

# AKRİLİK REZİNLERİN SİTOTOKSİSİTELERİ ÜZERİNE CAM FİBER ve İKİ FARKLI POLİMERİZASYON YÖNTEMİNİN ETKİSİ

## THE EFFECT OF GLASS FIBER AND POLYMERIZATION METHOD ON THE CYTOTOXICITY OF ACRYLIC RESINS

Çiğdem ARSLAN GÜNER<sup>1</sup>

Özgül KARACAER<sup>2</sup>

Arife DOĞAN<sup>2</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı cam fiberle güçlendirmenin ve farklı polimerizasyon yöntemlerinin akrilik protez kaide rezinin sitotoksitesi üzerine etkilerini araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Herbiri eşit sayıda (16 adet) örnek içeren dört grup oluşturuldu. 12 mm çapında ve 1 mm kalınlığında disk şeklinde toplam 64 adet örnek hazırlandı. Cam fiberli ve cam fibersiz akrilik rezin örnekler ısı ve kimyasal olarak polimerize edildikten sonra toksisite testi için 24, 48, 72 ve 96 saat boyunca Dulbecco's Modified Eagle Medium Ham's F 12 inkubasyon ortamında bekletildi. L-929 fare fibroblast hücrelerinin sitotoksiteleri MTT testi ile belirlendi. Deney sonuçlarından elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve takiben Mann Whitney U ve Tukey HSD testi ile  $p<0.05$  seviyesinde değerlendirildi.

**Bulgular:** Isı ve kimyasal olarak polimerize edilen akrilik rezin örneklerde fiber uygulanan grupta hücre canlılığı 24,48 ve 72. saatlerde azaldı, 96. saatte ise arttı. Ancak bu azalma ve artma değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ). Fiber uygulanmış ve uygulanmamış her iki akrilik grubunda da ısı ile polimerize edilen akrilik rezin örneklerin toksisite değerleri, tüm inkübasyon sürelerinde, kimyasal olarak polimerize edilen örneklerin toksisitelerinden daha azdır ( $p>0.05$ ).

**Sonuç:** Çalışma sonuçlarına göre cam fiberle güçlendirilen ve güçlendirilmeyen akrilik rezinler sitotoksik değildir.

**Anahtar Kelimeler:** Akrilik rezin, cam fiber, polimerizasyon metodu, sitotoksisite, MTT testi

### SUMMARY

**Objective:** The objective of this study is to investigate the effects of glass fiber reinforcement and different polymerization methods on cytotoxicity of the acrylic denture base resins.

**Material and Method:** Four experimental groups including an equal number of specimens were established ( $n=16$ ). A total of 64 specimens were prepared and processing denture base resins into a disk-shaped mold of dimensions 1 mm in thickness and 12 mm in diameter. Acrylic resin specimens, with and without glass fiber, polymerized by heat and chemically. The specimens were incubated for 24, 48, 72 and 96 hours in Dulbecco's Modified Eagle Medium Ham's F12 respectively. Cytotoxicity of the L 929 mouse fibroblast cell was measured by MTT method. Data were statistically analyzed by one-way variance analysis (ANOVA) followed by Mann Whitney-U and Tukey HSD test at a significance level of  $p<0.05$ .

**Results:** Cell viability of glass fiber applied acrylic resin specimens were decrease in the period of 24, 48, 72 hours, although increase in 96. hour in both heat and auto polymerized groups. However, these values were not found to be statistical significant ( $p>0.05$ ). The cytotoxicity values of heat polymerized acrylic resin specimens with or without fiber were found to be lower than those of chemically polymerized groups respectively. ( $p>0.05$ )

**Conclusion:** Result showed that, neither the unreinforced acrylic resin, nor the glass fiber reinforced acrylic resins were cytotoxic.

**Key Words:** Acrylic resin, glass fiber, polymerization methods, cytotoxicity, MTT assay test

**Makale Gönderiliş Tarihi** : 30.06.2010

**Yayına Kabul Tarihi** : 21.12.2010

<sup>1</sup> Serbest Diş Hekimi

<sup>2</sup> Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Prof. Dr.

## GİRİŞ

Metakrilik asidin metil esteri olan metil metakrilatin polimerizasyonu ile elde edilen akrilik rezinlerin mükemmel estetik, kolay manipülasyon, oral kavitede stabilite, uygun çalışma şekli ve düşük maliyet gibi üstün özelliklerine karşın darbe ve yorulma dirençleri zayıftır. Aşırı oklüzal kuvvetlere karşı kırılma eğilimindedir<sup>4,5,24,25</sup>.

Akrilik rezinlerin mekanik özelliklerini geliştirmek ve optimum klinik başarı sağlamak için elastiklik modülü ve dayanıklılık değerleri yüksek fiber kullanımı önerilir<sup>2,13,16,21</sup>. Fiber ile güçlendirme yönteminde fiber tipi, oranı, formu, fiberin polimer matrisi içerisindeki yerleşimi ve impregnasyonu (fiberin rezin içerisine penetrasyonu) önemli faktörlerdir<sup>8,17,27,33,38</sup>.

Akrilik rezinleri güçlendirmek amacıyla kullanılan E-cam fiber boro alumina silikadan oluşmuştur. E-cam fiberleri diğer cam fiberlere üstün kılan özellikler; yüksek dayanıklılık ve elastikiyet modulu, sertlik, düşük yoğunluk, ısıya ve kimyasallara direnç, nemden etkilenmeme, elektrik yalıtım özelliği ve düşük maliyet şeklinde sıralanır<sup>14,19,24,33,37</sup>.

Akrilik rezinlerin mekanik ve fiziksel özelliklerinin yanı sıra biyolojik özelliğinin de iyi olması istenir. Biyolojik açıdan yetersiz olması, oral dokularla uzun süre temasta olan rezin kaideli protezin hasta tarafından kabulünü zorlaştırır. Materyalin biyolojik uyumunun araştırılmasında materyale uygun özellikteki testin seçilmesi gerekir. Çünkü kullanılacak test, malzemenin uygulandığı bölgeye göre fark gösterir<sup>10,12</sup>. Biyolojik uyumun belirlenmesinde öncül ve ikincil testler, sitotoksitesite ve hücre kültürü gibi çeşitli yöntemler kullanılır<sup>29,30</sup>.

Mitokondrial Dehidrogenaz Aktivitesi (MTT) yöntemi büyük sayılardaki hücre kültürlerinde canlı hücre oranının belirlenmesinde hızlı, güvenilir ve kolay bir yöntem olması nedeniyle birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır<sup>12,20,23,40</sup>. Akrilik rezin-fiber ilişkisinin mekanik olarak değerlendirildiği çalışmaların çeşitliliğine karşın, biyolojik uyumunun incelendiği çalışmalarının kısıtlılığı dikkat çekicidir.

Çalışmamızın amacı akrilik rezinlerin toksisite-leri üzerinde cam fiberin ve iki farklı polimerizasyon yönteminin (ısı ve kimyasal) etkisini L-929 fare fibroblast hücrelerinde MTT testi ile araştırmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Örneklerin Hazırlanması

Çalışmada ısı ile polimerize olan Meliodent (Denture Acrylic, Bayer Dental, İngiltere), kimyasal olarak polimerize olan Meliodent tamir akrili (Denture Self Cure Acrylic, Bayer Dental, İngiltere), fiberle güçlendirme işlemi için E-cam fiber (KCR 2M, Cam Elyaf San AŞ., Türkiye) kullanıldı. Fiberler (ağırlık olarak polimer matrisin % 5'ini oluşturacak şekilde) 1/10000 hassasiyetdeki terazide tartıldı, impregnasyon için akril likiti içerisinde 10 dakika bekletildi, likit fazlalığı peçete ile giderildikten sonra akril tozu içerisine katıldı. Toz/sıvı oranı, üretici firmanın önerisi doğrultusunda, ısı ile polimerize edilecek akriller için 23.4 gr /10 ml, kimyasal olarak polimerize edilecek akriller için 20 gr / 10 ml olacak şekilde hazırlandı. Her grup için 16 adet akrilik örnek 12 mm çapında, 1 mm kalınlığında disk şeklinde hazırlandı ve muflaya alındı. Isı ile polimerizasyon yöntemi için örnekler önce 60°C'de 30 dakika ön polimerizasyon işlemine tabii tutuldu. Daha sonra 100°C'de 20 dakika boyunca polimerize edildi. Kimyasal polimerizasyon yönteminde 23 ± 1 °C'de 15 dakika boyunca 50 kg/cm<sup>2</sup> basınç altında polimerize edildi. Çalışmada yer alan gruplar ve polimerizasyon yöntemine ait bilgiler Tablo I'de sunuldu.

### Hücre Kültürü

Hücre kültürü çalışması ISO 10993-5 standart'ı<sup>11</sup> esas alınarak yapıldı. Deney gruplarının toksisite-lerinin tespitinde L-929 fare fibroblast hücreleri (HUKUK 95030802, Şap Enstitüsü, Türkiye) kullanıldı. Hücreler saklama ortamından çıkarılarak % 10 fetal sığır serumu (FBS) (Biochrom AG, S 0113, Almanya) ve % 1 gentamysin içeren Dulbecco's Modi-

**Tablo I.** Çalışmada yer alan gruplar ve gruplara ait özellikler

Grup	Polimerizasyon metodu	Toz/likit
1	Isı (-)	23.4 mg /10 lt
2	Isı (+)	23.4 mg /10 lt
3	Mikrodalga (-)	20 mg/10lt
4	Mikrodalga (+)	20 mg/10lt

(-): Fiber uygulanmayan (+): Fiber uygulanan.

fied Eagle's Medium (DMEM) (Bichrom AG, FG 0443, Almanya) besi ortamı ile T 25 cm<sup>2</sup> hücre kültürü üretme kalıbına alındı. Daha sonra tripsin/EDTA (etilen+daimin tetraasetik asit) solusyonu ile yıkandı ve 10 dakika 37°C'deki inkübatörde bekletildi. Bu süre sonunda kültür kalıbından ayrılan hücreler % 10 serum ve % 1 kültür kalıbından ayrılan hücreler % 10 serum ve % 1 antibiyotik DMEM besi ortamı ile homojenize edilmiş hücre süspansiyonuna alındı. Hücre süspansiyonu 96 gözlü üreme kaplarına 100 ml/göz olacak şekilde paylaştırıldı. % 5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde 24 saat inkübasyona bırakıldı. Sürenin sonunda MTT testi ile değerlendirildi.

### İstatistiksel Analiz

İstatistik testi SPSS (Statistical Package for the Social Sciences for Windows, 11.5.0, Chicago, IL, ABD) programında yapıldı. Elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ile değerlendirildi. Fiberin etkisini belirlemek için Mann-Whitney U testi, polimerizasyon yöntemleri arasındaki farkı saptamak için Tukey HSD testi kullanıldı.

### BULGULAR

Örneklerin sitotoksitelerine ait ortalamalar ve standart sapmalar Tablo II'de görülmektedir.

Elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Isı ve kimyasal olarak polimerize olan grupların her ikisinde de fiberli örneklerde 24, 48 ve 72. saatlerde hücre canlılık oranı azaldı, 96. saatte ise arttı (Grafik 1). Fiberin etkisini belirlemek için kullanılan Mann Whitney U testine göre bu azalma ve artma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0.05).

Polimerizasyon yönteminin etkisini belirlemek için Tukey HSD testi kullanıldı. Örnekler kontrol grubunda ısı-kimyasal ve fiber uygulanan grupta ısı-kimyasal şeklinde karşılaştırıldı. Kontrol grubunda ve fiberli grupta ısı ile polimerize olan örneklerin hücre canlılık yüzdesinin tüm inkübasyon sürelerinde kimyasal olarak polimerize olan örneklerden daha fazla olduğu belirlendi (p>0.05).

### TARTIŞMA

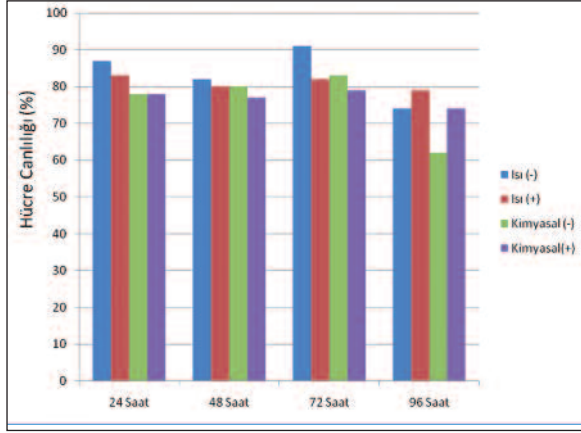
Protez kaide polimerlerinin sahip olması gereken özellikler; yeterli mekanik dayanıklılık, kabul edilebilir estetik, hazırlama kolaylığı ve biyolojik olarak uyumlu olmasıdır<sup>24</sup>. Biyolojik uyumu olmayan materyaller değişik doku reaksiyonlarına neden olurlar<sup>6,7,31</sup>. Reaksiyonun tipi materyalin kompozisyonuna, materyalde çözünen kimyasal maddelerin biotransformasyonuna bağlı olarak değişiklik gösterir<sup>3,9,22,41</sup>.

Günümüzde dental materyallerin akut toksisite-lerinin saptanmasında; bireysel faktörlerden etkilenmemeleri, tekrarlanabilir olmaları, ara aşamalarda kontrollerinin kolay olması, hayvan deneylerinde olduğu gibi canlı varlıkların öldürülmemesi gibi avantajlarından ötürü hücre kültürü test yöntemleri tercih edilmektedir<sup>15,22,35</sup>.

Hücre kültürü test yönteminde materyale uygun hücre tipinin seçimi oldukça önemlidir. ISO 10993-5 no'lu standartta<sup>11</sup> dental materyallerin sitotoksitelerinin tespitinde L-929, Balb/3T 3, W138 gibi hücre tipleri önerilmektedir. Schedle ve arkadaşları<sup>28</sup> L-929 fibroblast hücrelerinin primer dişeti fibroblast ve mast hücre kültürüne göre üreme yeteneğinin geli-

**Tablo II.** Örneklerin hücre canlılık yüzdelere ait ortalamalar ve standart sapmalar

Grup	24 saat		48 saat		72 saat		96 saat	
	Ortalama	Sd	Ortalama	Sd	Ortalama	Sd	Ortalama	Sd
1	87.3	4.19730	82.54	5.72312	91	7.15455	74.07	6.00820
2	83.60	12.12419	80.42	2.42331	82.54	5.72312	79.36	6.91918
3	78.83	8.14398	80.42	5.57393	83.06	12.1231	62.96	3.30585
4	78.30	8.14375	77.78	4.1973	79.89	5.5734	74.60	7.27539



**Grafik 1.** Grupların 24, 48, 72 ve 96 saatlik inkubasyon sürelerinde hücre canlılık yüzdeleri

miş olduğunu, Taira ve arkadaşları<sup>34</sup> hücre hatları içerisinde en duyarlı ve güvenli ortamın L-929 fibroblast hücreleri olduğunu ifade etmişlerdir.

Çalışmada akrilik rezinlerin sitotoksitesinin belirlenmesinde MTT yöntemi kullanıldı. MTT büyük sayılardaki hücre kültürlerinde canlı hücre oranının belirlenmesinde hızlı, güvenilir ve kolay olması, hücre büyüme döngüsünün herhangi bir aşamasında hücre yoğunluğu hakkında bilgi vermesi açısından yaygın olarak kullanılan test yöntemi-dir<sup>12,29,30</sup>.

Akrilik rezinlerin biyolojik özelliklerinin ele alındığı çalışmalarda rezinden salınan artık monomerin tükrüğe geçerek yumuşak dokular için irritasyon kaynağı olarak davrandığı, mukozal dokulara zarar verebileceği, sitotoksik etkiye sahip olabileceği bildirilmiştir<sup>22,42</sup>. Sipahi ve arkadaşları<sup>32</sup> silan ve monomer ile işlem görmüş fiberli rezinlerin hücre canlılık yüzdesinin önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda fiberle güçlendirilmiş örneklerin hücre canlılık yüzdesinin azaldığını, ancak bunun ISO 10993-5 no'lu standart'ta belirtilen limitler içerisinde olduğunu, fiberli örneklerimizin toksik olmadığını belirledik. İki çalışma arasındaki farklılığın fiber konsantrasyonundan kaynaklandığı düşüncesindeyiz. Vallittu ve Extrand<sup>39</sup> fiberin hücre canlılık yüzdesini düşürdüğünü ancak fiberli rezinlerin toksik olmadığını ifade etmişlerdir. Bulgumuz, çalışmacıları destekler niteliktedir. Fiberli örneklerde hücre canlılık yüzdesinin azalmasının nedeni fiberin rezinle penetrasyonunu sağlamak için fazla monomer kulla-

nılması olabilir. Konu ile ilgili çalışmalarda Rose ve arkadaşları<sup>26</sup> artık monomer miktarı az olan rezinlerin hücre inhibisyonunun da az olduğunu, Kedjarune ve arkadaşları<sup>18</sup> artık monomerin toksik etki oluşturduğunu rapor etmişlerdir.

Akrilik rezin içerisinde kalan artık monomerin toz/likit oranı, polimerizasyon yöntemi ve süresi ile ilişkisi vardır<sup>1,6</sup>. Ayrıca akrilik rezinlerin kimyasal bileşimi monomerlerin polimere dönüşüm dereceleri ve manipulatif özellikleri akrilik rezinlerin artık monomerini, dolayısıyla toksisitesini etkilemektedir<sup>1,9,36,39,42</sup>. Rose ve arkadaşları<sup>26</sup> toksisitenin primer nedeninin artık monomer olduğunu belirtmişlerdir.

Değişik polimerizasyon yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalarda kimyasal olarak polimerize olan rezinlerin toksisitesinin daha fazla olduğu bildirilmiştir<sup>3,31,32</sup>. Tsuchiya ve arkadaşları<sup>36</sup> kimyasal olarak polimerize olan akrilliklerin daha fazla formaldehit ve monomer içerdiklerini bu nedenle toksisitesinin daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda kimyasal olarak polimerize olan akrilliklerin toksisitesinin daha fazla olduğu belirlendi. Sonucumuz diğer çalışmacıları destekler niteliktedir.

## SONUÇ

Bu *in vitro* çalışmada tam protez hastalarında oral dokularla sürekli temasta olan akrilik rezinlerin zayıf mekanik özelliklerini güçlendirmek amacıyla kullanılan cam fiberlerin, rezine penetrasyonunu sağlamak amacıyla monomer ile işlem görmesi rezinin toz/likit oranının değişmesine, dolayısıyla toksisitenin artmasına neden olmuştur. Ancak elde edilen değerler ISO 10993-5 verilerine göre güvenli sınırlar içerisinde. Doku hassasiyeti fazla olan bireylerde fiberin rezine penetrasyonu için monomer kullanımının daha dikkatli yapılması gerekmektedir. Konu ile ilgili yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. 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 76: 340-345, 2006.
2. Chen SY, Liang WM, Yen PS. Reinforcement of acrylic denture base resins by incorporation of various fibers. J Biomed Mater Res 58: 203-208, 2001.

3. 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 Odontologica Scandinavica* 58: 217-228, 2000.
4. Craig RG, O'Brien WJ, Powers JM. Dental materials properties and manipulation 4th ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; p: 272-286, 1987.
5. Darbar UR., Huggett R, Harrison A. Denture fracture- a survey, *Br Dent J* 176: 342-345, 1994.
6. 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* 23: 313-318, 1995.
7. Edgerton M, Levine MJ. Biocompatibility: Its future in prosthodontic research. *J Prosthet Dent* 69: 406-415, 1993.
8. Ellekwa 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* 88: 485-490, 2002.
9. Ergün G, Sağesen LM, Doğan A, Özkul A, Demirel E. Protez kaide materyallerinin sitotoksitesinin agar difüzyon ve filtre difüzyon test yöntemleri ile incelenmesi. *GÜ Dış Hek Fak Derg* 23: 31-37, 2006.
10. Hensten -Pettersen A. Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. *Int Endod J* 21: 89-99, 1988.
11. 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.
12. 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* 20: 12-20, 2004.
13. Jagger DC, Harrison A, Jandt KD. The reinforcement of dentures. *J Oral Rehabil* 26: 185-194, 1999.
14. John J, Gangadhar SA, Shah I. Flexural strength of heat-polymerized polymethyl methacrylate denture resin reinforced with glass, aramid, or nylon fibers. *J Prosthet Dent* 86: 424-427, 2001.
15. Jorge JH, Giampaolo ET, Machado AL, Vergani CE. Cytotoxicity of denture base acrylic resins: A literature review. *J Prosthet Dent* 90: 190-193, 2003.
16. Kaplan R. Isı ve mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik kaide rezinlerine fiber sistemlerinin etkilerinin in-vitro olarak değerlendirilmesi. Doktora Tezi Ankara: Ankara Üniversitesi; 2002.
17. Karacaer Ö, Polat TN, Tezvergil A, Lassila 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* 90: 385-393, 2003.
18. Kedjarune U, Charoenworarluk N, Koontongkaew S. Release of methyl methacrylate from heat-cured and autopolymerized resins: Cytotoxicity testing related to residual monomer. *Aust Dent J* 44: 25-30, 1999.
19. 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* 91: 274-280, 2004.
20. 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* 61: 52- 56, 2003.
21. Lubin G. Handbook of Fiberglass And Advanced Plastics Composites, Van Nostrand Reinhold Company, New York, p: 142-181, 1969.
22. Lygre H. Prosthodontic biomaterials and adverse reactions: A critical review of the clinical and research literature. *Acta Odontol Scand* 60: 1-9, 2002.
23. Nalçacı A, Öztan MD, Yılmaz Ş. Cytotoxicity of composite resins polymerized with different curing methods. *Int Endod J* 37: 151-156, 2004.
24. Narva KK, Vallittu P, Helenius H, Yli-Urpo A clinical survey of acrylic resin removable denture repairs with glass-fiber reinforcement. *Int J Prosthodont* 14: 219-224, 2001.
25. O'Brien WJ. Dental materials and their selection 2th ed. Chicago: Quintessence Publishing Co. p: 79- 90, 1997.
26. Rose EC, Bumann J, Jonas IE, Kappert HF. Contribution to the biological assessment of orthodontic acrylic materials. *J Orofacial Orthopedics* 61: 246-257, 2000.
27. Samadzadeh A, Kugel G, Hurley E, Aboushala A. Fracture strengths of provisional restorations reinforced with plasma-treated woven polyethylene fiber. *J Prosthet Dent* 78: 447-450, 1996.
28. 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* 74: 1513-1520, 1995.
29. Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Invest* 1:154-162, 1997.
30. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials-advantages and limitations. *J Dent* 22: 6-11, 1994.
31. Sheridan PJ, Koka SK, Ewoldsen NO, Lefebvre CA, Lavin MT. Cytotoxicity of denture base resins. *Int J Prosthodontics* 10: 73-77, 1997.
32. Sipahi C, Özen J, Ural AU, Dalkız M, Beydemir B. Beş farklı protez kaide materyalinin gingival fibroblastlar üzerine olan etkilerinin incelenmesi. *Güllhane Tıp Derg* 47: 275-278; 2005.
33. Solnit GS. The effect of methyl methacrylate reinforced with silane- treated and untreated glass fibers. *J Prosthet Dent* 66: 310-314, 1991.
34. Taira M, Nakio H, Matsumoto T, Takahashi J. Cytotoxic effect of methyl methacrylate on 4 cultured fibroblasts. *Int J Prosthodontics* 13: 311-315, 2000.
35. Tang AT, Li J, Ekstrand J, Liu Y. Cytotoxicity tests of in situ polymerized resins: Methodological comparisons and introduction of a tissue culture insert as a testing device. *J Biomed Mater Res* 45: 214-222, 1999.
36. Tsuchiya H, Hoshino Y, Kato H, Takagi N. Leaching and cytotoxicity of formaldehyde and methyl methacrylate from acrylic resin denture base materials. *J Prosthet Dent* 71: 618-624, 1994.
37. Vallittu PK. Dimensional accuracy and stability of polymethyl methacrylate reinforced with metal wire or with continuous glass fiber. *J Prosthet Dent* 75: 617-621, 1996.
38. Vallittu PK. Flexural properties of acrylic resin polymers reinforced with unidirectional and woven glass fibers. *J Prosthet Dent* 81: 318-326, 1999.
39. Vallittu PK, Ekstrand K. In vitro cytotoxicity of fibre-polymethyl methacrylate composite used in dentures. *J Oral Rehabil* 26: 666-671, 2001.

40. 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. *European J Pharmaceutical Sci* 23: 181-188, 2004.
41. Wiltshire WA, Ferreira MR, Ligthelm AJ. Allergies to dental materials. *Quintessence Int* 27: 513 -520, 1996.
42. Özdemir KG, Yılmaz H, Yılmaz S. In vitro evaluation of cytotoxicity of soft lining materials on L929 cells by MTT assay. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 90B: 82-86, 2009.

**Yazışma Adresi**

Prof. Dr. Özgül KARACAER  
Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Ankara  
e-posta: ozgulkaracaer1@yahoo.com