

KOMPOZİT MATERYALLERİN GİNGİVAL FİBROBLAST HÜCRELER ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİSİTESİ (DENEYSEL ARAŞTIRMA)

CYTOTOXICITY OF COMPOSITE MATERIALS ON GINGIVAL FIBROBLAST CELLS (EXPERIMENTAL RESEARCH)

Doç. Dr. Hakan KAMALAK*

Uzm.Dt. Elif OK**

Dr. Öğr. Üyesi Ali TAGHIZADEHGHALEHJOUGHİ***

Makale Kodu/Article code: 4341

Makale Gönderilme tarihi: 09.03.2020

Kabul Tarihi: 04.11.2020

DOI : 10.17567/ataunidfd.821008

Hakan Kamalak: ORCID ID: 0000-0002-1497-2009

Elif Ok: ORCID ID: 0000-0002-8574-9883

Ali Taghizadehghalehjouhi: ORCID ID: 0000-0002-3506-0324

ÖZ

Amaç: Flow sitometri tekniği süspansiyon halindeki hücrelerin lazer ışığı ile aydınlatılmış olan bir bölmeden geçirilip hücrelerin canlılığının tespit edilmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu çalışmada rezin içerikli kompozit materyallerin gingival fibroblast hücrelerinde meydana getirdiği hücre canlılık değerlerindeki, apoptotik ve nekrotik değişim oranlarındaki değişimin flow sitometri tekniği ile tespit edilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 6 farklı yeni nesil kompozit materyali (X-tra Fill (Voco-Almanya), G-ænial Posterior(GC Tokyo Japonya), Estelite Sigma Quick(Tokuyama-Japonya) , Grandio (Voco-Almanya), Arabesk (Voco-Almanya) Polofil Supra (Voco-Almanya) kullanıldı. Her materyal için örnek sayısı 12 olarak belirlendi (n=12). Örnekler teflon kalıplar kullanılarak hazırlandı. GFBCs'lerin 72 saat süreyle örneklerle teması sonucu hücrelerde meydana gelen hücre canlılık yüzdeleri, apoptoz ve nekroz yüzdeleri flow sitometre analizleriyle değerlendirildi. Verilerin analizinde, değişkenlerin kontrol grubu ile olan etkileşimlerini tespit etmek için tek yönlü ve iki yönlü varyans analiz (ANOVA) yöntemi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık p<0.05 ve p<0.001 seviyelerinde değerlendirildi.

Bulgular: Kontrol grubunda nekroz ve apoptozis oranı sırasıyla % 3.57 ve % 0 olarak bulundu. En düşük hücre canlılık oranları GA ve ES' de (% 77,94 ve % 78,03) bulundu. Materyal gruplarında GA grubu haricinde diğer gruplarda erken ve geç apoptozis görüldü. Hücrelere uygulanan materyallerin toksik etkisinin farklı olduğu tespit edildi.

Sonuç: Tüm gruplarda hücre canlılığında azalma, apoptozis ve nekroz görüldü. Çalışmada kullanılan materyallerin yeni jenerasyon dolgu maddeleri olmasına rağmen hücrelerde toksik etkiye neden olduğu görüldü. Bu materyallerin biyouyumluluğunun geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kompozit, Gingival Fibroblast, Flow Sitometre, Apoptoz, Nekroz

ABSTRACT

Aim: Flow cytometry technique appears to play an important role in determining the viability of cells by passing through a chamber illuminated by laser light. In this study, it was aimed to determine the change in cell viability values, apoptotic and necrotic change rates caused by resin-containing composite materials in gingival fibroblast cells by flow cytometry technique.

Materials and Methods: Six different composite materials were used in the study. (X-tra Fill (Voco-Germany), G-ænial Posterior (GC Tokyo Japan), Estelite Sigma Quick (Tokuyama-Japan), Grandio (Voco-Germany), Arabesque (Voco-Germany) Polofil Supra (Voco-Germany). The number of samples for each material was 12. (n = 12) Samples were prepared using teflon molds. Cell viability percentages, apoptosis and necrosis percentages were evaluated by flow cytometry analysis of cells in contact with GFBCs during 72 hours. In the analysis of the data, one-way and two-way analysis of variance (ANOVA) method was used to determine the interactions of variables with the control group. Statistical significance was assessed at p <0.05 and p <0.001.

Results: The rate of necrosis and apoptosis in the control group was 3.57% and 0%, respectively. The lowest cell viability rates were found in GA and ES (77.94% and 78.03%). In groups other than GA group, early and late apoptosis were seen in the material groups. The toxic effect of the materials applied to the cells was different.

Conclusion: All groups had decreased cell viability, apoptosis and necrosis. Although the materials used in the study were new generation fillers, they caused toxic effects on the cells. There is a need to improve the biocompatibility of these materials.

Keywords: Composite, Gingival Fibroblast, Flow Cytometer, Apoptosis, Necrosis

* Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Kahramanmaraş

**Doğudent Ağız ve Diş Sağlığı Polikliniği, İstanbul

***Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Erzurum

Kaynakça Bilgisi: Kamalak H, Ok E, Taghizadehghalehjouhi A. Kompozit Materyallerin Gingival Fibroblast Hücreler Üzerindeki Sitotoksitesisi (Deneyisel Araştırma). Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg 2021; 31: 65-70.

Citation Information: Kamalak H, Ok E, Taghizadehghalehjouhi A. Cytotoxicity of Composite Materials on Gingival Fibroblast Cells (Experimental Research). J Dent Fac Atatürk Uni 2021; 31: 65-70.



GİRİŞ

Rezin esaslı kompozit materyaller modern diş hekimliğinde daha iyi estetik ve fonasyonun sağlanması amacıyla yaygın olarak kullanılan diş rengindeki biyomateryallerdir.

Rezin esaslı kompozit materyalleri özelliklerine göre farklı konsantrasyonlarda monomer ve polimerler içermektedir. Bu monomerler ve polimerler genellikle bisfenol glisidil metakrilat (Bis-GMA), ürethan dimetakrilat (UDMA), hidroksi etil metakrilat (HEMA) ve trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA) gibi visküz veya vizküz olmayan bileşikler içermektedir¹⁻³.

Rezin esaslı materyallerin sertleştirilmesi, polimerizasyonu mavi ışık yayan led diyotlarla aktive edilmektedir. Bu aktivasyon süresi sonrasında materyallerin içerisindeki monomerlerin polimerlere dönüşmesi beklenmektedir. Ancak polimerizasyon sonrasında metakrilat türevli monomerlerinin %10-50 oranlarda reaksiyona girmediği ve buna bağlı olarak sertleşmiş kompozit materyali içerisinde artık monomerlerin kaldığı görülmektedir^{4,5}. Bu artık monomerler diş pulpa hücreleri ve ilişkide bulunduğu yumuşak dokulardaki gingival fibroblast hücrelerinin üzerinde toksik etkiye sahiptir⁶.

Materyallerin toksisitesinin tespitinde hücrelerin veya biyolojik partiküllerinin fiziksel ya da kimyasal karakterlerini ölçme esasına dayanan flow sitometre analiz tekniği ile materyallerin biyouyumluluğu değerlendirilmektedir. Rezin içerikli kompozit materyalleri gingival fibroblast hücrelerinin hücre canlılığını azaltır, ayrıca apoptozis ve nekroza neden olur. Böylece bu in vitro çalışmada yeni jenerasyon kompozit materyallerin gingival fibroblast hücrelerinde oluşturdukları toksik etki değerlendirildi. Rezin içerikli kompozit materyalleri gingival fibroblast hücrelerinin hücre canlılığını azaltır, ayrıca apoptozis ve nekroza neden olur.

GEREÇ VE YÖNTEM

Örneklerin hazırlanması

Bu deneysel çalışmada 6 farklı rezin içerikli kompozit materyali kullanıldı. Çalışmada kullanılan materyallere ait bilgiler Tablo 1'de gösterildi. Power analizi sonucunda numune sayısı her grup için 12 olarak belirlendi (n=12). Kaviteye 2 mm kalınlığında uygulanabilen materyaller için 2 mm yüksekliğinde, 6 mm çapında kalıplar, kaviteye 4 mm kalınlığında uygulanabilen bulk fill kompozitler içinse 4 mm yüksekliğinde, 6 mm çapındaki standart teflon kalıplar

kullanıldı. Teflon blokların içerisine materyaller yerleştirildikten sonra şeffaf bantlar ve siman camları kullanılarak yüzeyleri düzleştirildi. Numuneler, LED ışık cihazıyla (Elipar Freelight II, 3M-ESPE, St.Paul, MN, ABD) 400-500 nm dalga boyu aralığında, 20/40 sn süreyle üretici firmaların talimatlarında belirtildiği şekillerde polimerize edildi. Sertleştirme işlemi tamamlandıktan sonra örneklerin kenarları ve yüzeyleri polisaj diskleri (Soft-Lex; 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) ile zımparalanarak pürüzsüz hale getirildi.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan kompozit materyaller

Materya adı	Üretici firma	Materyal tipi	Matriks tipi	Doldurucu içeriği	Doldurucu yüzdesi
X-tra Fill (XF)	Voco Almanya	Bulk Fill Kompozit	BisGMA, UDMA, TEGDMA	Zirkonya, silika parçacıkları İterium trifluoride	86
G-ænia Posteriori (GA)	GC Tokyoc Japonya	Nanohibrit kompozit	UDMA, Dimetakrilat ko-monomerleri	Fluroalümin silikat partikülleri	65
Estelite Sigma Quick (ES)	Tokuyama Japonya	Supra-Nanohibrit kompozit	BisGMA,TEGDMA	Küresel silika, zirkonyum partikülleri	82
Grandio (GO)	Voco Almanya	Nanohibrit kompozit	BisGMA, TEGDMA	Cam seramik partikülleri	87
Arabesk (AB)	Voco Almanya	Mikrohibrit kompozit	Bis-GMA, UDMA, TEGDMA, EGDMA	Cam seramik partikülleri	76,5
Polofil Supra (PS)	Voco Almanya	Mikrohibrit kompozit	Bis-GMA, Di ürethan di metakrilat, BHT, HEMA, UDMA	Silika cam partikülleri	76,5

Hücre Kültürünün Hazırlanması Gingival Fibroblast Kök Hücrelerin (GFBCs) Hazırlanması

Gingival Fibroblast Kök Hücreler Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu firmasından (Kodu: PCS-201-018) tedarik edildi. Hücreler firmanın prosedürüne göre işleme alındı. kısaca krayo falkonlarda gelen hücreler çözüldükten sonra taze mediyuma (low glucose DMEM/f12 (Dulbecco's Modified Eagle's), %10 FBS (Fetal Bovine Serum), %1 antibiyotik (pensilin-streptomisin-amfotrisin B içeren) ilave edilerek 25 cm² flaska ekildi. Her 3 günde bir taze medyum (besi ortamı) ilave edildi bu işlem hücrelerin yeterli olgunluğa ulaşmaya kadar tekrarlandı. Hücreler flaskın %80'ini kaplayınca Tripsin/EDTA yardımı ile hücreler kaldırılır. Tripsin/EDTA enziminin aktivitesini sonlandırmak amacıyla tüpe alınan hücrelere 1:1 oranında Fetal Siğir Serumumu (FBS, Gibco Invitrogen, Karlsruhe, Almanya) ilave edildi. Hücreler 1200 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlenerek tüpün dibine çöktürülmesi sağlandı. Üst sıvı atıldıktan sonra yeni mediyumla karıştırılan



hücreler 24 kuyucuklu plakalara (100 µl hacminde kuyucuk başına 1×10^5 hücrenin geleceği şekil de) ekildi. Plakalar 37° C'de %5 CO₂ içeren nemli ortamda inkübe edilerek deney yapılması düşünülen güne kadar muhafaza edildi.

Örneklerin Hücre kültür işlemi için hazırlanması

Materyallerin yerleştirileceği 24 kuyucuklu plakalar 4 saat boyunca UV ışını altında steril edildi. Deneye hazır olan hücrelerin bulunduğu plaklara dış materyaller dikkatli şekilde hücrelerle doğrudan temas edecek biçimde yerleştirildi ve 37 °C'de ve %5 CO₂ içeren inkübatörde 72 saat inkübasyon süresi sonunda analizler yapıldı.

Annexin V-FITC (floresin izotiyosiyanat) ve propidyum iyodür (PI) boyama analizi

Deney firma (Biovision, ABD) protokolüne göre yapılmıştır. Hücrelere pasaj işlemi uygulanarak her grup kendi tüpü içerisinde santrifüj (12,000 g, 5 dk) yardımıyla çöktürüldü. Hücreler fosfat tamponlu tuz çözeltisi ile yıkandıktan sonra ve 500 uL bağlama tamponu eklendi. Hücrelere oda sıcaklığında 10 dakika boyunca karanlıkta annexin v-FITC ve PI eklendi. Boyanan örnekler daha sonra üretici firma talimatları (Beckman Coulter, ABD) doğrultusunda tarafından belirtildiği gibi bir CytoFLEX akış sitometresinde analiz edildi.

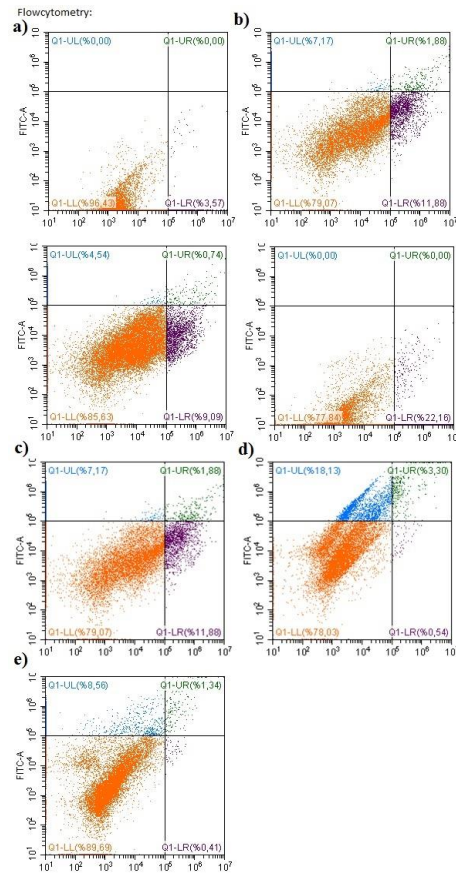
İstatistiksel Analiz

Numune sayısının belirlenmesinde power analizinden faydalanıldı (n= 12). Deneysel araştırmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizler için SPSS istatistik programı kullanıldı. Bulguların analizinde, grupların kontrol grubu ile olan farklılıklarını tespit etmek için ANOVA analizi yöntemi kullanıldı. $p < 0.05$ ve $p < 0.001$ olan veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Yapılan çalışmada gingival fibroblast hücre çizgilerinde apoptozisin gelişimi incelendiğinde kontrol grubunda hücre canlılık oranı % 96.43 bulundu. Kontrol grubunda nekroz ve apoptozis oranı sırasıyla % 3.57 ve % 0 olarak bulundu. En düşük hücre canlılık oranları GA ve ES' de (% 77,94 ve % 78,03) bulundu. Bununla birlikte, PS ve AB (% 89,69 ve % 85,63) gruplarında en yüksek hücre canlılık oranı

görüldü. ES grubunda geç apoptoz seviyesi % 3.30 iken erken apoptozisin % 18.13 olduğu görüldü. Ayrıca GA grubu en düşük erken ve geç apoptozis gösterdi. Geç apoptozis ve erken apoptozis için bu grupta % 0 oranı bulundu. XF grubunda hücre canlılık oranı % 79.07 olarak bulundu. Erken apoptoz oranı % 7.17 iken geç apoptozis oranı % 1.88 olarak bulundu. GA grubu hariç tüm gruplarda geç apoptozis evresi görüldü. Hücreler materyale maruz kaldıklarında toksik etkisini erken apoptozis safhasında gösterdi (Şekil 1).



Şekil 1. Hücrelerin materyallere maruz kaldıklarındaki apoptozis safhasındaki değişim

TARTIŞMA

Restoratif diş hekimliğinde, hastaların artan estetik ve kozmetik taleplerinin önem kazanması ve non invaziv işlemlerin tercih edilmesi kompozit materyallerinin kullanımını yaygınlaştırmıştır. Zemin içerikli bu materyaller farklı oranlarda çeşitli monomerler içermektedir. Bu monomerler genellikle propan (Bis-GMA), ürethan dimetakrilat (UDMA), 2-hidroksietilmetakrilat (HEMA) ve trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA) gibi monomerlerdir⁷⁻⁹.

Monomerlerin materyallerin sitotoksik etkileri üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Dental materyallerin klinik kullanımları öncesinde mutlaka biyolojik riskler açısından değerlendirilmesi gerekir. Restoratif tedaviler sırasında kullanılan materyallerin hücreler üzerinde bir etkisinin olup olmadığının ve bu etkinin geri dönüşümlü olup olmadığının tespiti amacıyla laboratuvar ortamında, deney hayvanları üzerinde ve insanlar üzerinde farklı araştırmacılar tarafından araştırmalar yapılmıştır¹⁰⁻¹³. Hücreler ya da kromozomlar gibi mikroskobik partiküllerin sayılması ve incelenmesi için kullanılan ve materyallerin apoptotik ve nekrotik etkisinin tespitinde kullanılan flow sitometri tekniği son zamanlarda materyallerin biyoyumluluğunun değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan sitotoksikite testlerinden biridir.

Hücrelerde hücre zarının sitoplazmik yüzeyinde fosfatidilserin bulunur. Hücre apoptoza uğradığı zaman, hücre iç yüzeyine yerleşmiş olan fosfatidilserin bileşenleri hücre zarının dış yüzeyine tutunurlar. Bu transfer olayı hücre membran bütünlüğünün henüz bozulmadığı apoptotik hücre ölümünün erken döneminde meydana gelir. Anneksin-V hücrenin dış yüzeyine transfer olan fosfatidilserine bağlanabilen bir protein olduğu için, floresein izotiyosiyanat (FITC) ile işaretlenerek apoptotik hücre görünür hale gelir. Bu amaçla FITC-Anneksin-V kompleksinin hücre yüzeyindeki fosfatidilserine bağlanma oranı flow sitometre ile ölçüldü¹⁴.

Farklı mekanizmalara ve hassasiyetlere sahip çok sayıda sitotoksikite testleri (tetrazolyum testleri (MTT, MTS, XTT, WST), LDH testi, alamar mavis testi ve biyoluminesans testleri) bulunmakla birlikte bu çalışmada flow sitometre tekniği tercih edildi. Flow sitometre tekniği; tekniğin hızlı olması, duyarlı olması ve doğruluk oranının yüksek olması nedeniyle tercih edildi.

Flow sitometri tekniği ile çok küçük hacimli yapılar (<0,5 mm) analiz edilebilir. Oysa hücreler yaklaşık olarak 10^3 /ml olarak bulunurlar. Bu yüzden cihaz modifikasyonu olmadan doğru bir şekilde analiz edilmeleri söz konusu değildir. Flow sitometri tekniği ile doğru ölçümler yapılabilmesine rağmen, bu ölçümlerin doğruluğunu numunelerin özelliğine göre cihazın kalibre edilmesine bağlıdır. Kalibrasyonun doğru bir şekilde yapılmaması elde edilen sonuçların doğruluğunda hatalara neden olabilmektedir. Cihaz kalibrasyonunda tereddütlerin yaşandığı durumda flow sitometri tekniği yanında farklı sitotoksikite testi ile sonuçların değerlendirilmesi önem arz etmektedir¹⁵.

Bu çalışmada hücre canlılık oranları sırasıyla en fazla kontrol grubu, AB, PS, GO, XF, ES ve GA olarak bulundu. Hücrelerin sitotoksitesitesi ve biyoyumluluğunun üzerine matriks tipinin ve monomerlerin etkin olduğu bilinmektedir. Monomerlerin çeşitliliğinin fazla olması materyallerin sitotoksitesitesini artırmaktadır. Çalışmada hücre canlılığı en fazla olan AB grubu ve hücre canlılığı en az olan GA grubunun matriks içeriklerine bakıldığı zaman AB grubunun matriks tipinin GA grubundan fazla olması literatür bilgilerini doğrulamaktadır.

Çalışmada kullanılan materyallerin hücre canlılık oranları ile doldurucu içeriklerine bakıldığı zaman bir korelasyon olduğu Tablo 2' de görülmektedir. Doldurucu içeriği azaldıkça hücre canlılığında azalma olması materyallerin matriks tipinin yanında materyallerin doldurucu içeriklerinin de hücre canlılığı üzerinde etkili olduğunu düşündürmektedir.

Tablo 2.Çalışmada elde edilen materyallerin sitotoksik değerleri

Gruplar	Hücre canlılık oranı Q1-LL	Doldurucu yüzdesi	Matriks tipi	Doldurucu içeriği	Erken Apoptoz Q1-UL	Geç Apoptoz Q1-UR	Nekroz Q1-LR
Kontrol	96,43	-	-	-	0	0	3,57
Arabsk (AB)	89,69	76,5	4	3	8,56	1,34	0,41
Polofil Supra (PS)	85,63	76,5	6	1	4,54	0,74	9,09
Grandio (GO)	79,07	87	2	1	7,17	1,88	11,88
Xtra Fill (XF)	79,07	86	3	3	7,17	1,88	11,88
Estelite Sigma Quick (ES)	78,03	82	2	2	18,13	3,30	0,54
G-aenial Posterior (GA)	77,84	65	3	1	0	0	22,16

Dentin tübüleri içerisinde uzantıları yer alan odontoblastik hücreler rezidüel monomerlerden etkilenen ilk hücre grubudur¹⁶. Rezin monomerlerin odontoblastik hücrelerin yaşam döngülerini gerçekleştirebilmeleri için gerekli olan spesifik fonksiyonları (alkalen fosfataz aktivitesi, matriks mineralizasyon kapasitesi, dentin proteinleri için gen ekspresyonu) inhibe etmektedir^{17,18}. Bununla birlikte restoratif materyallerin komşu periodontal dokularda temas ettiği alanlarda fibroblastik hücrelerin fonksiyonlarında olumsuz etkile-

diđi görülmüştür¹⁹. Gingival fibroblastlar, diş eti doku-
larının büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Bu ne-
denle, çalışmamızda gingival fibroblast hücrelerinin
kullanılması tercih edildi. Bu çalışmada da elde edilen
analiz sonuçlarında benzer şekilde rezin monomerlerin
gingival fibroblast hücreler üzerinde toksik etkiye
neden olduğu, hücrelerin canlılık değerlerinde azalma
olduğu görüldü.

Rajić ve ark. G-aenial nanohibrit kompozit ma-
teryalinin sitotoksitesini değerlendirdikleri bir çalış-
mada dört saat sonunda hücre canlılığının yaklaşık
olarak % 72 olduğunu, erken apoptoz oranının geç
apoptoz oranından daha fazla olduğunu, 24 saat
sonrasında ise hücre canlılığında bir artışın olduğunu
tespit etmişlerdir. Hücrelerin maruz kaldıkları ilk 4
saatte ve 24 saat sonunda nekroz oranlarında farklılık
olmadığını gözlemlemişlerdir²⁰. Bu çalışmada G-aenial
materyaline maruz kalan hücrelerdeki hücre canlılık
oranı % 77.84 olarak bulundu. Hücrelerde erken
apoptoz ve geç apoptoz gözlenmedi. Rajić ve ark
yapmış oldukları çalışmanın aksine hücrelerde nekroz
oranı yüksek bulundu. İki çalışmanın sonuçlarına
bakıldığı zaman hücre canlılık oranları benzer olmakla
beraber, apoptoz ve nekroz değerleri arasında farklılık
görüldü. Elde edilen verilerin sonuçlarının doğrulunun
objektif olarak sağlanabilmesi için çalışmalarda sitotok-
sisite testlerinin farklı testlerle desteklenmesi elde edi-
lecek sonuçların doğruluğu açısından gerekli olduğunu
düşündürdü.

Yalçın ve ark²¹. metil tetrazolium testi (MTT)
ile farklı kompozitlerin sitotoksitesini inceledikleri
çalışmada 24 saat sonuda L929 fibroblast hücrelerinde
GO nun hücre canlılığının ES den daha az olduğunu
tespit etmişlerdir. Bu çalışmada materyallerin gingival
fibroblast hücreleri üzerindeki etkilerine bakıldığında
GO grubunda hücre canlılığının (% 79,07) ES grubu
hücre canlılığından (% 78,03) daha fazla olduğu
görüldü.

SONUÇ

Teknolojik yenilikler ve gelişmeler sayesinde
kompozit materyallere zamanla yenileri eklenmektedir.
Bu materyallerin klinisyenler tarafında kullanılmadan
önce biyolojik olarak uyumlu olup olmadıkları değer-
lendirmelidir. Bu değerlendirmeler sırasında tek bir
biyolojik testten ziyade farklı testlerin aynı çalışmada
kullanılarak elde edilen sonuçların doğruluğunun arttır-
ılması ve sonuçların daha objektif olmasına neden
olabilir.

Bu çalışma, çalışmayı yürüten tüm yazarlar tarafından okunmuş ve onaylanmış orijinal bir çalışmadır. Herhangi bir yazar, kurum ya da kuruluş ile çıkar çatışması olmadığını belirtmek isteriz.

KAYNAKLAR

1. Cramer NB, Stansbury JWBowman CN. Recent advances and developments in composite dental restorative materials. J Dent Res 2011; 90(4): 402-16.
2. Peutzfeldt A. Resin composites in dentistry: the monomer systems. Eur J Oral Sci 1997; 105(2): 97-116.
3. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. Biomaterials 2007; 28(26): 3757-85.
4. Ferracane JL. Elution of leachable components from composites. J Oral Rehabil 1994. 21(4): 441-52.
5. Imazato S, McCabe JF, Tarumi H, Ehara AEbisu S. Degree of conversion of composites measured by DTA and FTIR. Dent Mater 2001; 17(2): 178-83.
6. Ausiello P, Cassese A, Miele C, et al. Cytotoxicity of dental resin composites: an in vitro evaluation. J Appl Toxicol 2013; 33(6): 451-7.
7. Tuncer S, Demirci M. Dental materyallerde biyoyoumluluk değerlendirmeleri. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi 2011; 20(1): 20112.
8. Mjör I. Minimum requirements for new dental materials. Journal of oral rehabilitation 2007; 34(12): 907-12.
9. De Souza Costa CA, Hebling J, Scheffel DL, et al. Methods to evaluate and strategies to improve the biocompatibility of dental materials and operative techniques. Dent Mater 2014; 30(7): 769-84.
10. Mallineni SK, Nuvvula S, Matinlinna JP, Yiu CKKing NM. Biocompatibility of various dental materials in contemporary dentistry: a narrative insight. Journal of investigative and clinical dentistry 2013; 4(1): 9-19.
11. Al-Hiyasat AS, Darmani H. The effects of recasting on the cytotoxicity of base metal alloys. J Prosthet Dent 2005; 93(2): 158-63.
12. Moller B, Terheyden H, Acil Y, et al. A comparison of biocompatibility and osseointegration of ceramic and titanium implants: an in vivo and in vitro study. Int J Oral Maxillofac Surg 2012; 41(5): 638-45.



13. Mcginley EL, Moran GP, Fleming GJ. Biocompatibility effects of indirect exposure of base-metal dental casting alloys to a human-derived three-dimensional oral mucosal model. *J Dent* 2013; 41(11): 1091-100.
14. Güleş Ö, Ülker E. Apoptozun belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2008; 19(2): 73-8.
15. Olson RJ, Zettler ER, Anderson OK. Discrimination of eukaryotic phytoplankton cell types from light scatter and autofluorescence properties measured by flow cytometry. *Cytometry* 1989; 10(5): 636-43.
16. Ferreira LS, Diniz IMA, Maranduba CMS, et al. Short-term evaluation of photobiomodulation therapy on the proliferation and undifferentiated status of dental pulp stem cells. *Lasers Med Sci* 2019; 34(6): 659-66.
17. Tsukimura N, Yamada M, Aita H, et al. N-acetyl cysteine (NAC)-mediated detoxification and functionalization of poly(methyl methacrylate) bone cement. *Biomaterials* 2009; 30(20): 3378-89.
18. Galler KM, Schweikl H, Hiller K-A, et al. TEGDMA reduces mineralization in dental pulp cells. *Journal of Dental Research* 2011; 90(2): 257-62.
19. Hanks CT, Strawn SE, Wataha JCCraig RG. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *J Dent Res* 1991. 70(11): 1450-5.
20. Rajić VB, Želježić D, Ivanišević AM, et al. Cytotoxicity and Genotoxicity of Resin Based Dental Materials in Human Lymphocytes in Vitro. *Acta Clin Croat* 2018; 57(2): 278-85.
21. Yalcin M, Ulker M, Ulker ESengun A. Evaluation of cytotoxicity of six different flowable composites with the methyl tetrazolium test method. *European Journal of General Dentistry* 2013; 23(3): 292.

Sorumlu Yazarın Yazışma Adresi

Doç. Dr. Hakan KAMALAK
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi
Anabilim Dalı, Kahramanmaraş
e-mail: hakankamalak@hotmail.com

