polimerizasyonunu sağlamıştır^{6, 17}.

Mikrodalga ile polimerizasyon yönteminde, karbon fiber ile güçlendirilmiş plastik muflalar ve bunları sabitlemek için özel olarak hazırlanmış metalik olmayan polikarbon sıkıştırma vidaları kullanılır. Mikrodalga fırınında bulunan döner tabla ile akrilik rezin polimerizasyonunun homojen olması sağlanır. Fırında üretilen mikrodalgaların rezinden geçip tekrar magnetron jeneratöre dönerek sistemi bozmaması için su dolu bir kap fırın içerisinde bulundurulmalıdır¹³.

Mikrodalga ile polimerizasyon şu şekilde oluşur. MMA oda ısısında polar bir likittir ve mikrodalgalar akrilik rezin içerisindeki MMA moleküllerinin 2450 MHz frekansta, elektromagnetik bir alanda saniyede 5 milyar kez dönme hareketini sağlayarak çok sayıda kutuplaşmış moleküllerin oluşumunu gerçekleştirir. Moleküler sürtünmeden ısı meydana gelir ve oluşan ısı monomerin polimerizasyonunu sağlar^{17, 18}.

Genellikle mikrodalga polimerizasyonu çalışmalarında bilinen rezinler kullanılmasına rağmen, bazı firmaların bu amaç için ürettikleri özel mikrodalga rezinleri bulunmaktadır. Bu rezinler de monomer metil ve etil metakrilat karışımı içerir. Toz- likit oranı 100/43 gr/cc'dir⁶.

Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminin avantajları; zaman tasarrufu, laboratuarda daha temiz bir çalışma ortamının

sağlanması, polimerizasyon büzülmesinin ve boyutsal değişikliğin düşük olması, protez kaidesinin alçıya olan adaptasyonunun artması, muflanin kenarı ile orta kısmı arasında ısı farkının olmaması, renk sabitliği, yüzey düzgünlüğü ve artık monomer miktarının düşük seviyelerde olması olarak özetlenebilir^{3, 16, 17, 19}.

Dezavantajları ise; özel mufla ve akrilik rezin ile mikrodalga fırınına ihtiyaç olması, maliyetin fazla olması ve birkaç protez yapımından sonra muflalarda bozulma görülmesidir^{8,16}.

2.1.5.5. Gamma Işını ile Polimerizasyon:

Son zamanlarda gamma ışını dental uygulamalarda ısı, kimyasal başlatıcı, ışık ve mikrodalga gibi diğer kürlleme metotlarına alternatif olarak kullanılmaktadır. Bunun nedeni, materyal üzerinde lokal ısı artışı oluşturmamasıdır. Gamma ışını materyal içerisine iyi penetre olduğu için monomer polimer etkileşimi daha iyi olmakta, kürlleme derecesi artmakta ve materyal içerisindeki boşluk ve artık monomer minimum düzeyde olmaktadır. Bu nedenlerle kürlleme yöntemi olarak gamma ışını kullanıldığında dental materyallerin mekanik özellikleri düzeltilmektedir²⁰.

Gamma ışınları, dalga boyu X-ışınlarından küçük olan elektromagnetik ışınlardır ve radyoaktif izotop çekirdeklerinden yayılırlar. Gamma ışınları UV ışınlarına oldukça benzerdir. Ancak daha derine inebilir ve enerjileri ($E = \frac{hc}{\lambda}$) daha yüksektir. Gamma ışınları için λ ' nm'nin altında, UV için ise 200- 400 nm arasındadır. Her ikisi de iyonize radyasyondur. Monomerdeki çift bağı açarak radikal üretirler. Bu radikaller polimerleşmeyi sağlar^{21, 22}.

2.1.6. **Akrilik Rezinlerin Sahip Olması Gereken Özellikler**

Protetik uygulamalarda kaide materyali olarak kullanılan akrilik rezinlerin fiziksel, mekanik, kimyasal ve biyolojik açılardan sahip olması gereken özellikler şunlardır^{1,3};

1. Yapımı ve uygulaması kolay olmalıdır.
2. Dokulara uygun renk seçeneklerine sahip olmalı, renk stabilitesi iyi olmalıdır.
3. Çiğneme kuvvetleri altında elastik ve plastik deformasyon göstermemeli, kopma, çatlama ve kırılma oluşmamalı, ağız içi ve ağız dışı kuvvetlere karşı yüksek direnç ve sağlamlığa sahip olmalıdır.

4. Kullanım sırasında yumuşamayı ve distorsiyonu önleyebilecek kadar yüksek camsı geçiş ısısına (T_g) sahip olmalıdır.
5. Yoğunluğu az olmalıdır.
6. Kullanımda şekli, hacmi ve boyutları değişmemelidir. Boyutsal olarak stabil olmalı ve yüzey detaylarını iyi vermelidir.
7. Tatsız ve kokusuz olmalıdır.
8. Toksik ve karsinojenik etki göstermemelidir. Alerji, yanma ve irritasyona neden olmamalıdır.
9. Bakteri, mantar ve metabolitlerden etkilenmemelidir.
10. Ağız sıvılarına karşı geçirgenliği az olmalı, düşük su emme oranı ve yüksek difüzyon katsayısına sahip olmalıdır.
11. Islanabilirliği yüksek olmalıdır.
12. Kolay temizlenebilmelidir.
13. Tesviye ve cilalama işlemleri kolay yapılabilirmelidir.
14. Raf ömrü uzun olmalıdır.
15. Kolay tamir edilebilmelidir.
16. Artık monomer içeriği ve salınımı minimum seviyede kalmalıdır.
17. Termal iletkenliği iyi olmalıdır.
18. Ucuz ve kolay elde edilir olmalıdır.
19. Metale, porselene, astar maddesine ve yapay dişlere bağlanması yüksek olmalıdır.

Ancak günümüzde kullandığımız akrilik rezinler bu ideal özelliklerin tümünü karşılamada yetersiz kalmakta ve ideal materyallerin geliştirilmesi yönündeki çalışmalar devam etmektedir.

2.1.7. Akrilik Rezinlerin Fiziksel ve Mekanik Özelliklerinin Güçlendirilmesi

Hareketli protezlerin yapımında en çok kullanılan materyal polimetil metakrilattır (PMMA) . Polimetil metakrilatların, kullanımının ve tamirinin kolay olması, ağız içinde stabil oluşu, biyouyumluluğu ve pigment ilave edilmesi ile daha iyi estetik sonuçlar alınması gibi avantajlarına karşın dayanıklılığı ve sertliği hala tatmin edici düzeyde değildir. Darbe ve yorulma direnci düşüktür. Bu nedenle sık sık protez kırıklarına rastlanmaktadır²³⁻²⁸.

Protezlerde kırıklar, iki farklı kuvvet tipinin etkisiyle oluşmaktadır. Bunlar bükülmeye bağlı yorulma ve çarpma kuvvetidir. Bükülmeye bağlı yorulma, materyalin tekrarlayan bükülmelerinden sonra oluşur. Bu bükülmelerin hiç biri tek başına yapıya zarar vermez ancak tekrarlanan bükülmeler sonucunda materyalde çatlama veya kırılma oluşmaktadır. Başarısızlığın bu tipi, stresin yoğunlaştığı alanlarda mikroskobik düzeyde çatlakların oluşması ile açıklanabilir. Düşük düzeyde kuvvetlerin uygulanması sonucu bu çatlaklar birleşmekte ve sonunda materyal zayıflamaktadır. Kırılma ise materyalin mekanik kapasitesinin üstünde bir kuvvetin uygulanması veya ısısal farklılıklar ile gerçekleşir. Maksiller ve mandibular tam protezlerde labial frenulum bölgesinde görülen orta hat kırıkları daha çok bu tip esneme yorulması sonucunda oluşur²⁹.

Kırık, protez kaide materyalinin kendisinden ziyade pek çok faktörün bir araya gelmesiyle de oluşmaktadır³⁰. Kaide plağının deformasyonu, kaide plağı destek doku uyumsuzluğu, yetersiz rölyef yapılması, yapay diş aşınmaları, hatalı diş dizimi, polimerizasyon süresinin yetersizliği, protez kaidesinin çok ince olması, sert ve yumuşak doku andırkatlarının varlığı, kret tepesine uzanan uzun ve geniş labial frenulum çentikleri gibi stres konsantrasyon hatları ve hatalı yapım teknikleri kaide plağı kırıklarında etkili olan faktörlerdir^{3, 28-31}.

Protez kırıkları, hem ağız dışında hem de ağız içinde görülebilmektedir. Ağız dışında görülen kırıklar, çoğunlukla protezlerin temizliği sırasında düşürülmesi sonucu çarpmaya bağlı gelişmektedir. Ağız içi kırıklar ise, uygun olmayan okluzyon, aşırı ısırma kuvveti ve/veya kötü uyumlu bir protez ve kaza sonucu oluşan travmadan kaynaklı gelişebilmektedir^{32, 33}.

Genel olarak PMMA'nın darbe ve yorulmaya karşı dirençlerini artırmak için 3 yöntem geliştirilmiştir^{30, 34}. Bu yöntemler;

- 1- PMMA'a alternatif olabilecek yeni bir materyalin araştırılması ve geliştirilmesi.

2- PMMA'nın kimyasal yapısını modifiye etmek.

3- PMMA'nın bazı materyaller ile güçlendirilmesi.

1. Poli(metil metakrilat)'a Alternatif Yeni Bir Madde Geliştirmek

Polimetil metakrilatın dayanıklılığını ve sertliğini artırmak, daha iyi boyutsal stabilite, abrazyon direnci ve radyoopasite kazandırmak amacıyla yeni materyaller geliştirilmiştir. Bu amaç ile poliamid, epoksi rezin, polistren, vinil akrilik, plastik greft kopolimer, polikarbonat ve naylon gibi çeşitli polimerler protez kaide rezini olarak geliştirilmiştir. Ancak hiçbirinden, PMMA'dan elde edilen iyi sonuçlar alınamamıştır³⁰.

2. Poli(metil metakrilat)'ın Kimyasal Modifikasyonu

Polimetil metakrilatların lastik katılarak güçlendirilmesi bugüne kadar başarıya ulaşmış ve kabul gören bir kaide güçlendirme metodu olmuştur. Geleneksel PMMA protez kaide rezinine alternatif olmuştur. Ancak daha pahalı olması rutin kullanımını sınırlamıştır^{30, 33}.

Lastik ile güçlendirilmiş ya da diğer bir deyişle high impact rezin, konvansiyonel rezine kıyasla kırılma olmadan önce daha yüksek gerilime dayanır ve daha fazla enerjiyi absorbe edebilir. Polimer, matriks içinde lastik polimetil metakrilatla bağlantı oluşturacak şekilde iç içe geçmiştir. Oluşan bir çatlak polimetil metakrilat içerisinde ilerler ancak lastik ara yüzeyine geldiğinde yavaşlar. Buradaki problem çarpma dayanıklılığı gelişirken esnekliğin çok fazla artmasıdır³⁰.

3. Poli(metil metakrilat)'ın Bazı Materyallerle Güçlendirilmesi

Polimetil metakrilatın fiziksel ve mekanik özelliklerini artırmak için metal güçlendiriciler, karbon-grafit, safir, aramid, cam, çok yüksek molekül ağırlıklı polietilen fiberler olmak üzere çeşitli güçlendirme materyalleri kullanılmaktadır^{28, 35}.

Çoğu araştırmacı, akrilik protez kaidelerin dayanıklılığını artırmak amacı ile metal tel kullanmış fakat akrilik rezin ile metal tel arasındaki yetersiz bağlantı problem oluşturmuştur^{24, 32, 36}. Metal ve akrilik rezin arasındaki adezyonu artırmak amacı ile metal yüzeyin kumlanması, silanlanması veya metal-bonding rezinlerin kullanılması gibi işlemler uygulanmıştır³². Komponentler arasındaki bağlantıyı artırmak için pek çok metod uygulanmasına rağmen akriliğin transvers ve yorulma dayanıklılığı gibi mekanik özelliklerinde anlamlı bir artış görülmemiştir. Üstelik metal ile güçlendirilmiş protezlerde estetik sorunlar yaşanmıştır^{24, 32, 36}.

Güçlendirme amacı ile döküm metal plakalar protez içine yerleştirilmiştir. Ancak metal plakaların akrilik rezinlerin bükülme ve darbe dayanıklılığını artırmaya karşın estetik olmaması, pahalı ve korozyona dirençsiz olması kullanımlarını sınırlamıştır^{24, 36}.

Karbon fiberler, 19. yüzyılın sonlarında Edison tarafından ince bambu filizlerinin ve pamuk liflerinin karbonizasyonu ile elde edilmiş organik yapılardır. Karbon fiberlerin laboratuvar ortamında üretilmesi: poliakrilonitrilen (PAN) hidrojen, oksijen ve nitrojenin karbon atomik zincirlerden uzaklaştırılarak fiber formasyonu oluşturulması için üç aşamada işleme tabi tutulur. İlk olarak 200-250°C'de havada oksitlenir. Bunu takiben 1200°C'de ısıtılır. Son olarak 2000-3000°C'de grafitleme işlemleri ile fiber elde edildikten sonra elastik modülüsü artırmak için 2000°C'nin üzerinde ısı işlem uygulanır³⁷.

Karbon fiberler, ağırlığı çok düşük, 3000°C ısıya dayanıklı, 1,8 g/cm³ yoğunlukta % 1-2'lik uzama düzeyine, yüksek çekme dayanıklılığına (1373- 3432 MPa) ve yüksek elastisite modülüne (270-345 GPa) sahip bir materyaldir. Ayrıca düşük sürtünme katsayısı, yüksek rijitite ve dayanıklılık, yüksek ısısal iletkenlik, düşük ısısal genleşme, kimyasal inertlik ve yüksek yorulma direncine sahiptir¹³. Protez kaide materyalinin güçlendirilmesinde karbon fiberlerin kullanımına ait ilk rapor 1970'li yıllarda Schreiber³⁸ tarafından yayınlanarak PMMA'nın transvers dayanıklılığını % 100 oranında artırdığını bildirmiştir. Yapılan çalışmalarda karbon fiberlerin uzun süreli sitotoksik ve karsinogenik etkisine rastlanmamıştır³⁹. Buna rağmen Yazdanie ve Mahood³⁷ el ile temasta deri irritasyonu gibi bazı problemler bildirmişlerdir.

Karbon fiberler ile yapılan çalışmalar iyi sonuçlar sunmuş olsa da 1980'lerden sonra PMMA' ı güçlendirme metodu olarak karbon fiber kullanımına ait çok az yayınlanmış veri vardır. Çalışmaların azalmasının nedeni, karbon fiberlerin birtakım dezavantajlara sahip olmasıdır. Bunlar karbon fiberin kullanım, yerleştirme ve polisaj zorluğu, siyah rengi nedeniyle estetik olmaması, karbonun potansiyel toksisitesi ve alternatif güçlendirme materyallerinin gelişimi olarak sıralanabilir^{30, 34, 36, 40, 41}.

Aramid fiber, tereftaloiklorid ($\text{ClOOC}_6\text{H}_4\text{COCl}$) ve p-fenilendiamin ($\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}_2$) kondansasyonu ile meydana gelen organik bir bileşiktir. Aramid fiber içerisindeki bu rijit makro moleküllerin dayanıklılığı moleküller arası hidrojenin bağlanması ile sağlanmaktadır. Poli-para-fenilene tereftalamid sentetik aramid polimer fiber olarak bilinmekte ve 1971 yılında DuPont tarafından Kevlar 29 ve Kevlar 49 olarak piyasaya sürülmüştür⁴².

Aramid fiberler, yüksek termal stabilite ve düşük dielektrik özelliklere sahiptir. Güçlü asit ve alkaliler haricindeki kimyasal maddelere karşı iyi bir direnç gösterir⁴². Aramid fiberlerin yoğunluğu $1,45 \text{ g/cm}^3$, çekme direnci 104,8 MPa ve elastisite modülü de 50-130 GPa olarak bildirilmiştir. Kevlar, filamentlerin ince yapısı nedeniyle naylondan 2 kat daha yüksek çekme dayanımına ve yine naylondan 20 kat, cam fiberden 2 kat daha fazla modülüse sahiptir^{13, 30, 43}.

Aramid fiberlerin ıslanabilirlik özelliği karbon fiberlerden daha fazladır ve bu nedenle yüzey işlemi amacıyla herhangi bir ajana gerek duyulmaz. Aramid fiberlerin, sarı renginden dolayı estetiği bozacak bölgelerden uzakta, yalnızca alt ve üst protezlerin posterior kısımlarında kullanımları tavsiye edilmiştir^{34, 41}. Aramid fiberlerle yapılan çalışmalarda toksisite bulgusuna rastlanmamıştır. Ancak protez yüzeyinde ortaya çıktıklarında oluşan pürüzlü bölgelerde polisaj zorluğu ve buna bağlı gelişen mukoza irritasyonları gibi dezavantajları nedeniyle tercih edilmemektedir³⁰.

Doğal bir kristalin polimer olan polietilen, erime noktasının altındaki sıcaklıklarda çekilerek fiber haline getirilir, aksiyel yönde dayanıklılığı ve elastik modülü yükselmiş bir materyal üretilir⁴⁴. Polietilen fiberlerin, yoğunluğu 0.97 gr/cm^3 , çekme direnci 3000 MPa, elastisite modülü 60 GPa, molekül ağırlığı 3000000 ve kalınlığı 0.27 mm'dir¹³. Polietilen fiberler, tek lif veya ağ şeklinde hazırlanabilen, düşük yoğunluğa sahip doğal renkli, yumuşak, kolay kırılmayan ve biyolojik olarak uyumlu fiber sistemleridir^{25, 30, 44}.

Polietilen fiberlerin, mekanik özelliklerinin iyi olmasına rağmen yüzey enerjileri ve hidrofobik yapısından dolayı ıslanabilirliği düşüktür. Bu nedenle fiberin akrilik rezinle olan bağlantısı zayıftır. Polietilen fiber ve akrilik rezin arasındaki bağlantıyı, fiber yüzeyine elektrik plazma uygulamasıyla polar gruplar oluşturarak artırmak mümkündür. Bu işlem sonrasında liflerin yüzeyi pürüzlendirilerek ıslanabilirliği artar. Böylece rezin matrikse olan bağlantısı da mekanik olarak artar^{25, 30, 45}.

1973 yılında Capaccio ve Ward tarafından tam protezin fiziksel özelliklerini artırmak amacıyla geliştirilen çok yüksek molekül ağırlığına sahip polietilen, dokuma formunda olup akrilik rezine adezyonunun artırılması amacıyla yüzeyine soğuk gaz plazma uygulamıştır^{25, 44}.

2.1.7.1. Cam Fiberler

Cam, aşırı soğutulmuş alkali ve toprak alkali metal oksitleriyle, diğer bazı metal oksitlerin çözülmesinden oluşan bir sıvı olup ana maddesi silisyum oksittir (SiO_2). Camlar erimiş haldeki amorf yapısını

koruyarak katılaştan inorganik maddeler olarak tanımlanabilir. Üretim sırasında hızlı soğuma nedeniyle kristal yapı yerine amorf yapı oluşur. Bu yapı cama sağlamlık ve saydamlık özelliğini kazandırır. Cam fiberler ise camın oldukça ince liflerinden oluşmuş materyallerdir⁴⁶.

Protez kaide polimerinde güçlendirme materyali olarak inorganik cam fiberlerin kullanımı 1960'lı yıllarda olmuştur. Cam fiberler, camların 1200-1500°C'de eritilmesi ve eriyen yapının platin alaşımı kaplanmış potanın tabanındaki binlerce delikten hızlı bir şekilde demetler halinde aşağı çekilerek ve soğutma bölgesinden geçirilerek üretilirler. Daha sonra filamanlar, demetler halinde bir araya getirilip toplanarak iplik haline getirilirler. Bu iplikler, filaman sarmalları halinde sürekli tek yönlü, kırılmış ve dokuma formlarında kullanılabilirler. Takiben yüksek molekül ağırlıklı silan yüzey modifiye ajanı ile kaplanır. Bağlama ajanları sayesinde cam yüzeyi ve polimer arasında kimyasal köprü oluşur^{28, 30, 42, 47}.

Temel yapısında % 56 SiO₂, % 22 CaO, % 14 Al₂O₃, % 6 B₂O₃ ve az oranlarda metal oksitler bulunur. Yoğunluğu 2.54 gr/cm³, elastik modülüsü 73 GPa, çekme direnci 3400 MPa, kırılma anındaki uzama miktarı %2.8, tek bir lifin çapı ise 10-12 µm'dir. Sitotoksik etkisi olmayan ve elektriksel iletkenliği yüksek bir fiber sistemidir²⁹.

Cam fiberi diğer fiberlerden üstün kılan özellikler; tensile dayanıklılık, elastisite, termal özellikler, neme karşı dayanıklılık, boyutsal stabilite, korozyona direnç ve polietilen fiberler ile karşılaştırıldığında düşük maliyet, hazırlama ve uygulama işlemlerinin kolay olması olarak özetlenebilir⁴⁷. Ayrıca cam fiber sistemler renklerinin beyaz olması, hafif olmaları ve yüksek mekanik özelliklere sahip olmaları, ucuz ve kolay bulunmaları nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır.

Cam fiberler, yüzey alanlarının ağırlıklarına olan oranları yüksek olduğundan, oldukça kullanışlıdır. Ancak artan yüzey, kimyasallardan daha fazla etkilenmeye yol açar. Cam fiberler ne kadar ince ise o kadar güçlüdürler. Bunun nedeni ince fiberlerin daha kolay bükülebilmesidir. Cam amorf bir yapıya sahip olduğundan özellikleri fiber boyunca ve fiber içerisinde değişmez⁴⁸.

Protez güçlendirme materyali olarak çoğunlukla E-cam fiber kullanılmaktadır. E-cam fiberler, boro alümina silika camdır. Bu cam fiberleri diğer cam fiberlerle güçlendirilmiş kompozit yapılar içinde popüler kılan özellikler; düşük maliyeti, beyaz renkleri, yüksek dayanıklılığı, elastik modülüsü, yüksek sertliği, düşük yoğunluğu, ısıya ve kimyasallara olan direnci, nemden etkilenmemesi ve elektriksel yalıtım özellikleri olarak sıralanabilir. E-cam fiber yüksek alümina, düşük alkali ve borosilikat içermektedir. Bu içeriğin fleksural dayanıklılığı artırdığı düşünülmektedir^{10, 25}.

2.1.8. Fiberle Güçlendirilmiş Rezinlerin Başarısını Etkileyen Faktörler

Protez kaide plağının mekanik özelliklerini artırmak ve optimum klinik başarı sağlamak için yüksek modülüs ve dayanıklılık değerlerine sahip fiberlerin kullanılması ile birlikte rezin-fiber kompozit yapısından beklenen özelliklerin elde edilmesi için birtakım faktörlerin etkilerinin bilinmesi gerekmektedir. Protez kaide rezinlerinin fiber ile güçlendirilmesine yönelik çalışmalar materyallerin 'kompozit' olarak ifade edilmesine sebep olmuştur. Kompozit iki veya daha fazla bileşen içeren yapısal materyallere verilen addır. Bu bileşenler makroskopik düzeyde birleşirler ve birbirleri içinde çözünmezler. Bileşenlerden bir tanesi 'güçlendirici faz' adını alırken, ilave edildiği yapı ise 'matriks' adını alır. Matriks yapı fiberleri bir arada tutan, kuvvetleri fiberlere dağıtan ve fiberleri çevresel etkilerden koruyan yapıdır. Matriks yapı tek başına düşük mekanik özellikler sergilese de kompozit yapının transvers dayanıklılık, makaslama dayanıklılığı, sıkışma dayanıklılığı, termal ekspansiyon katsayısı, termal direnç ve yorulma direnci gibi mekanik özelliklerini etkiler. Fiber ile güçlendirilen yapılarda başarıyı etkileyen faktörler aşağıdaki şekilde özetlenebilir^{35, 45, 49, 50,}

1. Fiber formu
2. Fiber oranı
3. Fiberlerin polimer matriksteki yerleşimi
4. Fiberlerin polimer matriks ile impregnasyonu
5. Fiber polimer matriks uyumluluğu
6. Fiber polimer matriks bağlantı mekanizması

2.1.8.1. Fiber Formu:

Fiber ile güçlendirilen materyalde kullanılan fiberin formu ve yönü elde edilen materyalin mekanik özelliklerini etkiler⁴⁵. Fiber sistemleri fiziksel formlarına göre; sürekli tek yönlü/paralel fiberler, kırılmış/parçacık fiberler, dokuma/örgü ve ince öğütülmüş partikül olarak sınıflandırılabilir^{47, 51}.

Sürekli tek yönlü/paralel fiber formu 0,00010-0,00075 inch çapında ve 1000-200000 fiberden oluşmakta ve fiber demeti olarak tanımlanmaktadır⁴⁷. Bu fiberler, protezleri tek yönde güçlendirerek kompozit yapıya anizotropik mekanik özellik kazandırır^{45, 52}. Stresin yönünün belli olduğu durumlar için uygundur. Genel olarak bu tip materyal

sabit protez uygulamalarında gövde tasarımı olarak, bazı bölümlü protez uygulamalarında ve periodontal splint yapımında kullanılır²⁹.

Kırılmış/parçacık fiberler farklı uzunluklarda hazırlanarak akrilik rezin hamuru içerisine rasgele ilave edilirler. Bu fiber formu fiber-polimer yapıya tüm yönlerde izotropik mekanik özellik kazandırır⁴⁵.

Dokuma/örgü fiber formu, farklı dokuma yöntemleri uygulanarak hazırlanırlar. Bu tip fiber sistemleri protezleri iki yönde güçlendirerek fiber-polimer kompozit yapıya ortotropik mekanik özellik kazandırır⁴⁵.

2.1.8.2. Fiber Oranı

Fiber-polimer matriksteki fiber miktarı % ağırlık veya % hacim olarak tespit edilebilmektedir²⁹. Hacimce fiber miktarının hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmaktadır;

$$V_g = \frac{W_g / r_g}{W_g / r_g + W_r / r_r}$$

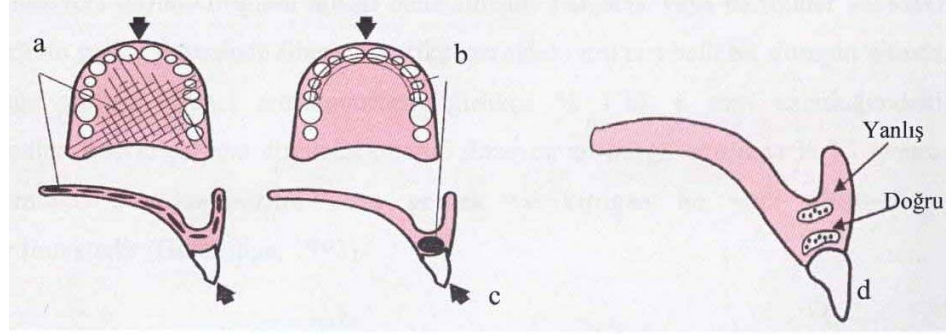
V_g = Hacimce fiber miktarı
 W_g = Fiber miktarı (gr)
 r_g = Fiberin yoğunluğu (gr/cm³)
 W_r = Rezın miktarı (gr)
 r_r =Rezın yoğunluğu (g/cm³)

Rezinin ve fiberin yoğunluğu bilindiği takdirde ağırlıkça fiber miktarından hacimce fiber miktarı hesaplanabilmektedir. Ancak hacim formülü ile fiber miktarını hesaplarken güvenilir sonuçlar elde edebilmek için fiber ile matriks arasındaki bağlantının çok iyi olması gerekmektedir. Karışımında boşluklar ve yetersiz bağlantı bulunması durumunda hacim formülü kullanılamaz^{45, 53}.

2.1.8.3. Fiberlerin Polimer Matriksteki Yerleşimi

Fiberlerin proteze yerleştirilmeleri fiber formları dikkate alınarak iki türlü yapılmaktadır. Bunlardan birincisi dokuma ve kırılmış fiberler kullanılarak protez kaidesinin tamamen lifler ile kaplanmasıdır. Bu işlem total fiber güçlendirmesi (Total Fiber Reinforcement, TFR) olarak tanımlanmaktadır. Diğer güçlendirme yöntemi ise parsiyel fiber güçlendirmedir (Partial Fiber Reinforcement, PFR) (**Şekil 5**). Bu tip güçlendirme dokuma ve sürekli tek yönlü fiberler ile protez kaidelerinde frenulum bölgelerine, aşırı kemik rezorbsiyonu olan alt tam ve Kennedy Class 1 protezlerin anterior bölgesine, gerilimin yüksek olduğu ve

kırılmaya eğilimli protez kaidesinin zayıf olan bölgesine uygulanmaktadır^{45, 52, 54, 55}.



Şekil 5: Üst tam protezde (a) Total ve (b) Parsiyel fiber güçlendirilmesi, (c) protezdeki orta hat kırılma bölgesi, (d) Üst tam protezde parsiyel fiber uygulama yeri.

2.1.8.4. Fiberlerin Polimer Matriks ile İmpregnasyonu

Protez kaide materyallerinin güçlendirilmesinde en önemli sorunlardan biri fiberlerin yüksek viskozitedeki rezinler ile yetersiz impregnasyonudur^{29, 52}. Etkili bir impregnasyon, her bir fiber yüzeyinin homojen olarak matriksle kaplanmasını gerektirir²⁹.

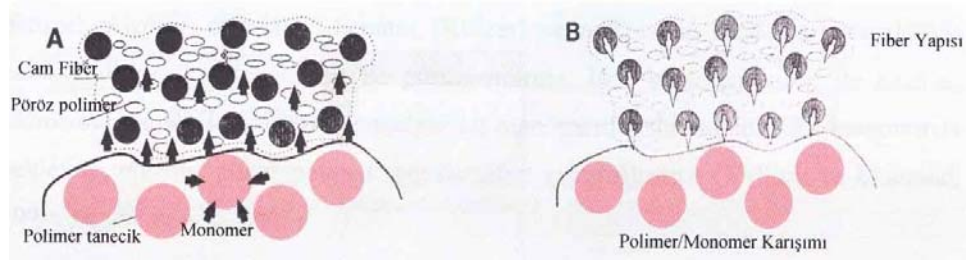
Matriks olarak kullanılan polimerin fiber demeti içine tam olarak penetre olmaması nedeniyle bazı fiberlerin yüzeyi rezin matriks ile kaplanamaz. Bunun sonucunda fiber ile güçlendirilmiş yapıda yetersiz impregnasyon bölgeleri oluşur. Fiber bileşiğinin elastisite modülü ve tensile dayanıklılığı azalır, su emilimi artar ve suyun zararlı hidrolitik etkisinden dolayı materyalin mekanik özellikleri zayıflar^{24, 29, 55}.

İmpregnasyonu artırmak amacıyla fiberleri metil metakrilat monomeri ile ıslatarak akrilik hamuruna ilave edilmesi yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemde ortaya çıkan adezyon yetersizliğinin, önceleri monomerin ıslatabilirliğinin zayıf olmasından kaynaklandığı ifade edilmiştir. Ancak daha sonra bunun aşırı metil metakrilat kullanımı sonucu PMMA'nın polimerizasyon büzülmesinin artırdığı ve protezde boyutsal değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir³⁰.

Aşırı metil metakrilat kullanılmasının yarattığı problemleri ortadan kaldırmak amacıyla akrilik rezin tozu ve likidi farklı oranlarda karıştırılarak düşük viskoziteli toz-likit karışımı hazırlanmış ve fiberlerin bu karışıma batırılması yönünde uygulamalar yapılmıştır^{55, 56}. Ancak akrilik rezin içinde bulunan prepolimerize polimetil metakrilat taneciklerin fiberlerin arasına girerek fiberleri birbirinden uzaklaştırmasından dolayı bu işlem ile arzu edilen impregnasyon sağlanamamıştır²⁹. Sonuçta, bu

uygulamanın hem fiberlerin yetersiz impregnasyonuna, hem de matriks içinde yerleştirilebilecek fiber miktarının sınırlı kalmasına ve yetersiz mekanik özelliklere neden olduğu bildirilmiştir⁵⁵.

Bu sorunları gidermek için fiberin vizköz dental rezinle olan impregnasyonunu sağlamak amacı ile pre-preg tekniği geliştirilmiştir⁵⁵ (**Şekil 6**). Bu teknikte cam fiberler üretim aşamasında önceden pöröz PMMA ile kaplanır ve sonra fiberler üst üste veya çapraz yerleştirilerek belli kalınlıklarda fiber demetleri oluşturulur. Oluşturulan demetler basınç altında polimerize edilir. Bu işlem ile yapıda istenilen düzeyde impregnasyon sağlanır²⁹. Ancak kullanım sırasında fiberlerin bir monomer ile tekrar ıslatılması gerekmektedir.



Şekil 6: A. Polimer/monomer karışımından, pöröz polimerler ile doyurulmuş fiber ve polimer taneciklerine monomerin penetrasyonu. B. Fiberlerin birbirine bağlantısını sağlayan pöröz polimerin plastikleşmesi.

2.1.8.5. Fiberlerin Polimer Matriks İle Uyumluluğu

Fiber ile polimer matriksin fiziksel uyumluluğu fiber/akril yapısının başarısında önemli bir faktördür. Fiber ve rezin matriks özelliklerinin uyumlu olmaması, polimer içinde stres birikimine ve iç gerilimlerin oluşmasına neden olur. İç gerilimler erken dönemde serbestleştiğinde distorsiyon meydana gelmektedir. Diğer taraftan materyal içinde oluşan stres birikimi zaman içinde fiber matriks arasında mikro çatlakların oluşumuna yol açar. Bu çatlaklar güçlendirilmiş materyalin yüklemeler altında dayanıklılığını azaltır, statik mekanik özelliklerinin ve yorulma direncinin azalmasına neden olur. Ayrıca estetik görünüş bozulur, mikroorganizmaların penetrasyonu artar⁴³.

2.1.8.6. Fiber Polimer Matriks Bağlantı Mekanizması:

Polimer rezinlerin, fiber ile güçlendirilmesinde polimer matriks ve fiber arasında iyi bir adezyon sağlanmalıdır^{52, 57}. Akril ve fiber arasındaki bağlantıyı artırmak için fiber yüzeyine farklı yüzey işlemleri uygulanmaktadır. Bu işlemler, ya fiber yüzeyini pürüzlendirerek mekanik tutunmayı sağlamak ya da çeşitli bağlayıcılar kullanılarak kimyasal bağlantıyı sağlamaktır^{49, 58}.

Kimyasal adezyonu sağlamak için, fiber yüzeylerine rezin ile kimyasal bağlantı yapabilecek doymamış bağlardan oluşan organik maddeler uygulanır. Kimyasal bağlantı maddeleri, epoksi rezin, silan, radiofrekans plazma, kromik asit, benzoil peroksit, zirkonat kaplama ajanı gibi maddelerdir^{58, 59}.

Fiber ve polimer rezin arasındaki bağlantıyı kuvvetlendirmek amacı ile genellikle fiber yüzeyine silan kaplama ajanı uygulanmaktadır⁶⁰. Böylece fiber rezin matrikse kimyasal olarak bağlanır ve daha homojen, daha sağlam bir yapı oluşturur. Silan ile işlem görmemiş fiber, akrilik rezin içinde yabancı cisim gibi davranarak rezini güçlendirmek yerine zayıflatır^{30, 61, 62}.

Silan ajanlarının fonksiyonları hakkında birçok teori ileri sürülmüştür. Söderholm ve Shang'a göre silan ile cam fiber arasındaki adezyon iki tip bağlantı ile gerçekleşir. Bunlardan ilki silanol gruplarıyla silika yüzeyi arasında oluşan kondansasyon reaksiyonuna bağlı siloksan köprüleridir. Diğer bağlantı mekanizması ise silanol moleküllerindeki karbonil grupları ile cam arasında oluşan hidrojen bağlarıdır^{29, 60}.

Sonuç olarak silan kaplama ajanının kondansasyonu PMMA ve fiberler arasındaki bağlantı açısından oldukça önemlidir. Silan oda ısısından daha yüksek derecelerde cam yüzeyi üzerinde kondanse olabilmektedir. Örneğin γ -metakriloksipropilmetoksisilan (γ -MPS) ajanı için 80°C'de 2 saatlik ısı uygulaması silanı polimerize etmektedir. Isı ile polimerize olan PMMA'larda silan ince bir tabaka halinde uygulandıktan sonra rezin ile birlikte polimerize edilir. Ancak oto polimerize rezinlerde polimerizasyon ısısı düşük olduğundan yeterli bağlantı için silan polimerize edildikten sonra rezin içerisine yerleştirilmelidir⁶⁰.

Fiberin polimer matrikse olan adezyonunda silanın kalınlığı da etkilidir. Silan miktarı, silan solüsyonunun konsantrasyonu değiştirilerek ayarlanabilir. Yüksek konsantrasyondaki silan ajanlarının kullanımı iyi bir adezyon sağlar²⁹.

Kimyasal adezyonun sağlanmasında kullanılan diğer organik madde benzoil peroksittir. Benzoil peroksidin, ısı ile parçalanarak serbest radikaller oluşturarak polimerizasyona katıldığı ve rezin ile kimyasal bağlantı oluşturduğu ifade edilmektedir. Benzoil peroksit ile fiberlerin ıslatılarak kullanılması durumunda rezinin çekme direncinin arttırdığı belirtilmektedir¹³.

2.2. Rest Monomer

Konvansiyonel tip protez kaide polimeri, prepolimerize toz partikülleri ve az miktarda etilenglikol dimetakrilat gibi bir çapraz bağlantı

ajanı içeren metil metakrilat (MMA) monomer karışımının polimerizasyonu sonucu oluşan çok fazlı bir polimerdir⁶³.

Protez kaide rezininin polimerizasyonunu başlatmak için pek çok metod kullanılmaktadır. Bu metodların hiçbirinde monomerin polimere tamamıyla dönüşümü sağlanamaz ve rezin içerisinde reaksiyona girmemiş bir miktar monomer bulunur⁶⁴⁻⁶⁷. Rezinin polimerizasyonunu takiben polimerik ağ yapı içerisinde reaksiyona girmeyerek kalan monomere rest (artık, rezidüel) monomer denir⁶⁶.

Rest monomer, terminasyon reaksiyonları ile ortamda aktif uç kalmayınca polimer yapının ana bölgelerinde hapis olarak kalır ve ısıtılarak buharlaştırma yolu ile uzaklaştırılmaz ve kolay serbestleşemez ancak ağız sıvıları içerisine salınabilmektedir⁶⁸.

Protez kaidesinden salınan rest monomerin, komşu oral dokularda lokal irritasyon, inflamasyon, hipersensitivite ve alerjik reaksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir^{64, 69-72}. Ayrıca rest monomer, daha fazla poröziteye neden olması ve polimer matriks üzerindeki plastizer etkisi nedeniyle rezinin tensile dayanım, elastik modülüsü ve yüzey sertliği gibi fiziksel ve mekanik özelliklerine de zarar vermektedir⁷²⁻⁷⁵.

Polimerizasyondan önce protez kaide rezinini oluşturan bileşiklerin dental laboratuvar personeline hipersensitizasyona ve alerjiye neden olduğu bildirilmiştir. Polimerizasyondan sonra polimerdeki rest monomer salınımından dolayı protez kullanan bazı hastalarda çeşitli reaksiyonlar görülebilmektedir⁶³.

Fisher 1956 yılında metil metakrilat monomerinin deri veya ağız mukozası ile temas etmesi halinde alerjik bir reaksiyona sebep olabileceğini bulmuştur. Araştırmalar bu tür reaksiyona esas sebebin metil metakrilat polimerinin kendisinin değil, tam olarak polimerize olmayan rest monomerin neden olduğunu göstermiştir^{3, 76}. Akrilik reçinelere karşı görülen toksik ve alerjik reaksiyonlar, artık monomerin dışında benzoil peroksit, hidrokinon, kitleye rengini veren boya maddeleri veya protez kaide bileşenlerinden ya da çevre ile olan reaksiyonlar sonunda meydana gelen ürünlerden kaynaklanabilir⁶.

Kanerva ve arkadaşları⁷⁷ 275 hastada 10 yıllık bir periyotta patch testi uygulayarak 30 farklı metakrilat maddesini karşılaştırdıkları çalışmalarında 48 hastada (% 17.5) en azından bir akrilik maddeye karşı alerjik reaksiyon oluştuğunu rapor etmişlerdir. Bununla beraber otörler son derece yüksek alerjik potansiyele sahip maddelerin tam olarak ayırt edilmesinin zor olduğunu belirtmişlerdir.

Diş hekimliğinde, laboratuvar işlemleri sırasında monomer ile uzun süreli direkt temas kontakt dermatite neden olabilmektedir. Diş hekimi ve teknik eleman, akril hamurundaki yüksek monomer konsantrasyonunun lokal irritasyon ve hassasiyet oluşturması nedeniyle rezin hamurunu çıplak el ile tutmaktan kaçınmalıdır. Ayrıca monomer buharının solunması durumunda toksik reaksiyonlar gelişebilmektedir. Bu reaksiyonları önleyebilmek için monomer ancak iyi havalandırılan yerlerde kullanılmalıdır^{6, 78}.

Vilaplana ve arkadaşları⁷⁹ protez yapımında kullanılan materyalleri değerlendirdikleri çalışmalarında kobalt, nikel, berilyum ve metil metakrilata karşı kontakt dermatit oluştuğunu tespit etmişlerdir.

Polimerizasyondan sonra akrilik rezin içerisindeki rest monomer miktarı kromatografi teknikleri kullanılarak tespit edilebilmektedir. Rest monomer miktarının belirlenmesinde kromatografi cihazlarından Yüksek Performans Likit Kromatografi (HPLC), Gaz Kromatografi (GC), Gaz- likit Kromatografi, Fourier Transport İnfrared Spektrometre (FTIR), Kızılötesi Spektrofotometri, UV-VIS Spektroskopisi kullanılmaktadır⁷⁴.

Kromatografi, ayrılacak olan komponentlerin iki faz arasında dağıldığı fiziksel bir ayırma metodudur. Kromatografide bir karışımı oluşturan bileşiklerin fiziksel ve kimyasal özelliklerindeki farklardan yararlanarak ayırma işlemi gerçekleştirilir⁸⁰. Bu işlem; yüzeyi geniş, katı destek üzerinde hareketsiz duran faz ile bu faz üzerinde hareket eden faz arasında ayrılması istenen bileşiklerin göç etme hızlarının farklı olmasından yararlanılarak yapılır. Hareketli faza taşıyıcı faz, hareketsiz faza ise durucu faz denir. Hareketsiz fazı üzerinde taşıyan katıya destek katısı adı verilir^{80, 81}.

Ayrılması istenen madde veya maddeler çözünmüş halde hareketli faza ilave edilir. Hareketli faz bir kolon içinde, normal gravitasyon kuvvetiyle veya basınçla kolondaki sabit faz içinden aşağı doğru indirilir. Bu indirme esnasında hareketli fazda çözünmüş halde bulunan maddelerle, sabit faz arasında fiziksel ve kimyasal bazı çekim kuvvetleri meydana gelir. Bu çekim kuvvetleri her madde için ayrıdır. Bundan dolayı hareketli faz, sabit faz içinden veya yüzeyinden aşağı doğru inerken içinde bulunan maddelerin kolon içindeki hızları farklı olur. Kolonun tepesinden enjekte edilen maddeler kolonun altına farklı zamanlarda ulaşırlar. Bu hareket hızlarının farklılığı sonucu, numune bileşenleri birbirlerinden kalitatif ve/veya kantitatif olarak analizlenebilen farklı bandlar veya bölgeler şeklinde ayrılırlar^{81, 82}.

Kromatografi ilk defa 1906 yılında Rus botanist olan Micheal Tswett tarafından bulunmuş ve bitkilerin renk verici komponentlerinin

ayrılmasında kullanılmıştır. Kromatografik metodlar, karışımdan hiçbir konstitüentin kaybolmaması, kimyasal reaksiyonlarla yeni bir maddenin oluşmaması, ayırma cihazının basit oluşu, çalışma kolaylığı ve zaman tasarrufu gibi avantajlarından dolayı son yıllarda analitik metod olarak yaygın bir şekilde kabul görmektedir⁸¹⁻⁸³.

Laboratuarda kromatografinin esas kullanım şekilleri şunlardır⁸³:

1. Kalitatif olarak bir karışımın bileşenlerinin tanınmasında ve kantitatif olarak tayininde analitik metod olarak,
2. Partisyon katsayıları, adsorpsiyon izotermi gibi bazı fiziksel miktarların tayininde araştırma metodu olarak,
3. Karışımlardan komponentleri izole etmek için preparatif usul olarak kullanılmaktadır.

Kromatografik yöntemleri; hareketli fazların tipleri ve fazlar arasında madde aktarımını sağlayan dengelerin cinslerine göre 3 grupta sınıflandırabiliriz. Hareketli faz olarak sıvının kullanıldığı kromatografik yöntemlere sıvı kromatografisi (LC), hareketli fazın gaz olduğu kromatografik yöntemlere gaz kromatografisi (GC) ve hareketli fazın süperkritik akışkan olan tipine ise süperkritik akışkan kromatografisi adı verilmektedir. Kromatografi metodlarının, büyük çoğunluğunu gaz ve sıvı kromatografisi oluşturmaktadır^{81, 82, 84}.

2.3. Yüksek Performans Sıvı Kromatografi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

Yüksek performans sıvı kromatografi, 1970'lerin ortalarında geliştirilmiş olup bugün endüstrinin birçok dalında kullanılan analitik ayırıştırma metodudur. HPLC küçük dolgu maddeleri ile doldurulmuş, bir kolonda yüksek basınç altında yapılan kromatografi türüdür⁸¹. Sabit fazdaki tanecik çapının ve kolon çapının küçültülmesi kromatografik ayırmanın verimliliğini artırmaktadır⁸⁴. Bilim adamları, kolonu uygun büyüklükte dolgu maddesi ile doldurmuşlar ve kolonun üstünden yüksek basınç uygulayarak daha iyi sonuçlar elde etmişlerdir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisine eski kromatografi türlerinin iyileştirilmiş ve hızlandırılmış şekli de denilebilir^{81, 85}.

Yüksek performanslı sıvı kromatografi yöntemi bütün analitik ayırma teknikleri arasında en yaygın kullanılanıdır. Yöntemin bu kadar yaygın olmasının sebepleri; duyarlılığı, doğru kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan türlerin ayrılmasına uygun olması,

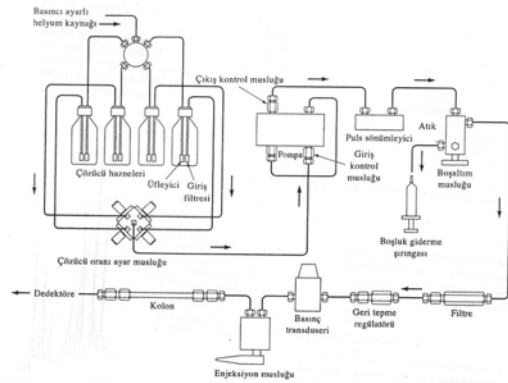
sıcaklığa hassas maddelere bile uygulanabilmesi ve en önemlisi sanayinin ve birçok bilim dalının ilgilendiği maddelere uygulanabilirliği^{81, 82}.

Tüm kromatografik sistemlerin bileşenleri temel olarak aynıdır. Bununla birlikte bir takım özellikler ve boyutlar sistemler arasında farklılık gösterir. Modern sıvı kromatografi sistemlerinde genel olarak 2- 10 µm tanecik boyutuna sahip dolgu maddeleri ile uygun sıvı akış hızı sağlayan pompalara ihtiyaç vardır⁸². Bir HPLC cihazı pompa, enjektör, kolon, dedektör ve kaydedici veya bilgi sisteminden oluşmaktadır^{82, 86}.

HPLC sisteminin esasını, ayırma işlemini gerçekleştiren kolon oluşturur. Hareketsiz faz mikrometre büyüklüğünde pöröz partiküllerden oluşmakta ve mobil faz yüksek basınç oluşturan pompa sayesinde kolona doğru yükselmektedir. Kromatografik süreç kolonun üst kısmına solüsyonun enjekte edilmesi ile başlar. Komponentlerin ayrılması analitik olarak gerçekleşir ve hareketli faz kolona doğru pompalanır. Kolondan geçen komponentler dedektör tarafından dar bir band veya pik olarak kaydedilir^{84, 86}.

Tipik bir yüksek-performanslı sıvı kromatografinin önemli parçaları şunlardır^{81, 82, 84- 86} (**Şekil 7**).

1. Hareketli Faz Hazneleri ve Çözücü Muamele Sistemleri
2. Pompalama Sistemleri
3. Numune Enjeksiyon Sistemleri
4. Sıvı Kromatografi Kolonları
5. Kolon Dolgu Maddeleri
6. Dedektörler



Şekil 7: HPLC cihazının şematik görünümü.

2.3.1. Hareketli Faz Hazneleri ve Çözücü Muamele Sistemleri: Modern bir HPLC cihazı bir veya daha fazla her biri 200- 1000 ml çözücü içeren camdan veya paslanmaz çelikten yapılmış hazne içermektedir. Bu haznelere, kolonda ve dedektör sisteminde gaz oluşturarak bozucu etkilere sebep olan çözünmüş gazların giderilmesi için bir cihaz eklenmiştir. Gaz uzaklaştırıcı düzenek olarak, vakum pompası, destilasyon cihazı, ısıtma sistemi, çözücüyü karıştıran bir sistem veya çözücüden inert gaz geçiren bir sistem kullanılır. Gaz uzaklaştırıcı ve süzme düzeneğinin HPLC sisteminin ana parçası olması gerekli değildir. Çözücüyü hazneye doldurmadan önce vakum altında bir milipor süzgeçten geçirerek süspansiyon halindeki maddelerin uzaklaştırılmasıyla da gazlar giderilmektedir^{81, 82}.

2.3.2. Pompalama Sistemleri: Yüksek basınç pompaları, solventleri hareketsiz faz yataklarına doğru sürükleyecek kuvvetleri oluşturmaktadır. Pompa sistemleri, mobil fazı oluşturan çözücü karışımlarının enjektör, kolon ve dedektör içerisinden belirli, sabit veya değişken bir hızda belirli basınç altında geçmesini sağlar. Tüm ayırma işlemleri için gerekli olmamasına rağmen daha küçük partiküller kullanılması, yüksek çözünme, hızlı analiz ve örnek yükleme kapasitesinin artırılması gibi avantajlar sağlar. Daha küçük partiküllü yataklar ise daha fazla basınç gerektirmektedir⁸⁶.

HPLC cihazı için farklı üstünlük ve sakıncaları bulunan 3 tip pompa sistemi mevcuttur. Bunlar pistonlu pompalar, şırınga veya sürgülü pompalar ve pnömatik veya sabit basınçlı pompalardır. Ticari olarak satılan HPLC sistemlerinin yaklaşık % 90'ında pistonlu pompalar kullanılmaktadır⁸².

Bir HPLC pompalama sistemi için gerekli şartlar oldukça katıdır ve şunları içermektedir^{81, 82}:

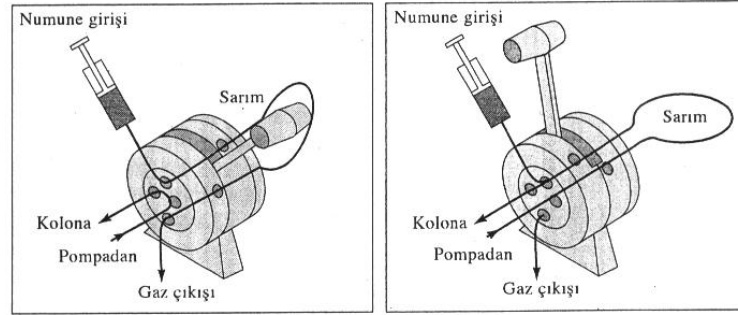
1. 400 atm' ye kadar basınç üretimi
2. Puls içermeyen basınç çıkışı
3. 0.1-10 ml/dakika aralığında akış hızları
4. % 0.5 veya daha iyi tekrarlanabilirlikte akış kontrolü
5. Paslanmaz çelik veya teflondan yapılmış korozyona dayanıklı parçalar

2.3.3. Numune Enjeksiyon Sistemleri: Örnekler, sabit faz (kolon) öncesinde mobil faza enjektör aracılığıyla gönderilir. Enjekte edilen numune, yüksek basınçta hareket eden hareketli faza karışır ve hareketli fazda çözünmüş halde kolonun üstüne ulaşır⁸¹. Sıvı kromatografik

ölçümlerin kesinliğini belirleyici faktör, numunenin kolon dolgu maddesine sevkinin tekrarlanabilirliğidir^{82, 86}.

İlk ve en basit numune verme düzeneği, kendi kendine sızdırmazlık sağlayan elastomerik septumlardan oluşan şırınga enjeksiyon sistemidir. Bu amaçla 100 atm basınca dayanıklı mikro şırıngalar kullanılmaktadır^{82, 86}.

Sıvı kromatografide numune vermek için en yaygın kullanılan yöntem numune giriş sarımlarının kullanılması esasına dayanmaktadır (**Şekil 8**). Musluk kolu soldaki şekilde görülen konumda olduğunda, sarım şırınga ile doldurulur ve hareketli faz pompadan kolona doğru akar. Musluk sağdaki şekilde görülen konuma getirildiğinde, sarım pompa ile kolon arasına girer ve hareketli faz numuneyi kolona sürükler.



Şekil 8: Sıvı kromatografide numune sarımı.

2.3.4. Sıvı Kromatografi Kolonları: Genellikle düzgün iç çaplı paslanmaz çelik borulardan yapılmaktadır. Analitik kolonlar düzdür ve büyük çoğunluğunun uzunluğu 10-30 cm'dir. Gerekli yerlerde iki veya daha fazla kolonun birbirine eklenmesi ile kolonun boyu artırılabilir. Bazı durumlarda sarmal kolonlar da kullanılabilir. Kolonların iç çapı 4-10 mm arasında ve silika jel taneciklerin büyüklüğü ise 5-10 mikrometre boyutlarındadır^{81, 82, 86}.

Emniyet kolonları, analitik kolonun ömrünü uzatmak amacıyla, analitik kolondan önce yerleştirilen kısa kolona emniyet kolonu veya koruyucu kolon adı verilmektedir. Bu kolonun görevi, partikül halindeki maddeleri ve çözücü içindeki yabancı maddeleri tutmak ve analitik kolondaki sabit faz sıvısını korumaktır^{81, 82}.

2.3.5. Kolon Dolgu Maddeleri: Temel olarak iki tip kolon dolgu maddesi kullanılmaktadır. Bunlar film dolgular ve gözenekli dolgulardır. Film dolgular, küresel, gözeneksiz, çapları 30-40 µm olan cam veya polimer tanelerinden oluşur. Bu tanelerin yüzeyine, silis, alümina,

polistiren-divinil benzen sentetik reçinesi veya bir iyon değıştirci reçineden oluşan ince gözenekli bir film kaplanmıştır.

Gözenekli partiküllerin çapları 3-10 µm ve partiküller; silis, alümina, polistiren-divinil benzen sentetik reçinesi veya iyon değıştirci reçineden meydana gelmiştir. Ancak en çok silikadan yapılanlar kullanılır^{81, 82}.

2.3.6. Dedektörler: Kolonda ayırımı yapılan analizlenecek maddeye ait bileşenlerin alıkorma zamanlarına göre sırasıyla geçerken miktar tayinlerinin yapıldığı donanımdır. Kolondan çıkan maddenin derişimi kolon çıkışına yerleştirilen uygun bir dedektör ile ölçölür. Dedektörlerin bazıları, bütün bileşenlere karşı duyarlıyken, bazıları bileşenlerden sadece birkaçının miktarını ölçer⁸⁴. En çok kullanılan sıvı kromatografisi dedektör, UV-görünür bölgede absorbans ölçümüne dayanan türdür ve bu dedektör ya tek dalga boyunda (Hg lambası, 254 nm) alışır, ya da monokromatör yardımı ile döteryum ışık kaynağından çeşitli dalga boylarını seçerek ölçüm yapar^{84, 86}.

HPLC cihazında kullanılan dedektörler; absorbans dedektörler, filtreli ultraviyole absorbans dedektörler, monokromatörlü ultraviyole absorbans dedektörler, infrared absorbans dedektörler, floresans dedektörler, kırma indisi dedektörü, buharlaştırmalı ışık saçma dedektörleri, elektrokimyasal dedektörleri, kütle spektrometrik dedektörler olarak sınıflandırılabilir^{81, 82, 84, 86}.

2.4. Biyouyumluluk

Dental materyallerin dayanıklılık, estetik ve fonksiyon yönlerinin yanı sıra biyouyumluluk yönü de önem arz etmektedir. Biyouyumluluk, üretilmiş materyal ve aletlerin vücut dokuları ve sıvılarıyla olan uygunluğu olarak tanımlanmaktadır¹.

Restoratif dental materyaller pulpa, dentin, periodontal ve periapikal dokular ve oral mukoza ile uzun süre temasta bulunmaktadır. Çoğu dental materyal, karıştırıldıktan hemen sonra polimerizasyon reaksiyonu tamamlanmadan ağız içerisine tatbik edilir. Materyal, uygulamadan hemen sonraki kısa periyotta oldukça irritandır. Bu periyot sırasında reaksiyonu tamamlanmamış maddeler doku hasarına neden olabilir. Ayrıca, bu periyot tamamlandıktan sonra da potansiyel toksisiteye neden olan maddeler materyalden salınarak tükürük, gingival ve dential sıvılar içerisine geçebilmekte ve olası yan etkilere neden olmaktadır. Bu yüzden materyalin klinik kullanımından önce olası yan etkilerinin değeriendirilmesi gerekmektedir⁸⁷.

Polimetil metakrilatın toksik ve alerjik reaksiyonlar yapabileceği belirtilmiştir. Teorik olarak kimyasal irritasyon polimer, artık monomer, benzoil peroksit, hidrokinon, boya maddeleri veya protez kaide maddesi bileşenlerinden kaynaklanabilir⁶.

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyolojik uyumunun saptanmasında genellikle şu yöntemler kullanılır;

- 1- İn vitro hücre kültürü ile toksisitenin saptanması
- 2- Hayvan deneylerinde materyalin subkutan dokular ya da kaslar içine yerleştirilmesi ile doku toksisitesinin belirlenmesi
- 3- Materyalin, insan ya da hayvan dişlerine yerleştirilmesi ile pulpa reaksiyonlarının belirlenmesidir.

Yeni geliştirilen dental materyallerin klinik kullanımdan önce oral dokular için olası zararlı etkilerini karakterize etmek amacı ile in vitro testler geliştirilmiştir. İn vitro biyoyumluluk testlerinin amacı, vücut dokuları üzerine veya içerisine yerleştirilen materyallere karşı oluşacak olan biyolojik reaksiyonların test ortamında oluşturulmasıdır^{88, 89}.

İn vitro testler, hayvan deneylerinin ve klinik çalışmaların gerçekleştirilmesi sırasında oluşan güçlükleri ortadan kaldırmaya ve yeni geliştirilen materyallerin daha ucuz yollarla araştırılmasına olanak sağlar. Hayvan deneylerine göre nispeten kontrol edilebilir, tekrarlanabilir, hızlı ve ekonomik olması avantajlarıdır^{87, 89}.

Bir materyalin biyoyumluluğunun araştırılmasında materyale uygun özellikteki testin seçilmesi önemli bir aşamadır. Çünkü biyolojik uyumun belirlenmesinde kullanılacak testler hem malzemenin uygulandığı bölgeye hem de beklenen zararlı etkilere göre farklılık göstermektedir^{90, 91}.

Dental malzemelerin biyoyumluluğu ile ilgili geliştirilen ilk sınıflama 1926 yılında Amerikan Diş Hekimleri Birliği (ADA) tarafından yapılmıştır. 1982 yılında FDI (Uluslararası Diş hekimliği Birliği), ISO (Uluslararası Standartlar Teşkilatı) ve ADA tarafından ortak bir görüş oluşturulmuş ve diş hekimliğinde kullanılacak malzemelerin biyolojik uyumunun araştırılmasına yönelik testler geliştirilmiştir^{1, 89}.

Materyallerin biyoyumluluğunun değerlendirilmesinde kullanılacak testler öncül testler, ikincil testler ve kullanım testleri olmak üzere üç tiptir. Diş hekimliği malzemelerinin biyolojik uyumluluğu genellikle öncül testler grubunda yer alan sitotoksite testleri ile değerlendirilmektedir^{1, 91, 92, 93}.

2.4.1. Öncül Testler

Öncül testler, materyalin toksisite profili hakkında bilgi edinmek üzere geliştirilen test yöntemleridir. LD₅₀ Testi, Soluma testi, Hemolizis testi, Ames testi, Styles testi, Dominant Letal test ve Sitotoksisite testi olmak üzere sınıflandırılabilir⁹¹.

2.4.2. İkincil Testler

Materyal başlangıç testleri ile değerlendirildikten sonra, materyale karşı gelişen inflamatuvar veya immün reaksiyonları tespit etmek amacı ile fare, rat, tavşan, hamster veya guinea pigler üzerinde daha uzun süreli ikincil testler uygulanmaktadır. İkincil testler, İmplantasyon testi, Ağız Mukozası Membran testi, Sensitizasyon testi olarak sınıflandırılmaktadır^{1, 91}.

2.4.3. Kullanım Testleri

Kullanım testleri, çoğunlukla operatif diş hekimliği ve endodonti alanında uygulanmaktadır. Bu nedenle metodlar, pulpa kaplaması, pulpatomi ve endodontik tedavi sırasında kullanılan materyallerin pulpa ve dentinde oluşturdıkları reaksiyonları değerlendirmek amacı ile geliştirilmiştir. Restoratif malzemeler için pulpa ve dentin testi, kuafaj ve pulpatomi malzemeleri testi, endodonti malzemeleri testi, kemik içi implant malzemeleri testi olarak sınıflandırılabilir^{1, 91}.

2.4.4. Sitotoksisite Testi

Test edilecek olan materyalin uygun hücre kültürlerindeki hücre büyüme oranı ve morfolojik özellikleri üzerine etkisinin negatif ve pozitif kontrol grupları kullanılarak değerlendirildiği bir yöntemdir¹.

Dental materyallerin sitotoksitesinin değerlendirildiği testlerde materyalin, hücre sayısı ve büyümesi, hücrelerin membran bütünlüğü, biyosentez veya enzim aktivitesi veya hücrenin genetik yapısı üzerindeki etkileri ölçülmektedir^{1, 89, 91}.

Sitotoksitenin değerlendirilmesinde kullanılan in vitro testlerin avantajları aşağıdaki gibi özetlenebilir^{1, 87, 93, 94}.

1- Testi yapılan malzemenin diğer metabolik olaylardan izole olarak hücre metabolizmasındaki spesifik bir fonksiyon üzerindeki etkisi değerlendirilir.

2- Çok sayıda örnek kısa bir sürede ve ekonomik olarak test edilebilmektedir.

3- Kantitatif sonuçlar elde edilmektedir.

4- Materyallerin toksisite değerleri kullanım testlerine göre daha hassas sonuçlar vermektedir.

5- Test metodları standardize edilebilmektedir.

Sitotoksitenin değerlendirilmesinde kullanılan in vitro testlerin dezavantajları^{1,93,94.},

1- Sadece bir tip hücre ile testin sınırlanması.

2- Test hücreleri ile konak hücrelerinin farklı olması.

3- Kültür ortamında inflamatuvar reaksiyonların ve diğer doku koruyucu mekanizmaların bulunmaması önemli bir eksikliktir.

Tüm sitotoksite testlerinde test sistemleri, materyalin analiz edilebilmesini engellemeyecek şekilde nontoksik, steril ve tekrarlanabilir olmalıdır.

2.4.5. Hücre Kültürleri

Hücre kültürü; spontan migrasyon, mekanik ve enzimatik parçalanma ile bir dokudan ayrılan hücrelerin in vitro ortamda yaşatılmasını ve çoğaltılmasını ifade etmektedir⁹⁵. Canlı yapılardan elde edilen dokular, vücut ısısında kültüre edilmekte ve vücudun özgün fizyolojik durumunu taklit eden besleyici sıvılarda beslenerek çoğaltılmaktadır. Besleyici sıvılar, hayvan embriyo ekstratları, plazma ve serum, aminoasit, mineraller, şeker, tuz, vitamin ve antibiyotikleri içerir^{1, 90}.

Dental materyallerin sitotoksitesi in vitro hücre kültürlerinde değerlendirilirken beş ayrı ölçüt kullanılmaktadır. Değerlendirme yapılırken, test edilen materyalin kimyasal yapısına uygun olan toksisite parametresi seçilmesi oldukça önemlidir⁹⁶.

1. Hücre büyümesi: Hücre sayımı, DNA analizi veya laktik asit oluşumunun saptanması.

2. Mitotik aktivite: Koloni oluşturma ve koloni oluşturma etkinliğinin saptanması.

3. Oksijen alımındaki ve glikoz metabolizmasındaki değişikliklerin saptanması.

4. Membran permeabilite değişiklikleri: ⁵¹Cr salınımı ve vital boyalar ile boyanma özelliklerinin saptanması.

5. Mitokondrial enzim fonksiyonlarının histokimyasal olarak saptanması^{15, 91, 96}.

2.4.5.1. Hücre Kültürlerinin Kullanım Alanları

Hücre kültürleri temel olarak; anatomi, fizyoloji, biyokimya, mikrobiyoloji, immünoloji, viroloji ve toksikoloji gibi bölümlerin özelleşmiş dallarında kullanılmaktadır. En yaygın kullanım alanı olarak ilk sırayı aşı üretimi almıştır.

Hücre kültürlerinin diğer kullanım alanları şu şekilde özetlenebilir:

1. İnsan ve hayvan viral aşı üretimi ve viral teşhis amaçlı
2. Monoklonal antikor üretimi
3. İnterferon üretimi
4. Enzim üretimi
5. İnsektisit ve insekt aşı üretimi
6. İmmünoregülatörlerin üretimi (İnterlökin gibi)
7. Hormon üretimi (İnsülin, büyüme hormonları, prolaktin)
8. Büyüme faktörleri üretimi

Son yıllarda hücre kültürü teknolojisine bağlı olarak hücre kültürünün kullanım alanları şöyle genişletilmiştir;

- 1- Somatik gen tedavisi
- 2- Tümör aşılı
- 3- Canlı hücrelerin greft amaçlı olarak kullanılması
 - Eritrositlerin organizma dışında transfüzyon amacı ile kullanılması
 - Kanser tedavisinde kemik iliğinin kullanılması
 - Parkinson hastalığının tedavisinde beyin hücrelerinin kullanılması
 - Organizma dışında hücre modifikasyonu

4- Kompleks üç boyutlu dokular; deri, kıkırdak, karaciğer, pankreas⁹⁷

2.4.5.2. Hücre Kültürlerinin Avantajları^{15, 95, 96, 98}

1. Hücre kültürü ortamında fizikokimyasal çevre ve buna bağlı olarak fizyolojik koşullar daha iyi kontrol edilebilir. Sıcaklık, pH, ozmotik basınç, O₂ ve CO₂ kısmi basınçları gibi koşullar hücre kültüründe daha kolay oluşturulurken, canlı vücutunda sabit bir çevreyi oluşturarak çeşitli testleri yapmak daha zordur.

2. Hücre kültüründe homojenite sağlanabilir. Doku örnekleri çoğunlukla heterojendir. Ancak, bir iki pasaj sonra kültüre edilmiş hücreler homojen hale gelirler. Hücrelerin homojenitesi, elde edilen ürünlerin homojenitesi açısından son derece önemlidir.

3. Hücre kültürleri ekonomiktir. İn vivo sistemlerde test için organizmaya verilen maddenin bir kısmı çeşitli yollarla dışarıya atılacaktır, bir kısmı da organizmanın bağışıklık sistemi tarafından ortadan kaldırılacaktır. Bu koşullar altında canlı bir organizmada, verilen maddenin ancak % 10'nuna cevap alınırken, hücre kültürlerinde bu oran % 90'lara kadar çıkmaktadır.

4. Hücre kültürleri endüstriyel düzeyde ürün eldesi amaçlı olarak kullanılabilir.

2.4.5.3. Hücre Kültürlerinin Dezavantajları^{95, 98}

1. Primer kültür ile başladığında birbirini izleyen pasajlarda hücreler farklılaşır ve bir miktar ölüm her zaman gerçekleşir. Her zaman istenilen saflıkta ve miktarda hücre elde edilemeyebilir.

2. Hücre kültürlerinde hijyen çok önemlidir. Aseptik koşullara uyulmadığı takdirde kontaminasyonlarla karşılaşılacaktır.

3. Deneyim çok önemli bir faktördür. İn vitro çalışmalarda sterilite, kültürlerin hazırlanması ve mikroskopik inceleme bir uzmanlığı gerektirir.

4. Hücre kültürleri bazen, yapılan çalışmanın çok özel amaçlı olması nedeniyle kullanılan besi ortamı ve bazı özel maddelerden dolayı ekonomik olmayabilir.

Farklı dokulardan üretimi sağlanan hücre kültürleri; primer hücre kültürleri, devamlı hücre kültürleri, diploid hücre kültürü olmak üzere üç grupta toplanır⁹⁹.

1. Primer Hücre Kültürleri: Orijinal dokudan yeni ayrılan ve ilk olarak kültür şartlarında bulunan hücreleri içerir. Dokunun fizyolojik durumunu yansıtan bu hücrelerin, genotipi ve fenotipi orijinal doku hücresi ile aynı özellikleri taşır. Primer hücre kültürleri ilk pasajdan sonra bir kültür ortamından diğerine taşınırlar. Bu işleme subkültür adı verilir. Yeni üretilen hücre kültürleri aynı fonksiyonel özelliklere sahip hücre hatlarını oluştururlar. Hücre hatları, hücrenin alındığı dokuların özelliklerine göre değişmek şartıyla değişen oranlarda subkültürüne izin verirler. Ancak bu hücrelerin deneysel ortamda çoğalmaları sınırlıdır.

2. Devamlı Hücre Kültürleri: Subkültürleri sonsuz olarak yapılabilen, karyotipleri alındıkları dokulardan farklı olarak geliştirilmiş kültürlerdir. Herhangi bir kültürün devamlı doku kültürü olabilmesi için en az 70 defa subkültürünün olması gerekmektedir.

3. Diploid Hücre Kültürleri: Primer kültürlerin subkültürlerinden elde edilir. Ancak bu kültürlerdeki bütün hücreler alındıkları dokunun karyotipini % 85 oranında korurlar.

2.4.5.4. Hücre Kültürü Test Yöntemleri

Spangberg ve arkadaşlarının¹⁰⁰ bildirdiğine göre, materyallerin toksisitesini değerlendirilmesinde hücre kültürü test yöntemlerinin kullanılması ilk olarak 1955 yılında tanımlanmıştır.

2.4.5.4.1. Agar Overlay Test Yöntemi

Çoğu sitotoksikite testinde, hücre ile materyal arasında direkt temas vardır. Araştırmacılar in vivo durumlarda bu şekilde bir direkt kontakın olmadığını, hücre ve materyalin keratinize epitel, dentin veya ekstra sellüler matriks ile ayrıldığını belirterek bu in vivo durumu taklit etmek amacı ile bariyer testi adı verilen yöntemler geliştirmişlerdir. Bu yöntemlerden biri agar overlay metodudur¹.

Test edilecek olan materyal, nötral kırmızı vital boya ile boyanmış fare fibroblast hücrelerinin (L929) tek tabakasını örten agar tabakasının yüzeyi ile temas edecek şekilde yerleştirilir. Agar overlay testi için her pleitde, toksisitesi bilinmekte olan bir materyal ile toksik olmayan bir materyal kullanılır. Genellikle dibutilasetat içeren polivinil klorid pozitif kontrol olarak, yüksek yoğunluklu polietilen ise negatif kontrol olarak kullanılmaktadır. Bu materyallerin mevcut olmadığı durumlarda ise alternatif pek çok madde kullanılabilir. 24 saatlik inkübasyon süresinden sonra sitotoksikite, toksik maddelerin difüze olduğu bölgelerdeki hücrelerde görülen boya kaybı ile değerlendirilir. Difüzyon bölgelerinde hücre erimesi (lisis) görülmesi ise, toksik maddelerin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunu göstermektedir^{89, 91, 101}.

Sitotoksik cevap, renk değişikliği gösteren bölgelerdeki difüze alanın büyüklüğü (zone indeks 0-5) ve lizis görülen bölgedeki hücrelerin yüzdesi (lizis indeks 0-5) ile değerlendirilir^{90, 91, 101, 102}.

Agar overlay metodunun avantajları, rutin hücre kültürü yapan labarotuarlarda ucuz bir maliyet ile yapılabilmesi, mevcut malzemenin kolaylıkla temin edilebilmesi, radyokimyasal malzemelere gerek duyulmaması, basit bir teknik ile uygulanabilmesi olarak özetlenir¹⁰¹.

2.4.5.4.2. Agarose Test Yöntemi

Wilsnack ve arkadaşları, 1973 yılında agar tabakasından daha yüksek difüzyon yeteneğine sahip agarose'u bulmuşlar ve difüzyon yeteneğinin daha iyi olmasından dolayı agar overlay testi yerine güvenle kullanılabilecek hassas bir yöntem olduğunu öne sürmüşlerdir⁹¹. 1985'de Niemi ve Hensten-Petersen dental alaşımların toksisitesini değerlendirmek için agarosu kullanmışlardır¹⁰¹.

Agarose test yönteminde, agaroseun jel haline gelme noktası 32°C'dir. Böylece agar overlayın 40-45°C'deki hazırlanma aşamasında oluşan termal şoklardan kaçınılmış olması testin avantajıdır⁹¹.

2.4.5.4.3. Milipore Filtre Test Yöntemi

Hücre ve materyal arasında direkt temas oluşturan hücre kültür testlerinin en çok eleştiri alan tarafı, kayıp diş yapısını restore etmek için kullanılan materyallerin hücre ile direkt bir temasının olmamasından dolayı klinik şartları yansıtmaktan uzak olmasıdır. Bu nedenle geliştirilen ikinci bariyer testi de milipore filtre test yöntemidir^{1, 91}.

Bu test yönteminde hücreler, selüloz esterden yapılan filtrenin bir yüzeyine yerleştirilmektedir, materyal ise filtrenin karşıt yüzeyi ile temastadır. Böylece süzülen maddelerin hücreler üzerinde toksik etki oluşturabilmesi için 0.45 µm'lik filtre porlarından geçmesi gerekmektedir^{1, 89, 91}.

Materyale karşı gelişen toksik cevap, etkilenen bölgenin çapına, genişliğine ve boyalı bölgenin yoğunluğuna göre standart bir skrolama sistemi ile değerlendirilir^{90, 91}.

2.4.5.4.4. Krom Salınım Test Yöntemi

Bu test yöntemi, ilk olarak Spangberg tarafından 1973 yılında hem katı hem de likit materyallerin değerlendirilmesinde kullanılmıştır¹⁰⁰. Test yönteminde, hücreler Na₂⁵¹CrO₄ ile işaretlenir. Na₂CrO₄ 'daki heksavalent ⁵¹Cr, hücreler içerisine geçerek protein ve diğer hücre yapılarına tutunarak trivalent form oluşturur. Hücrelerin

işaretlenmesinden sonra hücre ve materyal direkt temas halinde 4-24 saat inkübe edilmektedir. Hücrelerin ölümü sonucunda, hücre zarının permeabilitesi değişir ve trivalent formdaki ^{51}Cr hücreler tarafından kullanılmaz ve tekrar hücre dışına çıkar. Hücre dışına çıkan ^{51}Cr 'ın radyoaktivitesinin ölçülmesi ortamdaki hücre lizisi konusunda bilgi vermektedir⁹¹. Bu yöntem ile hücre ölümünü takiben gelişen sublethal değişiklikler ölçülememektedir⁸⁹. Aynı test prosedürü ^3H -Thymidine ile işaretlenerek de gerçekleştirilmektedir⁹¹.

^{51}Cr salınım metodunun avantajları, pozitif kontrol ile sonuçların standardize edilebilmesi ve nicel sonuçların elde edilmesidir. Metodun dezavantajları ise, sadece direkt kontakt ile ölçüm yapılması, yalnızca konak hücrenin bir tipinin kullanılması ve yaşlandırma sırasında tekrarlayan zaman periyotlarında aynı materyale ait örneklerin konak hücrelerine tekrar maruz bırakılamamasıdır¹⁰³.

2.4.5.4.5. Model Kavite Test Yöntemi

Tyas tarafından 1977'de dental restoratif materyallerin toksisitesini değerlendirmek için tanımlanmış ve test edilen materyallerin klinik kullanımlarını taklit etmek amacı geliştirilmiş bir yöntemdir^{91, 104}.

Bu test yönteminde materyal polimetil metakrilat bir kaviteye yerleştirilir ve kavite tabanı olarak da milipore filtre veya dentin tabakası kullanılır. Hücre kültürleri bu tabakanın alt kısmına yerleştirilir ve hücrelerin yapışması sağlanır. Hücresel hasarın tespiti, lizozomal ve mitokondrial enzimler olan asit fosfotaz ve süksinat dehidrogenazdaki değişikliklerin sitokimyasal yöntemlerle belirlenmesi ile yapılmaktadır⁹¹.

2.4.5.4.6. Diş Kavite Test Yöntemi

Hume tarafından 1985 yılında tanımlanan bu metod, in vivo şartlara oldukça yakın bir aşamadır. Bu test yöntemi, toksik maddelerin difüze olduğu restoratif maddelerin kimyasal toksisitesi için kullanılmaktadır.

Gömülü 3. molar dişlerin çekimini takiben dişler 3-4 saat fosfat tamponlu salin solüsyonunda bekletilir. Normal bir kavite veya kron preparasyonu yapıldıktan sonra dentin duvarına penetre olabilen materyallerin solüsyonları uygulanır. Bu test yöntemi ile çeşitli restoratif materyallerin sitotoksitesisi belirlenmekte ve in vivo verilere oldukça uyumlu sonuçlar elde edilmektedir⁹¹.

2.4.5.4.7. MTT Test Yöntemi (Mitokondriyal Dehidrogenaz Aktivitesi)

MTT testi, sitotoksitenin değerlendirilmesi, hücre canlılığının tespiti ve yaşayan hücrelerdeki proliferasyonun belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan enzimatik test yöntemlerinden biridir^{1, 105}.

Mitokondriyal dehidrogenaz enzimi, yaşayan hücrelerde sarı tetrazolium tuzu olan MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]' yi mavi çözünmeyen formazan (1-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-3,5-diphenylformazan) bileşiğine dönüştürür¹⁰⁶.

Mosmann tarafından tanımlanan bu test, MTT'yi mavi çözünmeyen formazan bileşiğine dönüştürebilen dehidrogenaz enzim aktivitesini ölçmektedir. Hücrelere uygulanan maddenin sitotoksik etkisi dehidrogenaz enzim aktivitesini etkilemekte ve bu şartlarda formazan bileşimi oluşmamaktadır^{107, 108}.

Formazan bileşiğinin oluşumu yalnızca aktif mitokondrinin bulunduğu canlı hücrelerde görülür ve yaşayan hücre sayısı ile ilişkilendirilir^{96, 107, 109}. Formazan oluşumu, optik yoğunluğun ölçülmesi veya test örneğinin çevresindeki formazan ışığın elektron mikroskopuyla belirlenmesi ile değerlendirilir⁹⁵.

Materyallerin toksik etkileri sonucunda, çoğunlukla hücrelerin metabolizmaları etkilenmektedir. Özellikle hücrelerdeki mitokondrileri etkileyen bazı kimyasal maddeler MTT testi ile değerlendirilmektedir. Hücre kültürlerinde metabolik olarak aktif hücrelerin sayısı ile bağlantılı olarak boyanın konsantrasyonu ve absorban değerleri değişmektedir. MTT yöntemi, büyük sayılardaki hücre kültürlerinde canlı hücre oranının belirlenmesinde hızlı, güvenilir ve kolay bir yöntemdir. MTT değerlendirmeleri, büyüme döngüsünün herhangi bir aşamasındaki canlı hücre yoğunluğu hakkında fikir vermektedir⁹⁴.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Dört farklı polimerizasyon yöntemi uygulayarak hazırladığımız cam fiber ile güçlendirilmiş ve güçlendirilmemiş akrilik rezinlerde rest monomer miktarının Yüksek Performans Likit Kromatografi cihazı ile ölçümünün yapıldığı ve hazırlanan materyallerin in vitro koşullarda L929 fare fibroblast hücre kültüründe MTT test yöntemi ile sitotoksisitelerinin değerlendirildiği bu çalışma, Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı Laboratuvarı, ODTÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Araştırma Laboratuvarı ve Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı ŞAP Enstitüsü Müdürlüğü Hücre Bankasında yürütülmüştür.

Çalışmamızda akrilik rezin örnekler, ısı, mikrodalga ve gamma ışını ile polimerizasyonu sağlanabilen Meliodent (Denture Acrylic, Bayer UK Dental, England) ve kimyasal olarak polimerize olan Meliodent tamir akriliği (Denture Self Cure Acrylic, Bayer UK Dental, England) kullanılarak hazırlanmıştır.

Akrilik rezin protez kaide materyalini güçlendirmek amacı ile 6 mm uzunluğunda kırılmış formda E-cam fiber (Cam Elyaf Sanayi A.Ş., Kocaeli, Türkiye) kullanılmıştır (**Resim 1**). ISO 9002 standartlarına göre üretilmekte olan E-cam fiberin içeriğini % 54 SiO₂, % 17,5 CaO, % 14,0 Al₂O₃, %8,0 B₂O₃ oluşturmaktadır.



Resim 1: Araştırmada kullanılan güçlendirme materyali E-cam fiber.

Rest Monomer Analiz Deneyi

Örneklerin Hazırlanması

Çalışmamızda, fiberli ve fibersiz akrilik örnekler dört farklı polimerizasyon yöntemiyle hazırlanmak üzere 8 grup oluşturulmuş ve gruplar **Tablo 1**'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Çalışmada yer alan gruplar.

GRUP	POLİMERİZASYON YÖNTEMİ	% 5 Fiber	Fibersiz
1. Grup	Isı ile Polimerizasyon	-	+
2. Grup	Oto Polimerizasyon	-	+
3. Grup	Mikrodalga ile Polimerizasyon	-	+
4. Grup	Gamma Işını ile Polimerizasyon	-	+
5. Grup	Isı ile Polimerizasyon	+	-
6. Grup	Oto Polimerizasyon	+	-
7. Grup	Mikrodalga ile Polimerizasyon	+	-
8. Grup	Gamma Işını ile Polimerizasyon	+	-

Standart büyüklük ve kalınlıkta akrilik rezin örneklerin hazırlanabilmesi amacıyla 20 mm çapında, 2 mm kalınlığında disk şeklinde pirinç kalıplar hazırlanmıştır. Eritilen pembe plaka mumlar (Dental Modelling Wax, De Trey S.A., France) pirinç kalıplara dökülerek, iki cam levha arasında sıkıştırılmış ve standart mum örnekler elde edilmiştir. Bilinen yöntemlerle muflaya alınan mum örnekler, kaynayan suya daldırılmış ve rutin işlemler uygulanarak mum eritimi yapılmıştır. Muflalar çıplak elle tutulabilecek hale geldiğinde örnek boşluklarına izolatör (Aislar, Heraus Kulzer, Germany) sürülmüş ve akril hamurunun tepim işlemine geçilmiştir.

Fiber ile güçlendirilmemiş örneklerde kaide akriliği Meliodent üretici firmanın önerileri doğrultusunda 23,4 gr toza 10 ml likit olacak şekilde akrilik rezin örnekler hazırlanmıştır.

Fiber ile güçlendirilen gruplarda, fiber miktarı, kullanılan akriliğin % 5'i cam fiber olacak şekilde, 1/10000 gr hassasiyetdeki hassas terazide (Sartorius AG, Göttingen, Germany) tartılarak belirlenmiştir. Fiber, üretici firmanın önermiş olduğu likit içerisine konulmuş ve üzerine toz eklenerek hamur hazırlanmıştır.

Hem güçlendirilmemiş hem de güçlendirilmiş gruplarda akril hamurunun muflaya tepimi yapılmış ve kontrol kapanışı da yapıldıktan sonra mufla 50 kg/cm² (4,9 kPa) 'deki hidrolik preste 15 dakika bekletilmiştir. Isı, mikrodalga ve gamma ışını ile polimerizasyon

yöntemlerinde akrilik rezinin ön polimerizasyonu 60°C'deki suda 30 dakika ısıtılarak gerçekleştirilmiştir.

Isı ile polimerize edilecek gruplarda, ön polimerizasyon aşamasını takiben mufla 100°C'de 20 dakika boyunca termostatlı su banyosunda kaynatılmıştır.

Oto polimerizasyon yönteminde, Meliodent tamir akriliğinin toz/likit oranı, üretici firmanın önerileri doğrultusunda 20 gr/10 ml olacak şekilde ayarlanmış ve 3 dakikalık manipülasyon süresi içinde akril hamuru mufladaki örnek boşluklarına uygulanmıştır. Polimerizasyon $23\pm1^{\circ}\text{C}$ ' de 50 kg/cm² (4,9 kPa) basınç altında 15 dakikada tamamlanmıştır. Muflalar 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra örnekler mufladan çıkarılmıştır.

Mikrodalga enerjisi ile yapılan polimerizasyonda, mum örnekler, mikrodalgaların geçişine izin veren fiberle güçlendirilmiş plastik muflalara (FRP Flask, GC Industrial Corp, Tokyo, Japan) alınmıştır (**Resim 2**). Akriliğin ön polimerizasyon aşamasından sonra termostatlı su banyosundan çıkarılan muflalar mikrodalga fırınına (Vestel-Goldstar, Türkiye) yerleştirilmiş ve 2450 MHz 'lik frekansta ve 500 W'da 3 dakika mikrodalga enerjisine maruz bırakılmıştır (**Resim 3**).



Resim 2: Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde kullanılan fiber ile güçlendirilmiş plastik mufla ve polikarbon vidaların görünümü.



Resim 3: Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde mikrodalga muflası ve fırınının görünümü.

Gamma ışını kullanılarak polimerize edilen gruplarda, ön polimerizasyonu takiben örnekler gamma ışınına maruz bırakılmak amacı ile gamma-ray cihazına (Gammacell 220, Radio-active Material Model: GC220, Canada) alınmıştır. Metal muflalar gamma ışınının geçişini engellediğinden mufladan örnekler ile birlikte alçı kalıp kırılmadan çıkarılmış ve cihaza konulmuştur. 1125 krad dozda ışına maruz kalmasını sağlamak için 120 saat cihazda bekletilmiştir (**Resim 4**).



Resim 4: Gammacell 220 cihazı ve akrilik örneklerin cihaz içerisindeki görünümü.

Polimerizasyon işlemleri tamamlandıktan sonra britteki muflalar 30 dakika $23 \pm 1^\circ\text{C}$ oda sıcaklığında bekletilmiştir. Örnekler mufladan çıkarıldıktan sonra örneğe gelecek farklı basınçların yüzeyde mikro çatlaklara neden olmaması, sürtünme ısısının depolimerizasyona ve monomer kaybına yol açmaması için turlu alet ile tesviye ve cilalama işlemleri yapılmamıştır¹¹. Ancak örnek yüzeyindeki akril çapaklar su zımparası ile düzeltilmiştir.

Akrilik rezin örnekleri polimerize etmek amacı ile uygulanan yöntemler ve uygulama süreleri **Tablo 2'** de gösterilmiştir:

Tablo 2: Çalışmada kullanılan materyaller ve polimerizasyon yöntemleri.

Polimerizasyon Yöntemi	Polimerizasyon
Isı ile Polimerizasyon	60°C' de 30 dak. termostatlı su banyosunda ön polimerizasyon ve sonrasında 100°C'de 20 dakika kaynatma
Oto Polimerizasyon	23±1°C' de 50 kg/cm ² (4,9 kPa) basınç altında 15 dakika polimerizasyon
Mikrodalga ile Polimerizasyon	60°C'de 30 dak. termostatlı su banyosunda ön polimerizasyon ve sonrasında 2450 MHz'lik frekansta ve 500 W' da 3 dakika mikrodalga fırınında polimerizasyon
Gamma ışını ile Polimerizasyon	60°C'de 30 dak. termostatlı su banyosunda ön polimerizasyon ve sonrasında gamma-ray cihazında 120 saat gamma ışını ile polimerizasyon

Fiberli ve fibersiz gruplarda dört polimerizasyon yöntemi ile akrilik rezin örnekler (**Resim 5**) hazırlanmıştır.



Resim 5: Fiber ile güçlendirilerek hazırlanmış akrilik rezin örnekler.

3.1.2. Rest Monomer Analizi

Rest monomer analizi için fiberli ve fibersiz akril grubundan her polimerizasyon yöntemine ait 5'er adet (n=5) olmak üzere toplam 40 adet örnek hazırlanmıştır. Örnekteki mevcut rest monomer yüzde

miktarının hesaplanmasında kullanmak amacıyla öncelikle örneklerin her birinin hassas terazide (Sartorius AG, Göttingen, Germany) tartımları yapılmış ve ağırlıkları kaydedilmiştir.

Örnek ağırlıkları belirlendikten sonra her bir örnek cam beher içerisine konulmuş ve %99.5 saflıkta 10 ml metanol solüsyonu (Merck, Darmstadt, F.R., Germany) ilave edilerek monomer salınım işlemine kadar buzdolabında bekletilmiştir.

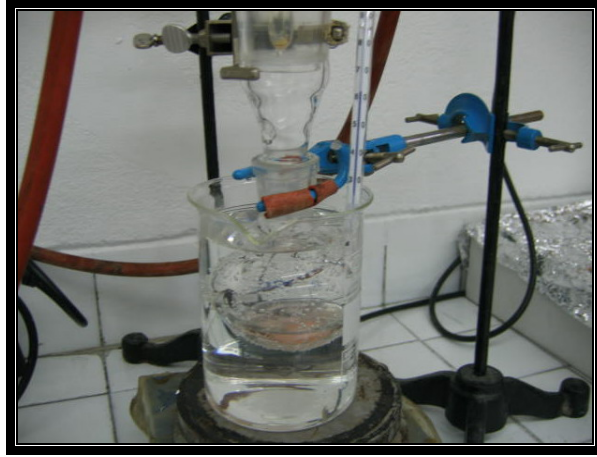
Akrilik rezin örneklerdeki hapsolmuş rest monomerin metanol solüsyonuna geçmesini sağlamak amacı ile bir düzenek oluşturulmuştur (**Resim 6**). Salınım işlemini gerçekleştirmek için hazırlanan düzende, cam balon içerisine akrilik rezin örnek konulmuş ve 20 ml metanol ilave edilmiştir. Cam balon geri soğutuculara bağlanmış, su banyosu oluşturmak amacı ile cam balon su dolu beher içerisine yerleştirilerek sıcaklığı ayarlanabilen magnetik karıştırma özelliğine sahip ısıtıcı üzerine yerleştirilmiştir.



Resim 6: Örneklerdeki rest monomer salınımını gerçekleştirmek üzere hazırlanan düzenek.

Su banyosunun sıcaklığı 60-70°C'ye ayarlanarak, kaynama sıcaklığı 64°C olan metanolün kaynaması sağlanmış ve bu işlem her bir akrilik örnek için 6 saat devam ettirilmiştir (**Resim 7**). Bu uygulama ile kaynama noktasına ulaşan metanolün gaz haline dönüşümü ve akrilik örnek içerisine girerek artık monomere ulaşımı sağlanmıştır. Geri soğutucularda dolaşan suyun etkisi ile metanol soğumuş ve gaz halinden tekrar sıvı hale geçerek cam balon içerisine artık monomer ile birlikte

birikmiştir. 6 saatlik ısıtma işleminin sonunda akrilik rezindeki rest monomerin tamamının metanole geçmesi sağlanmıştır. Salınım işlemi tamamlandıktan sonra cam balondaki metanol solüsyonu tüpler içerisine alınarak rest monomer analize kadar buzdolabında saklanmıştır.



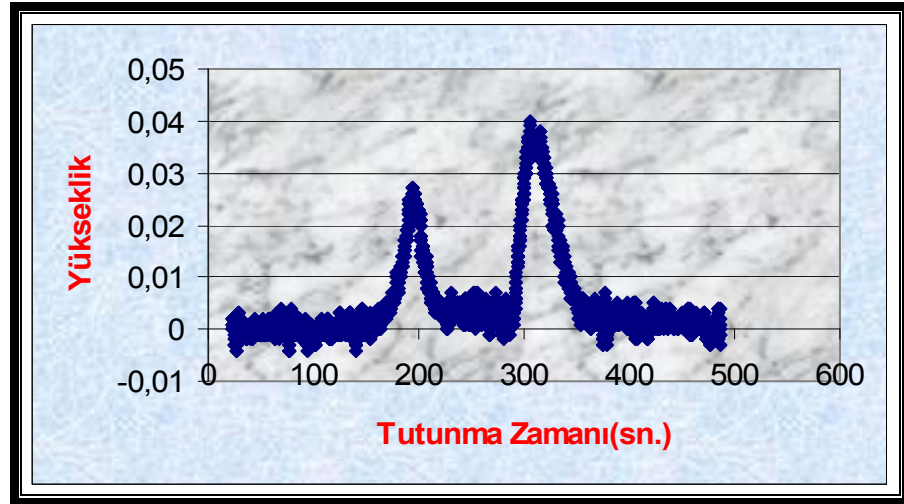
Resim 7: Su banyosunun sıcaklığı kontrol edilerek, örneklerin 6 saat kaynatma işleminin yapılması.

Tüm örneklerin monomer salınım işlemleri tamamlandıktan sonra metanole geçen rest monomer miktarını belirlemek amacı ile Yüksek Performans Likit Kromatografi cihazı (High Performance Liquid Chromatography (HPLC), CECIL 1100 HPLC, England) kullanılmıştır (**Resim 8**). HPLC cihazı, 254 nm dalga boyuna sahip CE 1220 model UV-VIS absorban dedektörü, ACE 3 C18 kolon (3 μ m- 150x4,6 mm. i.d. ACT) ve kaydediciden oluşmuştur.



Resim 8: Yüksek Performans Likit Kromatografi cihazı (CECIL 1100 HPLC).

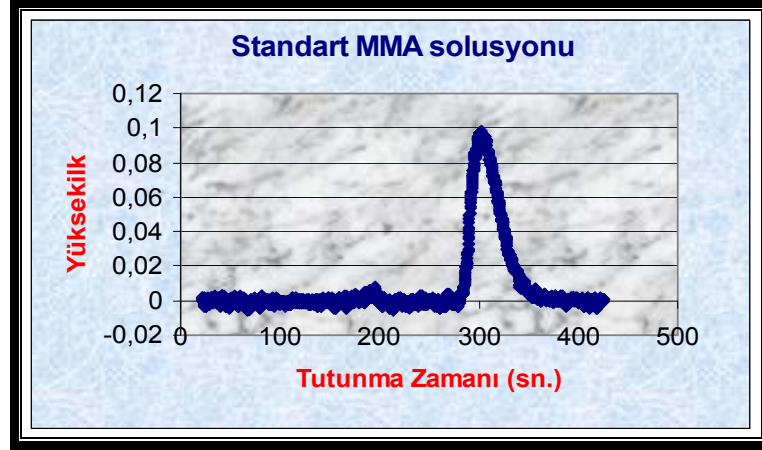
HPLC cihazında, analizi yapılacak örnekler eşit hacimde enjekte edildikten sonra örnek bileşenleri taşıyıcı fazı oluşturan çözücü tarafından kolona sürüklenir. Maddeler molekül büyüklüğüne veya polar gruplarına göre kolonda farklı sürelerde alıkonur ve farklı zamanlarda kolondan çıkarlar. Bu maddelerin kolondan çıkma zamanı esas alınarak dedektör tarafından belirlenir ve bilgisayarda pikler halinde bir grafik elde edilir. Oluşan bu grafiğe kromatogram denir (**Grafik 1**).



Grafik 1: Bir örnek solüsyonunun kromatografı.

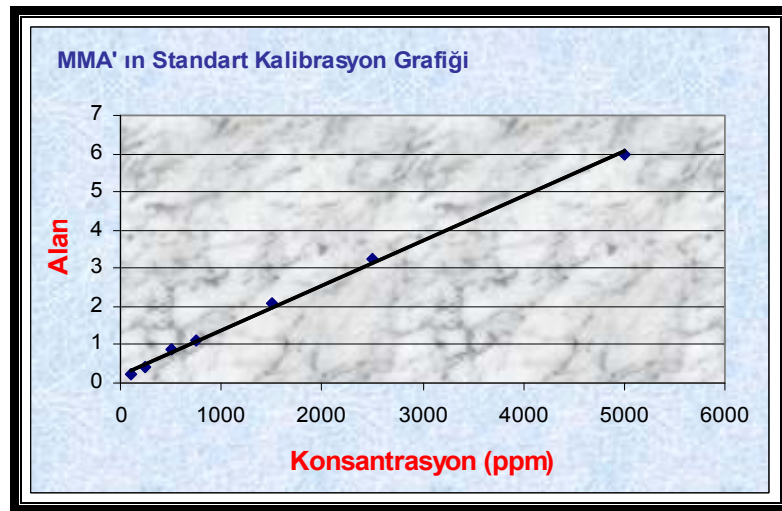
HPLC cihazında hareketli faz (taşıyıcı faz) olarak % 70 metanol ve % 30 su karışımı kullanılmıştır. Analize geçmeden önce cihazın pompa akış hızı (Q)=0,8 ml/dakika, dedektörün dalga boyu 254 nm' ye, dedektörün hassasiyeti (AUFS)=0.05, enjeksiyon hacmi 20 µl'ye ayarlanmıştır.

Bu ayarlamalardan sonra, cihazdan bilinen konsantrasyonlarda MMA' in standart solüsyonları geçirilmiş ve MMA monomerine ait piklerin yüksekliği ve lokalizasyonu tespit edilmiştir (**Grafik 2**). Piklerin lokalizasyonlarından yararlanılarak, bilinmeyen konsantrasyondaki örnek solüsyonlarının rest monomer pikleri kromatogram üzerinde belirlenmiştir.



Grafik 2: Bilinen konsantrasyondaki MMA monomerin kromatografı.

Elde edilen piklerden üçgen oluşturma yöntemi sayesinde standart monomer piklerinin alanları hesaplanmış ve standart solüsyonların bilinen derişimlerinden yararlanılarak bir standart kalibrasyon grafiğı hazırlanmıştır (**Grafik 3**). Standart kalibrasyon eğrisi, 6 tane bilinen konsantrasyondaki MMA monomerin hesaplanan pik alanları ile hazırlanmıştır.



Grafik 3: Metil metakrilatın (MMA) standart kalibrasyon grafiğı.

Her gruba ait örnek solüsyonları cihazdan geçirilmiş ve bilgisayarda rest monomere ait pikler elde edilmiştir. Piklerden üçgen oluşturma yöntemi sayesinde örneklere ait piklerin alanları hesaplanmıştır. Tüm örneklerin analizinden sonra eksenleri, alanlar ve konsantrasyonlardan oluşan bu standart kalibrasyon grafiğinden basit lineer regresyon analizi eşitliği kullanılarak pik alanları hesaplanmış, örneklerin konsantrasyonları bulunmuştur⁷⁴ ($Y = 0,0012 \times 0.22$; $R^2 = 0.998$).

Cihazın güvenilirliğini doğrulamak ve çalışma şartlarını optimize etmek amacı ile her bir örnekten üç kez solüsyon enjekte edilerek bir örneğe ait 3 konsantrasyon hesaplanmış ve ortalamaları alınmıştır.

Örneklerdeki rest monomerin konsantrasyonları belirlendikten sonra, yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{Rest monomer miktarı (Ağırlık \%)} = \frac{\text{Örnekteki rest monomer miktarı (mgr)}}{\text{Örneğin ağırlığı (mgr)}} \times 100$$

3.2. MTT Sitotoksosite Deneyi

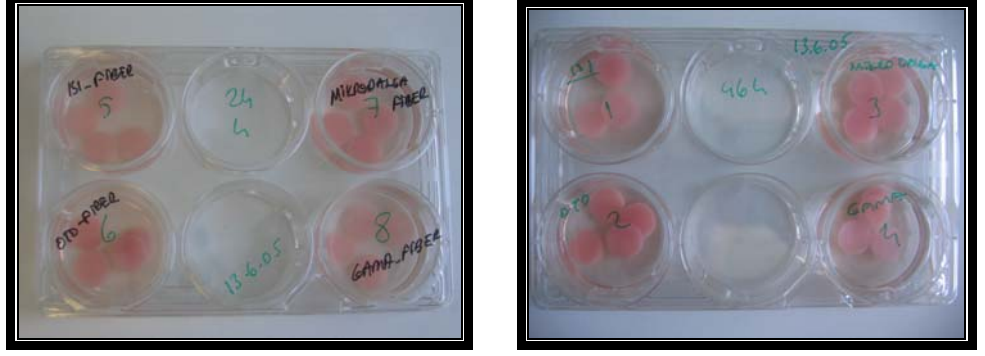
Çalışmamızda farklı yöntemler uygulayarak polimerize edilen cam fiber ile güçlendirilmiş ve güçlendirilmemiş akrilik rezin örneklerin 24., 48., 72. ve 96. saatlerde elde edilen salınım vasatlarının L929 fare fibroblast hücre kültürlerinde oluşturdukları sitotoksik etkiler değerlendirilmiştir. MTT testi, ISO'nun hücre kültür test yöntemleri ile ilgili olarak belirlediği ISO 10993- 5 no'lu protokole uygun olarak yürütülmüştür.

3.2.1. Örneklerin Hazırlanması ve Salınım İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi

Hücre kültürü çalışmasında kullanılacak test örnekleri, rest monomer analizindeki örnek hazırlama prosedürleri izlenerek, dört farklı polimerizasyon yöntemi ile hazırlanmıştır.

Her grup için 16'şar adet örnek ISO-10993-5 no'lu "Sitotoksosite Testleri- İn Vitro Yöntemler" bölümünde test edilen materyal örneklerinin yüzey alanı için belirtilen 0.5-6 cm²'lik değer aralığına uygun olarak, 12 mm çapında ve 1 mm kalınlıkta disk şeklinde hazırlanmıştır. Örnek boyutlarını belirlerken, yüzey/vasat oranının 0.5-6 cm²/ml olması, hareketli tam veya parsiyel protezlerin minimum kalınlığının elde edilmesi, salınım aşamasında vasat ortamının örnekleri tümüyle çevreleyebilmesi ve polimerizasyonun tamamlanması hedeflenmiştir^{108, 110}.

Tüm gruplardan 24, 48, 72, 96. saat inkübasyon süreleri için hazırlanan 96 adet örnek 6 gözlü hücre üretme kaplarına yerleştirilmiştir (**Resim 9**).



Resim 9: Örneklerin 6 gözlü hücre üretme kaplarına yerleştirilmiş görüntüsü.

Örnekler, 6 gözlü hücre üretme kaplarına yerleştirildikten sonra, 30 dakika süreyle ultraviyole ışınına (UV) maruz bırakılarak sterilizasyonları sağlanmıştır (**Resim 10**). Sterilizasyon işlemini takiben steril kabin (Class II Holten Laminar Flow, Denmark) (**Resim 11**) içerisinde örnekler üzerine besi ortamı konularak, % 5 CO₂ içeren 37° C' deki inkübatörde (Heracell, Germany) (**Resim 12**) inkübasyona bırakılmıştır. Her bir inkübasyon süresi sonunda salınım besi ortamları steril kabin içerisinde steril doku kültürü santrifüj tüplerine toplanmış ve +4°C' ye kaldırılmıştır.



Resim 10: 6 gözlü pleytlere yerleştirilmiş örneklerin UV ışını ile sterilizasyonu.



Resim 11: Steril kabin



Resim 12: İnkübatör.

(Class II Holten Laminar Flow kabin).

3.2.2. Hücre Kültürünün Hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan L929 fare fibroblast hücre kültürü Şap Enstitüsü hücre kültürü koleksiyonundan (HÜKÜK) sağlanmıştır. Hücreler saklama ortamları olan -196°C 'den çıkarılarak 37°C 'deki su banyosunda kısa sürede çözündürülmüş ve 800 devirde 5 dakika santrifügasyonları (Eppendorf, Germany) yapılmıştır. Santrifügasyondan sonra üstteki süpernatant kısım atılarak plet içerisindeki hücreler, içinde % 10 fetal sıgır serumu (FBS) (Biochrom AG, S 0113, Germany) ve % 1 Gentamisin içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Biochrom AG, FG 0443, Germany) besi ortamı ile T25 cm^2 hücre kültürü üretme kabına alınmıştır.

Hücrelerin kültür kabının yüzeyini kaplamaları ve üremeleri doku kültürü mikroskopunda (Olympus CK 40, Japan) (**Resim 13**) kontrol edilmiş ve yüzeyi tamamen kapladıklarında kültür kabındaki besi ortamı kültür ortamından aspire edilmiştir. Kültür ortamındaki hücresel atıkların ve serum artıklarının uzaklaştırılması amacıyla divalent katyonları (Ca^{2+} Mg^{2+}) içermeyen PBS (Fosfat Tampon Solüsyonu pH= 7.0) ile hücrelerin yüzeyi yıkanmıştır.



Resim 13: Doku kültürü mikroskobu.

Daha sonra tripsin / EDTA [Etilendiamin tetraasetik asit (% 0,05 / 0,02), Biochrom AG, Germany] solüsyonu ile yıkanarak tripsinize edilmiş ve 37°C' deki inkübatörde yaklaşık 5-10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda makroskobik ve mikroskobik olarak incelenen hücrelerin kültür kabı yüzeyinden ayrıldıkları görülmüştür. Yüzeyden ayrılan hücreler % 10 serum içeren besi ortamı ile 5 dakika santrifüj edilmiş (800-1000 rpm) süpernatant kısım atıldıktan sonra pleytdeki hücreler tekrar önceden sıcaklığı 37°C'ye getirilmiş % 10 serum ve % 1 antibiyotikli DMEM besi ortamı ile homojenize edilmiş ve hücre süspansiyonu 3 adet T25 cm² kültür kabına bölünerek hücre pasajlama işlemi tamamlanmış olup, bu şekilde 3 seri pasaj yapılmıştır.

3.2.3. 96 Gözlü Hücre Üretme Kaplarının (Mikropleyt) Hazırlanması

Logaritmik üreme fazında olan, aktif ve yüzeyi % 90-95 oranında kaplamış hücreler, pasajlama işleminde olduğu gibi kültür kabı yüzeyinden ayrılır ve serumlu besi ortamı ile hücre süspansiyonu hazırlanır. Hücre sayımı için 0.9 ml hücre süspansiyonu üzerine 0.1 ml tripan mavisi (Sigma, USA) solüsyonu ilave edilmiş ve hemasitometre (Bürker, Germany) kullanılarak ışık mikroskobunda (Olympus CH, Japan) hücre sayımı yapılmış ve aynı zamanda hücre canlılığı da kontrol edilmiştir (**Resim 14**).

96 gözlü hücre üretme kapları için istenilen yoğunluktaki hücre sayısı hesaplanmış ve bu sayıdaki hücre % 10 FBS ve % 1 antibiyotik içeren DMEM besi ortamı ile homojenize edilerek mililitresinde 4×10^4 hücre/ml olacak şekilde hücre süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu hücre süspansiyonu 96 gözlü hücre üretme kaplarına (**Resim 15**) 100 ml/göz (kuyucuk) olacak şekilde taksim edilerek % 5 CO₂'li inkübatörde 24

saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda 96 gözlü hücre üretme kaplarındaki hücreler inverted doku kültürü mikroskopunda üremeleri ve ortamın sterilitesi kontrol edildikten sonra kültür ortamındaki DMEM besi ortamı aspire edilerek uzaklaştırılmış ve yerine daha önceden hazırlanmış ve +4 C°' de muhafaza ettiğimiz salınım besi ortamları 100 ml/göz olarak taksim edilmiş ve yine % 5 CO₂' li inkübatörde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresi tamamlandıktan sonra MTT testi uygulanmıştır.



Resim 14: Hemasitometre.



Resim 15: 96 gözlü hücre üretme kabı (mikropleyt).

3.2.4. MTT Testinin Uygulanması

MTT ([3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2, 5- diphenyltetrazolium bromide], Sigma, USA) fenol kırmızısı içermeyen RPMI 1640 (Sigma, USA) besi ortamı ile karıştırılarak, homojenize edilmiş ve final konsantrasyonu 5 mg/ml olan MTT solüsyonu hazırlanmıştır.

24 saat inkübasyona bırakılan 96 gözlü hücre üretme kaplarındaki salınım besi ortamları inkübasyon sonrası uzaklaştırılmış ve hücre üretme kaplarına 100 ml/göz olacak şekilde DMEM besi ortamı ve 13 ml/göz MTT solüsyonu konularak karanlık bir ortamda 37 C°' de 4 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrası MTT solüsyonu aspire edilerek ortamdan uzaklaştırılmıştır. 96 gözlü hücre üretme kaplarına izopropil alkol (Applichem, Germany) 100 ml/göz olacak şekilde konulmuştur ve formazan kristallerinin tamamen çözünmesi ile almış olduğu mor renge dönüşümünü takiben hücre üretme kapları ELISA okuyucusuna (Molecular Devices, USA) (**Resim 16**) yerleştirilmiştir. Oluşan formazonun optik yoğunluğu 570 nm ve referans olarak 630 nm'de okunarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda farklı yöntemler ile hazırlanmış fiberli ve fibersiz rezin örneklerden 24, 48, 72 ve 96. saatlerde elde edilen salınım vasatlarının sitotoksitesinin belirlenmesi amacıyla uyguladığımız MTT

testi, istatistiksel değerlendirme için her 8 grup ve inkubasyon suresinde er kez tekrarlanmıştır.



Resim 16: Elisa Reader cihazı.

Deney sonucunda grupların hücre canlılık değerleri elde edilmiştir. Hücre kontrol grubu dikkate alınarak hücre canlılık yüzdeleri (optik yoğunluk değerleri) hesaplanmıştır. Hücre kontrol grubu (HK), sadece hücre ve hücre kültürü üretmek için kullanılan besi ortamından oluşmakta, çalışmada kullanılan rezin örneklerinden elde edilen salınım vasatlarını içermemektedir. Optik yoğunluk değeri, hücre kontrol grubunun hücre canlılık değeri % 100 olarak kabul edildiğinde, diğer gruplarda basit oran hesabı ile elde edilen % değeridir ve canlı hücre oranını ifade etmektedir.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

İn vitro sonuçlar elde edildikten sonra istatistiksel olarak değerlendirme, SPSS 11.5.0 (SPSS Inc.,Chicago, Illionis, USA) istatistik programında yapılmıştır.

Deney sonuçlarından elde edilen veriler, tek yönlü varyans analiziyle (ANOVA) değerlendirilmiştir. Polimerizasyon yöntemleri ve fiber ilavesi ana faktörler olarak belirlenmiştir. Polimerizasyon yöntemleri açısından gruplar arasındaki farklılıklar, varyanslar arasında homojenlik sağlandığında Tukey HSD testi, homojenlik sağlanamadığında ise Tamhane testi uygulanarak değerlendirilmiştir.

Aynı polimerizasyon yöntemleri ile hazırlanan gruplarda fiber ile güçlendirmenin etkisi non-parametrik test olan Mann-Whitney U test ile değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Farklı polimerizasyon yöntemleri ile hazırlanan, cam fiber ile güçlendirilmiş ve güçlendirilmemiş akrilik rezin örneklerdeki rest monomer miktarı ve sitotoksisite bulguları 2 bölümde değerlendirilmiştir.

4.1. Rest Monomer Analiz Bulguları

Dört farklı polimerizasyon yöntemi ve fiberle güçlendirme durumuna göre tüm gruplardaki rest monomer miktarı ortalamaları, standart sapmaları, minimum ve maksimum değerleri **Tablo 3**'de verilmiştir.

Tablo 3: Grupların rest monomer değerleri (%).

GRUP	Ortalama	S.Sapma	Minimum	Maksimum
1.Grup	.6400	.16016	.52	.89
2.Grup	2.6380	.80664	1.90	3.53
3.Grup	.4260	.14046	.26	.60
4.Grup	1.7960	.26063	1.61	2.20
5.Grup	.4880	.27096	.19	.93
6.Grup	2.9520	.39664	2.40	3.52
7.Grup	.8720	.37686	.35	1.28
8.Grup	2.1740	.30956	1.82	2.65

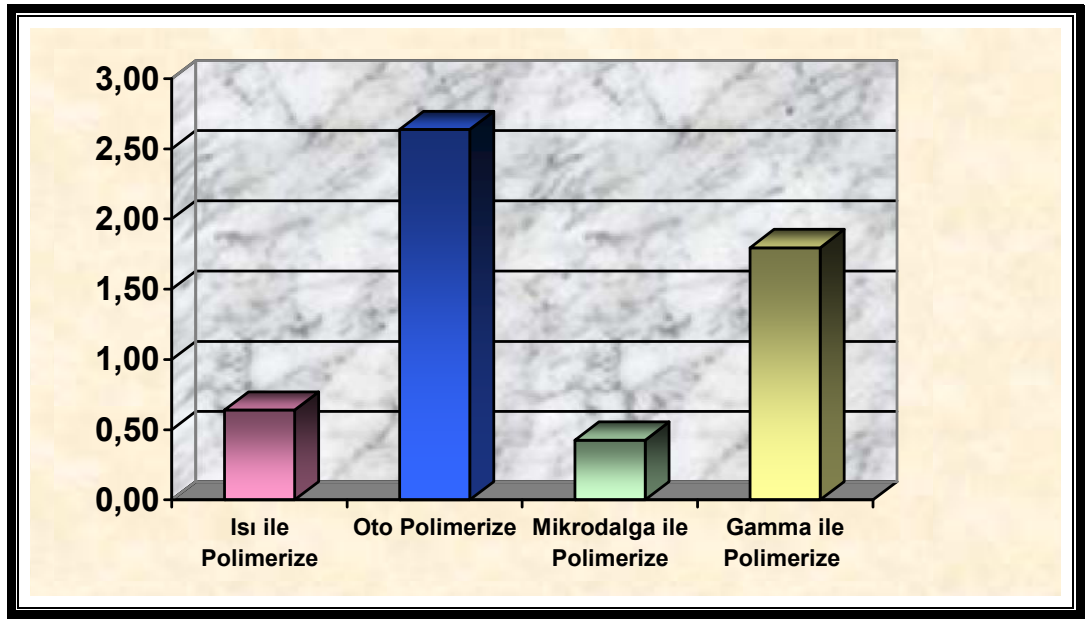
Gruplardaki rest monomer değerleri, polimerizasyon yöntemleri ve fiber güçlendirmesi olmak üzere iki parametre yönünden karşılaştırılmıştır.

4.1.1. Polimerizasyon Yöntemlerinin Rest Monomer Miktarı Üzerindeki Etkisinin Karşılaştırılması

Dört farklı polimerizasyon yönteminin rest monomer miktarı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Hem güçlendirilmemiş hem de cam fiber ile güçlendirilmiş gruplarda polimerizasyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0.05$).

Fiber ile güçlendirilmemiş gruplar karşılaştırıldığında;

Fiber ile güçlendirilmemiş gruplar arasında, en düşük rest monomer miktarı mikrodalga ile polimerize edilen grupta (3. Grup) % 0.43 oranında bulunmuştur. En yüksek rest monomer oranı, oto polimerizasyon yöntemi (2.Grup) ile hazırlanan örneklerde % 2.64 oranında elde edilmiştir. Isı ile polimerize edilen grupta (1. Grup) değer % 0.64 iken gamma ışını kullanılarak yapılan polimerizasyonda değer % 1.80'dir (**Grafik 4**).



Grafik 4: Polimerizasyon yöntemlerine göre fiber ile güçlendirilmemiş grupların rest monomer miktarı.

Isı ile polimerize edilen grup, mikrodalga ile polimerize edilen grup haricinde diğer tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı fark göstermiştir ($p < 0.05$) (**Tablo 4**).

Oto polimerize grup, gamma ışını ile polimerize edilen grup haricinde diğer gruplar ile $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak fark göstermiştir.

Mikrodalga ile polimerize edilen grup ise oto polimerize ve gamma ışını ile polimerize edilen gruplar ile $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir.

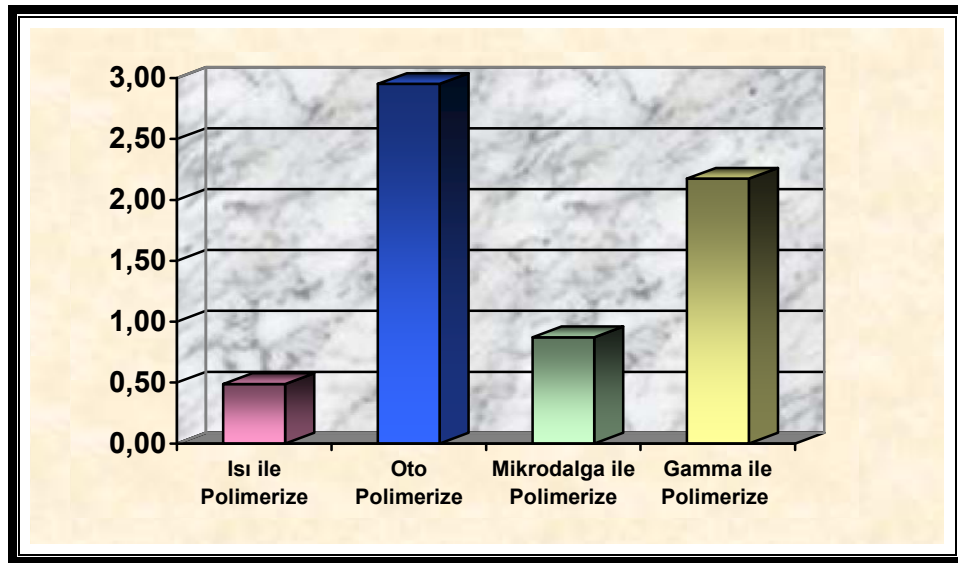
Gamma ışını ile polimerize edilen grup oto polimerize edilen grup haricinde diğer iki grupla istatistiksel olarak fark göstermiştir ($p < 0.05$).

Tablo 4: Polimerizasyon yöntemlerine göre cam fiber ile güçlendirilmemiş grupların rest monomer miktarlarının karşılaştırılması (* p<0.05).

(I) GRUP	(J) GRUP	ORTALAMA FARKLILIK (I-J)	P Değeri
1. GRUP	2. GRUP	-1.9980*	.027
	3. GRUP	.2140	.290
	4. GRUP	-1.1560*	.001
2. GRUP	1. GRUP	1.9980*	.027
	3. GRUP	2.2120*	.019
	4. GRUP	.8420	.390
3. GRUP	1. GRUP	-.2140	.290
	2. GRUP	-2.2120*	.019
	4. GRUP	-1.3700*	.000
4. GRUP	1. GRUP	1.1560*	.001
	2. GRUP	-.8420	.390
	3. GRUP	1.3700*	.000

Fiber ile güçlendirilmiş gruplar karşılaştırıldığında;

Cam fiber ile güçlendirilmiş grupların polimerizasyon yöntemlerine göre rest monomer miktarlarının karşılaştırılmasında şu sonuçlar elde edilmiştir. En düşük monomer miktarı ısı ile polimerize edilen grupta (5.grup) % 0.49 oranında görülürken, bu değeri sırayla mikrodalga ile polimerize edilen grup (7. Grup) % 0.87, gamma ışını ile polimerize edilen grup (8. Grup) % 2.17 ve oto polimerize edilen grup (6. Grup) % 2.95 oranında izlemiştir (**Grafik 5**).



Grafik 5: Polimerizasyon yöntemlerine göre fiber ile güçlendirilmiş grupların rest monomer miktarı.

Isı ile polimerize edilen grup ile oto ve gamma polimerizasyon yöntemleri ile hazırlanan gruplar arasında istatistik olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). Ancak mikrodalga ile polimerize edilen grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Oto polimerize grup ile diğer polimerizasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0.05$).

Mikrodalga ile polimerize edilen grup ile ısı ile polimerize edilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Ancak diğer iki polimerizasyon yöntemi ile hazırlanan gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.05$).

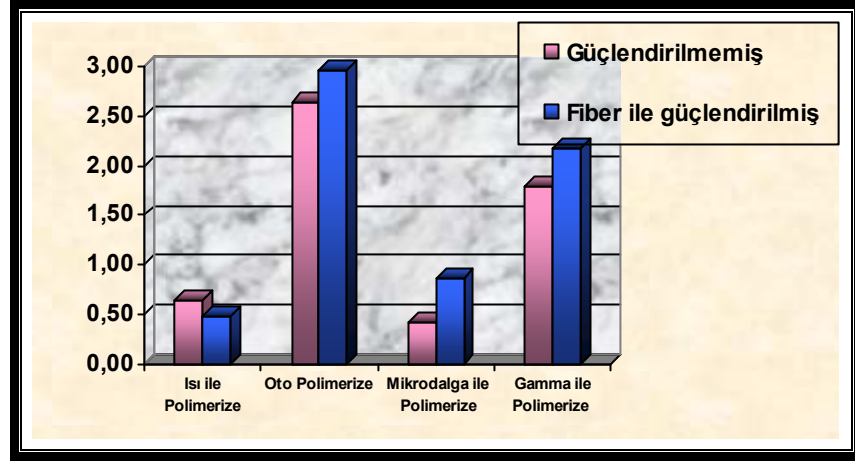
Gamma ışını ile polimerize edilen grup ile ısı, mikrodalga ve oto polimerizasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.05$) (**Tablo 5**).

Tablo 5: Cam fiber ile güçlendirme yapılmış grupların rest monomer miktarlarının karşılaştırması (* $p<0.05$).

(I) GRUP	(J) GRUP	ORTALAMA FARKLILIK (I-J)	P Değeri
5. GRUP	6. GRUP	-2.4640*	.000
	7. GRUP	-.3840	.321
	8. GRUP	-1.6860*	.000
6. GRUP	5. GRUP	2.4640*	.000
	7. GRUP	2.0800*	.000
	8. GRUP	.7780*	.012
7. GRUP	5. GRUP	-.3840	.321
	6. GRUP	-2.0800*	.000
	8. GRUP	-1.3020*	.000
8. GRUP	5. GRUP	1.6860*	.000
	6. GRUP	-.7780*	.012
	7. GRUP	1.3020*	.000

4.1.2. Fiber ile Güçlendirmenin Rest Monomer Miktarı Üzerindeki Etkisinin Karşılaştırılması

Aynı polimerizasyon yöntemi ile hazırlanan güçlendirilmemiş ve güçlendirilmiş gruplarda fiber ilavesinin rest monomer miktarı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir (**Grafik 6**).



Grafik 6: Polimerizasyon yöntemlerine göre güçlendirilmemiş ve güçlendirme işlemi yapılmış grupların rest monomer miktarı.

Isı ile polimerizasyon yöntemi hariç diğer polimerizasyon yöntemlerinde, fiber ile güçlendirme işleminin rest monomer miktarını artırdığı dikkati çekmektedir. Isı ile polimerizasyonda, fiber ilavesi yapılmış grupta rest monomer miktarını azaltmıştır (1.Grup 0.64-5.Grup % 0.49). Ancak monomer miktarındaki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Oto polimerizasyon yöntemi ile polimerize ettiğimiz gruplarda, güçlendirme işlemi yapılmamış grupta (2. Grup) monomer miktarı % 2.64 iken, fiberle güçlendirilmiş grupta (6. Grup) bu oran % 2.95'e yükselmiştir. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Mikrodalga ile polimerize edilen gruplarda, güçlendirilmemiş örneklerdeki (3. Grup) rest monomer miktarı tüm gruplar arasındaki en düşük değerdir (% 0.43). Fiber ilavesi yapıldığında (7.Grup) bu oran % 0.87'ye yükselmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p\leq 0.05$).

Gamma ışını kullanılarak polimerizasyon sağlandığında, güçlendirilmemiş grupta (4. Grup) monomer miktarı % 1.80 iken fiber ilave edilmiş grupta (8. Grup) bu oran % 2.17'dir. Ancak artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$).

Fiber ilavesi, ısı ile polimerize edilen grup dışındaki diğer gruplarda, rest monomer miktarını artırmıştır. Isı, oto ve gamma ile polimerizasyon yöntemleri kullanıldığında fiber ilave edilmiş örneklerdeki rest monomer miktarındaki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak mikrodalga ile polimerizasyon yöntemi uygulanarak hazırlanan fiber ile güçlendirilmiş örneklerdeki rest monomer miktarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

4. 2. Sitotoksisite Deney Bulguları

Farklı polimerizasyon yöntemleri ile hazırlanan cam fiber ile güçlendirilmemiş ve güçlendirilmiş akrilik rezin örneklerin 24, 48, 72 ve 96. saatlerdeki sitotoksisite değerlendirmeleri sonrası elde edilen hücre canlılık yüzdelere (optik yoğunluk değerleri) ait ortalamaları, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri **Tablo 6**'da verilmiştir. Ayrıca mikroyaytlardaki hücreler ışık mikroskobu altında resimlenerek sonuçlara hücre düzeyindeki değişiklikler açısından yorum getirilmiştir.

Tablo 6: Grupların hücre canlılık (%) değerleri.

Grup	Saat	Ortalama	S.Sapma	Minimum	Maksimum
1. Grup	24	87.30	4.19730	84.13	92.06
	48	82.54	5.72312	76.19	87.30
	72	91.00	7.15455	84.13	98.41
	96	74.07	6.00820	69.84	80.95
2. Grup	24	78.83	8.14398	69.84	85.71
	48	80.42	5.57393	74.60	85.71
	72	83.06	12.12310	69.84	93.65
	96	62.96	3.30585	60.32	66.67
3. Grup	24	82.01	5.57393	76.19	87.30
	48	82.01	10.32521	71.43	92.06
	72	84.13	4.76000	79.37	88.89
	96	79.89	6.41436	76.19	87.30
4. Grup	24	85.18	6.41065	79.37	92.06
	48	82.54	5.49637	79.37	88.89
	72	84.65	3.99611	80.95	88.89
	96	76.72	6.41601	69.84	82.54
5. Grup	24	83.60	12.12419	73.02	96.83
	48	80.42	2.42331	77.78	82.54
	72	82.54	5.72312	77.78	88.89
	96	79.36	6.91918	74.60	87.30
6. Grup	24	78.30	8.14398	71.43	87.30
	48	77.78	4.19730	73.02	80.95
	72	79.89	5.57346	74.60	85.71
	96	74.60	7.27539	68.25	82.54
7. Grup	24	85.18	10.20723	80.95	96.83
	48	76.19	3.17500	73.02	79.37
	72	83.60	4.84771	79.37	88.89
	96	75.66	7.33235	71.43	84.13
8. Grup	24	82.54	12.40101	74.60	96.83
	48	78.83	3.66617	74.60	80.95
	72	79.36	4.76500	74.60	84.13
	96	75.66	4.57839	73.02	80.95

4.2.1. Polimerizasyon Yöntemlerinin Hücre Canlılığı Üzerindeki Etkisinin İn Vitro Olarak Karşılaştırılması

Dört farklı inkübasyon süresinde hem güçlendirilmemiş hem de güçlendirilmiş gruplarda farklı polimerizasyon yöntemlerinin hücre canlılığı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir.

Fiber ile güçlendirme işlemi yapılmamış gruplarda;

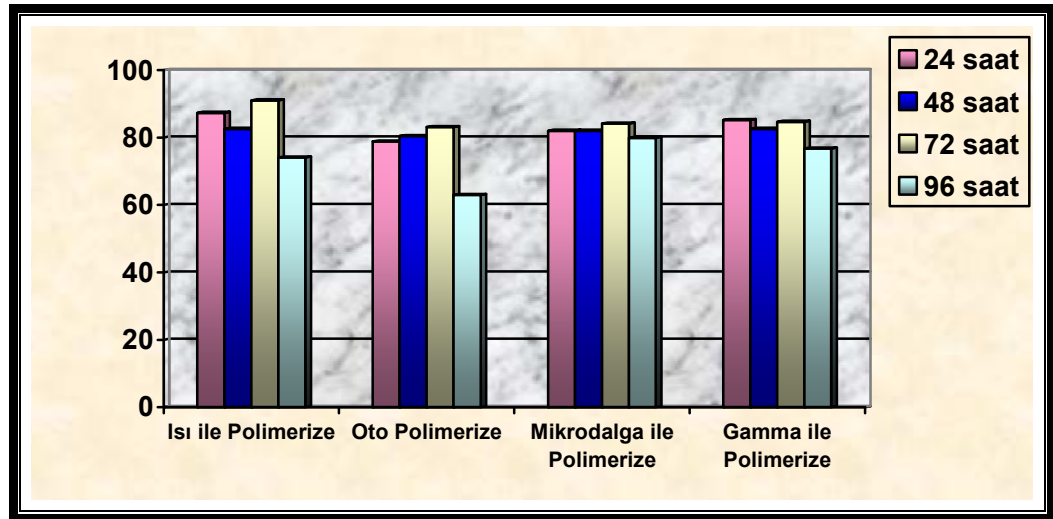
Isı ile polimerize edilmiş grupta (1. Grup) inkübasyon süreleri açısından hücre canlılığı değerlendirildiğinde; en yüksek hücre canlılık değeri % 91.00 ile 72. saatte, en düşük canlılık ise 96. saatte % 74.07 oranında görülmüştür. Bu inkübasyon sürelerinde hücre canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p < 0.05$).

Oto polimerize grupta (2. Grup) en yüksek canlılık oranı % 83.06 ile 72. saatte, en düşük canlılık değeri 96. saatte % 62.96 olarak bulunmuştur. 2. Grupta 72. ve 96. saat inkübasyon sürelerinde hücre canlılık yüzdelerindeki fark anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

Mikrodalga ile polimerizasyon yöntemi uygulanan 3. grupta da benzer sonuçlar elde edilmiştir. En yüksek değer 72. saatte % 84.13 iken, en düşük değer 96. saatte % 79.89 olarak bulunmuştur. Ancak 3. grubun inkübasyon süreleri arasında farklılık anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Gamma ışını uygulanarak polimerize edilen 4. grupta % 85.18 ile 24. saatte en yüksek hücre canlılık elde edilmişken, en düşük değer tüm gruplardaki gibi 96. saatte % 76.72 oranındadır. Grupta istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Fiber ile güçlendirilmemiş gruplara ait hücre canlılık değerleri **Grafik 7**'de gösterilmiştir.



Grafik 7: Polimerizasyon yöntemlerine göre fiber ile güçlendirilmemiş grupların hücre canlılık değerleri.

Fiber ilavesi yapılmamış gruplarda dört polimerizasyon yönteminde de en düşük canlılık oranı 96. saatte elde edilmiştir. Isı, oto ve mikrodalga ile polimerize olan gruplarda en yüksek canlılık 72. saatte elde edilirken, gamma ile polimerize edilmiş grupta 24. saatte bulunmuştur.

Fiber ile güçlendirilmemiş grupların her bir inkübasyon süresinde polimerizasyon yöntemlerine göre sitotoksosite sonuçları değerlendirildiğinde (**Tablo 7**);

Tablo 7: Fiber ile güçlendirilmemiş grupların dört inkübasyon süresinde farklı polimerizasyon yöntemlerine göre hücre canlılık değerleri.

Saat	Grup	X (%)
24. saat	1. Grup	87.30
	2. Grup	78.83
	3. Grup	82.01
	4. Grup	85.18
48. saat	1. Grup	82.54
	2. Grup	80.42
	3. Grup	82.01
	4. Grup	82.54
72. saat	1. Grup	91.00
	2. Grup	83.06
	3. Grup	84.13
	4. Grup	84.65
96. saat	1. Grup	74.04
	2. Grup	62.96
	3. Grup	79.89
	4. Grup	76.72

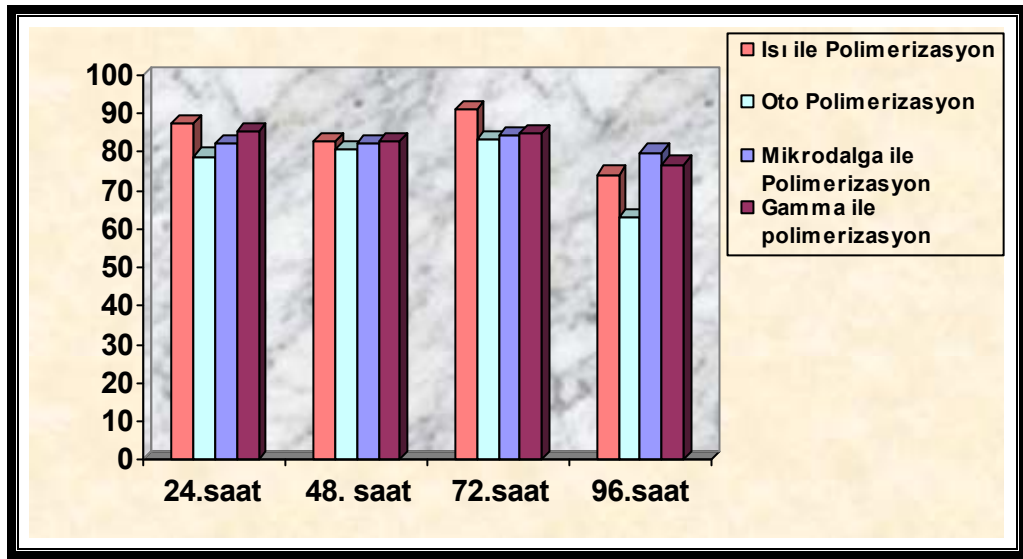
24 saatlik inkübasyon süresi sonunda en fazla hücre canlılık oranı yani en az toksisite değerine sahip grup ısı ile polimerize edilen grup (1. Grup % 87.30) olmuştur. En düşük hücre canlılığı oranı ile en fazla toksisite gösteren grup ise oto polimerize gruptur (2. Grup % 78.83). Ancak 24. saatte polimerizasyon yöntemleri açısından hücre canlılık değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p>0.05$).

48. saatteki inkübasyonda en yüksek hücre canlılığı ısı ve gamma ile polimerizasyon yöntemlerinin kullanıldığı gruplarda % 82.54 olarak bulunmuştur. En düşük canlılık yani en fazla toksisite oto polimerize grupta (2. grup % 80.42) görülmüştür. Ancak polimerizasyon yöntemleri arasında fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

72 saat sonundaki sonuçlar da 24 ve 48 saatlik inkübasyondaki sonuçlara benzer bulunmuştur. En yüksek canlılık (% 91.00) ısı ile polimerize olan grupta (1. grup) iken, en düşük canlılık oto polimerize grupta (2. grup % 83.06) görülmüştür. Gruplar arasındaki fark anlamlı değildir ($p>0.05$).

96. saat sonunda en düşük canlılık yine oto polimerize grupta (2. grup) % 62.96 olarak elde edilmiştir. En yüksek canlılık değeri ise diğer gruplardan farklı olarak mikrodalga ile polimerize olan grupta % 79.89 olarak bulunmuştur. 96. saatte oto ve mikrodalga ile polimerize olan gruplarda hücre canlılık yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$).

Grafik 8'de dört inkübasyon süresinde fiber ile güçlendirilmemiş grupların polimerizasyon yöntemleri açısından hücre canlılıklarına ait değerler gösterilmiştir.



Grafik 8: Fiber ile güçlendirilmemiş grupların dört inkübasyon süresinde farklı polimerizasyon yöntemlerine göre hücre canlılık değerleri.

Güçlendirme yapılmayan gruplarda her inkübasyon süresinde de en düşük canlılık yüzdesi ile toksisite değeri en fazla bulunan grup oto polimerize grup olmuştur. 24, 48, 72. saat inkübasyon süresinde en az toksisite gösteren grup ısı ile polimerizasyon sağlanan gruptur. 96. saatte ise mikrodalga ile polimerize edilen grupta en yüksek canlılık değeri elde etmiştir.

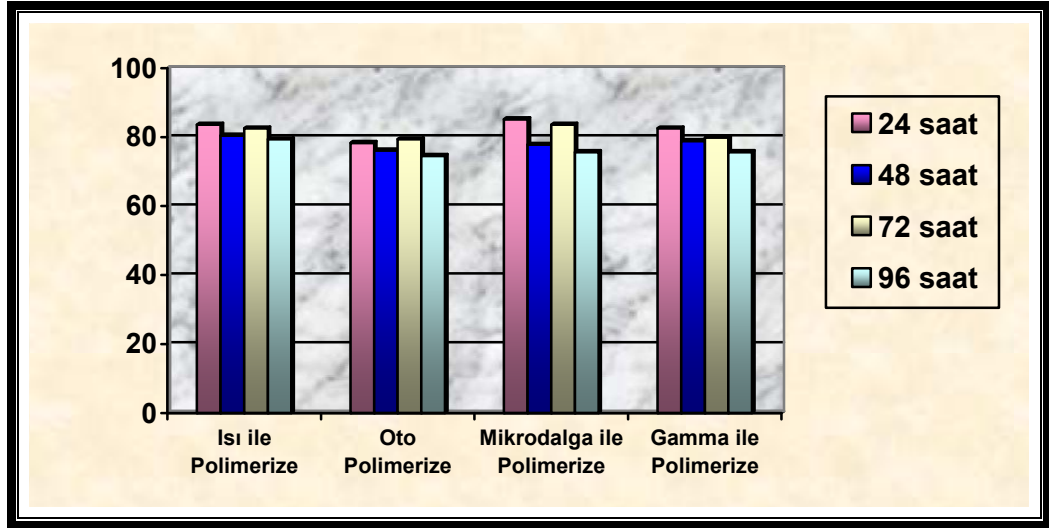
Fiber ile güçlendirilmiş gruplarda;

Isı ile polimerizasyonu sağlanan 5. grup için en iyi canlılık değeri, 24. saatte % 83.60 olarak elde edilmişken, en düşük canlılık 96. saatte % 79.36 olarak bulunmuştur. 5. grupta inkübasyon süreleri arasında istatistiksel olarak farklılık yoktur ($p>0.05$).

Oto polimerizasyon yöntemi uygulanmış 6. grupta en iyi canlılık 72. saatte % 79.89 iken, en düşük canlılık 96. saatte % 74.6 oranındadır. Ancak istatistiksel olarak farklılık yoktur ($p>0.05$).

Mikrodalga ile polimerize edilen 7. grupta 24 saatte en yüksek hücre canlılığı % 85.18 bulunurken, 96. saatte canlılık % 75.66' ya düşmüştür. Ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır ($p>0.05$).

Gamma ışını uygulayarak hazırlanan 8. grupta 24. saatte en iyi sonuç (% 82.54) alınırken 96. saat en düşük değerin (% 75.66) elde edildiği inkübasyon süresi olmuştur. Inkübasyon süreleri arasında anlamlı farklılık elde edilmemiştir ($p>0.05$). Grupların hücre canlılık değerleri **Grafik 9**'da verilmiştir.



Grafik 9: Polimerizasyon yöntemlerine göre fiber ile güçlendirilmiş grupların hücre canlılık değerleri.

Fiber ilavesi yapılmış gruplarda dört polimerizasyon yönteminde de en düşük canlılık oranı 96. saatte elde edilmiştir. Isı, mikrodalga ve gamma ışını ile polimerize olan gruplarda en yüksek canlılık 24. saatte elde edilirken, oto polimerize grupta 72. saatte bulunmuştur.

Fiber ile güçlendirilmiş grupların her bir inkübasyon süresinde polimerizasyon yöntemlerine göre sitotoksite sonuçları değerlendirildiğinde (**Tablo 8**);

Tablo 8: Fiber ile güçlendirilmiş grupların dört inkübasyon süresinde farklı polimerizasyon yöntemlerine göre hücre canlılık değerleri.

Saat	Grup	X (%)
24. saat	5. Grup	83.60
	6. Grup	78.30
	7. Grup	85.18
	8. Grup	82.54
48. saat	5. Grup	80.42
	6. Grup	76.19
	7. Grup	77.78
	8. Grup	78.83
72. saat	5. Grup	82.54
	6. Grup	79.36
	7. Grup	83.60
	8. Grup	79.89
96. saat	5. Grup	79.36
	6. Grup	74.60
	7. Grup	75.66
	8. Grup	75.66

24 saatlik inkübasyon sonrası en fazla canlılık mikrodalga ile polimerize olan grupta (7. Grup) % 85.18 oranındadır, en düşük canlılık değeri ise oto polimerize grupta (6. Grup) % 78.30 oranında bulunmuştur. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık yoktur ($p>0.05$).

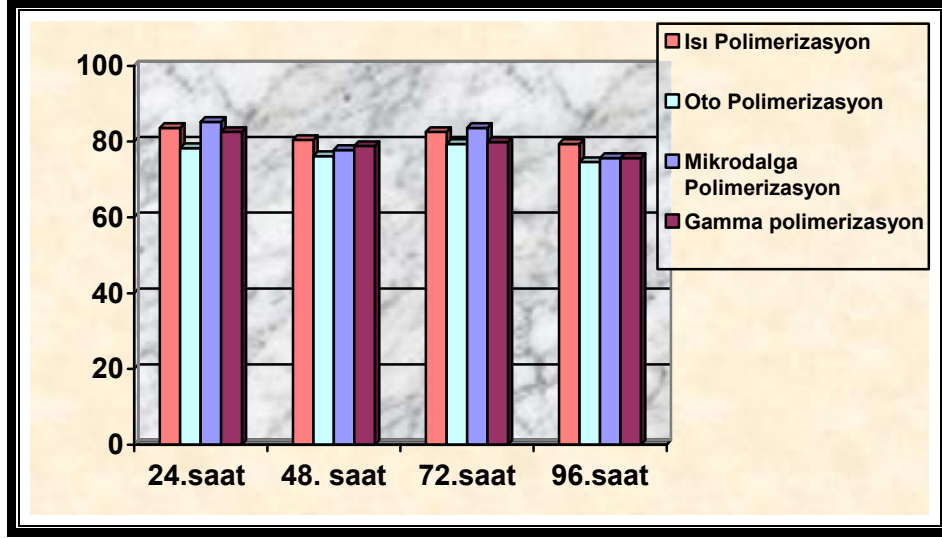
48 saatlik inkübasyon sonrası en düşük canlılık değeri % 76.19 ile oto polimerize gruptadır (6. Grup). En yüksek canlılık oranı ise % 80.42 ile ısı polimerize olan grupta (5. Grup) elde edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık anlamlı değildir ($p>0.05$).

72 saatlik inkübasyonda en düşük canlılık yine oto polimerize grupta (6. Grup) iken en yüksek canlılık mikrodalga ile polimerize edilen grupta (7. Grup) % 83.60 olarak bulunmuştur. Gruplar arası hücre canlılık değerlerinde anlamlı fark yoktur ($p>0.05$).

96 saatlik inkübasyon süresinde de en düşük canlılık değeri oto polimerize grupta (6. Grup) % 74.60 iken, en fazla canlılık ısı ile polimerize edilen grupta (5. Grup) % 79.36 olarak bulunmuştur. Değerler arasında istatistiksel farklılık yoktur ($p>0.05$).

Güçlendirilmiş gruplarda polimerizasyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Ancak her inkübasyon süresinde de en toksik değer oto polimerize grupta görülmüştür. En düşük toksisite değerini 24. ve 72. saatlerde mikrodalga ile polimerize edilen grup gösterirken, 48. ve 96. saatlerde ısı ile polimerize edilen grup göstermiştir.

Grafik 10'da dört inkübasyon süresinde fiber ile güçlendirilmiş grupların farklı polimerizasyon yöntemlerine göre hücre canlılık değerleri (%) verilmiştir.



Grafik 10: Dört inkübasyon süresinde fiber ile güçlendirilmiş grupların farklı polimerizasyon yöntemlerine göre hücre canlılık (%) değerleri.

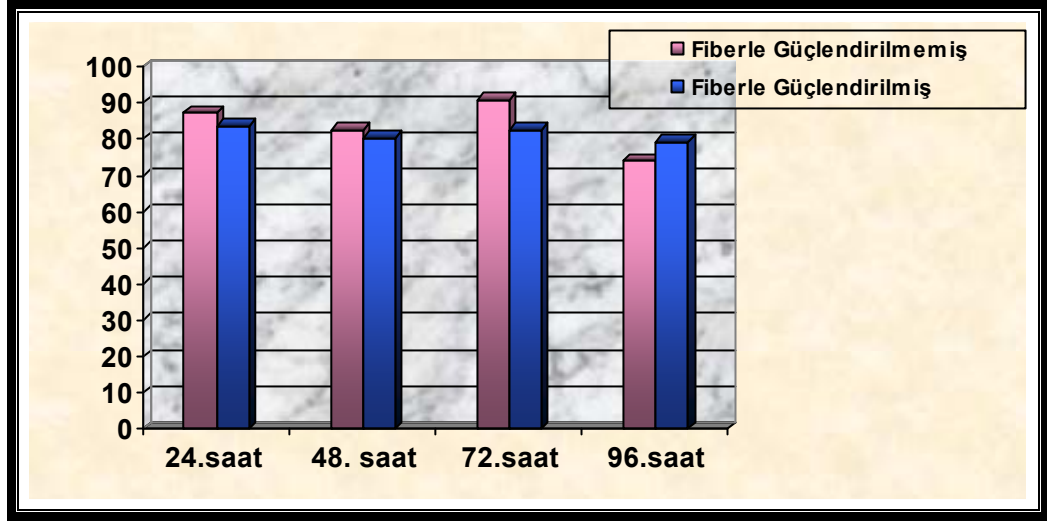
4.2.2. Fiber İle Güçlendirmenin Sitotoksikite Üzerindeki Etkisinin Karşılaştırılması

Hem polimerizasyon yöntemi hem de inkübasyon süreleri değerlendirilerek akrilik rezine fiber ilavesinin hücre canlılık değerleri yönünden değişimleri şu şekildedir;

Isı ile polimerize edilmiş gruplarda dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri **Tablo 9**'da ve **Grafik 11**'de verilmiştir.

Tablo 9: Isı ile polimerize edilen grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri.

Saat	Grup	X (%)
24. saat	1. Grup	87.30
	5. Grup	83.60
48. saat	1. Grup	82.54
	5. Grup	80.42
72. saat	1. Grup	91.00
	5. Grup	82.54
96. saat	1. Grup	74.07
	5. Grup	79.36



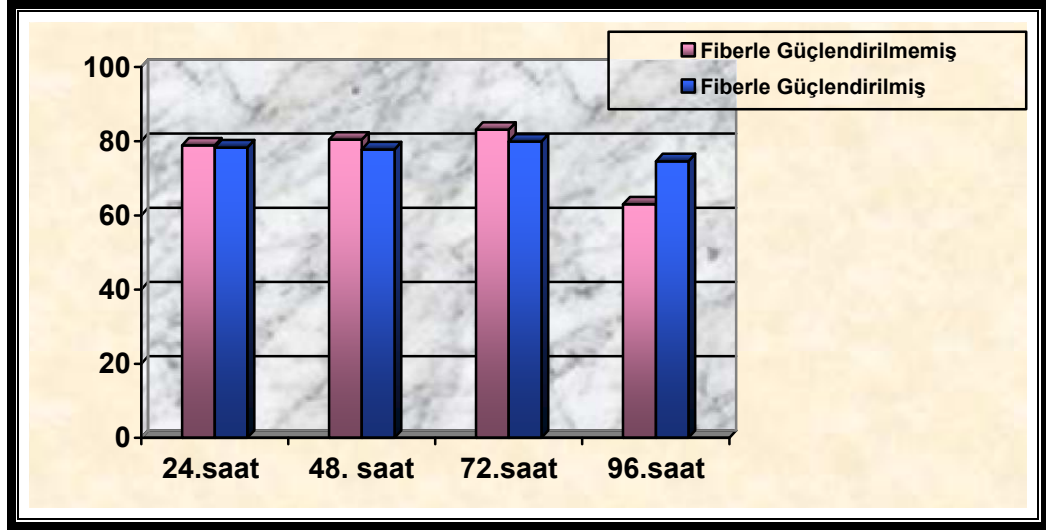
Grafik 11: Isı ile polimerize edilen grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri (%)

Isı ile polimerize edilmiş gruplarda 24, 48 ve 72 saat inkübasyon sürelerinde fiber ilave edilmiş gruplarda hücre canlılığında düşüş görülmüştür. Ancak 96 saat inkübasyon sonrasında canlılık bir miktar artmıştır. Bu düşüş ve artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Oto polimerize gruplarda dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri **Tablo 10**'da ve **Grafik 12**'de verilmiştir.

Tablo 10: Oto polimerize grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri.

Saat	Grup	X (%)
24. saat	2. Grup	78.83
	6. Grup	78.30
48. saat	2. Grup	80.42
	6. Grup	77.78
72.saat	2. Grup	83.06
	6. Grup	79.89
96. saat	2. Grup	62.96
	6. Grup	74.60



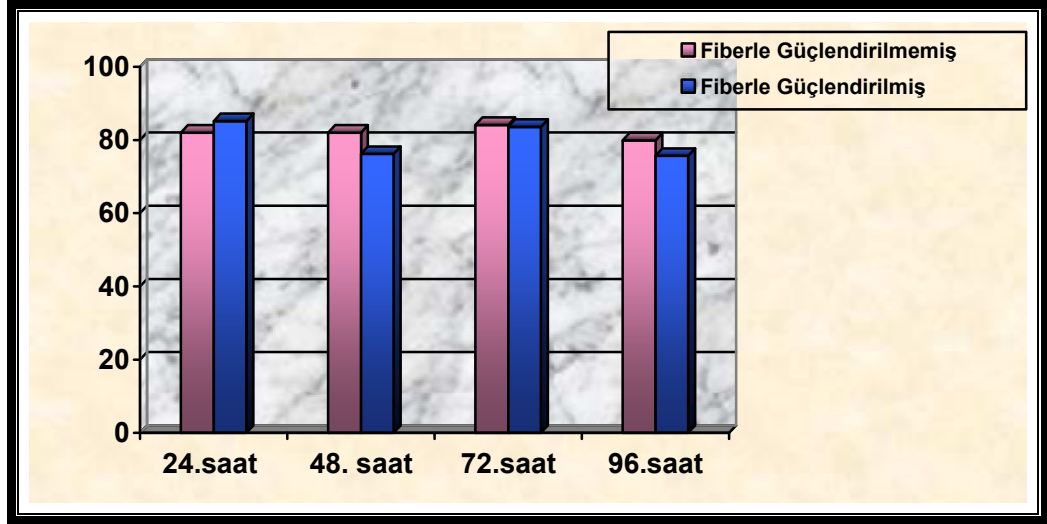
Grafik 12: Oto polimerize grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri (%).

Oto polimerize gruplarda 24, 48 ve 72 saat inkübasyon sürelerinde fiber ilave edilmiş gruplarda hücre canlılığında düşüş görülmüştür. Ancak 96 saat inkübasyon sonrasında canlılık bir miktar artmıştır. Bu düşüş ve artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$).

Mikrodalga ile polimerize edilmiş gruplarda dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri **Tablo 11**'de ve **Grafik 13**'de verilmiştir.

Tablo 11: Mikrodalga ile polimerize edilen grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri.

Saat	Grup	X (%)
24. saat	3. Grup	82.01
	7. Grup	85.18
48. saat	3. Grup	82.01
	7. Grup	76.19
72. saat	3. Grup	84.13
	7. Grup	83.60
96. saat	3. Grup	79.89
	7. Grup	75.66



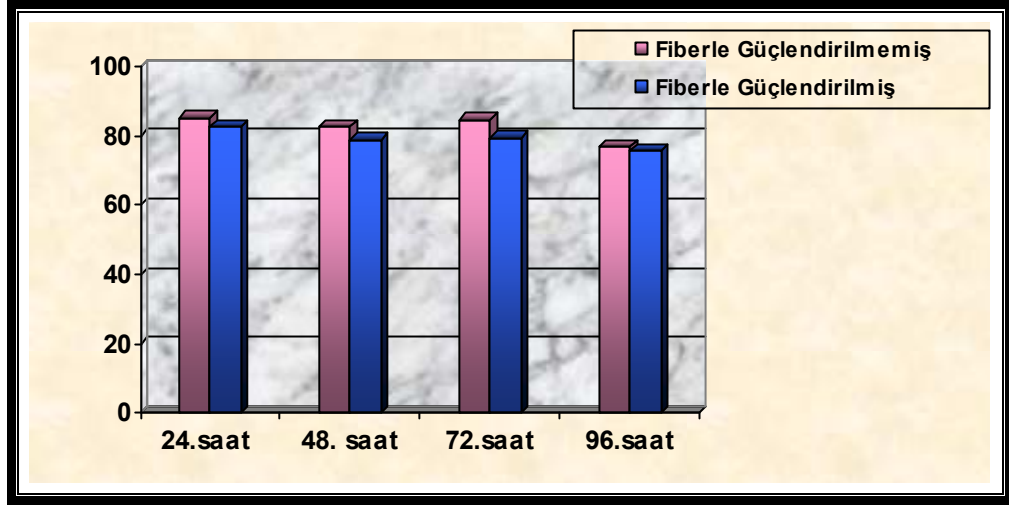
Grafik 13: Mikrodalga ile polimerize edilen grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri (%).

Mikrodalga ile polimerize edilen gruplarda, fiber ilave edildiğinde 48, 72, 96 saatlerde hücre canlılığında azalma görülürken 24. saatte fiber ilave edilmiş gruptaki hücre canlılığı çok az bir oranda artmıştır. Ancak hücre oranındaki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$).

Gamma ışını ile polimerize edilmiş gruplarda dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri **Tablo 12**'de ve **Grafik 14**'de verilmiştir.

Tablo 12: Gamma ışını ile polimerize edilmiş gruplarda dört inkübasyon süresinde hücre canlılık değerleri.

Saat	Grup	X (%)
24. saat	4. Grup	85.18
	8. Grup	82.54
48. saat	4. Grup	82.54
	8. Grup	78.83
72.saat	4. Grup	84.65
	8. Grup	79.36
96. saat	4. Grup	76.72
	8. Grup	75.66



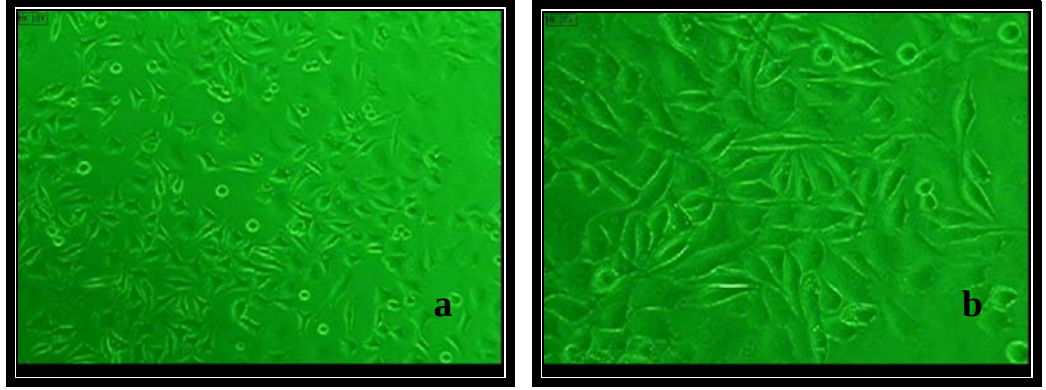
Grafik 14: Gamma ışını ile polimerize edilen grupların dört inkübasyon süresince hücre canlılık değerleri (%).

Gamma ışını ile polimerize edilen grupta tüm inkübasyon sürelerinde fiber ilave edilmiş gruplarda hücre canlılığında düşüş olmuştur. Ancak fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

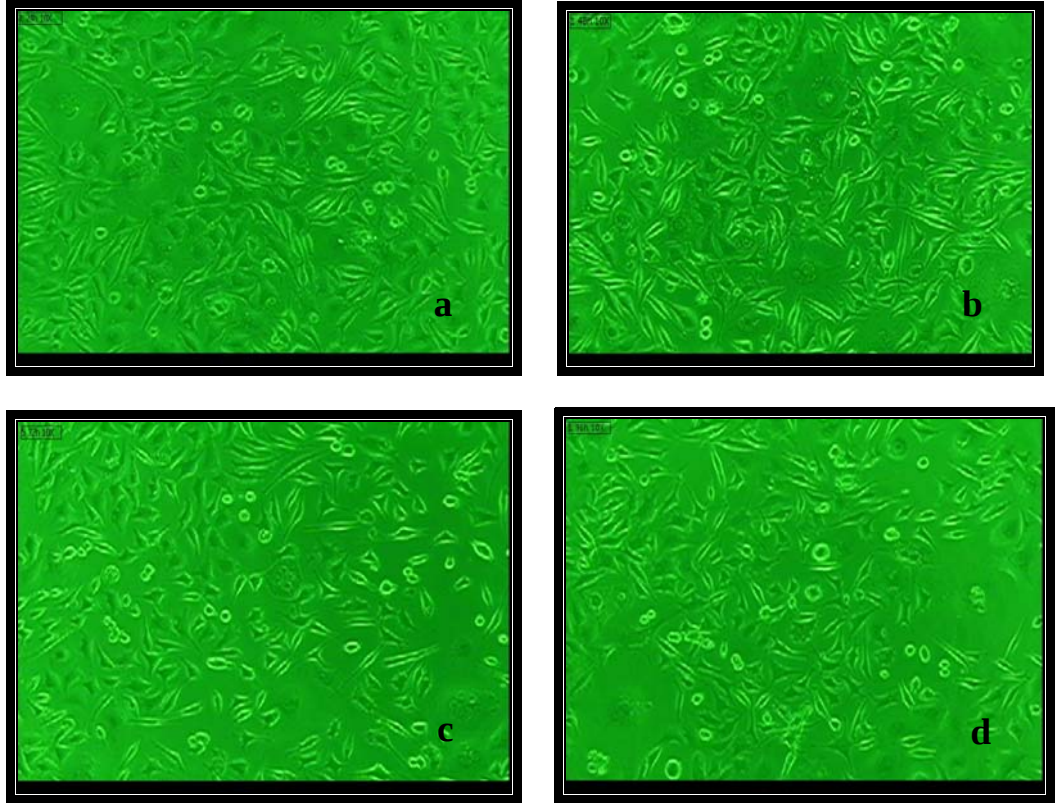
Fiber ile yapılan güçlendirme işlemi genelde hücre canlılık oranında düşüşe neden olmuştur. Güçlendirilmemiş gruplar ile karşılaştırıldığında daha düşük canlılık değerleri yani daha fazla toksisite bulgusu göstermiştir. Ancak yapılan istatistiksel incelemede bu değişimin anlamlı olmadığı görülmüştür.

MTT test sonucu elde ettiğimiz hücre canlılığın sayısal değerleri dışında gruplara ait mikropleytdeki hücrelerin doku kültürü mikroskobu altındaki görünüşleri sayesinde değerleri tekrar gözden geçirmek ve sonuçların sağlamasını yapmak mümkün olmuştur.

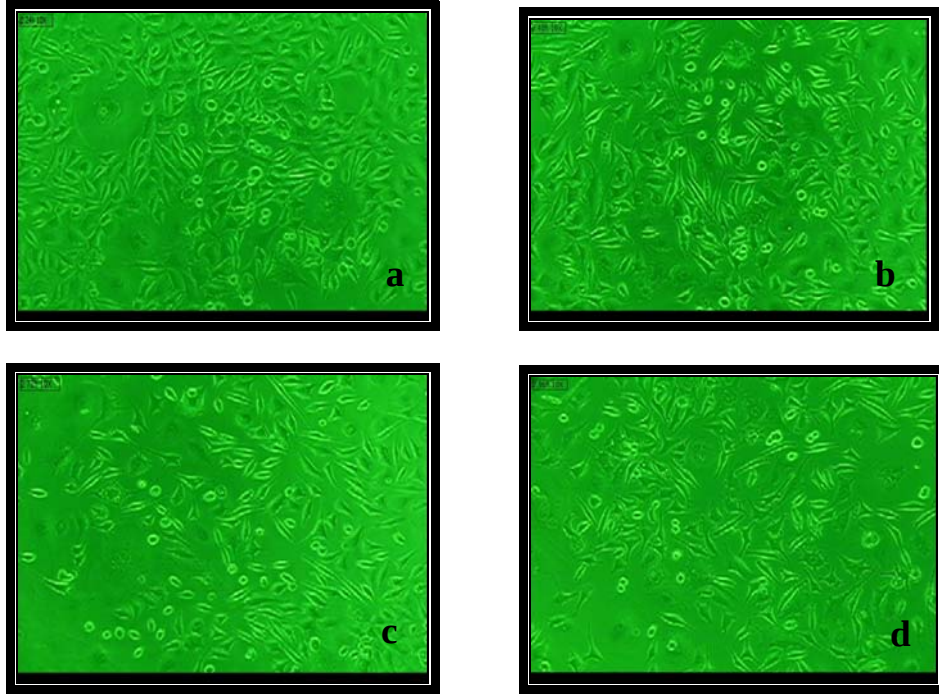
Fibroblast hücresinin normal görüntüsünde, hücreler pürüzsüz ve iç yapısındadır. Hücre kontrol grubunun mikroskobik görüntülerinde hücrelerin kenar konturlarının parlak olduğu ve membran yapısının sağlam olduğu görülmektedir. Sitotoksisiteye bağlı olarak hücre yapılarında bazı değişiklikler oluşmaktadır. Toksisiteyi gösteren bulgular; hücrelerin yuvarlaklaşması, yüzeyden ayrılması, hücre yapılarındaki morfolojik bozukluk ve devleşmiş hücre yapılarının varlığıdır. Hücre yapılarındaki zamana ve sitotoksitedeki artışa bağlı ortaya çıkan değişiklikler **Resim 17- 25'** de yer almaktadır.



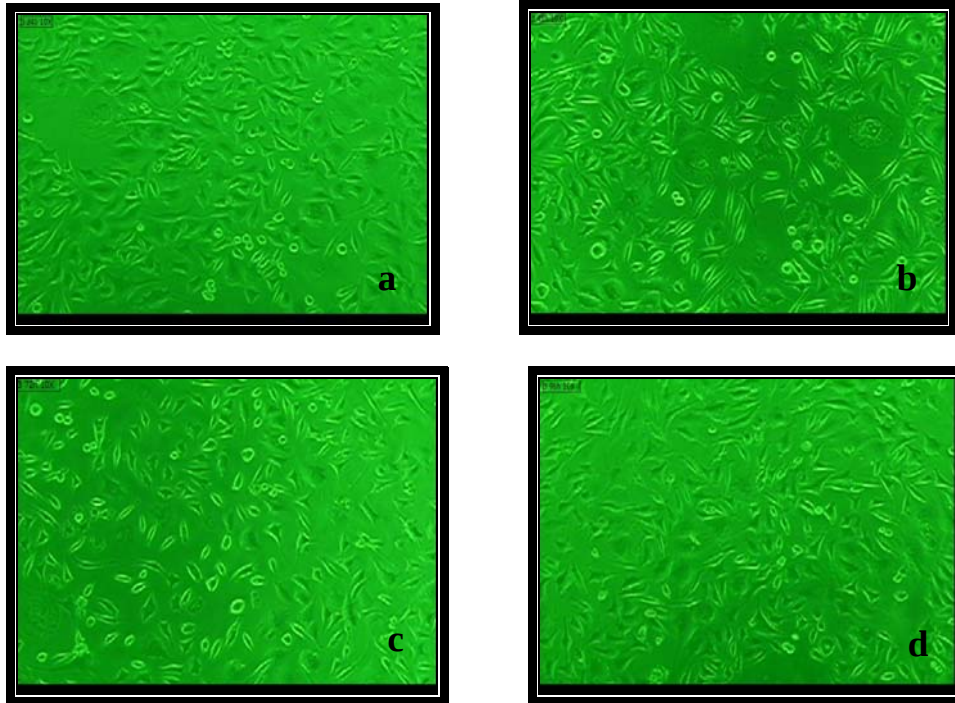
Resim 17: Hücre kontrolün (a) X10 mikroskobik görünümü, (b) X20 mikroskobik görünümü.



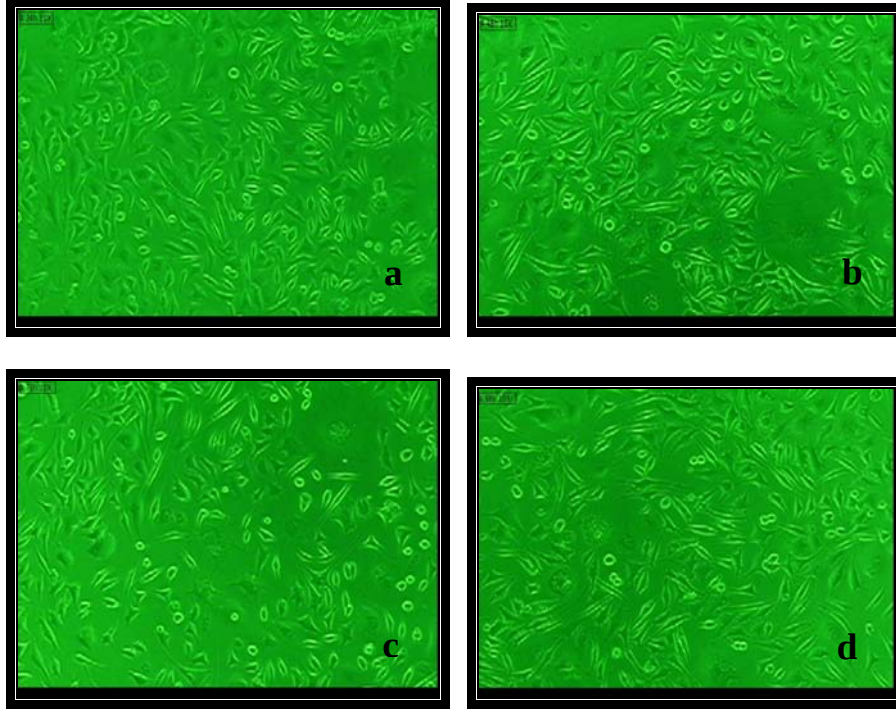
Resim 18: Isı ile polimerize edilen gruba (1. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat (c) 72. saat, (d) 96. saatteki mikroskobik görünümü (X10).



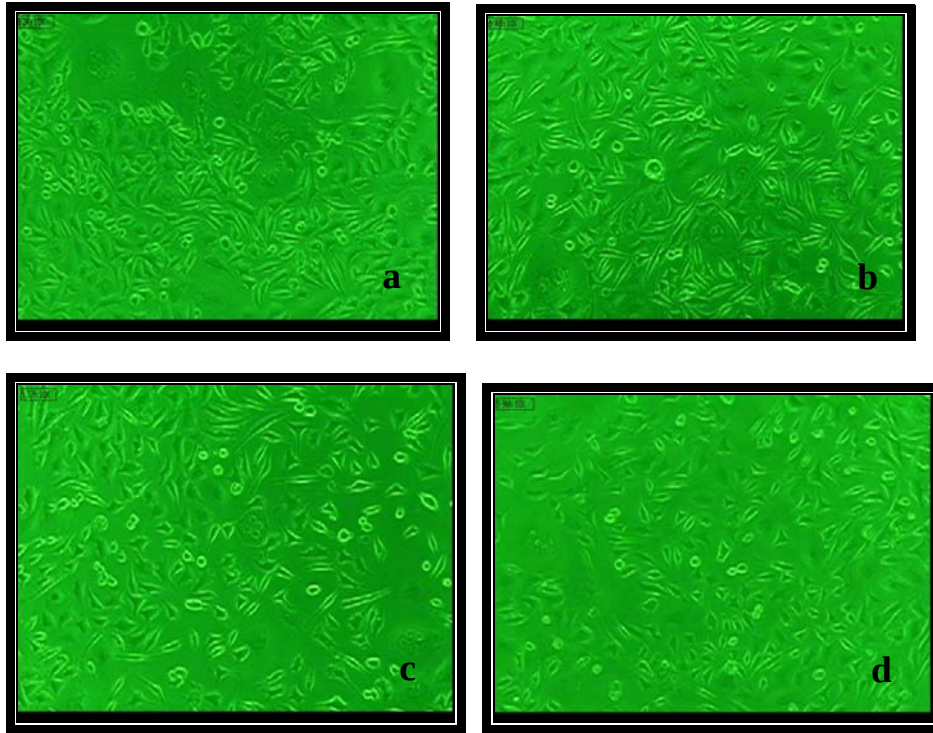
Resim 19: Oto polimerize gruba (2. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat (c) 72. saatteki, (d) 96. saatteki mikroskopik görünümü (X10).



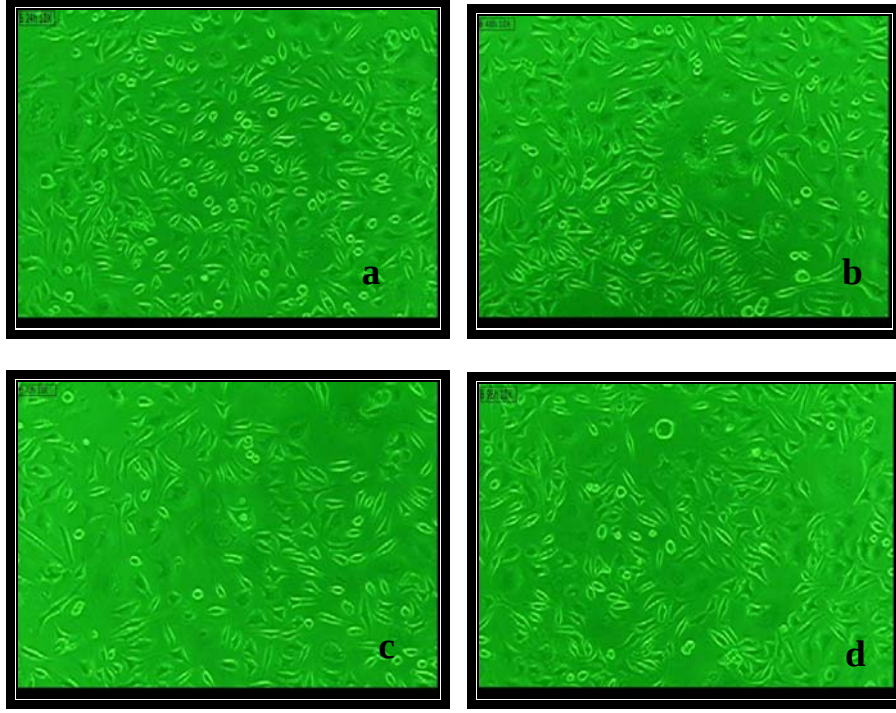
Resim 20: Mikroalga ile polimerize edilen gruba (3. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat, (c) 72. saatteki, (d) 96. saatteki mikroskopik görünümü (X10).



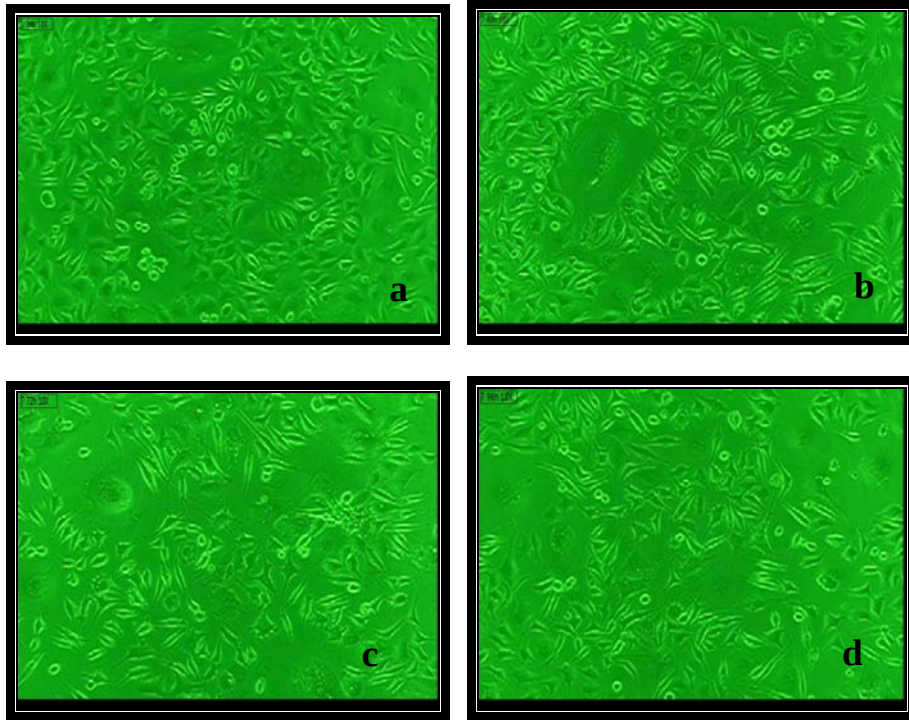
Resim 21: Gamma ışını ile polimerize edilen gruba (4. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat, (c) 72. saat, (d) 96. saatteki mikroskopik görünümü (X10).



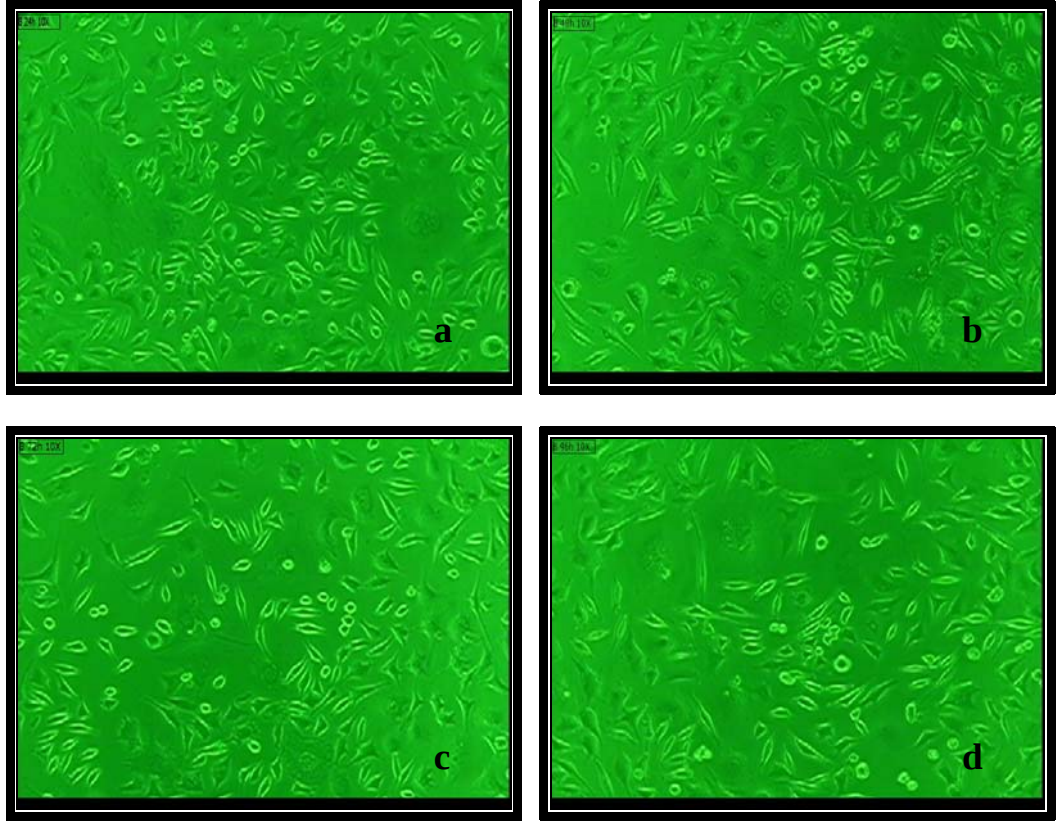
Resim 22: Fiber ile güçlendirilmiş ısı ile polimerize edilen gruba (5. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat, (c) 72. saat, (d) 96. saatteki mikroskopik görünümü (X10).



Resim 23: Fiber ile güçlendirilmiş oto polimerize gruba (6. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat, (c) 72. saat, (d) 96. saatteki mikroskopik görünümü (X10).



Resim 24: Fiber ile güçlendirilmiş mikrodalga ile polimerize edilen gruba (7. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat, (c) 72. saat, (d) 96. saatteki mikroskopik görünümü (X10).



Resim 25: Fiber ile güçlendirilmiş gamma ışını ile polimerize edilen gruba (8. Grup) ait hücrelerin (a) 24. saat, (b) 48. saat, (c) 72. saatteki, (d) 96. saatteki mikroskopik görünümü (X10).

TARTIŞMA

Akrilik rezinler, mükemmel estetiği, manipölasyon kolaylığı, düşük maliyeti, oral şartlardaki stabilitesi ve uygun çalışma şartları nedeniyle protetik tedavilerde hareketli protezlerin yapımında tercih edilen kaide materyalidir. Bu üstün özelliklerinin yanı sıra, darbe ve yorulma dirençleri düşüktür, bu nedenle dayanıklılığı yetersizdir ve eşit olmayan çiğneme kuvvetleri, kaza ve travma sonucu kırılabilir^{23-26, 28, 30, 36}.

Protez kaide kırıkları, sık karşılaşılan klinik sorunlardan biridir. Jagger ve arkadaşlarına göre; Hargreaves yapmış olduğu çalışmada, protezlerin % 68'inin 3 yıl içerisinde kırıldığını ve bu oranın parsiyel protezlerde tam protezlere göre daha yüksek olduğunu belirtmiştir³⁰.

Darbar ve arkadaşları²⁶ tamir işlemlerinin % 33'ünün yapay dişlerin kaideden ayrılması, % 29'unun üst tam protezlerde orta hat kırıkları, % 38'lik kısmının ise diğer kırıklar olduğunu bildirmişlerdir. Vallittu ve arkadaşları¹¹ çalışmalarında hareketli protezlerde ortaya çıkan problemleri araştırmışlardır. Protez tamirlerinin % 49'unun üst tam protezlere yapıldığını, en sık karşılaşılan problemlerin ise; akrilik kaidede oluşan kırık ve çatlak (% 64) ve suni akrilik diş kaybı olduğunu ifade etmişlerdir.

Materyalin bükülme dayanıklılığı, basma, çekme ve makaslama dayanıklılığın bir kombinasyonudur. Çekme ve basma dayanıklılığı artıca materyalde kırığa yol açan kuvvetin değeri de artacaktır²⁹. Çarpma ve bükülme kuvvetleri sonucunda oluşan kaide plağı kırıkları, dental polimerlerin mekanik özelliklerinin geliştirilmesi için çeşitli araştırmaların yapılmasını gerektirmiştir. Bu nedenle protez kaide polimerinin olumsuz fiziksel ve mekanik özelliklerinin üstesinden gelebilmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir.

Bu yöntemlerden biri PMMA materyaline alternatif yeni polimerler geliştirmektir. Ancak geliştirilen polimerler PMMA'dan daha üstün özellikler göstermemişlerdir^{28, 34}. Bu nedenle mevcut materyalin kimyasal yapısında bazı modifikasyonlar yapılması yoluna gidilmiştir³⁴. Kimyasal modifikasyon çalışmaları başarıya ulaşmış fakat pahalı olması klinik kullanımını kısıtlamıştır³⁰. Daha sonraki çalışmalarda metal güçlendiriciler, karbon-grafit, aramid, ultra-yüksek moleküler ağırlıklı polietilen (UHMWPE) ve cam fiber gibi materyaller eklenerek PMMA'ın mekanik olarak güçlendirilmesi gerçekleştirilmiştir^{24, 28, 35, 62}.

Günümüzde, endüstride, fibröz kompozit materyallerinin gelişimi dental akrilik rezinlerin gelişiminde de yeni bir başlangıç oluşturmuştur.

Son yıllarda dental rezinlerin güçlendirilmesinde, fiberlerin kullanımı ile ilgili çalışmalara daha çok yer verilmektedir. Yapılan çalışmalara göre fiber ile güçlendirme işlemi, rezinlerin mekanik özelliklerini pozitif yönde etkilemesine rağmen, geleneksel protezlere göre fiber uygulamalarının hassas ve zaman alıcı olması rutin klinik uygulamalarda yaygınlık kazanmamasına neden olmuştur¹⁴.

Güçlendirme materyalleri olarak kullanılan fiberler, protez kaide materyalinin transvers, çekme ve çarpma dayanıklılığı gibi mekanik özelliklerini artırır. Diğer güçlendirme materyalleri ile karşılaştırıldığında estetik olması, rezin matris ile bağlantısının sağlamlığı, özel ekipman ya da özel akril gerektirmemesi, uygulama ve tamir işlemlerinin kolay olması gibi avantajları vardır^{24, 33, 58}. Ayrıca total fiber güçlendirmesi ile hazırlanan protezlerde kaza ya da travma sırasında protezin kırılması halinde kırık parçalardan birinin aspirasyonu ve kaybolması söz konusu değildir^{14, 30, 60}.

Konvansiyonel polimer ile karşılaştırılınca, fiber ile güçlendirilmiş polimerler yüksek elastiklik modülü ve dayanıklılıktan dolayı, deformasyon oluşmadan streslerin çoğunu karşılayabilmekte ve uygulamalarda daha iyi klinik başarı göstermektedir^{28, 58}.

Vallittu⁵⁴ fiber ile güçlendirmenin klinik yararlarını değerlendirdiği çalışmada, tekrarlayan protez kırığı hikayesi olan 12 hareketli tam protez ve 10 hareketli parsiyel protezi devamlı E-cam fiber ile parsiyel olarak güçlendirmiştir. Sadece bir tam protez ve bir parsiyel protezin takip periyodu sırasında güçlendirme yapılmış bölgeden kırıldığını ve bunun nedeninin, fiberin laboratuvar aşamasında yanlış yerleştirilmesinden kaynaklı olduğunu belirtmiştir.

Narva ve arkadaşları⁵², akrilik rezinden yapılmış hareketli protezlerin tamirinde cam fiberin etkisini ve klinik kullanımını değerlendirmişlerdir. Vakaların % 88'inde parsiyel fiber güçlendirmesi yapılan bölgede yeni bir kırık oluşmadığını, protezlerin klinik durumlarının iyi olduğunu ve cam fiberlerin oral mukozada irritasyona neden olmadığını bildirmişlerdir. Protezlerinde yeni kırık görülen vakalarda ise problemin, güçlendirme prosedürlerinin doğru yapılmamasından kaynaklandığını ifade etmişlerdir.

Dental rezinleri güçlendirmek için karbon/grafit, aramid, polietilen ve cam gibi farklı tip fiberler kullanılmaktadır. Karbon/grafit ve aramid fiberler, test örneklerinin hazırlanması sırasında laterale dağılması, estetik özelliklerinin yetersiz olması ve polisaj işleminin zorluğu nedeniyle günümüzde fazla tercih edilmemektedir. Bu fiberlerin kullanımı estetiğin önemli olmadığı bölgelerle sınırlanmıştır^{34, 35, 41, 62, 113}.

Polietilen fiberler ise estetik açıdan uygun güçlendirme materyalidir¹¹³. Fakat fiber ve protez kaide polimeri arasındaki adezyonu güçlendirmek amacı ile yapılan yüzey işlemleri hem karmaşıktır hem de yetersizdir^{35, 61}. Bazı araştırmacılar, UHMWPE ile güçlendirilmiş protez kaide polimerlerinin esneklik özelliklerinde anlamlı bir artış olmadığını hatta cam fiber güçlendirme ile karşılaştırıldığında daha düşük değerler gösterdiğini bildirmişlerdir^{33, 35, 41, 114}.

Protez kaidelerini güçlendirmek için en uygun fiber tipinin cam fiber olduğu düşünülmektedir⁶⁰. Cam fiberin PMMA'nın transvers dayanıklılığını, elastiklik modülüsünü, yorulma ve çarpma dayanıklılığını geliştirmesi, estetik olması ve uygulama kolaylığı klinik kullanımda başarılı olmasına ve tercih edilmesine neden olmuştur^{23, 35, 113, 115}. Çalışmamızda bu avantajları ve kullanım yaygınlığından dolayı güçlendirme materyali olarak cam fiber kullanmayı tercih ettik.

Akrilik rezin içerisine fiber sistemleri, devamlı paralel, kısa kesilmiş (kırpılmış) ve dokuma (örgü) olmak üzere 3 formda ilave edilebilmektedir^{31, 32, 113}.

Devamlı paralel fiber ile güçlendirilmiş bileşikler, tek yönde son derece dayanıklı özelliklere sahip olan anizotropik yapı oluştururken, rasgele dağılmış fiberlerin (kırpılmış fiber) kullanımı tüm yönlerde benzer özellikler sağlamaktadır ve izotropik özellikler olarak adlandırılmaktadır. Devamlı fiber uygulaması kırılmış fiber uygulamasına göre daha üstün güçlendirme sağlamaktadır. Fakat maksimum güçlendirme elde etmek için protezin zayıf olan parçasına devamlı formdaki fiberi vizköz PMMA hamuru içerisine yerleştirmek zordur ve ilave teknik işlemler gerektirmektedir³⁵. Ayrıca akril tepimi sırasında yerleştirilen liflerin hem konumu değişmekte hem de paralelliği bozulmaktadır⁵⁸.

Uzun ve arkadaşları¹¹³, protez tamiri için kullanılan oto polimerize akrilik rezinin bazı mekanik özellikleri üzerinde 3 farklı fiber formunun etkisini araştırmışlardır. Örgü, kırılmış ve longitudinal gruplar arasında analiz sonuçları istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermemesine rağmen, özellikle örgü cam fiberin diğer formlardan üstün özellikler sergilediğini ifade etmişlerdir. Ayrıca transvers dayanıklılık, maksimal bükülme ve elastiklik modülüsünün güçlendirilmemiş gruplara oranla arttığını bildirirlerken, Chen ve arkadaşları³⁶ kırılmış formdaki, Kanie ve arkadaşları¹¹⁶ örgü formundaki, Vallittu⁴⁵ ise uzun iplik formundaki cam fiberin rezinin darbe direncini artırmada etkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, fiber formu ile ilgili bilgilerin çeşitliliği ve net olmaması, kırılmış formdaki fiber uygulamasının

diğer formlara göre daha kolay yapılması bizi kırılmış formda fiber kullanımına yöneltmiştir.

Fiber konsantrasyonu, protezin güçlendirilmesinde önemli bir faktördür. Akrilik rezin matriksteki fiber miktarındaki artış, test örneklerinin transvers ve çarpma dayanıklılığını artırmaktadır. Protez yapımı sırasında fiberler polimer tabakası ile kaplanmalıdır. Ancak bu durum yapıdaki fiber miktarını sınırlamaktadır²⁹. Protez kaide polimerine rasgele yerleştirilen kısa, düşük konsantrasyonlu (ağırlığın % 1'i) cam fiberin kırılma direncinde, yüksek konsantrasyonlu (ağırlığın % 14,8'i) cam fiberin gerilme direncinde artışa neden olduğu bildirilmiştir¹¹⁶.

Chen ve arkadaşları³⁶ yaptıkları çalışmada farklı uzunluk ve konsantrasyonlardaki fiber ilavesinin akrilik rezinlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonuçları, fiber uzunluğu ve konsantrasyonundaki artışın çarpma dayanıklılığını artırdığı fakat bükülme dayanıklılığı üzerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı yönündedir. Çalışmacılar özellikle 6 mm uzunluğunda ve % 3 konsantrasyondaki fiber ilavesinin diğer gruplara kıyasla anlamlı oranda dayanıklılığı artırdığını, % 3'ün üzerindeki fiber ilavesinin manipülasyon zorluğu oluşturduğunu ve estetik açıdan arzu edilmeyen bir görünüme neden olduğunu bildirmişlerdir.

Clarke ve arkadaşları¹¹⁷ % 2'lik fiber konsantrasyonunu tavsiye ederken, Ladizesky ve arkadaşları¹¹⁸ % 4'ün üzerindeki konsantrasyonlara gerek olmadığını bildirmişlerdir.

Vallittu ve arkadaşları⁶², akrilik rezin polimer matriksteki fiber miktarı artışının test örneklerinin fraktür dayanıklılığını artırdığını belirtirken, Stipho¹¹⁹ % 5 oranından daha yüksek cam fiber uygulamasının anlamlı bir mekanik avantaj sağlamadığını rapor etmiştir.

Polimer matriksi güçlendirmek için fiber konsantrasyonunu artırmak; akrilik hamurun preslenmesi sırasında fiberlerin laterale saçılmasına, fiberin rezin materyali ile zayıf ıslanmasına, tek bir fiberin çevresindeki rezin tabakasının eşit olmamasına, polimerizasyon büzülmesinin fiber yüzeyindeki rezin tabakasını yıkmaya ve fiber ile polimer matriks arasındaki bağlantının zayıflamasına neden olmaktadır¹⁴. Ayrıca Vallittu¹⁴ yüksek konsantrasyondaki cam fiberin pöröziteye ve homojen yapının bozulmasına neden olabileceğini bildirmiştir.

Karacaer ve arkadaşları³⁵ çalışmalarında, çeşitli uzunluk ve konsantrasyonlarda kırılmış formda E-cam fiber ile güçlendirmenin PMMA protez kaide materyalinin transvers dayanıklılık, elastiklik modülüsü ve çarpma dayanıklılığı üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda 6 mm uzunluğunda ve % 5 konsantrasyondaki fiberin

rezin materyalinin mekanik özelliklerini anlamlı ölçüde artırdığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda literatür bilgileri referans alınarak en iyi mekanik avantaj sağladığı düşünülen 6 mm uzunlukta ve % 5 konsantrasyonda fiber kullanılması tercih edilmiştir.

Fiberler polimer materyalini güçlendirmek için kullanıldığında, fiber ve polimer matris arasında optimal bir adezyon sağlanmalıdır. Aradaki adezyonu iyileştirmek amacı ile fiber yüzeylerine silan ajanı uygulanmaktadır^{35, 60, 62}. İşlem görmemiş fiberler akrilik rezin karışımında yabancı cisim gibi davranmakta ve rezini güçlendirmek yerine zayıflatmaktadırlar⁵⁷. Silan ajanları, karışımı daha homojen hale getirir ve PMMA'nın daha fazla güçlenmesini sağlar^{45, 61}.

Solnit⁶¹ silanla işlem görmüş ve görmemiş cam fiberler ile güçlendirilen oto polimerize PMMA rezinlerin transvers dayanıklılığını değerlendirmiştir. Silansız fiberler ile güçlendirilen grubun transvers direncinin fiber ile güçlendirilmemiş gruba nazaran daha düşük olduğunu, silan ile işlem görmüş grupların silansız ve fibersiz gruplardan daha dayanıklı olduğunu rapor etmiştir.

Vallittu ve arkadaşları⁴⁰ silansız cam fiberin akrilik rezinin transvers dayanıklılığını hafif ölçüde azalttığını, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını, silanlı fiberin ise dayanıklılığı anlamlı ölçüde artırdığını bulmuşlardır. Dayanıklılığın artmasını, silanın fiber ile rezin arasındaki adezyonu artırmasına bağlamışlardır.

Vallittu¹²⁰ iki farklı silan ajanı (A174, A133) ile değişik tipteki cam fiberler arasındaki adezyonu araştırdığı çalışmada silanlanmış fiberli örneklerin kırılma dirençlerinin önemli ölçüde arttığını bildirmiştir. Bu çalışmada A174 silan ile işlem görmüş cam fiberin akrilik rezinin transvers direncini artırmada daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Silan ile işlem görmüş fiberlerin akrilik rezinle olan bağlantıyı artırması ve Vallittu'nun çalışması doğrultusunda A174 silanın mekanik özellikler üzerinde daha etkili olması nedeniyle çalışmamızda A174 ile silanlanmış E-cam fiber kullanımını tercih ettik.

Protez kaide polimerlerinin sahip olması gereken önemli özellikler; yeterli mekanik dayanıklılık, kabul edilebilir estetik, hazırlama kolaylığı ve rest monomer gibi bileşiklerin en az oranda salınımıdır⁶³. PMMA protez kaide materyali, prepolimerize toz partikülleri ve MMA monomer karışımının ilave polimerizasyon reaksiyonu sonucu oluşan çok fazlı bir polimerdir. Polimerizasyon reaksiyonu; ısı, ışık, dimetil p-toluidin gibi kimyasal bir aktivatör veya mikrodalga enerjisi ile olur. Çeşitli polimerizasyon başlatıcılar bulunmasına rağmen, MMA'nın PMMA'a

dönüşümü tam olarak sağlanamaz ve polimerizasyondan sonra rezin içerisinde reaksiyona girmeyen bir miktar MMA monomer bulunur^{66, 67, 121-123}.

Fiber ile güçlendirmenin akrilik rezinin mekanik özellikleri üzerindeki etkisine yönelik pek çok çalışma bildirilmesine rağmen fiber ile güçlendirilmiş rezinlerin biyouyumluluğu ile ilgili in vitro olarak planlanmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. İn vitro çalışmalar, özellikle çeşitli faktörlerin etkilerini daha detaylı ve birbirinden bağımsız olarak incelenebilmesine olanak sağlar ve klinik çalışmalar için gerekli alt yapıyı oluşturduğundan oldukça önemlidir. Bu nedenle çalışmamızda fiber ile güçlendirilmiş akrilik rezin materyalinin biyouyumluluğu araştırılmıştır. Biyolojik uyum açısından fiberle yapılan güçlendirme işleminin rest monomer miktarı üzerindeki etkisi ve bunun neden olabileceği sitotoksite potansiyeli in vitro olarak değerlendirilmiştir.

Güçlendirilmemiş akrilik rezinin polimerizasyon sonrası mevcut rest monomer miktarı ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır^{66, 67, 70, 73, 122, 124}. Ancak fiber ile güçlendirilmiş rezinlerde rest monomer içeriği yönündeki değişiklikler kapsamlı olarak incelenmemiştir. Çalışmamız güçlendirilmiş rezin materyallerinde rest monomer miktarının farklı polimerizasyon yöntemlerine göre nasıl değiştiği yönünde planlanmıştır.

Mc Cabe ve Basker¹²⁵ metil metakrilat monomerinin dokularda irritasyona ve hassasiyete neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu yüzden MMA içeren materyallerin kütleme işlemleri sırasında rest monomer seviyeleri dikkatli bir şekilde kontrol edilmelidir.

Dahl ve arkadaşları¹²⁶ in vitro şartlarda MMA monomerinin monositlerin, granülositlerin ve endotel hücrelerinin hücre bütünlüğü üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarında MMA'ın 10 mikrogram mL⁻¹'lik miktarının 1 dakikalık inkübasyon sonrasında belirgin sitotoksikite gösterdiğini bulmuşlardır.

Kökuslu ve arkadaşları¹²⁷ yaptıkları çalışmada, saf metil metakrilatın, üç farklı konsantrasyonunun sitotoksik etkisini, fibroblastlar üzerinde araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarında metil metakrilatın dozu fazla olduğunda, sitotoksitenin arttığını ve doku reaksiyonunun başladığını vurgulamışlardır.

Ergün ve arkadaşları¹²⁸ kimyasal, ısı ve mikrodalga enerjisi ile polimerize olan 4 protez kaide rezin monomerlerinin toksik etkilerini primer insan gingival fibroblastlar (PİGF) hücre kültürü kullanarak in vitro olarak değerlendirmişlerdir. Sonuçta test edilen tüm materyallerin monomerlerinin farklı konsantrasyonlarda ve zaman periyotlarında sitotoksik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Protez kaide rezinlerinin

monomerlerinde görülen sitotoksitenin, saf metil metakrilata ilave edilen çapraz bağlantı ajanlarına (glikol dimetakrilat, treetilen, tetraetilen) ve inhibitör maddelere (hidrokinon) bağlı olarak arttığını ifade etmişlerdir.

Yang ve arkadaşları¹²⁹ çalışmalarında MMA'ın CHO hücre kültürleri üzerinde koloni oluşturma eksikliklerini, DNA sentezi ve sitogenetik değerlendirmelerini araştırmışlardır. MMA'ın doza ve süreye bağlı olarak artan oranlarda hem koloni oluşturduğunu hem de DNA sentezini inhibe ettiğini, ayrıca kromozomlar üzerinde de değişikliğe yol açtığını bildirmişlerdir. Bu çalışmaya göre MMA'ın sadece sitotoksik bir ajan olmadığı aynı zamanda genotoksik bir ajan da olduğu belirtilmektedir.

Metil metakrilat tek başına toksik bir maddedir. Bu maddenin az bir miktarının polimerize olmuş rezin içinde serbest kalması, duyarlılığı yüksek olan bireylerde oral mukozada irritasyon, inflamasyon ve alerjik reaksiyona neden olabilmektedir. Ancak toksisite oluşturmada artış monomer miktarının belli limitlerin üzerinde olması gerekmektedir¹²⁸.

Ayrıca polimerizasyonu tamamlanmış rezinde bulunan yüksek rest monomer miktarı, rezin materyalinin su emilimi, sertlik, boyutsal stabilite, çekme ve esneme dayanıklılığı gibi mekanik özelliklerini de olumsuz yönde etkilemektedir^{122, 123}. Doğan ve arkadaşları⁷³ yaptıkları çalışmada, rezidüel monomer seviyesi yüksek olan akrilik rezin örneklerde monomer seviyesi düşük olan örneklerle göre çekme dayanıklılığını daha az, su emilim değerlerini ise daha fazla bulmuşlardır. Bu sonucu polimer matriks içindeki polimerize olmamış monomerin plastizer etkisine bağlayarak açıklamışlardır.

Çoğu araştırmacı akrilik rezin içerisindeki rest monomer miktarının protez kaide rezinin tipine, materyalin toz-likit oranına, polimerizasyon yöntemine, polimerizasyon süresine ve rezinin kalınlığına bağlı olduğunu bildirmişlerdir^{66,130,131}. Artık monomer miktarının azaltılması için toz-likit miktarına dikkat edilmesi, çok düşük ısıda ya da çok kısa sürede polimerizasyon yapılmasından kaçınılması ve polimerizasyon derecesinin yüksek olması gerekmektedir^{3, 6, 7}.

Akrilik rezinlerin diş hekimliğinde kullanıma girmesi ile birlikte kitlenin fiziksel özelliklerini geliştirebilmek, dokulara uyumunu mükemmel hale getirebilmek ve kitle içinde oluşma ihtimali olan pöröziteyi yok edebilmek için çeşitli polimerizasyon yöntemleri geliştirilmiştir¹³². Polimerizasyon reaksiyonunu başlatan etkenler ısı, kimyasal, ışık ve mikrodalga enerjisi olmak üzere dört başlık altında toplanabilmektedir^{1, 3, 4, 6, 7}. Polimerizasyon yöntemi akrilik rezindeki rest monomer miktarını etkileyen önemli bir parametre olduğundan, çalışmamızda farklı polimerizasyon yöntemlerinin rezin materyalindeki rest monomer miktarı

üzerindeki etkisini görmek istedik. Bu amaçla akrilik rezin örnekleri ısı, oto, mikrodalga ve gamma ışını ile polimerize ederek hazırladık.

Protez kaide materyalleri dokularla uzun süre temasta bulunmakta ve çeşitli yan etkilere neden olmaktadır¹. Bu olumsuz etkilerin nedeni olan reaksiyona girmemiş monomerlerin miktarının tespit edilmesi oldukça önemlidir¹³³. Rezidüel MMA monomerin seviyesini tespit etmek amacı ile çok sayıda metod geliştirilmiştir⁷³. Bu yöntemler arasında infrared spektroskopi ve gaz kromatografi kullanılarak rest monomer miktarının değerlendirildiği pek çok çalışma vardır^{69, 73, 121}. Fakat son zamanlarda yüksek performans likit kromatografi cihazı analitik kimyadaki gelişmelerle birlikte alternatif bir metod olarak kullanılmaya başlanmıştır⁷⁴.

Yüksek performans likit kromatografi, çeşitli organik materyallerin tespitine uygun, düşük konsantrasyonlardaki rezidüel monomer miktarını değerlendirilebilen hassas ve güvenilir bir methodur^{74, 123, 133}. Ayrıca HPLC cihazıyla deney oda ısısında ve likit bir ortamda gerçekleştirilir ve ısı faktörü elimine edilir. Analizi yapılacak örneğin, hareketli fazı oluşturan oda sıcaklığındaki taşıyıcı sıvıya enjekte edilmesi ile PMMA'nın yüksek sıcaklıkta depolimerizasyon riski ortadan kaldırılır ve daha doğru sonuçlar elde edilir¹²²⁻¹²⁴. Araştırmamızda, kullanışlı bir metod olması ve diğer bazı analiz yöntemlerinde görülen yüksek sıcaklık oluşumunun ortadan kaldırılmasıyla akrilik rezinler için daha güvenilir sonuçlar verdiği düşünülen yüksek basınç sıvı kromatografi tekniği ile rest monomer miktarını tespit etmeyi amaçladık. Bu nedenle çalışmamızda HPLC cihazını kullandık.

ISO (International Organization for Standardization) tarafından hazırlanan "Diş Hekimliği-Protez Kaide Polimerleri Teknik Rapor 1567'ye" göre HPLC sisteminde taşıyıcı faz olarak asetonitril/deiyonize su veya metanol/deiyonize su karışımı kullanılabileceği belirtilmiştir¹¹. Ancak metanol ve deiyonize su karışımı, stabil bir baseline verebilen ayırım gerçekleştirir, hassasiyeti artırır, pikler için tekrarlanan retansiyon zamanları sağlar ve pompa şartlarını stabil tutar⁷⁴. Bu nedenlerle çalışmamızda taşıyıcı faz olarak % 70 metanol (HPLC grade) ve % 30 oranında deiyonize su karışımını kullanmayı tercih ettik.

Rest monomer miktarının tespiti ile ilgili literatür incelemesi yapıldığında, örneklerdeki artık monomer ekstraksiyonu için farklı solüsyonların tercih edildiği görülmüştür. Baker ve arkadaşları¹³⁴ hazırladıkları örnekleri yapay tükürük içinde, Mc Cabe ve Basker¹²⁵ ile Tsuchiya ve arkadaşları¹³⁵ ise su içinde bekletmeyi tercih etmişlerdir. Austin ve Basker¹³⁶, Kawaguchi ve arkadaşları¹³⁷ metanolün sudan daha etkili olduğunu, artık bırakmayan ve kolay uzaklaştırılabilen bir çözücü olduğu için kullanılmasının daha uygun olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda ekstraksiyon prosedürleri sırasında rest monomerin

tamamının metanole geçmesi sağlanmış ve analize kadar metanol solüsyonunda bekletilmiştir.

Çalışmamızın sonucunda hem güçlendirilmemiş hem de güçlendirilmiş gruplarda rest monomer miktarı açısından polimerizasyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmüştür.

Fiber ile güçlendirilmemiş gruplardaki rest monomer miktarları; ısı ile polimerize olan grupta % 0.64, oto polimerize grupta % 2.64, mikrodalga ile polimerize edilen grupta % 0.43, gamma ışını kullanılarak hazırlanan grupta ise oran % 1.80 olarak bulunmuştur. Güçlendirilmemiş gruplar, rest monomer miktarı açısından değerlendirildiğinde en fazla artık monomer içeriği oto polimerizasyon yönteminde elde edilmiştir. Bu değeri gamma ışını ile polimerizasyon yöntemi ve sonrasında ısı ile polimerizasyon yöntemi izlemiştir. En düşük monomer oranı ise mikrodalga ile polimerize edilen grupta bulunmuştur.

Fiber ile güçlendirilmiş grupların ise; rest monomer değerleri şu şekilde elde edilmiştir. Isı ile polimerize grup % 0.49, oto polimerize grup % 2.95, mikrodalga polimerize grup % 0.87 ve gamma ışını ile polimerize edilen grup % 2.17 oranında rest monomere sahiptir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, güçlendirilmemiş gruplarda olduğu gibi en fazla monomer miktarı oto polimerizasyon yönteminde ve sonrasında gamma ışını ile polimerizasyon yönteminde bulunmuştur. En düşük monomer miktarı ise ısı ile polimerize edilen grupta olmuştur.

Elde ettiğimiz sonuçları yorumladığımızda, hem güçlendirilmemiş hem de güçlendirilmiş gruplarda en fazla rest monomer miktarı oto polimerizasyon yönteminde elde edilmiştir. Oto polimerizasyon yöntemi ile hazırlanan gruplarda monomer miktarının yüksek olması; oto polimerize akrilik rezinlerin düşük moleküler ağırlığına, uygun olmayan monomer/polimer oranına, polimerizasyon süresinin kısa olmasına ve ısıdaki ani artışa bağlanmaktadır¹²⁴.

Vallittu ve Miettinen⁶⁷ ısı ile polimerize ve oto polimerize protez kaide materyallerinin rezidüel monomer içeriğini HPLC cihazı ile tespit etmişlerdir. Oto polimerize olan materyalden ısı ile polimerizasyonu sağlanan akrilik rezine göre % 1-2 daha fazla oranda rest monomer salındığını bulmuşlardır.

Baker ve arkadaşları¹³⁴ çalışmalarında akrilik protez kullanan sağlıklı hastalarda tükürük, kan ve idrar içerisindeki MMA monomerinin miktarını gaz-likit kromatografi cihazı kullanarak belirlemişlerdir. Oto polimerize rezinden yapılmış protez kullanan hastaların tükürüklerinde, ısı ile polimerize edilmiş rezinden yapılmış protez kullanan hastalara göre daha yüksek seviyelerde MMA tespit etmişlerdir. Çalışmacılar oto

polimerize rezinden yapılmış kaide plağına sahip protez kullanan hastaların bu protezleri kullanmadan önce monomer salınımını en aza indirmek için 24 saat suda bekletmelerinin faydalı olacağını belirtmişlerdir.

Rest monomer ile ilgili çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde ısı ile polimerize olan PMMA' ta oto polimerize olan PMMA' a göre daha az rest monomer tespit edilmiştir^{66, 67, 121, 138, 139}. Çalışma bulgularımız yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir. Hem güçlendirilmemiş hem de güçlendirilmiş rezinlerde ısı ile polimerizasyon yöntemi ile hazırlanan örneklerde, oto polimerizasyon yöntemine göre hazırlanan örneklerle kıyasla istatistiksel olarak daha az oranda rest monomer miktarı tespit ettik.

Akrilik rezinin cam geçiş ısısı (T_g) tanecikler arasında matris fazının oluşumu sırasındaki ısıdan farklılık göstermektedir. T_g azaldıkça camsı polimerde MMA' ın hareketinin azalmasından dolayı MMA monomerinin polimerizasyonu kısıtlanır. Bunun sonucunda polimer içerisinde yüksek rezidüel MMA oluşur. Oto polimerize protez kaide polimerlerinin matris fazının camsı geçiş ısısı düşük olduğundan rest MMA miktarı daha fazla olur. Bu bilgilerin ışığı altında oto polimerize protez kaide materyallerinin polimerizasyon ısını artırmak monomer miktarını düşürülebilir^{66, 121}.

Isı ile polimerize olan rezinlerde daha az rest monomer oluşumunun nedeni bu rezinlerde cam geçiş ısının yüksek olması, dolayısıyla daha yüksek polimerizasyon ısına ihtiyaç duyulmasıdır. Polimerizasyon ısının artması rest monomer miktarını azaltmaktadır. Polimerin camsı geçiş ısısı artıkça, moleküler zincir hareketleri ve MMA'ın immobilizasyonu nötralize olur. Bu nedenle rezindeki monomerlerin polimerizasyon kabiliyeti artar^{66, 121}.

Vallittu ve arkadaşları⁶⁶ çalışmalarında, iki farklı ısı ile polimerize olan ve oto polimerize protez kaide polimerinin rest monomer miktarı üzerinde polimerizasyon ısının ve zamanın etkisini araştırmışlardır. Oto polimerize protez kaide rezinlerinde, polimerizasyon ısısı 30°C'den 60°C'ye artırıldığında, rezin içindeki rest monomer içeriğinin % 4'den % 3.3'e düştüğünü ifade etmişlerdir. Isı ile polimerize olan rezinlerde ise, polimerizasyon ısısı 70°C'den 100°C'ye artırıldığında ve bu ısıda devam ettirildiğinde sadece 70°C'de polimerize edilen örneklerle göre rezidüel monomer içeriğinin anlamlı ölçüde azaldığını, en düşük rest monomer seviyesinin 100°C'de 12 saat süre ile polimerize edilen rezinlerde (% 0.07) olduğunu belirtmişlerdir.

Isı ile yapılan polimerizasyon işleminde kaynatma ısının 100°C'de olması, rezidüel monomer seviyesini 100° C altında yapılan kaynatmalara göre anlamlı ölçüde azaltmaktadır^{66, 122}. Oto polimerize

rezinlerin polimerizasyonları ise genelde oda ısısında veya ılık suya muflaların kısa bir süre daldırılması ile gerçekleştirilmektedir. Ancak oto polimerize rezinlerin mekanik özelliklerini iyileştirmek ve rest monomer seviyelerini azaltmak için polimerizasyon ısısının derecesi artırılmalıdır. Oto polimerize rezinlerde rest monomer miktarını azaltmak için mikrodalga enerjisi veya 65°C'deki sıcak suda ilave polimerizasyon tavsiye edilmektedir¹²².

Sadamori ve arkadaşları¹⁴⁰ gaz kromatografi cihazı kullanarak kullanım süresi 1 ile 17 yıl arasında değişen 24 maksiller protezdeki rest monomer miktarını değerlendirmişlerdir. Uzun süre kullanılan protezlerde, rest monomer miktarının, kısa süre kullanılan protezlere göre daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Araştırmacılar, protezlerin yapıldıktan sonra, birkaç yıl içinde rest monomer miktarlarının yüksek olduğunu, rezidüel monomer miktarındaki kaybın büyük bir kısmının ilk 4-5 yılda meydana geldiğini, ancak tamamının kaybolmasının uzun yıllar içerisinde olduğunu bildirmişlerdir.

Doğan ve arkadaşları⁷³ protez kaide polimerlerinin rezidüel monomer içeriği üzerinde polimerizasyon zamanı ve ısısındaki değişikliklerin etkisini değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmaların sonuçlarından anlaşıldığı üzere polimerizasyon ısı ve süresindeki artış rezidüel monomer miktarında azalmaya neden olmaktadır.

Son yıllarda popülerlik kazanan mikrodalga enerjisi ile polimerizasyonun, daha homojen kitle oluşturarak dokulara iyi uyum sağlayan protezlerin yapılması, polimerizasyon süresinin kısılması ve akrilik rezinde minimal renk değişikliği oluşturması gibi avantajları vardır^{16, 17}.

Çalışmamızda en düşük monomer miktarı, güçlendirilmemiş gruplarda mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde, güçlendirilmiş gruplarda ise ısı ile polimerizasyon yönteminde görülmüştür. Hem güçlendirilmemiş hem de güçlendirilmiş gruplarda ısı ile polimerize edilen ve mikrodalga ile polimerize edilen gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Mikrodalga enerjisi ve konvansiyonel ısı ile polimerizasyon yöntemleri arasındaki artık monomer farklılığı, polimerizasyon esnasında monomer moleküllerinin polimer moleküllerine doğru hareket etme şekillerinden kaynaklanır. Konvansiyonel ısı ile polimerizasyon yönteminde monomer molekülleri dışarıdaki ısıya bağımlı olarak diğer moleküllerden aldığı enerji ile pasif bir hareket yeteneği göstermekte ve polimerizasyonun sonunda serbest radikallerin ve polimerizasyon ısısının da azalması ile polimerleşmemiş monomer oranı artmaktadır. Mikrodalga ile polimerizasyon yönteminde ise mikrodalgaların oluşturduğu

elektromagnetik alandan dolayı metil metakrilat moleküllerinin edindiği yüksek aktivitede dönme hareketi sonucu rezinin içinde bir ısı oluşur. Bu ısı sonucu monomer moleküllerinin aktivitesi gittikçe artar ve kendi kendine ayarlanabilen bir polimerizasyon formu oluşur. Sonuçta rezinin tam polimerizasyonu sağlanarak artık monomer oranı düşürülür¹⁴¹.

Polimerizasyonu sağlayan mikrodalga 300-300.000 MHz frekansa sahip elektromanyetik dalga olarak tanımlanır. Bu mikrodalgalar, monomer molekülü tarafından emilerek rezinlerin polimerizasyonunu sağlarlar. Isı ile yapılan polimerizasyon işlemi sırasında mufla dışındaki ortamın sıcaklığı yüksek olmasına rağmen, bu sıcaklığın mufla ve alçı model gibi yapılardan geçerek rezine ulaşması uzun zaman alır ve rezine ulaşan ısıda büyük oranda kayıp meydana gelir. Oysa mikrodalga enerjisi ile polimerizasyonda, elektromanyetik ışının molekül tarafından emilmesi ile reaksiyon başladığı için, ısıнын neden olabileceği yan etkiler görülmemektedir⁶. Ayrıca mikrodalga yayılımı sırasında, mikrodalga enerjisi obje tarafından absorbe edilir ve hemen ısıya dönüştürülür. Rezinde daha çabuk ısı artışı oluşur ve rezinin içindeki ve dışındaki ısı eşit olur. Isı artıka moleküler hareket hızlanır ve daha yüksek derecelerde polimerizasyon gerçekleşir. Bu nedenle mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yapıldığında daha düşük seviyelerde rest monomer miktarı beklenebilir^{75, 122}.

Williamson ve arkadaşlarının belirttiğine göre, Takamata ve arkadaşları ve Shlosberg ve arkadaşları hem mikrodalga enerjisi ile hem de ısı ile polimerize edilen protez kaide rezinlerinin yoğunluk, boyutsal doğruluk, transvers dayanıklılık, sertlik ve rezidüel monomer seviyelerini karşılaştırmışlardır. Bu araştırmacılar iki polimerizasyon yöntemi arasında rezinlerin özelliklerinde anlamlı farklılıklar oluşmadığını bildirmişlerdir¹¹⁴.

Bartoloni ve arkadaşları⁷¹ konvansiyonel ısı, hızlı kaynatma ve mikrodalga ile polimerize olmak üzere üç farklı polimerizasyon yönteminde monomerin polimere dönüşümünü FTIR (Fourier Transform Infrared Spectrometri) ile değerlendirmişlerdir. Konvansiyonel ısı ve mikrodalga ile polimerizasyon yöntemlerinin sonuçlarını benzer bulmuşlardır. Çalışmamızın sonucunda ısı ve mikrodalga enerjisi ile yapılan polimerizasyon yöntemleri arasında anlamlı farklılık bulunmadığından bulgularımız yukarıdaki çalışmaların bulguları ile paralellik göstermektedir.

Son zamanlarda gamma ışını dental uygulamalar alanında klasik polimerizasyon yöntemlerine alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu polimerizasyon yöntemi ile hazırlanan örneklerin iyi mekanik özellikler gösterdiği belirtilmiştir^{20, 142, 143}. Çalışmamızda gamma ışını ile polimerize ettiğimiz örneklerde rest monomer miktarını hem güçlendirilmemiş hem de güçlendirilmiş grupta, oto polimerize gruptan

daha az, ısı ve mikrodalga yöntemi ile polimerize edilen gruplardan daha fazla oranda bulduk. Aradaki fark oto polimerize edilen grup ile anlamlı değilken, ısı ve mikrodalga yöntemi ile polimerize edilerek hazırlanan örneklerde anlamlı idi.

Gamma ışını ile polimerize edilen gruplarda, ısı ve mikrodalga enerjisi ile polimerize olan gruplara göre yüksek oranda rest monomer tespit etmemizin nedenini ışın dozunun az olması, dolayısıyla polimerizasyondaki yetersizlik şeklinde açıklayabiliriz. Çalışmamızda doz oranını belirlerken, Karacaer ve arkadaşlarının²⁰ yaptıkları çalışmada en iyi mekanik özellikler elde ettikleri gamma ışın dozu referans alınmıştır. Ancak akrilik rezinde daha az rest monomer miktarı elde etmek için bu dozun yeterli olmadığı ortaya çıkmıştır. Bu nedenle daha ileri çalışmalarda doza bağlı rest monomer miktarının değerlendirilmesi uygun olacaktır.

Gamma ışını ile ilgili yapılan çalışmaların oldukça az olmasından ve çalışmalarda da rest monomer değerlendirilmesi yapılmadığından çalışma sonuçlarımızın karşılaştırılması yapılamamıştır. Ancak elde ettiğimiz sonuçlar değerlendirildiğinde rest monomer miktarı konvansiyonel yöntemlerimize (ısı, mikrodalga) kıyasla yüksek olması, ışının uygulandığı cihazın dış hekimliğine henüz uyarlanmamış olması, polimerizasyon süresinin uzun olması, kullanım zorluğu nedeniyle polimerizasyon yöntemi olarak etkili ve pratik olmadığı düşüncesindeyiz.

Rest monomer miktarı üzerinde fiber ile güçlendirmenin etkisini değerlendirdiğimizde ısı ile polimerize edilen grup hariç diğer tüm gruplarda fiber ilavesi rest monomer oranını artırmıştır. Gruplarda oluşan değişikliklerde sadece mikrodalga ile polimerize edilen gruptaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çalışma sonuçlarına göre fiberle güçlendirmenin rest monomer miktarını artırma nedenini şu şekilde açıklayabiliriz. Fiber impregnasyonunun derecesi güçlendirmenin başarısında önemli bir faktördür. Yeterli olmayan impregnasyon, fiber ile akril arasında boşluk oluşturur. Böylece fiber-akril kompozit bileşiğin çekme dayanıklılığı ve elastiklik modülü azalır, su emilimi artar ve monomerin polimere dönüşümü azalır²⁴.

Fiberle güçlendirilmiş akrilik rezinlerin kırık yüzeyleri birçok çalışmada SEM ile incelenmiştir^{25, 56, 62, 144}. Bu çalışmaların çoğunda SEM görüntülerinde boşluklar tespit edilmiştir. Oluşan boşlukların nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte çeşitli hipotezler öne sürülmüştür. Bu hipotezlerden biri, yük uygulanması sırasında fiberin örneğin içinden kayması sonucu oluştuğu yönündedir. Ancak hiç yük uygulanmamış örneklerde de bu boşlukların oluşması bu hipotezi çürütmüştür^{58, 62}.

Boşluk oluşumuna neden olabilen bir diğer faktörde, metil metakrilatın polimerizasyon büzülmesidir. Liflerin akril içerisine yerleştirilmesinden önce likide batırılması sonucu lifin emdiği monomerin polimerizasyon büzülmesi % 21 iken, akrilik rezinin polimerizasyon büzülmesi % 8'dir. Bunun sonucunda liflerin etrafında boşluklar oluşmaktadır. Fiberlerin likide batırılmadan akril içerisine yerleştirilmesi ile oluşan boşluğun nedeni ise hamur kıvamındaki akriliğin kuru fiber yüzeyi ile birleşmesindeki yetersizlikten kaynaklandığı düşünülmektedir^{58, 62}.

Rezin ile fiberin impregnasyonundaki yetersizlik sonrası oluşan boşluklar, oksijen rezervuarı olarak görev yapar. Oksijen, polimer matriksin radikal polimerizasyonunu inhibe eder. Bu nedenle monomerin polimere dönüşümündeki azalma sonucu fiber ile güçlendirilmiş kompozit materyalin dayanıklılığının azalacağı ve rest monomer içeriğinin artacağı bildirilmiştir³⁵.

Miettinen ve Vallittu¹³⁸, cam fiber ile güçlendirilmiş, ısı ve kimyasal olarak polimerize olan akrilik resin örneklerden salınan rest monomer miktarını, HPLC cihazı ile tespit etmişlerdir. Isı ve oto polimerize gruplar arasında rest monomer miktarı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar elde edilmiştir. Oto polimerize olan güçlendirilmiş örneklerde daha fazla rest monomer bulunmuştur. Isı ile polimerizasyon yönteminde monomer miktarı güçlendirilmiş örneklerde, güçlendirilmemiş resin örneklerle göre anlamlı oranda artırmıştır. Oto polimerizasyon yönteminde ise güçlendirilmiş örneklerde artış vardır fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Sonuçta cam fiber ile güçlendirmenin artık monomer miktarını artırdığını saptamışlardır. Fakat bu artışın klinik olarak anlamlı olup olmadığının araştırılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Yılmaz ve arkadaşları¹²¹ çalışmalarında, iki farklı protez kaide rezininden (ısı ile polimerize, oto polimerize) salınan rezidüel MMA miktarı üzerinde cam fiber ile yapılan güçlendirmenin etkisini incelemişlerdir. Çalışmada ısı ile polimerize edilen ve oto polimerize olan akrilik rezinleri devamlı tek yönlü ve örgü formunda cam fiber ile güçlendirerek artık monomer miktarını gaz kromatografi cihazı ile tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre; cam fiber ile güçlendirilmiş ısı ve oto polimerize örneklerde güçlendirilmemiş örneklerle göre rest monomer miktarı artmıştır. Ayrıca oto polimerize olan rezinlerde ısı ile polimerize rezinlere göre daha fazla rest monomer bulunmuştur.

Bayraktar ve arkadaşları⁷⁵ çalışmalarında, güçlendirilmemiş ve güçlendirilmiş, ısı, oto ve mikrodalga yöntemleri ile polimerize edilen protez kaide polimerlerinin rezidüel MMA miktarını HPLC cihazı ile karşılaştırmışlardır. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde; cam fiber ile

güçlendirilmiş gruplarda güçlendirilmemiş gruplara göre daha fazla rest monomer bulunmuştur.

Uzun ve kısa dönemli kaynatma ve mikrodalga ile polimerize gruplarda anlamlı artışlar elde edilmiştir. Bu çalışmada kısa dönem kaynatma prosedürü (70°C' de 20 dakika ve 100°C' de 22 dakika), çalışmamızda uyguladığımız ısı ile polimerizasyon yöntemindeki kaynatma prosedürüne benzerdir. Bayraktar ve arkadaşları ısı ile polimerize rezinlerde kısa dönem kaynatma işleminde fiber ile güçlendirilmemiş ve güçlendirilmiş gruplarda % 0.40-0.51 oranlarını elde etmiştir. Biz ise 0.64-0.46 değerlerini elde ettik. Elde edilen rest monomer değerleri birbirine oldukça yakındır. Ufak değişikliklerin olması deneylerde farklı form ve konsantrasyonda cam fiber kullanımı, örnek boyutlarının ve kalınlıklarının, ekstraksiyon prosedürlerinin ve HPLC cihazındaki ayarlamaların farklılığından kaynaklanıyor olabilir.

Bayraktar ve arkadaşlarının çalışmasında oto polimerize olan, güçlendirilmemiş ve güçlendirilmiş gruplarda sonuçlar % 0.93-0.94 değerindedir. Bizim değerlerimiz oto polimerize gruplardaki güçlendirilmemiş örneklerde % 2.64 iken güçlendirilmiş örneklerde % 2.95 olmuştur. Oto polimerize edilen rezinlerde rest monomer miktarının polimerizasyondan hemen sonra ölçüldüğünde % 1-4 arasında olduğu belirtilmiştir⁴. Bizim bulgularımız da bu değer aralığındadır.

Polimerizasyon ortamında oksijenin bulunması, polimerizasyon reaksiyonunu inhibe ettiği için, oto polimerize PMMA'larda polimerize olmamış yüzey tabakalarının oluşumuna neden olur. Oluşan serbest radikaller oksijen tarafından polimerizasyon sırasında tüketilir. Bu nedenle ortamdaki oksijen konsantrasyonunun azaltılması, oluşan bu tabakanın da azalmasına neden olur¹³⁹. Oto polimerize rezinlerin polimerizasyonunu artırmak için Craig muflaları 2.5 saat preste tutmak gerektiğini bildirirken, Phillips 3 saat tutmayı tavsiye etmektedir. Bayraktar ve arkadaşlarının çalışmasında muflalar polimerizasyondan sonra 12 saat preste bekletilmiştir. Bu sayede muflalar kapalı bir ortam oluşturduğundan oksijen konsantrasyonu azalmış ve buna bağlı olarak rest monomer miktarı da daha az bulunmuştur. Oto polimerizasyon yöntemi ile protetik uygulamalar yapıldığında muflaların daha uzun süre preste basınç altında tutulması gerektiği unutulmamalıdır.

Fiber ile güçlendirmenin etkisini, tüm polimerizasyon yöntemlerinde değerlendirdiğimizde; ısı ile polimerizasyon yönteminde rest monomer miktarındaki düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildir ancak diğer gruplar ile kıyaslandığında dikkat çekici bir bulgudur. Bu sonuç akrilik rezinlerin polimerizasyonunda terminal kaynatmanın önemini vurgulamaktadır.

Fiber ile güçlendirdiğimiz oto polimerize ve gamma ışını ile polimerize ettiğimiz örneklerin rest monomer miktarında artış görülmüştür fakat bu artma anlamlı bulunmamıştır. Mikrodalga ile polimerizasyon yönteminde ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir.

Fiber ile güçlendirmede ısı ile polimerizasyon yönteminde yeterli impregnasyonu sağlamak, yüksek vizközitedeki PMMA karışımından dolayı zordur^{55, 56}. Oto polimerize akrilik rezinlerde, fiber rezin içerisine tatbik edilirken akril nispeten düşük vizközitede akıcı aşamada olduğundan daha iyi fiber impregnasyonu elde edilmektedir⁴⁵. Bu durum oto polimerize rezinlerde, içeride boşluk oluşumunu azaltarak, boşluklar arasındaki oksijen rezervuarlarını da azaltmaktadır. Bu sayede oksijenin, rezinin radikal polimerizasyonunu azaltıcı etkisi de engellenmiş olur¹⁴⁵. Çalışmamızda oto polimerize örneklerdeki artışın anlamlı değerlerde olmaması bu nedene bağlanmaktadır.

Değerlendirilen bütün gruplardaki rest monomer miktarları, ISO 1567 nolu standartta belirtilen, oto polimerize polimerler için % 4.5, ısı ile polimerize olan polimerler için % 2.2 sınırları içerisinde. Bu sonuçlar doğrultusunda rest monomer salınımları açısından değerlendirilen materyallerin ve polimerizasyon yöntem ve prosedürlerinin klinik olarak güvenli sınırlar içerisinde olduğunu söyleyebiliriz. Ancak hassas bireylerde rest monomer seviyesinin % 1'in üzerinde bir konsantrasyonda bulunması mukozal reaksiyonlara neden olabilmektedir⁷⁵.

Tez çalışmamızın sonuçları ve yukarıda geçen fiber ile güçlendirilmiş örneklerdeki rest monomer içeriğinin değerlendirildiği çalışma sonuçlarına göre fiber ilavesinin akrilik rezinin monomer içeriğini artırdığı görülmüştür. Rezinlerin güçlendirilmesinde oluşan kompozit yapının mekanik özelliklerinin zayıflamasının önlenmesi ve mukozal reaksiyon riskini azaltmak amacı ile rest monomer miktarı belirli seviyelerde tutulmalıdır. Bu amaçla bazı önlemler alınması gerekebilir.

Fiber ile güçlendirilmiş rezinlerde güçlendirilmemişlere göre rest monomer miktarı artığından, fiberlerin MMA monomeri yerine PMMA/MMA karışımıyla impregnasyonu aşırı rest monomer miktarı oluşumunu engeller¹³⁸. Oto polimerizasyon yönteminin ısı, mikrodalga ve gamma ışını ile yapılan polimerizasyona göre daha fazla rest monomere neden olduğu unutulmamalıdır. Fiber ile güçlendirilmiş, oto polimerizasyon yöntemi ile polimerize edilen protetik uygulamalarda monomer oranını düşürecek önlemler alınmalıdır.

Yeni yapılmış protezleri hastalara takmadan önce protez kaide materyalinden salınarak dokularda reaksiyona neden olabilecek bileşiklerin salınımını azaltmak için farklı metodlar tanımlanmıştır. Tsuchiya ve arkadaşları¹³⁵ özellikle protez kaide materyali veya röbözaj

maddesi olarak oto polimerize rezin kullanıldığında hastaya protezini teslim etmeden önce en azından bir gün süre ile 50°C' deki suda veya ultraviyole ışığında bekletmek gerektiğini bildirmişlerdir.

Gelişen teknolojiye ve farklı gereksinimlere bağlı olarak giderek çeşitlilik kazanan protez kaide rezinlerinin sahip olması gereken en önemli özelliklerden biri de, temas edecekleri biyolojik çevre ile uyumlu olmalarıdır.

Biyolojik uyum; canlı dokuya yerleştirilen bir restorasyon veya implantın, çevresindeki yumuşak ya da sert dokuda herhangi bir değişikliğe yol açmaksızın tepkisiz kalabilmesidir¹⁴⁶. Biyolojik uyum için; materyalin kimyasal yapısı, restorasyonun tasarımı, elde edilme yöntemleri, mekanik özellikleri, doku ile temasının şekli, yeri ve dokunun özellikleri gibi pek çok faktörün bir arada uyum içinde olması gerekmektedir. Biyolojik uyumu olmayan materyaller, değişik doku reaksiyonlarına neden olabilmektedir^{110,146}. Bu reaksiyonun tipi, materyalin kompozisyonu, materyalde çözünen kimyasal maddeler ve bunların absorpsiyonu, dağılımı ve biyotransformasyonu gibi birçok faktöre bağlı olarak değişir¹⁴⁷.

Biyolojik dokularda kullanılacak materyalin zararlı etkilerinin araştırılmasında kullanılan yöntemlerin amacı, materyal ile biyolojik sistemin teması sonucunda canlı hücredeki fonksiyonel ve yapısal değişimin niteliğini ve ölçüsünü belirlemektir. Bir başka deyişle bu etkinin, biyolojik sistemin yapısında belirgin bir değişiklik şeklinde olup olmadığını ve etkinin geri dönüşümlü olup olmadığını ortaya çıkarmaktır.

Dental materyallerin dokular üzerinde oluşturduğu etkilerin değerlendirilmesi, in vivo ve in vitro koşullarda yapılmaktadır. İn vitro test sonuçları, in vivo testlerden birtakım farklılıklar gösterir¹⁴⁸. Materyallere karşı gelişen biyolojik reaksiyonların klinik kullanım öncesi in vitro testler ile araştırılması temel prensip olarak kabul edilmektedir⁶⁵. Özellikle son yıllarda in vitro testler, hücre kültürü tekniklerindeki gelişmeler sonucu, diş hekimliğinde kullanılan materyallerin, biyolojik standardizasyonu konusunda tercih edilen önemli yöntemlerden biri olmuştur.

Günümüzde dental materyallerin akut toksisitelerinin saptanmasında; bireysel faktörlerden etkilenmemeleri, tekrarlanabilme özellikleri, ara aşamalarda kontrollerinin kolay olması, materyaller arasında parametrik karşılaştırmalara olanak tanımları ve hayvan deneylerinde olduğu gibi canlı varlıkların öldürülmemesi gibi nedenlerden dolayı hücre kültürü test yöntemleri tercih edilmektedir⁶⁴. Browne⁸⁷ biyolojik uyumun tespitinde, erken toksisitenin belirlenmesinde, hücre kültürü tekniklerinin kullanımını tavsiye etmiştir. Çalışmamızda bu avantajları nedeniyle fiber ile güçlendirilmemiş ve güçlendirilmiş akrilik

rezinlerin sitotoksiteleri in vitro koşullarda hücre kültürü test yöntemi ile değeriendirilmiştir.

Genelde hücre kültürü çalışmaları farklı dokulardan üretimi sağlanabilen 2 tip (primer ve devamlı) hücre kültürü üzerinde yapılmaktadır. Primer ve devamlı hücre kültürlerinin sitotoksik maddeye verdikleri metabolik cevaplar arasında bazı farklılıklar görölmektedir. Primer hücre kültürleri, kontrollerinin son derece güç olması, üretim aşamasındaki zorlukları ve hassas hücreler olmaları nedeniyle çalışma sırasında ortaya çıkabilen sorunlara rağmen orijinal fizyolojik durumu ifade etmeleri ve kromozomal anomalilerin görölmemesi nedeniyle pek çok çalışmada örnek sistem oluşturmaktadır. Devamlı hücre kültürleri ise aneuploid kromozoma sahiptirler, hızlı üremektedirler ve doğru pasajlandıklarında uzun süre yaşatılmaları mümkündür ve elde edilmeleri de primer hücre kültürlerine göre daha kolaydır. Ayrıca genetik ve metabolik olarak stabil olduklarından test sonuçlarının standardizasyonu kolay gerçekleştirilmekte ve uzun dönem fenotipik özelliklerinde kayıp söz konusu olmamaktadır¹. Tez çalışmamızda avantajları nedeniyle devamlı hücre kültürlerinin kullanımı tercih edilmiştir.

MTT yöntemi, fibroblast hücrelerinin kullanıldığı, mitokondriyal aktiviteyi göstererek hücre canlılığını değeriendiren oldukça hassas bir metoddur^{149, 150}. MTT biyouyumluluk testleri içerisinde tekrarlanabilirliği, uygulama kolaylığı, hızlı sonuç elde edilmesi, materyallerin çok düşük düzeydeki toksitelerinin bile değeriendirilmesine imkan vermesi nedeniyle güvenilir bir test yöntemidir¹³². Bu avantajları nedeniyle çalışmamızda sitotoksite testlerinden MTT testi tercih edilmiştir.

Arjan ve arkadaşları, MTT test yönteminin sitotoksitenin belirlenmesinde kullanışlı, hassas ve hızlı bir metod olduğunu ayrıca radyoaktif izotop kullanmaya gerek kalmadığını belirtmişlerdir¹³².

Akrilik resin materyalinden yapılan protezlere karşı oluşan reaksiyonlarla ilgili pek çok rapor sunulmuştur^{64, 124, 147, 151}. Protez materyaline karşı gelişen reaksiyonlar; protez materyalinin dokular üzerindeki mekanik tahrişi veya kimyasal-toksik ya da alerjik reaksiyonlar olarak ayrılmaktadır¹⁴⁷.

Akrilik resin materyalinden salınan bileşiklerle ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Lygre'nin belirttiğine göre; ilk olarak MMA monomeri tespit edilmiştir. 30 yıl boyunca hareketli protez kullanan hastaların tükürüklerinde MMA monomeri bulunmuştur. Koda ve arkadaşları suni tükürükte metakrilik ve benzoik asit salınımı tespit etmişlerdir. Ruyter ise akrilik resin protezlerden formaldehit salındığını belirtmiştir. Later, Lygree

ve arkadaşları dibütil fatalat, fenil benzoat, fenil salisilat gibi aromatik bileşikler tespit etmişlerdir¹⁵².

Rezin materyalinin neden olduğu sitotoksitenin, materyalden salınan reaksiyona girmemiş bileşiklerden veya ürünlerden kaynaklı olduğu varsayılmaktadır¹⁰⁸. Protez kaide rezinlerinde toksik reaksiyon oluşturma potansiyeline sahip maddeler metil metakrilat, formaldehit, benzoil peroksit, hidrokinon, boya maddeleri, metakrilik asit, dibütilfatalat, fenil benzoat, fenil salisilat ve disikloheksil fatalatdır^{65, 108, 153-155}. Bu maddelerden birinin yada birkaçının salınımı sitotoksositeye neden olmaktadır. Ancak asıl neden polimer içindeki polimerize olmamış rest monomerdir ve rezindeki rest monomer oranındaki artış hassasiyeti artırmaktadır^{73, 147}.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde, fiber ile güçlendirilmiş protez kaide materyalinin toksisitesini değerlendiren kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda sadece akrilik rezinlerin rest monomer miktarı değerlendirilmemiş, bununla birlikte artık monomerin yol açacağı sitotoksosite de incelenerek farklı polimerizasyon yöntemlerine göre hazırlanan güçlendirilmemiş ve güçlendirilmiş rezinler karşılaştırılmıştır.

ISO 10993-5 numaralı "Sitotoksosite testleri-in vitro yöntemler standartına"⁹² göre ekstraksiyon süresi olarak 37°C' de 24 saatlik süreyi önermektedir. Ancak çalışmalarda farklı ekstraksiyon sürelerinde değerlendirilmeler yapılmaktadır. Ayrıca daha belirleyici sonuçlar elde etmek için medyum ile test materyalinin daha uzun süreli temas etmesi gerektiği bildirilmiştir⁸⁸. Vallittu ve arkadaşları¹²⁴ da protez kaidesinde bulunan artık MMA monomerinin % 96'sının ilk 7 günde salındığını, bu nedenle oto polimerize PMMA' dan yapılan protezlerin klinik kullanımlarından önce 37 C'de 7 gün süre ile distile suda tutulmaları gerektiğini ifade etmişlerdir. Çalışmamızda 24 saatlik süreyi yeterli görmediğimizden ve akrilik rezinden salınan materyallerin daha fazla oranda açığa çıkması amacıyla ayrıca yapılan çalışmalarda inkübasyon süresi olarak 24, 48, 72 ve 96 saatlerinin seçilmesi sonuçlarımızın mukayesinde yardımcı olacağı düşüncesiyle 24, 48, 72 ve 96 saat olmak üzere dört inkübasyon süresinde akrilik rezinlerin toksisitelerini değerlendirdik.

Hücre kültürü test yöntemlerinde materyale uygun hücre tipinin seçimi oldukça önemlidir⁸⁸. Protez kaide materyalleri, gingival dokularla uzun süreli temastadır. Bu temas sonucu, materyal ve doku arasında element salınımı oluşmaktadır. Element salınımı tükürük ile dilüe edilemeyeceği için yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmektedir. Böylelikle bağ dokusu hücreleri mukoza üzerindeki protez kaide materyallerinin kimyasal etkilerine direkt olarak maruz kalmadığı halde, zaman içinde

difüzyon ile etkilenebilir. Dişeti bağ dokusunun içerisinde çeşitli hücreler bulunmaktadır. Bunlar fibroblastik hücreler ile lenfositler, plazma hücreleri, farklılaşmamış mezankim hücreleridir. Dişeti dokularının büyük bir kısmını ise gingival fibroblastlar oluşturmaktadır ¹³².

ISO 10993-5 numaralı “Sitotoksikite testleri-in vitro yöntemler standartına⁹²” göre; dental materyallerin sitotoksik etkisinin araştırıldığı in vitro çalışmalarda L929, Balb/3T3, WI38 gibi hücre tipleri kullanılması önerilmektedir. Çünkü bu hücre tipleri, homojen morfolojileri ve büyüme karakteristiklerinden dolayı in vitro testlere tekrarlanabilirlik kazandırmaktadır.

Schedle ve arkadaşları¹⁵⁶, metal alaşımların toksik etkilerini 7 gün süre ile L 929 hücreleri, dişeti fibroblast hücreleri ve mast hücreleri üzerinde direkt temas yöntemi ile hücre proliferasyonundaki değişiklikler açısından değerlendirmişlerdir. İn vitro sitotoksikite testlerinde L929 fibroblast hücrelerinin, primer dişeti fibroblast ve mast hücre kültürlerine göre üreme yeteneklerinin gelişmiş olmasından dolayı kullanımlarının daha uygun olacağını bildirmişlerdir.

Taira ve arkadaşları¹⁵⁴, metil metakrilatın sitotoksik etkisini dört farklı fibroblast kültürü üzerinde incelemişlerdir. Kullanılan hücre kültürlerini, hassasiyet derecelerine göre L929, C3H10T1/2, Balb3T3, MC3T3-E1 olarak sıralamışlar ve sitotoksikitenin belirlenmesinde, hücre hatları içerisinde en duyarlı ve güvenilir şekilde kullanılacak ortamın L929 fare fibroblastlar olduğu sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda ISO 10993-5 nolu standarda uygun olması amacıyla ve yukarıda belirtilen çalışma sonuçları doğrultusunda ve devamlı hücre kültürlerinin avantajlarından dolayı in vitro sitotoksikite testi L 929 fare fibroblast hücre kültürü üzerinde yapılmış; MTT testi ile farklı polimerizasyon yöntemleri kullanarak hazırladığımız güçlendirilmemiş ve güçlendirilmiş akrilik rezinlerin dört inkübasyon süresi sonundaki hücre canlılık değerleri tespit edilmiştir.

Güçlendirilmemiş protez kaide rezinlerinde dört polimerizasyon yönteminde de en düşük canlılık seviyesi 96. saatte elde edilmiştir. En iyi canlılık değerleri ise ısı, oto ve mikrodalga ile hazırlanan örneklerde 72. saatte, gamma ışını ile hazırlanan örneklerde ise 24. saatte bulunmuştur.

Fiber ile güçlendirilmiş gruplarda; en düşük canlılık değerleri yine 96. saatte elde edilmiştir. En iyi canlılık yüzdeleri ise ısı, mikrodalga ve gamma ışını ile polimerize edilen gruplarda 24. saatte, oto polimerize grupta ise 72. saatte bulunmuştur.

Tüm gruplarda 96. saatte elde edilen optik yoğunluk değerleri, diğer 3 inkübasyon süresinde elde edilen değerlerden düşük bulunmuştur. Bu sonuca göre sitotoksitede zamana bağlı bir artış söz konusu olmuştur. Bu nedenle, çalışmalarda daha uzun ekstraksiyon sürelerinde materyallerin değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Fiber ile güçlendirilmemiş rezin örneklerin, her bir inkübasyon süresinde, polimerizasyon yöntemleri arasındaki farkı değerlendirdiğimizde 24, 48 ve 72. saat inkübasyon süreleri sonunda en az toksisite ısı ile polimerize edilen grupta görülürken, en toksik değeri oto polimerize grup göstermiştir. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. 96. saat sonunda ise yine en fazla toksisite oto polimerize grupta elde edilirken, en az toksisiteyi ise mikrodalga enerjisi ile polimerize edilen grup göstermiştir. Mikrodalga ve oto polimerize gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur.

Fiber ile güçlendirilmiş grupları polimerizasyon yöntemleri açısından değerlendirdiğimizde; dört inkübasyon süresinde de oto polimerize grup en toksik grup olmuştur. En az toksisite ise 24. ve 72. saatte mikrodalga ile polimerize olan gruplarda, 48. ve 96. saatlerde ısı ile polimerize olan gruplarda olmuştur.

Sheridan ve arkadaşları¹¹⁰ çalışmalarında ısı, oto ve mikrodalga ile polimerize olan akrilik rezinlerin insan gingival fibroblastlar üzerindeki mitokondriyal fonksiyonlarına olan etkilerini araştırmışlardır. En yüksek toksisite kimyasal olarak polimerize olan akrillerde, en az toksisite de mikrodalga ile polimerize olan akrillerde görülmüştür.

Ergün ve arkadaşları¹⁵⁷ kimyasal, ısı ve mikrodalga enerjisi ile polimerize edilen 4 protez kaide materyalinin sitotoksitesini primer insan gingival fibroblast (PİGF) hücre kültüründe agar difüzyon ve filtre difüzyon test yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Polimerize edilen tüm rezin örnekler, agar difüzyon ve filtre difüzyon test yöntemlerinde toksisite bulgusu göstermemiştir.

Tsuchiya ve arkadaşları¹³⁵ ısı, mikrodalga ve kimyasal yolla polimerize olan protez kaide rezinlerinden formaldehit ve MMA salınımını ve bunların sitotoksite potansiyellerini in vivo ve in vitro olarak incelemişlerdir. Akrilik rezinlerin her üçünde de in vivo ve in vitro şartlar altında formaldehit ve MMA salındığını ortaya koymuşlar, ancak önemli salınımın oto polimerize edilen akrilde görüldüğünü bildirmişlerdir. Mikrodalga ve ısı ile polimerize olan rezinlerde salınım oranını çok daha düşük bulmuşlardır. Sonuç olarak total ve parsiyel protezlerin hastaya takılmadan önce suda bekletilmesinin ön salınım ile hem MMA' ı hem de formaldehiti önemli oranda uzaklaştıracağını bildirmişlerdir.

Huang ve arkadaşları⁶⁵ ısı, kimyasal ve ışık ile polimerize olan protez kaide rezinlerinden salınan farklı ekstraksiyonlarını insan oral epitelyal KB hücre hattı ve primer insan fibroblastları üzerindeki sitotoksik etkilerini MTT hücre kültürü test yöntemi ile karşılaştırmışlardır. Sonuçlara göre en fazla toksisiteyi oto polimerize rezinler göstermiştir.

Aykent ve arkadaşları¹⁴⁷; Ivocap, Acron MC ve Paladent olmak üzere üç farklı protez kaide rezin materyalinden hazırlanan örnekleri tavşan damak mukozasına yerleştirerek sitotoksik etkilerini değerlendirmişlerdir. Örnekler yerleştirildikten 8 hafta sonra denekler kurban edilmiştir ve alınan doku örnekleri patolojik olarak incelenmiştir. Sonuç olarak, Acron MC (mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik rezin) Ivocap ve Paladent'e göre daha düşük sitotoksik etki göstermiştir. 3 rezin materyali de kollojen dokusunda yıkıcı etki oluşturmamıştır. Fakat tüm rezin materyalleri epidermal büyüme faktör reseptörünü (EGFR Epidermal Growth Factor Receptor) önemli ölçüde uyarmıştır.

Sipahi ve arkadaşları¹³² çalışmalarında ısı, ışık, kimyasal ve mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik rezin materyalinin hücre proliferasyonu ve gingival fibroblastlar üzerindeki toksik etkilerini karşılaştırmışlardır. Hazırlanan test örneklerinin toksisitesini değerlendirmek için, hücre canlılığı MTT hücre kültürü test yöntemi ile 48. ve 120. saatlerde ölçülmüş. Protez kaide materyalleri, içeriklerine ve polimerizasyon işlemlerine bağlı olarak orta ve düşük seviyelerde toksisite göstermiştir. Test örnekleri arasındaki en fazla toksik etkiyi kimyasal olarak sertleşen kaide materyali göstermiştir. Toksisite sırasıyla ısıyla sertleşen, görülebilir ışıkla sertleşen, mikrodalga ile sertleşen kaide materyalinde gözlenmiştir. Kimyasal olarak sertleşenlerde; 48 saatte % 75, 120. saatte % 78, ısı ile sertleşen örneklerde, 48. saatte % 80, 120. saatte % 82 ve mikrodalga ile sertleşen örneklerde ise 48. saatte % 88 ve 120. saatte % 90 hücre canlılığı elde edilmiştir. Bizim çalışma sonuçlarımızda ise dört inkübasyon süresinde değerlendirme yaptığımızdan 48. saat ve 96. saatteki hücre canlılık değerleri Sipahi ve arkadaşlarının çalışma bulguları ile karşılaştırdığımızda benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamızda ısı, mikrodalga ve gamma ışını ile polimerize olan akrilik rezin materyalinin fare fibroblast kültürü üzerinde farklı sitotoksik etkilere sahip oldukları, oto polimerize olan akrilik rezin materyalinin diğerlerine kıyasla daha fazla sitotoksik etki gösterdiği görülmüştür. Oto polimerizasyon yöntemi ile hazırlanan akrilik rezin örneklerin, ısı ve mikrodalga ile polimerize edilerek hazırlanan örneklerle göre daha çok formaldehit ve metil metakrilat bulundurmasından dolayı daha fazla sitotoksisiteye neden oldukları iddia edilmiştir⁶.

Oto polimerize olan akrilik rezinlerin diğer akrilik rezinlerden daha fazla toksik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonuçlarımız daha önceki çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Tüm polimerizasyon yöntemlerinde, cam fiber ile güçlendirmenin, sitotoksikite üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde, fiber ile güçlendirilmiş gruplarda genelde hücre canlılık oranlarında azalma görülmüştür. Ancak canlılık değerlerindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Fiber ile güçlendirilen akrilik rezin protezlerin neden olduğu sitotoksik etki tartışmalı bir konudur. Polimer/monomer karışımının yani akrilik hamurunun yüksek vizkozitesinden dolayı rezinle fiberin yeterli impregnasyonunu sağlamak zordur. Bu problem silan ajanlarının fiber yüzeylerini kaplaması ile veya nispeten düşük vizkoziteli polimer toz ve monomer likit karışımının hazırlanması ile çözülmeye çalışılmıştır. Resin içerisinde fiberlerin yeterli impregnasyonunu sağlamak için akrilik resinin toz/likit oranının değiştirilmesi gerekir. Böylece düşük vizkoziteli karışım ile elde edilir. Teorik olarak vizkozitenin azaltılması resin ile fiberin impregnasyonunu artırır. Karışımın monomerin yüksek oranları fiber ile güçlendirilen PMMA bileşiminin rezidüel MMA içeriğini artırır. Bu nedenle fiber impregnasyon metodu fiber ile güçlendirilen akrilik resinin sitotoksikitesini etkilemektedir¹⁵⁵.

Sipahi ve arkadaşlarının¹⁵⁵ in vitro çalışmasının amacı oral epitelyum hücreleri ve fibroblastlar üzerinde cam ve karbon fiber ile güçlendirilmiş ısı ile polimerize akrilik resin protez kaide materyalinin sitotoksikitesini üzerinde iki fiber impregnasyon metodunun (silan ve monomer ile işlem görmüş) etkisini MTT test yöntemi ile değerlendirmektir. 24 ve 72 saat inkübasyondan sonra, tüm deney gruplarında hücre canlılığı yüzdesi pozitif kontrol hücre kültürlerine göre anlamlı oranda azalmıştır. Silan ve monomer ile işlem görmüş fiber ile güçlendirilmiş grupların fibroblastik hücre canlılığı yüzdesi güçlendirilmemiş gruplardan daha az bulunmuştur. Monomer ile işlem görmüş grupların hücre canlılığı ise en düşük yüzde gösteren grup olmuştur.

Vallittu ve arkadaşları¹⁵⁸ çalışmalarında, fiber ile güçlendirdikleri, ısı ve oto polimerize edilen PMMA'ın sitotoksik etkilerini agar difüzyon testi ile değerlendirmişlerdir. Agar difüzyon testi sınırları içinde güçlendirilmemiş ve güçlendirilmiş PMMA'ları sitotoksik bulmamışlardır.

ISO 10993-5 numaralı "Sitotoksikite testleri-in vitro yöntemler"⁹² standardına göre dental materyallerin sitotoksikitesini değerlendirilirken aşağıdaki sınıflama dikkate alınarak materyalin toksisite yorumu yapılması gerekmektedir. Buna göre % 25'den daha az bir hücre

inhibisyonu materyalin sitotoksik olmadığını (Grade 0), % 25-50 arasında inhibisyon hafif sitotoksisiteyi (Grade 1), % 50-75 arasında inhibisyon orta sitotoksisiteyi (Grade 2) ve % 75'den daha fazla olan hücre inhibisyonu ise oldukça sitotoksik durumu (Grade 3) ifade etmektedir. Çalışmamızın sonuçlarına göre güçlendirilmemiş ve güçlendirilmiş rezin materyalleri hücre canlılık değerleri açısından kontrol gruplarına göre değişiklik oluşturmuştur ancak rezinlerin toksisiteeleri hafif ve non-sitotoksik olarak bulunmuştur. Bu nedenle test edilen materyalleri sitotoksik olarak yorumlamak mümkün değildir. Çalışma bulgularımız Vallittu ve arkadaşlarının çalışmaları bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Fiber ile yapılan güçlendirme hem rest monomer miktarını hem de sitotoksisiteyi artırmaktadır.

Rose ve arkadaşları¹⁵⁹ çalışmalarında ısı, oto ve ışık ile polimerize edilen ortodontik amaçla kullanılan rezinlerin metil metakrilat (MMA) ve üretan dimetakrilat (UDMA) monomerlerindeki rezidüel monomer miktarını yüksek basınç sıvı kromatografi (HPLC) cihazı ile tespit etmişlerdir. Ayrıca materyallerin sitotoksitesini MTT test yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Rezidüel monomer miktarı az olan materyalin daha az hücre inhibisyonuna neden olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, ısı ile polimerize edilen rezinler, en az rest monomer miktarı göstermiştir ve MTT testinde de en az hücre inhibisyonu göstermişlerdir. Hücre kültür testinde ortodontik materyallerin hepsi ISO 10993-5 nolu standartta belirttiği şekilde non-toksik seviyenin altında hafif ölçüde sitotoksisite göstermişlerdir.

Tez çalışmamızın bulguları da Rose ve arkadaşlarının bulguları ile benzerlik göstermektedir. Güçlendirilmemiş ve güçlendirilmiş gruplar arasında en düşük rest monomer seviyesi gösteren grup, en az toksisite gösteren grup olmuştur. Akrilik rezin materyalinden kaynaklanan toksisitenin primer nedeni rezin içerisindeki rest monomer miktarıdır. Bu nedenle çalışmamızda birbiriyle ilişkili olan rest monomer ve sitotoksisite değerleri uyumlu bulunmuştur.

Rest monomerin plastizer etkisi akrilik rezinin fiziksel ve mekanik özelliklerini olumsuz yönde etkiler. Ayrıca polimerize olmuş rezinden salınan rezidüel monomerin toksik reaksiyon oluşturma potansiyeli de bildirilmiştir. Polimerize edilmiş akrilik rezindeki rest monomer miktarının azaltılması hem mekanik özelliklerin düzelmesini hem de sitotoksik reaksiyonların azalmasını sağlayacaktır. Bu yüzden artık monomer miktarının en aza indirilmesi için monomer ve polimer oranlarına, karıştırma ve hazırlama işlemlerine özen gösterilmesinin önemi vurgulanmalıdır. Bu amaçla rezinin polimerizasyon işleminden sonra sıcak suya daldırma veya mikrodalga enerjisine maruz bırakma gibi post-polimerizasyon işlemlerinin yapılması düşünülmelidir.

6. SONUÇLAR

Farklı polimerizasyon yöntemleri ile hazırlanan güçlendirilmemiş ve cam fiber ile güçlendirilmiş akrilik rezinlerdeki rest monomer miktarının ve in vitro koşullarda sitotoksitesinin değerlendirildiği bu tez çalışmasından şu sonuçlar elde edilmiştir:

1. Hem güçlendirilmemiş hem de cam fiber ile güçlendirilmiş gruplarda rest monomer miktarı açısından polimerizasyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0.05$).

2. Fiber ile güçlendirilmemiş gruplar arasında, en düşük rest monomer miktarı mikrodalga ile polimerize edilen grupta, en yüksek rest monomer oranı ise oto polimerize olan grupta elde edilmiştir.

3. Cam fiber ile güçlendirilmiş gruplarda en düşük monomer miktarı ısı ile polimerize edilen grupta, en yüksek rest monomer seviyesi ise oto polimerize olan grupta izlenmiştir.

4. Aynı polimerizasyon yöntemi ile hazırlanan gruplarda fiber ile güçlendirmenin etkisi değerlendirildiğinde, genel olarak fiber ile yapılan güçlendirme işlemi rest monomer miktarını artırmıştır. Bu artış mikrodalga ile polimerize edilen örneklerde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

5. Sitotoksite testi sonuçlarında, fiber ile güçlendirilmemiş gruplarda dört polimerizasyon yönteminde de en düşük canlılık oranı 96. saatte elde edilmiştir. Isı, oto ve mikrodalga ile polimerize olan gruplarda en yüksek canlılık 72. saatte elde edilirken, gamma ışını ile polimerize edilmiş grupta 24. saatte bulunmuştur.

6. Fiber ile güçlendirilmemiş gruplarda, polimerizasyon yöntemlerine göre sitotoksite değerlendirildiğinde, her inkübasyon süresinde de en düşük canlılık yüzdesi ile toksisite değeri en fazla oto polimerize grupta olmuştur. 24, 48, 72. saat inkübasyon süresinde en az toksisite gösteren grup ısı ile polimerize edilen gruptur.

7. Fiber ile güçlendirilmiş gruplarda dört polimerizasyon yönteminde de en düşük canlılık oranı 96. saatte elde edilmiştir. Isı, mikrodalga ve gamma ışını ile polimerize edilen gruplarda en yüksek canlılık 24. saatte elde edilirken, oto polimerize olan grupta 72. saatte bulunmuştur.

8. Fiber ile güçlendirilmiş grupların her bir inkübasyon süresinde polimerizasyon yöntemlerine göre sitotoksite sonuçlarını değerlendirdiğimizde; güçlendirilmiş gruplar arasında polimerizasyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

9. Fiber ile yapılan güçlendirme işlemi genelde hücre canlılık oranında düşüğe neden olmuştur.

7. ÖZET

Cam fiberle güçlendirilen akrilik rezinlerde farklı polimerizasyon yöntemlerinin rest monomer miktarına etkisinin ve sitotoksitesinin değerlendirilmesi

Bu çalışmanın amacı, farklı polimerizasyon yöntemleri ile hazırlanmış cam fiber ile güçlendirilmiş ve güçlendirilmemiş akrilik rezin materyallerinin rest monomer miktarını ve sitotoksitesini in vitro koşullarda değerlendirmektir.

E-cam fiber ile güçlendirilmiş ve güçlendirilmemiş akrilik rezin örnekler dört farklı polimerizasyon yöntemi (ısı, oto, mikrodalga ve gamma ışını) ile polimerize edilerek hazırlandı. Rest monomer miktarı yüksek performans sıvı kromatografi cihazı kullanılarak tespit edildi. Akrilik rezin test örneklerinin sitotoksitesileri L929 fare fibroblast hücre kültüründe değerlendirildi. Hücre canlılığı, MTT yöntemi ile 24, 48, 72 ve 96. saatlerde belirlendi. Sonuçlar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile ve gruplar arasındaki farklılıklar ise Tukey HSD ve Mann-Whitney U test ile değerlendirildi.

Güçlendirilmiş ve güçlendirilmemiş gruplar arasında en fazla rest monomer miktarı oto polimerize olan test örneklerinde gözlenmiştir. En düşük rest monomer değerleri ise güçlendirilmemiş gruplarda mikrodalga ile polimerize olan örneklerde, fiber ile güçlendirilmiş gruplarda ise ısı ile polimerize olan örneklerde elde edilmiştir. Genel olarak fiber ile yapılan güçlendirme işlemi rest monomer miktarını artırmıştır. Bu artış mikrodalga ile polimerize edilen örneklerde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Güçlendirilmemiş gruplarda her inkübasyon süresinde de toksisite değeri en fazla bulunan grup oto polimerize olan grup olmuştur. 24, 48, 72. saat inkübasyon süresinde en az toksisite gösteren grup ısı ile polimerize edilen gruptur. Ancak bu inkübasyon sürelerinde polimerizasyon yöntemleri açısından istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır. 96. saatte ise en az toksisite gösteren mikrodalga ile polimerize edilen gruptur. 96. saatte en yüksek canlılık gösteren mikrodalga ile polimerize edilen grup ile en düşük canlılık gösteren oto polimerize grup arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Güçlendirilmiş gruplar arasında polimerizasyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Ancak her inkübasyon süresinde de en toksik değer oto polimerize grupta görülmüştür. En düşük toksisite değerini 24. ve 72. saatlerde mikrodalga ile polimerize edilen grup gösterirken, 48. ve 96. saatlerde ısı ile polimerize edilen grup

göstermiştir. Fiber ile yapılan güçlendirme işlemi genelde hücre canlılık oranında düşüşe neden olmuştur. Güçlendirilmemiş gruplar ile karşılaştırıldığında daha düşük canlılık değerleri yani daha fazla toksisite bulgusu gözlenmiştir. Ancak yapılan istatistiksel incelemede bu değişimin anlamlı olmadığı görülmüştür.

Cam fiber ile yapılan güçlendirme işlemi akrilik rezin örneklerin rest monomer miktarında ve sitotoksitesinde artışa neden olmuştur.

8. SUMMARY

Evaluation of the influence of different polymerization methods on residual monomer amount and cytotoxicity in the acrylic resins reinforced with glass fibers

The purpose of in vitro this study was to investigate the residual monomer amount and cytotoxicity of glass fiber reinforced and unreinforced acrylic resin materials polymerized with different polymerization methods.

E-glass fiber reinforced and unreinforced acrylic resin specimens were prepared with four different polymerization methods (heat-polymerized, autopolymerized, microwave polymerized, gamma-ray polymerized). Residual MMA content was determined using high-performance liquid chromatography. The cytotoxicity of acrylic resin test specimens was evaluated with L929 mouse fibroblast cell culture. Cell viability was determined at 24, 48, 72, and 96 h after exposure by MTT method. Results were analysed with one-way ANOVA followed by Tukey HSD and Mann-Whitney U test.

The highest residual monomer content between reinforced and unreinforced groups was found in autopolymerized among specimens. The lowest residual monomer contents were in microwave polymerized unreinforced groups and heat polymerized reinforced groups. Generally, reinforcement with fiber increased the residual monomer amount. This amount of increase was statistically significant ($p < 0.05$).

In each incubation period, most toxic group was autopolymerized unreinforced resin. In 24, 48, 72h incubation period minimal toxic group was heat polymerized. However, this incubation periods were not found statistically different for polymerization methods. Microwave polymerized group showed the lowest toxicity at 96h. The correlation between microwave polymerized group with most cell viability and autopolymerized group with lowest cell viability at 96h were found statistically significant ($p < 0.05$).

There was no significance in polymerization methods between reinforced groups statistically. However, the highest toxicity degree was in autopolymerized resin in all incubation periods. The lowest toxicity degrees at 24 and 72h were in microwave polymerized group and at 48 and 96h were in heat polymerized group. Fiber reinforcement process decreased the cell viability percentage in general. However, this change in decrease was not statistically significant.

As a result, reinforcement with glass fiber has led to an increase residual monomer amount and cytotoxicity in varying degrees of acrylic resin specimens.

9. KAYNAKLAR

1. Craig RG. Restorative dental materials. 10th ed. St Louis: Mosby Company; 1996.
2. Phoenix MRD. Denture base materials. Dent Clin North Am 1996; 40: 113- 20.
3. Çalikkocaoğlu S. Tam protezler. 3. Baskı, Cilt 2. İstanbul: Protez Akademisi ve Gnatoloji Derneği 2. Bilimsel Yayını; 1998. s. 532-50.
4. Craig RG, O'Brien WJ, Powers JM. Dental materials properties and manipulation. 4th ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1987. p. 272- 86.
5. Bayramlı E. Polimer kompozitler. Bilim ve Teknik 1995; 327- 338.
6. Zaimoğlu A, Can G, Ersoy AE, Aksu L. Diş hekimliğinde maddeler bilgisi. Ankara: AÜ Diş Hek Fak Yayınları; 1993. s. 183- 223.
7. Phillips RW. Skinner's science of dental materials. 8th ed. USA: W.B. Saunders Company; 1982. p.177- 211.
8. O' Brien WJ. Dental materials and their selection. 2th ed. Chicago: Quintessence Publishing Co; 1997. p. 79- 90.
9. O'Brien WJ. Dental materials and their selection. 3rd ed. Edinburg: Mosby Co; 2002.
10. Köroğlu A. Farklı Yöntemlerle Polimerize Edilen Fiberle Güçlendirilmiş Akrilik Rezinlerin Artık Monomer Miktarının ve Bazı Fiziksel Özelliklerinin Değerlendirilmesi. Doktora. Ankara: Ankara Üniversitesi; 2007.
11. International organization for standardization (ISO). Dentistry-denture base polymers. ISO/Technical Report No 1567/ Switzerland; 1999.
12. Barron DJ, Schuster GS, Caughman GB, Lefebvre CA. Biocompatibility of visible light-polymerized denture base resins. Int J Prosthodont 1993; 6: 495- 501.
13. Kaplan R. Isı ve Mikrodalga Enerjisi ile Polimerize Olan Akrilik Kaide Rezinlerine Dental Fiber Sistemlerinin Etkilerinin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi. Doktora. Ankara: Ankara Üniversitesi; 2002.

14. Vallittu PK. Dimensional accuracy and stability of poly(methyl methacrylate) reinforced with metal wire or with continuous glass fiber. J Prosthet Dent 1996; 75: 617- 21.
15. Lefebvre CA, Schuster GS. Biocompatibility of visible light-cured resin system in prosthodontics. J Prosthet Dent 1994; 71: 178- 85.
16. Levin B, Sanders JL, Reitz PV. The use of microwave energy for processing acrylic resins. J Prosthet Dent 1989; 61: 381- 3.
17. Lai CP, Tsai MH, Chen M, Chang HS, Tay HH. Morphology and properties of denture acrylic resins cured by microwave energy and conventional water bath. Dent Mater 2004; 20: 133- 41.
18. De Oliveria VMB, Leon BLT, Del Bel Cury AA, Consanli S. Influence of number and position of flasks in the monomer release, Knoop hardness and porosity of a microwave-cured acrylic resin. J Oral Rehabil 2003; 30: 1104- 8.
19. Compagnoni MA, Barbosa DB, Souza RF, Pero AC. The effect of polymerization cycles on porosity of microwave-processed denture base resin. J Prosthet Dent 2004; 91: 281- 5.
20. Karacaer Ö, Doğan A, Doğan OM, Usanmaz A. Dynamic mechanical properties of dental base material reinforced with glass fiber. J Applied Polymer Science 2002; 85: 1683- 97.
21. Şekeroğlu T. Thermal and Mechanical Properties of Ultra High Modulus Polyethylene Reinforced Poly(methyl methacrylate) Cured by Gamma Radiation Used as a Dental Base Material. Master. Ankara: Orta Doğu Teknik Üniversitesi; 2000.
22. Eser Ö. Preparation and Modification of Heat-activated Dental Base Material Cured by Gamma Radiation. Master. Ankara: Orta Doğu Teknik Üniversitesi; 1998.
23. Polat NT, Karacaer Ö. Cam fiber ile güçlendirilmiş iki farklı protez kaide polimerinin transvers direnç ve elastikiyet modülünün incelenmesi. CÜ Diş Hek Fak Der 2002; 5: 1- 4.
24. Kim SH, Watts DC. The effect of reinforcement with woven E-glass fibers on the impact strength of complete dentures fabricated with high-impact acrylic resin. J Prosthet Dent 2004; 91: 274- 80.

25. Gutteridge DL. Reinforcement of poly(methylmethacrylate) with ultra-high-modulus polyethylene fibre. J Dent 1992; 20: 50- 4.
26. Darbar UR, Huggett R, Harrison A. Denture fracture-a survey. Br Dent J 1994; 176: 342- 5.
27. Chen SY, Liang WM. Effects of fillers on fiber reinforced acrylic denture base resins. Mid Taiwan J Med 2004; 9: 203- 10.
28. John J, Gangadhar SA, Shah I. Flexural strength of heat-polymerized poly(methyl methacrylate) denture resin reinforced with glass, aramid, or nylon fibers. J Prosthet Dent 2001; 86: 424- 7.
29. Levent H, Karaağaçlıoğlu L. Protez kaide rezinlerinin güçlendirilmesi. GÜ Diş Hek Fak Der 2004; 21: 135- 42.
30. Jagger DC, Harrison A, Jandt KD. The reinforcement of dentures. J Oral Rehabil 1999; 26: 185- 94.
31. Karacaer Ö. Devamlı paralel ve kısa formdaki cam elyaf ile alt protez tamiri. GÜ Diş Hek Fak Der 2002; 19: 41- 5.
32. Keyf F, Uzun G. The effect of glass fibre-reinforcement on the transverse strength, deflection and modulus of elasticity of repair acrylic resins. Int Dent J 2000; 50: 93- 7.
33. Gutteridge DL. The effect of including ultra-high-modulus polyethylene fibre on the impact strength of acrylic resin. Br Dent J 1988; 164: 177- 80.
34. Jagger DC, Harrison A, Jandt KD. An investigation of self-reinforced poly(methyl methacrylate) denture base acrylic resin using scanning electron and atomic force microscopy. Int J Prosthodont 2000; 13: 526- 31.
35. Karacaer Ö, Polat TN, Tezvergil A, Lassilla LVJ, Vallittu PK. The effect of length and concentration of glass fibers on the mechanical properties of an injection-and a compression-molded denture base polymer. J Prosthet Dent 2003; 90: 385- 93.
36. Chen SY, Liang WM, Yen PS. Reinforcement of acrylic denture base resin by incorporation of various fibers. J Biomed Mater Res 2001; 58: 203- 8.

37. Yazdanie N, Mahood M. Carbon fiber acrylic resin composite: An investigation of transverse strength. J Prosthet Dent 1985; 53: 543- 7.
38. Screiber CK. Poly(methyl methacrylate) reinforced with carbon fibres. Br Dent J 1971; 130: 29- 30.
39. Manley TR, Bowman AJ, Cook M. Denture bases reinforced with carbon fibres. Br Dent Journal 1979; 146: 25- 6.
40. Vallittu PK, Lassila VP. Reinforcement of acrylic resin denture base material with metal or fibre strengtheners. J Oral Rehabil 1992; 19: 225- 30.
41. Dixon DL, Breeding LC. The transverse strengths of three denture base resins reinforced with polyethylene fibers. J Prosthet Dent 1992; 67: 417- 19.
42. Seymour RB. Reinforced plastics properties and applications. United States of America: ASM International; 1991. p. 69- 80.
43. Tezvergil A. Farklı Yönlerde ve Yapıdaki Cam Fiber ile Güçlendirilen Kompozit Materyallerin Mine ve Dentin Bağlantılarının Değerlendirilmesi. Doktora. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2004.
44. Braden M, Davy KW, Parker S, Ladizesky NH, Ward IM. Denture base poly(methyl methacrylate) reinforced with ultra-high modulus polyethylene fibres. Br Dent J 1988; 164: 109- 13.
45. Vallittu PK. Flexural properties of acrylic resin polymers reinforced with unidirectional and woven glass fibers. J Prosthet Dent 1999; 81: 318- 26.
46. Demir M, Demirci Ş, Usanmaz A. Anorganik kimya ve uygulaması II. Ankara: S.H.Ç.E.K. Basımevi; 2000.
47. Lubin G. Handbook of fiberglass and advanced plastics composites. New York: Van Nostrand Reinhold Company; 1969. p. 142- 81.
48. Ellakwa AE, Shortall AC, Marquis PM. Influence of fiber type and wetting agent on the flexural properties of an indirect fiber reinforced composite. J Prosthet Dent 2002; 88, 485- 90.
49. Jagger D, Harrison A, Vowles R, Jagger R. The effect of the addition of surface treated chopped and continuous poly(methyl

methacrylate) fibres on some properties of acrylic resin. J Oral Rehabil 2001; 28: 865- 72.

50. Samadzadeh A, Kugel G, Hurley E, Aboushala A. Fracture strengths of provisional restorations reinforced with plasma-treated woven polyethylene fiber. J Prosthet Dent 1996; 78: 447-50.
51. Uzun G, Hersek N, Tinçer T. Effect of five woven fiber reinforcement on the impact and transverse strength of a denture base resin. J Prosthet Dent 1999; 81: 616- 20.
52. Narva KK, Vallittu PK, Helenius H, Yli-Urpo A. Clinical survey of acrylic resin removable denture repairs with glass-fiber reinforcement. Int J Prosthodont 2001; 14: 219- 24.
53. Vallittu PK, Narva K. Impact strength of a modified continuous glass fiber-poly(methyl methacrylate). Int J Prosthodont 1997; 10: 142- 8.
54. Vallittu PK. Glass fiber reinforcement in repaired acrylic resin removable dentures: Preliminary results of a clinical study. Quintessence Int 1997; 28: 39- 44.
55. Vallittu PK. Some aspects of the tensile strength of unidirectional glass fibre-polymethyl methacrylate composite used in dentures. J Oral Rehabil 1998; 25: 100- 5.
56. Vallittu PK. Acrylic resin-fiber composite-part 2: The effect of polymerization shrinkage of polymethyl methacrylate applied to fiber roving on transverse strength. J Prosthet Dent 1994; 71: 613- 7.
57. Lassila LVJ, Vallittu PK. The effect of fiber position and polymerization condition on the flexural properties of fiber-reinforced composite. J Contemp Dent Pract 2004; 5: 1- 12.
58. Uzun G, Hersek N. Değişik liflerle güçlendirilmiş akrilik rezinin elektron mikroskop görüntülerinin değerlendirilmesi. HÜ Diş Hek Fak Der 1999; 23: 32- 7.
59. Uzun G, Keyf F, Hersek N. Otopolimerizan akrilik rezinin dayanıklılığında plazma kaplı cam liflerin etkisi. GÜ Diş Hek Fak Der 2001; 18: 53- 7.

60. Vallittu PK. Curing of a silane coupling agent and its effect on the transverse strength of autopolymerizing polymethylmethacrylate-glass fibre composite. *J Oral Rehabil* 1997; 24: 124- 30.
61. Solnit GS. The effect of methyl methacrylate reinforced with silane-treated and untreated glass fibers. *J Prosthet Dent* 1991; 66: 310- 14.
62. Vallittu PK, Lassila LVJ, Lappalainen R. Acrylic resin-fiber composite-part 1: The effect of fiber concentration on fracture resistance. *J Prosthet Dent* 1994; 71: 607- 12.
63. Lassila LVJ, Vallittu PK. Denture base polymer Alldent sinomer: mechanical properties, water sorption and release of residual compounds. *J Oral Rehabil* 2001; 28: 607- 13.
64. Jorge JH, Giampaolo ET, Machado AL, Vergani CE. Cytotoxicity of denture base acrylic resins: A literature review. *J Prosthet Dent* 2003; 90: 190- 3.
65. Huang FM, Tai KW, Hu CC, Chang YC. Cytotoxic effects of denture base materials on a permanent human oral epithelial cell line and on primary human oral fibroblasts in vitro. *Int J Prosthodont* 2001; 14: 439- 43.
66. Vallittu PK, Ruyter IE, Buykuilmaz S. Effect of polymerization temperature and time on the residual monomer content of denture base polymers. *Eur J Oral Sci* 1998; 106: 588- 93.
67. Vallittu PK, Miettinen V, Alakuijala P. Residual monomer content and its release into water from denture base materials. *Dent Mater* 1995; 11: 338- 42.
68. Aykan L. Farklı Yöntemlerle Polimerize Edilen Bazı Akrilik Rezinlerin Biyolojik Uyumlarının İn Vitro İncelenmesi, Doktora. Ankara: Gazi Üniversitesi; 1998.
69. Pfeiffer P, Rosenbauer EU. Residual methyl methacrylate monomer, water sorption, and water solubility of hypoallergenic denture base materials. *J Prosthet Dent* 2004; 92: 72- 8.
70. Kedjarune U, Charoenworluk N, Koontongkaew S. Release of methyl methacrylate from heat-cured and autopolymerized resins: Cytotoxicity testing related to residual monomer. *Aust Dent Journal* 1999; 44: 25- 30.

71. Bartoloni JA, Murchison DF, Wofford DT, Sarkar NK. Degree of conversion in denture base materials for varied polymerization techniques. J Oral Rehabil 2000; 27: 488- 93.
72. Lung CYK, Darvell BW. Minimization of the inevitable residual monomer in denture base acrylic. Dent Mater 2005; 21: 119- 28.
73. Doğan A, Bek B, Çevik NN, Usanmaz A. The effect of preparation conditions of acrylic denture base materials on the level of residual monomer, mechanical properties and water absorption. J Dent 1995; 23: 313- 8.
74. Shim JS, Watts DC. Residual monomer concentrations in denture-base acrylic resin after an additional, soft-liner, heat-cure cycle. Dent Mater 1999; 15: 296- 300.
75. Bayraktar G, Duran Ö, Güvener B. Effect of glass fibre reinforcement on residual methyl methacrylate content of denture base polymers. J Dent 2003; 31: 297- 302.
76. Hochman N, Zalkind M. Hypersensitivity to methyl methacrylate: Mode of treatment. J Prosthet Dent 1997; 77: 93- 9.
77. Kanerva L, Jolanki R, Estlander T. 10 years of patch testing with the (meth)acrylate series. Contact Derm 1997; 37: 255- 9.
78. Esmer F, Karacaer Ö, Doğan A. Metilmetakrilat (MMA) buharının inhalasyonu ile burun epitelyumu ve akciğerde oluşan değişikliklerin histopatolojik incelenmesi. OMÜ Diş Hek Fak Der 2002; 4: 7- 11.
79. Vilaplana J, Romaguera C, Cornellana F. Contact dermatitis and adverse oral mucous membrane reactions related to the use of dental prostheses. Contact Derm 1994; 30: 80- 5.
80. Erdik E, Obalı M, Yüksekışık N, Öktemer A, Pekel T, İhsanoğlu E. Denel organik kimya. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 1987.
81. Gündüz T. Instrümental analiz. 6. Baskı. Ankara: Gazi Kitabevi; 2002. s. 1115- 1176.
82. Skoog DA, Leary JJ. Principles of Instrumental analysis. Saunders College Publishing, United States of America; 1992.

83. Orhun F. Gaz kromatografisi, taşıyıcı gazın akış hızının tesirleri üzerinde tecrübi araştırmalar ve metodun Türkiye'deki bazı tabii gazların hidrokarbon analizlerine tatbiki. MTA; Ankara.
84. Yıldız A, Genç Ö, Bektaş S. Enstrümental analiz yöntemleri. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları; 1993. s. 417- 28.
85. Willard HH, Merritt LL, Dean JA, Settle FA. Instrumental methods of analysis. 7th ed. Belmont: Wadsworth Publishing Company; 1988. p. 580- 655.
86. Kazakevich Y, Lobrutto R. HPLC for pharmaceutical scientists. 2000. Available from: URL: [http:// www. hplc. chem. shu. edu/ HPLC/ index. html](http://www.hplc.chem.shu.edu/HPLC/index.html).
87. Browne RM. The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials-does it have a role?. Int Endod J 1988; 21: 50- 8.
88. Saw TY, Cao T, Yap AUJ, NG MML. Tooth slice organ culture and established cell line culture models for cytotoxicity assessment of dental materials. Toxicol In Vitro 2005; 19: 145- 54.
89. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: A review. Dent Mater 1996; 12: 186- 93.
90. International organization for standardization (ISO). Dentistry-preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry-test methods for dental materials. ISO/Technical Report No 7405/ Switzerland; 1997.
91. Hensten-Pettersen A. Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. Int Endod J 1988; 21: 89- 99.
92. International organization for standardization (ISO): Biological evaluation of medical devices-part 5: Test for in vitro cytotoxicity, ISO/Technical Report no 10993- 5/ Switzerland, 1999.
93. Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. Clin Oral Invest 1997; 1: 154- 62.
94. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials-advantages and limitations. J Dent 1994; 22: 6- 11.
95. Freshney RI. Culture of animals cells, a manual of basic technique. 1994.

96. Sletten GBG, Dahl JE. Cytotoxic effects of extracts of compomers. *Acta Odontol Scand* 1999; 57: 316- 22.
97. Poot A, Beugeling T, Dekker A, Spijkers J, Van mourik JA, Feijen J, Bantjes A, Van Aken WG. Dependence of endothelial cell growth on substrate-bound fibronectin. *Clin Mater* 1992; 11: 151- 5.
98. Davis JM. Basic cell culture. A practical approach. New York: Oxford Uni. Pres Inc; 1996.
99. Şekerci ÇŞ. Diş Çürüğünün Uzaklaştırılmasında Kullanılan Üç Farklı Kimyasal Ajanın Sitotoksitesinin İn Vitro Koşullarda Değerlendirilmesi. Doktora. Ankara: Ankara Üniversitesi; 2004.
100. Spangberg LS, Al-Nazhan A. The radiochromium release method for evaluation of cytotoxicity in vitro. *Int Endod J* 1988; 21: 72- 8.
101. Schmalz G. Agar overlay method. *Int Endod J* 1988; 21: 59- 91.
102. Okita N, Hensten-Pettersen A. In vitro cytotoxicity of tissue conditioners. *J Prosthet Dent* 1991; 66: 656- 9.
103. Wendt SL, Ziemiecki TL, Spangberg LZ. Indirect cytotoxic evaluation of dental materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; 75: 353- 6.
104. Meryon SD. The model cavity method incorporating dentine. *Int Endod J* 1988; 21: 79- 84.
105. Vellonen KS, Honkakoski P, Urtti A. Substrates and inhibitors of efflux proteins interfere with the MTT assay in cells and may lead to underestimation of drug toxicity. *Eur J Pharm Sci* 2004; 23: 181- 8.
106. Lonnroth EC, Dahl JE. Cytotoxicity of liquids and powders of chemically different dental materials evaluated using dimethylthiazol diphenyltetrazolium and neutral red tests. *Acta Odontol Scand* 2003; 61: 52- 6.
107. Lonnroth EC, Dahl JE. Cytotoxicity of dental glass ionomers evaluated using dimethylthiazoldipenyltetrazolium and neutral red tests. *Acta Odontol Scand* 2001; 59: 34- 9.
108. Lefebvre CA, Knoernschild KL, Schuster G. Cytotoxicity of eluates from light-polymerized denture base resins. *J. Prosthet Dent* 1994; 72: 644- 50.

109. Issa Y, Watts DC, Brunton PA, Waters CM, Duxbury AJ. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dent Mater* 2004; 20: 12- 20.
110. Sheridan PJ, Koka SK, Ewoldsen NO, Lefebvre CA, Lavin MT. Cytotoxicity of denture base resins. *Int J Prosthodont* 1997; 10: 73- 7.
111. Vallittu PK, Lassila VP, Lapplanien R. Evaluation of damage to removable dentures in two cities in Finland. *Acta Odontol Scand* 1993; 51: 363- 9.
112. Ladizesky NH, Chow TW, Cheng YY. Denture base reinforcement using woven polyethylene fiber. *Int J Prosthodont* 1994; 7: 307- 12.
113. Uzun G, Keyf F. The effect of woven, chopped and longitudinal glass fibers reinforcement on the transverse strength of a repair resin. *J Biomater Appl* 2001; 15: 351- 8.
114. Williamson DL, Boyer DB, Aquilino SA, Leary JM. Effect of polyethylene fiber reinforcement on the strength of denture base resins polymerized by microwave energy. *J Prosthet Dent* 1994; 72: 635- 8.
115. Karacaer Ö. Fiber ilave edilen PMMA' ların değerlendirilmesi. *AÜ Diş Hek Fak Der* 1998; 8: 96-8.
116. Kanie T, Fujii K, Arikawa H, Inoue K. Flexural properties and impact strength of denture base polymer reinforced with woven denture base polymer reinforced with woven glass fibers. *Dent Mater* 2000; 16: 150- 8.
117. Clarke DA, Ladizesky NH, Chow TW. Acrylic resin reinforced with highly drawn linear polyethylene woven fibres. *Aus Dent J* 1992; 37: 394- 9.
118. Ladizesky NH, Cheng YY, Ward IM. Acrylic resin reinforced with chopped high performance polyethylene fiber properties and denture construction. *Dent Mater* 1993; 9: 128- 35.
119. Stipho HD. Repair of acrylic resin denture base reinforced with glass fibre. *J Prosthet Dent* 1998; 80: 546- 50.
120. Vallittu PK. Comparison of two different silane compounds used for improving adhesion between fibres and acrylic denture base material. *J Oral Rehabil* 1993; 20: 533- 9.

121. Yılmaz H, Aydın C, Çağlar A, Yaşar A. The effect of glass fiber reinforcement on the residual monomer content of two denture base resins. *Quintessence Int* 2003; 34: 148- 53.
122. Bayraktar G, Güvener B, Bural C, Üresin Y. Influence of polymerization method, curing process, and length of time of storage in water on the residual methyl methacrylate content in dental acrylic resins. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 2006; 76: 340- 5.
123. Urban VM, Cass QB, Oliveria RV, Giampaolo ET, Machado AL. Development and application of methods for determination of residual monomer in dental acrylic resins using high performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr* 2006; 20: 369- 76.
124. Kalıpçılar B, Karaağaçlıoğlu L, Hasanreisioğlu U. Evaluation of the level of residual monomer in acrylic denture base materials having different polymerization properties. *J Oral Rehabil* 1991; 18: 399- 401.
125. MC Cabe JF, Basker RM. Tissue sensitivity to acrylic resin. *Br Dent J* 1976; 140: 347- 50.
126. Dahl OE, Garvik LJ, Lyberg T. Toxic effects of methyl methacrylate monomer on leukocytes and endothelial cells in vitro. *Acta Orthop Scand* 1994; 65: 147- 53.
127. Kökuslu C, Doğan A, Bek B, Karademir N, Demirel E. Metil metakrilat monomerinin fibroblastlar üzerine etkisinin in vitro olarak değerlendirilmesi. *GÜ Diş Hek Fak Der* 1993; 10: 67- 74.
128. Ergün G, Sağesen LM, Doğan A, Özkul A, Demirel E. Metilmetakrilat monomerlerinin primer insan gingival fibroblastları üzerine sitotoksik etkisinin in vitro değerlendirilmesi. *GÜ Diş Hek Fak Der* 2006; 23: 97- 103.
129. Yang HW, Chou LS, Chou MY, Chang YC. Assessment of genetic damage by methyl methacrylate employing in-vitro mammalian test system. *Biomaterials* 2003; 24: 2909- 14.
130. Sadamori S, Ganefiyanti T, Hamada T, Arima T. Influence of thickness and location on the residual monomer content of denture base cured by three processing methods. *J Prosthet Dent* 1994; 72: 19- 22.
131. Cimpan MR, Matre R, Cressey LI, Tysnes B, Lie SA, Gjertsen BT, Skaug N. The effect of heat- and auto-polymerized denture

base polymers on clonogenicity, apoptosis, and necrosis in fibroblasts: Denture base polymers induce apoptosis and necrosis. *Acta Odontol Scand* 2000; 58: 217- 28.

132. Sipahi C, Özen J, Ural AU, Dalkız M, Beydemir B. Beş farklı protez kaide materyalinin gingival fibroblastlar üzerine olan etkilerinin incelenmesi. *Gülhane Tıp Der* 2005; 47: 275- 8.
133. Sofou A, Tsoupi I, Emmanouil J. HPLC determination of residual monomers released from heat-cured acrylic resins. *Anal Bioanal Chem* 2005; 381: 1336- 46.
134. Baker S, Brooks SC, Walker DM. The release of residual monomeric methyl methacrylate from acrylic appliances in the human mouth: An assay for monomer in saliva. *J Dent Res* 1988; 67: 1295- 9.
135. Tsuchiya H, Hoshino Y, Tajima K, Takagi N. Leaching and cytotoxicity of formaldehyde and methyl methacrylate from acrylic resin denture base materials. *J Prosthet Dent* 1994; 71: 618- 24.
136. Austin AT, Basker RM. The level of residual monomer in acrylic denture base materials. *Br Dent J* 1980; 149: 281- 6.
137. Kawaguchi M, Takahashi Y, Fukushima T, Hobu T. Effect of light exposure duration on the amount of leachable monomers, from light-activated reline materials. *J Prosthet Dent* 1996; 75: 183- 7.
138. Miettinen VM, Vallittu PK. Release of residual methyl methacrylate into water from glass fibre-poly(methyl methacrylate) composite used in denture. *Biomaterials* 1997; 18: 181- 5.
139. Lee SY, Lai YL, Hsu TS. Influence of polymerization conditions on monomer elution and microhardness of autopolymerized polymethyl methacrylate resin. *Eur J Oral Sci* 2002; 110: 79- 83.
140. Sadamori S, Kotani H, Hamada T. The usage period of dentures and their residual monomer contents. *J Prosthet Dent* 1992; 68, 374- 6.
141. Keskin Y. Farklı Yöntemlerle Polimerizasyonu Sağlanan Akriliklerin Bazı Fiziksel Özelliklerinin Karşılaştırılması Olarak Değerlendirilmesi. Doktora. Ankara: Ankara Üniversitesi; 1993.
142. Doğan OM, Karacaer Ö, Tinçer T. Çok yüksek molekül ağırlıklı polietilen örgü fiberle güçlendirilen akrilik rezinlerin çarpma

dayanımı ve adezyonunun değerlendirilmesi. Türkiye Klinikleri J Dental Sci 2005; 11: 12- 19.

143. Doğan OM, Karacaer Ö, Tinçer T. Silanla kaplanan ve gamma ışını uygulanan çok yüksek molekül ağırlıklı polietilen örgü fiberle güçlendirilen akrilik rezinlerin bükülme dayanıklılığı. GÜ Diş Hek Fak Der 2005; 22: 147- 51.
144. Goldberg AJ, Burstone CJ. The use of continuous fiber reinforcement in dentistry. Dent Mater 1992; 8: 197- 202.
145. Vallittu PK. Oxygen inhibition of autopolymerization of polymethyl methacrylate glass fiber composite. J Mater Sci Mater Med 1997; 8: 489- 92.
146. Edgerton M, Levine MJ. Biocompatibility: Its future in prosthodontic research. J Prosthet Dent 1993; 69: 406- 15.
147. Aykent F, Avuduk MC, Durmuş E, Üşümez A. Farklı protez kaide rezinlerinin oluşturdukları doku reaksiyonları. Türk Diş Hekimliği Der 2004; 55: 21- 6.
148. Lai YL, Chen YT, Lee SY, Shieh TM, Hung SL. Cytotoxic effects of dental resin liquids on primary gingival fibroblast and periodontal ligament cells in vitro. J Oral Rehabil 2004; 31: 1165- 72.
149. Nalçacı, A, Öztan MD, Yılmaz Ş. Cytotoxicity of composite resins polymerized with different curing methods. Int Endod J 2004; 37: 151- 6.
150. Thumwanit V, Kedjaruna U. Cytotoxicity of polymerized commercial cyanoacrylate adhesive on cultured human oral fibroblasts. Aust Dent J 1999; 44: 248- 52.
151. Wiltshire WA, Ferreira MR, Ligthelm AJ. Allergies to dental materials. Quintessence Int 1996; 27: 513- 20.
152. Lygre H. Prosthodontic biomaterials and adverse reactions: A critical review of the clinical and research literature. Acta Odontol Scand 2002; 60: 1- 9.
153. Cimpan MR, Cressey LI, Skaug N, Halstensen A, Lie SA, Gjertsen BT, Matre R. Patterns of cell death induced by eluates from denture base acrylic resins in U-937 human monoblastoid cells. Eur J Oral Sci 2000; 108: 59- 69.

- 154.** Taira M, Nakao H, Matsumoto TY, Takahashi J. Cytotoxic effect of methyl methacrylate on 4 cultured fibroblasts. *Int J Prosthodont* 2000; 13: 311- 5.
- 155.** Sipahi C, Özen J, Ural AU, Dalkız M, Beydemir B. The effect of two fibre impregnation methods on the cytotoxicity of a glass and carbon fibre-reinforced Acrylic resin denture base material on oral epithelial cells and fibroblasts. *J Oral Rehabil* 2006; 33: 666- 73.
- 156.** Schedle A, Samorapoompichit P, Rausch-Fan X, Spittler A, Lucas T, Sperr W, Boltz-Nitulescu G. Response of L929 fibroblasts, human gingival fibroblasts, and human tissue mast cells to various metal cations. *J Dent Res* 1995; 74: 1513- 20.
- 157.** Ergün G, Sağesen LM, Doğan A, Özkul A, Demirel E. Protez kaide materyallerinin sitotoksitesinin agar difüzyon ve filtre difüzyon test yöntemleri ile incelenmesi. *GÜ Diş Hek Fak Dergisi* 2006; 23: 31- 7.
- 158.** Vallittu PK, Ekstrand K. In vitro cytotoxicity of fibre-polymethyl methacrylate composite used in dentures. *J Oral Rehabil* 2001; 26: 666- 71.
- 159.** Rose EC, Bumann J, Jonas IE, Kappert HF. Contribution to the biological assessment of orthodontic acrylic materials. *J Orofac Orthop* 2000; 61: 246- 57.

10. EKLER

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim süresince, her zaman ve her konuda desteğini, yardımlarını ve sabrını esirgemeyen çok değerli tez danışmanım sayın Prof. Dr. Özgül KARACER'e, bilgi birikimi ve tecrübesiyle bana destek olan ve yol gösteren sayın hocam Prof. Dr. Arife DOĞAN'a, deney aşamalarında bana laboratuvar şartlarını sağlayan ve deney aşamalarında yol gösteren sayın Prof. Dr. Ali Usanmaz'a, çalışmamda destek olan ve pek çok konuda beni yüreklendiren Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Şap Enstitüsünde görevli veteriner hekim Nilay Ünal ve biyolog Şükran YILMAZ'a, deney aşamasında ilgisini esirgemeyen sevgili arkadaşım ODTÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Araş. ör. Elif VARGÜN'e, sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Yeliz Yalçın'a teşekkürü bir borç bilirim.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini ve karşılıksız sevgi ve ilgilerini benden esirgemeyen çok sevgili aileme, sevgili eşime, tez yazım aşamasında benimle birlikte olan ve bana rahat ve huzurlu bir çalışma ortamı sağlayan, varlığıyla hayattaki yaşam sevincim ve tez çalışmamı ithaf ettiğim biricik kızıma sonsuz teşekkürler...

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı :Çiğdem

Soyadı :ARSLAN GÜNER

Doğum Yeri ve Tarihi :Samsun 08.09.1977

Eğitimi:

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi A.D.

(Doktora 2002-.....)

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

(1994- 1999)

Samsun Ondokuz Mayıs Lisesi

(1991- 1994)

Samsun İlkadım İlköğretim Okulu

(1991- 1988)

Samsun Gülsüm Sami Kefeli İlkokulu

(1988- 1983)

Yabancı Dili: İngilizce