



İki Farklı Yumuşak Astar Materyalinin Sitotoksik Özelliklerinin İncelenmesi

Investigation of the Cytotoxic Properties of Two Different Soft Lining Materials

Merve ÇAKIRBAY TANIŞ¹, Canan AKAY²

¹Gazi Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

Yazışma Adresi

Correspondence Address

Canan AKAY

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi,

Protetik Diş Tedavisi,

Eskişehir, Türkiye

E-posta: cngcr2@hotmail.com

ÖZ

Amaç: Çalışmada, iki farklı yumuşak astar materyalinin suda 3 farklı yaşlandırma süresi sonrasındaki sitotoksik özelliklerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: 162 adet 5 mm çapında ve 2 mm kalınlığında 2 farklı yumuşak astar materyalinden (Grup A: Hydrocast; n=81, Grup B: Trusoft; n=81) hazırlanan disk örnekler 3 alt gruba ayrıldı. Grup I: 1 gün suda yaşlandırma, Grup II: 2 gün suda yaşlandırma, Grup III: 7 gün suda yaşlandırma. Belirtilen yaşlandırma sürelerini takiben fare fibroblast hücreleri (L929) kullanılarak; 24 saat, 48 saat ve 72 saat hücre inkübasyonu sonrasında her grup için ortalama hücre canlılık yüzdeleri 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide testi ile belirlendi. Gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkların tespiti için ANOVA (One-Way) testi kullanıldı. (p<0,05).

Bulgular: En düşük hücre canlılık oranları 24 saat hücre inkübasyonu sonrasında gözlemlendi. 24 saat hücre inkübasyonu takiben 1 gün ve 7 gün suda bekletilen Hydro-cast örnekler ve 7 gün suda bekletilen Trusoft örnekler çok az sitotoksik özellik gösterdi. Diğer gruplarda sitotoksik özellik belirlenmedi.

Sonuç: Farklı suda yaşlandırma süreleri sonrasında kullanılan yumuşak astar materyallerinin sitotoksik özellikleri değişebilmektedir.

Anahtar Sözcükler: Suda yaşlandırma, Sitotoksosite, Yumuşak astar, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide testi

ABSTRACT

Objective: The purpose of this study was to examine the cytotoxicity of 2 soft relining materials following 3 different aging periods.

Material and Methods: 162 disc specimens of 5 mm radius and 2 mm thickness and made of 2 different soft lining materials (Group A: Hydrocast; n=81, Group B: Trusoft; n=81) were divided into 3 subgroups (Group I: 1 day water aging, Group II: 2 days water aging, Group III: 7 days water aging). After the water aging periods, the cytotoxicity of the lining materials was determined by using mouse fibroblast (L929) cells incubated with 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide after 24 hours, 48 hours and 72 hours. Statistical differences were analysed with ANOVA (One-way) (p<0.05).

Results: Lowest cell vitality values were observed after the 24-hour cell incubation period. Both Hydrocast and Trusoft samples stored in water for 7 days and Trusoft samples stored in water for 24 hours showed low cytotoxicity after the 24-hour cell incubation period.

Conclusion: The aging period is a factor that influences the cytotoxic characteristics of soft relining materials.

Key Words: Water aging, Cytotoxicity, Soft relining, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide assay

Geliş tarihi \ Received : 07.09.2017

Kabul tarihi \ Accepted : 27.09.2017

Elektronik yayın tarihi : 05.01.2018

Online published

GİRİŞ

Yumuşak astar materyalleri, protetik tedavi sonrasında görülebilen rahatsızlıklar ve fonksiyon ile ilgili problemlerin giderilmesi amacıyla kullanılan materyallerdir (1). Hareketli protez kullanan hastalarda protezi taşıyan dokular çiğneme sırasında meydana gelen yüksek stres konsantrasyonundan etkilenebilir (2). Zamanla dokularda rezorbsiyon meydana gelir, protezin stabilitesi ve retansiyonu azalır ve okluzal dikey boyut düşer (3). Böyle durumlarda kreterlerdeki rezorbsiyonu kompanse etmek ve çiğneme kuvvetleriyle oluşan enerjiyi absorbe etmek için yumuşak astar materyallerinden faydalanılır (1-3). Yumuşak astar materyalleri, ağırlı ve atrofik mukozalarda proteze bağlı travmatik ülserasyonların meydana geldiği durumlarda (4), obtüratör ve epitez yapımında, implant ve immediate protezlerde (1) protezin dokularla uyumunu artırmak için protezlerin iç yüzeyine uygulanan polimer esaslı materyallerdir (4-7). Bu işlem ile zarar görmüş oral mukozanın iyileştirilip hastanın konforunun artırılması amaçlanmaktadır (1). Yumuşak astar materyalleri esneklik ve yumuşaklık özellikleri ile (8) hareketli protezlere ve atrofiye olmuş dokulara gelen kuvvetlerin dağıtılmasını sağlar (1,7-10), oluşan enerjiyi absorbe eder (7,10,11) ve yastık görevi görerek çiğneme kuvvetlerine bağlı olarak gelişen ağrıyı azaltır (10).

Klinikte uygulanabilen astar materyalleri ile hekimin astarlama işlemini direkt hasta ağızında yapması mümkündür. Yumuşak astar materyalleri kimyasal yapılarına göre plastik akrilik bazlı rezinler, plastik vinil bazlı rezinler, poliüretan bazlı, polifosfazin bazlı ve silikon bazlı materyaller diye sınıflandırılır (2,3,10,12). Piyasada yaygın olarak kullanılan yumuşak astar materyalleri plastik akrilik rezin bazlı ve silikon bazlı materyallerdir (3,10,11,13). Bunların otopolimerize ve ısı ile polimerize olan seçenekleri mevcuttur (3). Ayrıca yumuşak astar materyalleri kullanım sürelerine göre kısa dönem ve uzun dönem yumuşak astar materyalleri olarak sınıflandırılabilir (10,13). Kısa dönem yumuşak astar materyalleri 30 gün ve daha kısa süre kullanılırlar ve cerrahi sonrası doku iyileşme sürecinde kullanımları uygundur. Uzun dönem astar materyalleri 30 günden bir yıla kadar fonksiyon görürler (7,10).

Akrilik esaslı yumuşak astar materyalleri polietil metakrilat (PEMA), monomer ve plastikleştiricilerden oluşur. Silikon esaslı yumuşak astar materyalleri ise genellikle polidimetilsiloksan içeriklidir (7,11). Doku düzenleyici olarak da kullanılabilen yumuşak astar materyalleri ise PEMA ve benzeri polimerlerden ve monomer içermeyen sadece fitalat, plastikleştirici ve alkol içeren likitten oluşur (11). Yumuşak astar materyalinin tükürkle teması sonucunda zamanla materyal içerisindeki plastikleştirici ajanlar ve çözünen bileşenler ortama yayılabilir. Bu duruma bağlı olarak proteze komşu dokularda reaksiyon gelişebilir. Bu reaksiyonlar protez kaide materyallerinden

yayılan rezidüel metil metakrilat monomerine, formaldehite, metil metakrilik asite ve bezoik aside bağlı oluşmaktadır. Protez kullanımına bağlı olarak oral mukozada reaksiyonların oluşması ile araştırmacılar protez kaide materyallerinin biyolojik davranışlarını araştırmaya yönelmiştir. Yumuşak dokuda en yaygın gözlenen reaksiyonlar enflamasyon, erozyon ve mukoza ve dilde yanmadır (12). Histolojik olarak ise protezle temasta olan mukozada dokularda enflamatuvar infiltrasyon ve keratin artışı gözlenir (12). Astar materyalleri içerisindeki etanol ve plastikleştiricilerin materyal yapısından salınması veya materyalin yapısal olarak bozulması çevre ortamdan bir takım maddelerin emilimine neden olur. Bu salınım ve emilim süreci materyalin mekanik, fiziksel ve biyolojik özelliklerini değiştirir. Materyal zamanla sertleşebilir, renk değiştirebilir, hacimsel değişime uğrayabilir ya da sitotoksik özellikleri değişebilir (5).

Toksik materyallerin dokular üzerindeki etkileri hayvan çalışmaları, klinik çalışmalar ve in-vitro olarak hücre kültürleri ile değerlendirilmiştir. Dental materyallerin hücre kültürü yöntemi ile değerlendirilmesi hayvan çalışmalarına kıyasla daha ucuz, kolay ve tekrar edilebilir bir yöntemdir (12). Dental materyallerin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde MTT testi (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide), XTT testi (sodyum 3'-[1-[(fenilamino)-carbonil]-3,4 tetrazolyum]-bis(4-metoksi-6-nitro) benzen-sulfonik asit hidrat) ve H-timidin testi gibi yöntemlerden faydalanılır (14). MTT testi mitokondrial süksinat dehidrojenaz enziminin aktivite miktarının, suda çözünebilir tetrazolyum tuzunun çözünmeyen mavi formazana dönüşüm miktarının spektrofotometre ile belirlenmesi esasına dayanır (14). Pek çok dental materyalin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılır (14).

Dental materyallerin özelliklerinin devamlı olarak güncellenmesi ve geliştirilmesine karşın yumuşak astar materyallerinde aranan özelliklerin hepsini bir arada sağlayabilecek bir yumuşak astar materyalinin piyasaya sunulması henüz mümkün olmamıştır. Bu çalışmada iki farklı PEMA içerikli geçici yumuşak astar materyalinin 1 gün, 2 gün ve 7 gün suda yaşlandırma sonrasında 24 saat, 48 saat, 72 saat hücre inkübasyonunu takiben sitotoksik özelliklerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, iki farklı kısa dönem kullanıma uygun akrilik esaslı (PEMA içerikli) yumuşak astar materyali kullanılmıştır; Bosworth Trusoft (HG Bosworth Company, ABD) (lot no: 1403-116) ve Hydro-Cast (Sultan Healthcare, York, PA, ABD) (lot no:000015683). Kullanılan yumuşak astar materyallerinin içeriği Tablo I'de belirtilmiştir.

Örneklerin hazırlanması

Test örnekleri 5 mm çapında 2 mm kalınlıkta paslanmaz çelik kalıplar kullanılarak ISO (International Organization of Standardization) 10993-5 (15) standardına göre hazırlandı. 81 adet Hydrocast (Grup A) ve 81 adet Bosworth Trusoft (Grup B) örnek hazırlandı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda uygun miktarda toz ve likit karışımı (Hydrocast için 1 ölçek likit, 1 ölçek toz, Bosworth Trusoft için 1 ölçek likit, 1 ölçek toz) kalıba dolduruldu ve kalıbın üzerine bir siman camı ile bastırılarak fazla yumuşak astar materyalinin uzaklaştırılması ve standart bir örnek kalınlığı elde edilmesi sağlandı. Örnekler oda sıcaklığında polimerize olduktan sonra örnek kenarlarında kalan fazlalıklar bir makas yardımı ile uzaklaştırıldı.

Her yumuşak astar materyali 3 gruba ayrıldı.

Grup AI ve Grup BI: Bu gruplardaki örnekler 1 gün 37°C distile suda bekletildi.

Grup AII ve Grup BII: Bu gruplardaki örnekler 2 gün 37°C distile suda bekletildi.

Grup AIII ve Grup BIII: Bu gruplardaki örnekler 7 gün 37°C distile suda bekletildi.

Hücre Kültürü

Hücre canlılığı (Immuno Biotech, ABD) MTT testi ile belirlendi. Bu çalışmada, dondurulmuş hücre hattından elde edilen L-929 fare fibroblast hücreleri kullanılmıştır. Besi yeri; Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Biochrom AG, Almanya) (DMEM), % 10 fetal sığır serumu (FBS) (fetal bovine serum, Biochrom AG, Almanya) ve %0,2 penisilin/

streptomisin ilave edilerek hazırlandı. Doku kültür kabının ağzı hafif açılarak %5 lik CO₂ atmosferde 37°C de inkübatöre hücrelerin üremesi için konularak L-929 fare fibroblastları için hücre kültürü elde edildi. Daha sonra 96'lık doku kültür kabının (100 µL) her bir kuyucuğuna 4 × 10⁴ gelecek şekilde hücrelerin ekimi yapıldı. Bir hafta sonunda hücre morfolojisi inverted mikroskop (IX70 Olympus, Japonya) kullanılarak hücrelerin flask tabanını kaplayıp kaplamadıkları ve sağlıklı bir şekilde üremeleri kontrol edildi. Deney için hazırlanan örnekler bakteriyel kontaminasyonu önlemek için 15 dakika 121° C otoklavda (Charisma vacuum TD, Mediline İtalya, Cavriago, İtalya) sterilize edildi. Kuluçka döneminin ardından 24, 48 ve 72 saat sonra MTT reaktifinden 10 ml eklendi, 4 saat inkübasyon süresinden sonra 100 ml çözücü MTT solüsyonundan eklendi. (n=9) Ortamda bulunan canlı hücre sayısı 560 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazı ile (EZ Read 400 Microplate reader, Biochrom, UK) hücre canlılık değerleri okundu. Tespit edilen değerler aşağıdaki denklem ile % olarak hesaplandı. Pozitif kontrol değerleri %100 olarak kabul edildi.

(Test örneklerine ait değerlerin ortalaması/ pozitif kontrol değerlerinin ortalaması)x100

İstatistiksel analiz

Elde edilen hücre kültürü bulgularından yararlanılarak kontrol grubu ve hücre kültüründe test edilen Hydrocast ve Trusoft kaide materyallerinin çeşitli periyotlarda suda bekletme değerlerine göre; 24 saat, 48 saat ve 72 saat inkübasyon sürelerine ait tüm örnekler sitotoksitesite yönünden değerlendirildi. Verilerin analizinde SPSS

Tablo I: Çalışmada kullanılan materyallerin içeriği.

Materyal	Firma	İçerik
Hydrocast	HG Bosworth Company, ABD	Toz: Polietil metakrilat Likit: Butil benzil fitalat, etanol, aseton
Bosworth Trusoft	Sultan Healthcare, York, PA, ABD	Toz: Polietil metakrilat, kadmiyum pigmentleri Likit: Dibutil fitalat, etil alkol

Tablo II: Hücre canlılık yüzdeleri ve standart sapma değerleri.

Test Grupları	24 Saat Hücre İnkübasyonu	48 Saat Hücre İnkübasyonu	72 Saat Hücre İnkübasyonu
Grup AI	59,54 (9,41) a	90,06 (6,62) a	101,81 (6,81)
Grup AII	95,79 (12,34) b	91,18 (5,44) a	121,39 (7,05)
Grup AIII	72,29 (13,08) ab	91,21 (5,59) a	111,08 (6,28)
Grup BI	80,63 (13,53) ab	93,65 (6,17) a	110,15 (9,60)
Grup BII	95,88 (15,07) b	144,57 (15,12) b	118,19 (16,31)
Grup BIII	69,62 (12,58) a	87,97 (6,04) a	120,68 (12,39)

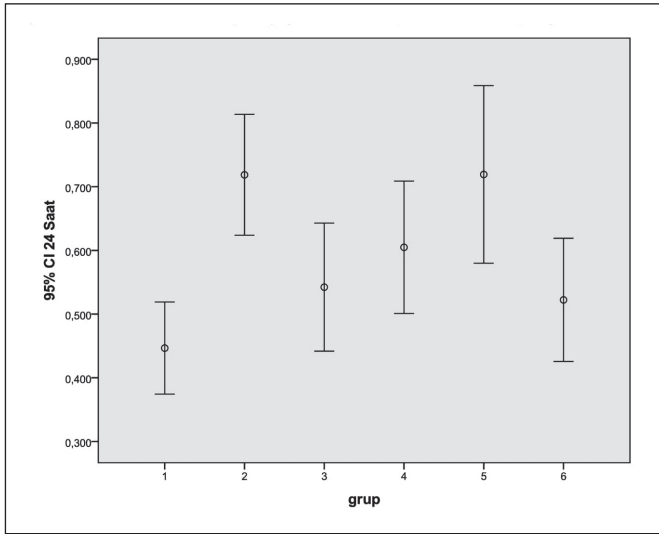
*Farklı harflerin bulunduğu ortalamalar, ANOVA (One-way) testine göre p<0,05 için farklıdır.

18.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) programı kullanıldı. Verilerin normalliği Shapiro-Wilk Testi ile test edildi ($p>0,01$). Gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkların tespiti için ANOVA (One-Way) testi kullanıldı ($p<0,05$). İstatistiksel fark gözlenen 24 Saat için Tukey HSD çoklu karşılaştırma analizi yapıldı. 48 saat için ise Tamhane çoklu karşılaştırma analizi yapıldı.

BULGULAR

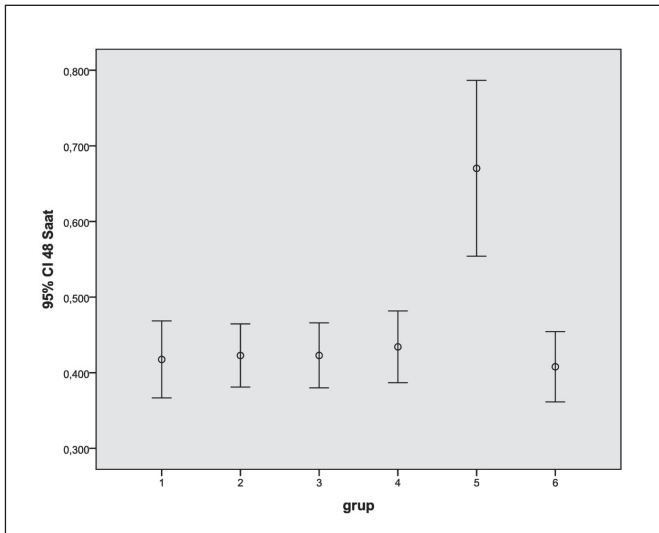
L929 fare fibroblast hücreleri kullanılarak gerçekleştirilen sitotoksikite testinin sonuçları Tablo II'de verilmiştir.

24 saat ve 48 saat hücre inkübasyonu yapılan örneklerde gruplar arasında istatistiksel farklılıklar gözlenirken ($p<0,05$), 72 saat hücre inkübasyonu yapılan örneklerde



Şekil 1: 24 saat hücre inkübasyonu yapılan örnekler için hücre canlılık grafiği.

*Yatay olarak çakışmayan değerler istatistiksel olarak farklıdır.



Şekil 2: 48 saat hücre inkübasyonu yapılan örnekler için hücre canlılık grafiği.

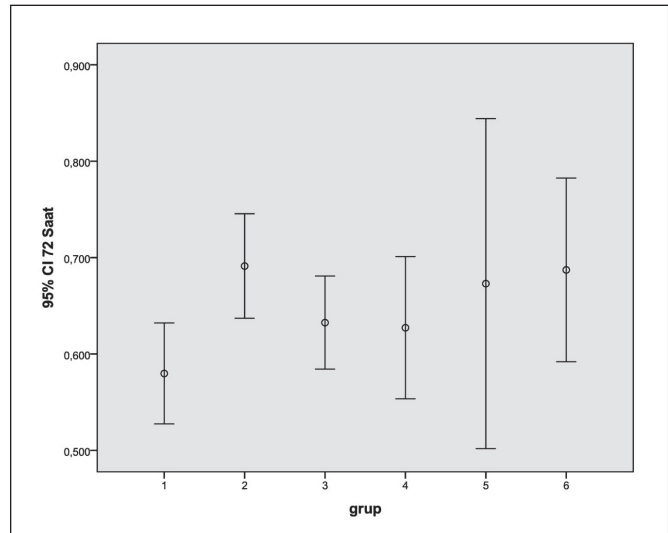
*Yatay olarak çakışmayan değerler istatistiksel olarak farklıdır.

gruplar arasında istatistiksel farklılık gözlenmedi ($p<0,05$) (Şekil 1-3). 1 gün suda bekletilen Hydrocast ve Trusoft örneklerde ise; tüm hücre inkübasyon periyotlarını takiben hücre canlılık yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p<0,05$). 2 gün suda bekletilen Hydrocast ve Trusoft örneklerde 24 saat ve 72 saat hücre inkübasyon periyotlarını takiben hücre canlılık yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmezken ($p<0,05$), 48 saat hücre inkübasyonu sonrasında ise Trusoft örneklerde istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek hücre canlılık değeri gözlemlendi ($p<0,05$). 7 gün suda bekletilen Hydrocast ve Trusoft örneklerin bütün hücre inkübasyon periyotlarını hücre canlılık yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p<0,05$).

Sonuçlar aynı zamanda ISO standartlarına 10993-5 göre değerlendirildi. ISO standartlarına göre hücre canlılığı %75 den fazla ise materyal sitotoksik kabul edilmemiştir. Hücre canlılığı %50-75 arasında ise materyal çok az sitotoksik, %25-50 arasında ise kısmen sitotoksik, <%25 ise yüksek oranda sitotoksik olarak kabul edilmiştir (12,15). 24 saatlik inkübasyon periyodunda 1 gün ve 7 gün suda bekletilen Hydro-cast örnekler ve 7 gün suda bekletilen Trusoft örnekler çok az sitotoksik çıkarken diğer gruplar sitotoksik özellik göstermemiştir.

TARTIŞMA

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin toksik ve biyolojik özellikleri klinikte kullanılmaları nedeni ile önem arz etmektedir (12). Yumuşak astar materyalleri ülsere dokularda ya da dokuların iyileşme sürecinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Yumuşak astar materyalleri oral kavitede polimer ve materyal yapısındaki bileşenlerin yayılımına sebep olan birçok etkene maruz kalırlar (11).



Şekil 3: 72 saat hücre inkübasyonu yapılan örnekler için hücre canlılık grafiği.

*Yatay olarak çakışmayan değerler istatistiksel olarak farklıdır.

Astar materyallerindeki artık monomerlerin çözünmesi hem materyalin mekanik özelliklerini olumsuz etkiler hem de oral dokuları irrite eder (16). Buna karşın yumuşak astar materyallerinden salınan bileşenlerin lokal hücrelerin ve dokuların fizyolojik süreci üzerindeki etkilerini inceleyen literatürler sınırlı sayıdadır (11,17). Bu çalışmada, iki farklı yumuşak astar materyali; hücre kültürü ortamında L929 fare fibroblast hücre dizileri kullanılarak, MTT test yöntemiyle değerlendirilmiştir.

Dental materyallerin biyouyumluluğunu değerlendiren çalışmalarda yaygın olarak hücre kültür testleri (18-20) ve hayvan deneyleri kullanılmaktadır (19,20). Hücre kültürü ile yapılan sitotoksisite çalışmaları hayvan deneylerine kıyasla; daha iyi standardize edilebilmektedir (19,20). Ancak çalışmalarda kullanılan hücre kültürlerinin birbirinden farklı olması, test metodlarının farklılığı, hücreler ile materyalin temasta kalma sürelerinin değişmesi nedeniyle sonuçları birbiri ile karşılaştırmak pek mümkün değildir (21).

MTT testi kolay uygulanabilmesi nedeni ile yaygın olarak tercih edilir (17). MTT ; biyouyumluluk testleri içerisinde hızlı, hassas ve güvenilir testlerden biri olarak kabul edilmektedir (22). Uygulanması sırasında herhangi bir radyoaktif atık oluşmaz ve bu yöntem ile elde edilen sonuçlar fazla varyasyon göstermez (23). Bu avantajları nedeni ile bu çalışmada kullanılan yumuşak astar materyallerinin sitotoksisitesi MTT testi ile değerlendirilmiştir.

Yumuşak astar materyalleri hem epitelyal doku ile ve hem de açığa çıkmış konnektif doku hücreleri ile temas halinde olabilir (11). Dokuda herhangi bir ülserasyon olmasa dahi epitel doku ile temasta olan akrilik rezinin yapısındaki monomerlerin alttaki konnektif dokuya penetrasyonu kaçınılmazdır. Fibroblastlar gingival konnektif dokuda baskın olan hücrelerdir (17). Bu nedenle fare fibroblast hücreleri (L929) materyal etkilerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan hücrelerdir (11). Devamlı hücre dizilerinden olan 3T3 ve L929 fare fibroblast hücreleri dental malzemelerin biyouyumluluk çalışmalarında kullanılmak üzere uluslararası standartlar tarafından önerilmekte ve uzun yıllardır kullanılmaktadır (24,25). Thonemann ve ark da L-929 fare fibroblastlarının insan gingival fibroblast hücrelerine göre daha hassas olduğunu bildirmişlerdir (26). Bu nedenlerden dolayı çalışmada kullanılan yumuşak astar materyallerinin sitotoksisitenin değerlendirilmesi için fare fibroblast hücreleri (L929 hücreleri) kullanıldı.

Reziliant akrilik bazlı yumuşak astar materyalleri genellikle aromatik ester ve etanol içeren likit ile yüksek molekül ağırlıklı polimerlerin karıştırılması ile uygulanan otopolimerize materyallerdir (13). Yumuşak astarların içeriğine fitalat ilave edilerek materyale esneklik kazandırılması, uzama kabiliyetinin artırılması ve materyalin çalışma özelli-

rinin geliştirilmesi amaçlanmıştır (10,13). Yumuşak astar materyallerinin içeriğindeki bileşenlerin düşük toksik özellik gösterdiği ya da toksik olmadığı bildirilse de fitalat gibi potansiyel olarak toksik bileşenler doğurganlığı azaltmak, ksenoöstrojen gibi davranmak, hormonal tümörleri tetiklemek ve fetal malformasyonlara neden olmak gibi bir takım biyolojik etkilere neden olabilir (13).

Otopolimerize akrilik bazlı materyallerde kimyasal aktivatör içeriğine bağlı olarak daha az dönüşüm gözlemlendiğinden artık monomer miktarı daha fazladır (13). Serbest radikal polimerizasyonu sırasında monomer polimer dönüşümü tam olarak gerçekleşmez (13,18). Bu nedenle akrilik materyaller artık monomer içerir ve artık monomer salınımına neden olurlar (13). Polimer matrisinde bulunan artık monomerler materyalin mekanik özelliklerini olumsuz etkiler (18) ve çevre ortama yayılarak kimyasal irritasyon, aşırı duyarlılık, mukoza inflamasyonu, vezikül ve ülser oluşumu, yanma ve sistemik alerjik reaksiyonları içeren biyolojik tepkilere neden olur (18,23). Fitalat gibi plastikleştiricilerin ve artık monomerlerin salınımı hücreler üzerinde direkt sitotoksik etki oluşturabilir (13).

Otopolimerize rezinlerin polimerizasyonu mukoza ile direkt temasta iken gerçekleşir ve materyal hasta ağızda polimerize olduğu için yüksek miktarda artık monomer içeriği açığa çıkar (13,18). Astar materyallerinin direkt olarak ağızda uygulanmasına bağlı olarak dokularda akut ülserasyonlar gelişebildiği bildirilmiştir (23). Çevre ortama salınan artık monomer miktarı materyaldeki artık monomer içeriğine bağlıdır. Materyal içeriğindeki artık monomerin elüsyonu rezin materyallere bağlı gelişen toksik sonuçlar nedeni ile araştırmacıların oldukça ilgisini çekmiştir. Materyal içeriğindeki artık monomer miktarını azaltacak polimerizasyon sonrası işlemlerin geliştirilmesi önem kazanmıştır (18). Artık monomerlerin çevre dokulara salınımını engellemek için sıcak suda bekletme (17,18) ya da mikrodalga ile ışınlama (18) gibi polimerizasyon sonrası uygulanan yöntemlerinden faydalanılmaktadır. Bu yöntemlere ilaveten etanol içeren solüsyonlar da polimerizasyon sonrasında artık monomer içeriğini azaltmak için kullanılmıştır (18). Bu işlemler artık monomer içeriğini düşürerek çevre dokulara artık monomer salınımını azaltmaktadır (13,18). Böylece rezin materyalin sitotoksisitesi azalmış ve daha biyouyumlu hale gelmiş olur (13). Çalışmalarda 60 dk. (13) veya 10 dk. (23) 55 °C'de suda bekletmenin akrilik rezinlerin sitotoksisitesini azalttığı bildirilmiştir (13). Buna karşın Tay ve ark. (12) 5 farklı yumuşak astar materyalinin sitotoksik özelliklerini 24 saat ve 48 saat 37°C suda bekletme ve 10 dk. 55 °C'de suda bekletme sonrasında kıyasladıkları çalışmada sıcak suda bekletme işleminin kullanılan yumuşak astar materyallerin sitotoksik etkisini azaltmadığını bildirmiştir. Yine aynı çalışmada Trusoft'un 24 saat ve 48 saat 37°C suda bekletme

sonrasındaki hücre canlılık değerleri 64,7 ve 65,4 olarak verilmiştir ve bu değerler bu çalışmada elde edilen hücre canlılık değerlerine (80,63-95,88) kıyasla oldukça düşüktür. Bu farklılık Tay ve ark.nın çalışmasında sitotoksitenin H-timidin testi ile değerlendirilmesinden kaynaklı olabilir. Rezin içerikli materyallerin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde H-timidin testinin MTT testine kıyasla daha hassas olduğu bildirilmiştir (23). Chaves ve ark. (23) MTT ve H-timidin testlerini kullanarak sert astar materyallerinin sitotoksitesini kıyasladıkları çalışmada, H-timidin testi ile MTT'ye kıyasla daha düşük hücre canlılık değerleri elde edildiğini bildirmiştir.

Bu çalışmada, tüm gruplarda 24 saat hücre inkübasyonu sonucunda genellikle en az hücre canlılık oranları gözlenmiştir. Bu akut enflamatuvar cevap olarak düşünülebilir ve hücre kültüründeki fibroblastların ilk andaki adaptasyon süreci ile açıklanabilir (17). 48 saat ve 72 saat hücre inkübasyonu sonucunda genellikle tüm gruplarda 24 saat hücre inkübasyonuna kıyasla daha fazla hücre canlılığı gözlenmiştir. Bu da akut enflamatuvar cevabın zamanla kronik faza dönüştüğünü düşündürmektedir. Sheridan ve ark. (27) akrilik rezinlerin sitotoksik etkisinin ilk 24 saat içerisinde daha fazla olduğunu ve zamanla azaldığını bildirmiştir. Bu çalışmada 72 saat hücre inkübasyonu sonrasında tüm gruplardaki hücre canlılık oranlarının benzer olması bu görüşü desteklemektedir.

Bu çalışmada, sadece iki tane akrilik esash yumuşak astar materyalinin sitotoksitesi değerlendirilmiştir. Piyasada yaygın olarak kullanılan çok çeşitli formülasyonlarda akrilik ve silikon esash yumuşak astar materyalleri mevcuttur. Kullanılan yumuşak astar çeşidinin az olması bu çalışmanın bir limitasyonu olarak kabul edilebilir. Bu çalışmada kullanılan astar materyalleri en uzun 7 gün 37°C'de suda bekletilmiştir fakat birçok olguda astar materyallerinin daha uzun süre kullanılması gerekmektedir. Bu nedenle daha uzun süre suda yaşlandırma sonrasında yumuşak astar materyallerinin sitotoksik özelliklerinin değerlendirildiği çalışmaların yapılması faydalı olacaktır. Termal siklus ile uygulanmaması da bu çalışmanın bir limitasyonudur. Kullanılan materyallerin sitotoksitesi in vitro olarak MTT hücre kültürü ile değerlendirilmiştir. İn-vivo şartların in vitro olarak taklit edilebilmesi tam anlamı ile mümkün değildir. Bu nedenle in-vivo çalışmalara da ihtiyaç vardır.

SONUÇ

1 gün ve 7 gün suda bekletilen Hydro-cast örnekler ve 7 gün suda bekletilen Trusoft örnekler 24 saat hücre inkübasyonunu takiben çok az sitotoksik özellik göstermiştir. Diğer gruplar sitotoksik özellik göstermemiştir. Sitotoksiteyi değerlendirirken kullanılan hücre inkübasyon süreleri elde edilen hücre canlılık oranları üzerinde etkilidir.

KAYNAKLAR

1. Akşit KS, Mandalı G, Gürbüz Ö. Protetik tedavide bir yumuşak astar maddesi; Molloplast-B. Atatürk Üniv Diş Hek Fak 2012; 5: 113-22.
2. Lau M, Amarnath GS, Muddugangadhar BC, Swetha MU, Das KA. Tensile and shear bond strength of hard and soft denture relining materials to the conventional heat cured acrylic denture base resin: An In-vitro study. J Int Oral Health 2014;6: 55-61.
3. Kim BJ, Yang HS, Chun MG, Park YJ. Shore hardness and tensile bond strength of long-term soft denture lining materials. J Prosthet Dent 2014;112: 1289-97.
4. Atay A, Saraçlı MA, Akyl MŞ, Tukay A, Oruç S. Candida Albicans' in yumuşak astar maddelerine olan adezyonunun modifiye bir teknikle in-vitro değerlendirilmesi. Hacettepe Diş Hek Fak Derg 2007; 31: 74-8.
5. Atay A, Bozok Çetintaş V, Çal E, Kosova B, Kesercioglu A, Guneri P. Cytotoxicity of hard and soft denture lining materials. Dent Mater J 2012; 31: 1082-6.
6. Mancuso DN, Goiato MC, Zuccolotti BCR, Moreno A, dos Santos DM, Pesqueira AA. Effect of thermocycling on hardness, absorption, solubility and colour change of soft liners. Gerodontology 2012; 29: e215-9.
7. Ergün G, Çekiç Nagaş I. In vitro color stability of soft denture liners after accelerated aging. Hacettepe Diş Hek Fak Derg 2007; 31: 65-73.
8. Yerliyurt K, Nalbant D, Kuştımur S. İki farklı akrilik esash yumuşak astar maddesinin zamana bağlı olarak yüzeylerinden izole edilen candida albicans hücrelerinde ALS1 adezyon geninin ekspresyonundaki değişimin incelenmesi. Gaziosmanpaşa Üniv Tıp Fak Derg 2012; 4: 7-20.
9. Doğan OM. Yumuşak astar materyallerin klinik endikasyonları. Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg 2005;15: 70-5.
10. Bail M, Jorge JH, Urban VM, Campanha NH. Surface roughness of acrylic and silicone based soft liners: In vivo study in a rat model. J Prosthodont 2014;23: 146-51.

11. Chaves CA, Vergani CE, Thomas D, Young A, Costa CA, Salih VM, Machado AL. Biological effects of soft denture reline materials on L929 cells in vitro. *J Tissue Eng* 2014;5: 1-8.
12. Tay LY, Herrera DR, Quishida CCC, Carlos IZ, Joge JH. Effect of water storage and heat treatment on the cytotoxicity of soft liners. *Gerodontology* 2012; 29: 275-80.
13. Bail M, Meister LMB, Campagnoli EB, Jorge JH, Ban MDCI, Sanchez-Ayala A, Campanha NH. Histopathological changes by the use of soft reline materials: A rat model study. *PloS One* 2014; 9: e100293.
14. de Andrade Lima Chaves C, Machado AL, Vergani CE, de Souza RF, Giampaolo ET. Cytotoxicity of denture base and hard chairside reline materials: A systematic review. *J Prosthet Dent* 2012; 107: 114-27.
15. ISO 10993-5: Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity, 2009. http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=36406. Accessed 27.05.2016.
16. Okuyama Y, Shiraishi T, Yoshida K, Kurogi T, Watanabe I, Murata H. Influence of composition and powder/liquid ratio on setting characteristics and mechanical properties of autopolymerized hard direct denture reline resins based on methyl methacrylate and ethylene glycol dimethacrylate. *Dent Mater J* 2014;33: 522-9.
17. Saravi ME, Vojdani M, Bahrani F. Evaluation of cellular toxicity of three denture base acrylic resins. *J Dent (Tehran)*. 2012; 9: 180-8.
18. Neves CB, Lopes LP, Ferrão HF, Miranda JP, Castro MF, Bettencourt AF. Ethanol postpolymerization treatment for improving the biocompatibility of acrylic reline resins. *BioMed Res Int* 2013; <http://dx.doi.org/10.1155/2013/485246> 9 pp.
19. Murray PE, Garcia Godoy C, Garcia Godoy F. How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? *Med Oral Patol Oral Cir Buccal* 2007; 12: E258-66.
20. Demirci T, Gürbüz T, Şengül F. Dental rezin kompozitlerin sitotoksitesisi: Bir in vitro. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg* 2014;24: 10-5.
21. Bala O, Arısu HD, Türköz E, Yılmaz Ş. Farklı polimerizasyon şekillerinin ormoser esaslı rezin restoratif materyalin sitotoksitesisi üzerine etkisi, in vitro. *GÜ Diş Hek Fak Derg* 2008; 25: 31-7.
22. Kılıç K, Kesim B, Sümer Z, Polat Z, Öztürk A. Tam seramik materyallerinin biyouyumluluğunun MTT testi ile incelenmesi. *Sağlık Bilimleri Derg* 2010; 19: 125-32.
23. Chaves CA, Machado AL, Carlos IZ, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE. Cytotoxicity of monomers, plasticizer and degradation by-products released from dental hard chairside reline resins. *Dent Mater* 2010;26: 1017-23.
24. International Organization for Standardization, ISO7405: Dentistry-Preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry- Test methods for dental materials. Geneva: 1997.
25. Ülker HE, Ülker M, Yalçın M, Dündar A. Fissür örtücülerin in vitro sitotoksitesisi. *Acta Odontol Turc* 2014;31: 7-12.
26. Thonemann B, Schmalz G, Hiller KA, Schweikl H. Responses of L929 mouse fibroblasts, primary and immortalized bovine dental papilla-derived cell lines to dental resin components. *Dent Mater* 2002;18: 318-23.
27. Sheridan PJ, Ewoldsen NO, Lefebvre CA, Lavin MT. Cytotoxicity of denture base resins. *Int J Prosthodont* 1997; 10: 73-7.