

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

**TAM SERAMİK ALT YAPI MATERYALLERİNİN
SİTOTOKSİSİTELERİNİN İNCELENMESİ**

**Tezi Hazırlayan
Kerem KILIÇ**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.Bülent KESİM**

**Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Şubat 2010
KAYSERİ**

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

**TAM SERAMİK ALT YAPI MATERYALLERİNİN
SİTOTOKSİSİTELERİNİN İNCELENMESİ**

**Tezi Hazırlayan
Kerem KILIÇ**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.Bülent KESİM**

**Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TSD-08-320 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Şubat 2010
KAYSERİ**

Prof.Dr.Bülent KESİM Danışmanlığında **Kerem KILIÇ** tarafından hazırlanan “**Tam Seramik Alt Yapı Materyallerinin Sitotoksitelerinin İncelenmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Protetik Diş Tedavisi** Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

02 /02/2010

JÜRİ

Başkan : Prof. Dr. Nur Emel HERSEK

Üye : Prof. Dr. Bülent KESİM (DANIŞMAN)

Üye :Yrd. Doç. Dr. Mustafa ZORTUK

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasan Önder GÜMÜŞ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÜLKER

İmza

**ONAY**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü
Prof.Dr.Saim ÖZDAMAR

Prof.Dr.Bülent KESİM Danışmanlığında **Kerem KILIÇ** tarafından hazırlanan “**Tam Seramik Alt Yapı Materyallerinin Sitotoksisitelerinin İncelenmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Protetik Diş Tedavisi** Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

02 / 02/2010

JÜRİ

İmza

Başkan : Prof. Dr. Nur Emel HERSEK

Üye : Prof. Dr. Bülent KESİM (DANIŞMAN)

Üye :Yrd. Doç. Dr. Mustafa ZORTUK

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasan Önder GÜMÜŞ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÜLKER

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü
Prof.Dr.Saim ÖZDAMAR

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim süresince desteğini ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Bülent KESİM'e,

Tez çalışmamdaki büyük ilgi ve katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Zeynep SÜMER'e, Sayın Doç. Dr. Zübeyde POLAT'a ve Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Merkezi çalışanlarına,

Her zaman yanımda yer alan Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve asistan arkadaşlarıma,

İstatistik değerlendirmelerindeki katkılarından dolayı Sayın Öğr. Gör. Dr. Ahmet ÖZTÜRK'e,

Hayatım boyunca benim için maddi ve manevi her türlü fedakarlığı gösteren sevgili anne ve babama,

Desteğini ve sevgisini her zaman yanımda hissettiğim, her konuda beni teşvik ve takdir eden, sevgili eşim Duygu KILIÇ'a yürekten teşekkür ederim.

TAM SERAMİK ALT YAPI MATERYALLERİNİN SİTOTOKSİSİTELERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Bu in vitro çalışmada, klinikte yaygın olarak kullanılan tam seramik alt yapı materyallerinin gingival fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi araştırılmıştır.

MTT [3,(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide] hücre proliferasyon testi için, altı farklı tam seramik seramik alt yapı materyali (In-Ceram Alumina, In-Ceram Zirkonya, Turkom Cera, Finesse, Zirkonzahn, IPS E.max) gingival fibroblast hücreleri ile farklı sürelerde inkübe edilmiştir.

MTT test analizinde, DMSO (Dimetil Sülfoksit) negatif kontrol grubu olarak ve gingival fibroblast hücreleri içeren kuyucuklardaki fenol red içermeyen DMEM (Dulbeco's Modified Eagles Medium) pozitif kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

MTT test sonuçlarına göre, In-Ceram Alumina, In-ceram Zirkonya, Turkom Cera ve IPS E.max pozitif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı toksik etki gösterirken, Finesse ve Zirkonzahn'ın, pozitif kontrol grubuna göre toksik etkileri istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Seramik test grupları arasında sitotoksikite potansiyeli en fazla olan materyal IPS E.max olarak belirlenmiştir.

Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda, hücre proliferasyon bulgularına göre IPS E.max'ın en sitotoksik, Zirkonzahn'ın ise en az sitotoksik materyal olduğu bulunmuştur.

Yaşlandırmanın tam seramik alt yapı materyallerinin sitotoksik özellikleri üzerindeki etkisi karşılaştırıldığında, 1. günde In-Ceram Zirkonya ve Turkom Cera'nın, 2. günde IPS E.max'ın ve 1. haftada Zirkonzahn'ın yaşlandırma sonrası sitotoksik etkilerinin arttığı bulunmuştur. 2. haftada ise, IPS E.max'ın sitotoksik etkisinin azaldığı tespit edilmiştir. Diğer zaman aralıklarında yaşlandırma işleminin sitotoksik etkiyi etkilemediği görülmüştür.

Yaptığımız in vitro çalışmada, sabit protez restorasyonunda kullanılan yeni nesil tam seramik sistemlerin biyolojik olarak daha güvenli bir hale gelebilmesi için daha ileri çalışmalar yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Gingival Fibroblast, MTT, Tam Seramik

EVALUTION OF CYTOTOXICITY OF ALL CERAMIC SUBSTRUCTURE MATERIALS

ABSTRACT

In this invitro study, the cytotoxic effects on gingival fibroblast cells of new generation metal free all ceramics intensively used in clinical practice, was investigated.

For MTT cell proliferation test, six different all ceramic substructures (In-Ceram Alumina, In-Ceram Zirkonia, Turkom Cera, Finesse, Zirkonzahn, IPS E.max) were incubated with gingival fibroblast cells in different periods.

In MTT test analysis, DMSO were used as negative controls and DMEM without fenolred in wells containing gingival fibroblast cells were used as positive control.

According to MTT test results, In-ceram Alumina, In-ceram Zirkonia, Turkom Cera and IPS E.max showed statistically significant cytotoxic effect to positive control group, Finesse and Zirkonzahn showed not statistically significant cytotoxic effect to positive control group. Among ceramic test groups, IPS E.max was determined to be the most cytotoxic material in respect of the other test materials.

In groups comparisons, according to cell proliferation results, IPS E.max was the most cytotoxic material and Zirkonzahn was the less cytotoxic material.

Among aging on all ceramic substructure materials cytotoxic effects, first day cytotoxic effects of In-Ceram Zirkonia and Turkom Cera, second day cytotoxic effect of IPS E.max and second week cytotoxic effect of Zirkonzahn significantly increased after aging. Also second week cytotoxic effect of IPS E.max was significantly decreased. At different time periods, aging didn't effect the cytotoxic potential.

It was concluded that the biocompatibility of new generation all ceramic systems used the restoration of prosthetic devices has to be enhanced to reach a more safe biologic structure.

Key words: Gingival Fibroblast, MTT, All Ceramic.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇ KAPAK.....	I
KABUL ONAY SAYFASI.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
 1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	 1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. DENTAL SERAMİKLER.....	3
2.1.1. Dental Seramiklerin Tarihçesi ve Gelişimi.....	3
2.1.2. Dental Seramiğin Bileşimi.....	5
2.1.3. Dental Seramiğin Renginin Oluşturulması.....	6
2.1.4. Luminisans Özelliği.....	7
2.1.5. Dental Seramiklerin Sınıflandırılması.....	7
2.2. TAM SERAMİKLER.....	9
2.2.1. Tam Seramik Sistemleri.....	9
2.2.1.1. Dökülebilir Tam Seramikler.....	10
2.2.1.2.Refraktör Die’lar Üzerinde Fırınlanan Seramikler.....	11
2.2.1.3.İsı İle Presleme Tekniği Kullanılarak Elde Edilen Seramikler....	14
2.2.1.4. Bilgisayar Destekli Tam Seramik Kopyalama Sistemi ile Üretilen Seramikler.....	17
2.3. BİYOLOJİK UYUM.....	19
2.3.1. Materyallerin Biyolojik Durumları Üzerinde Etkili Olan Koşullar.....	20
2.3.2. Biyolojik Uyum Testleri.....	21
2.3.2.1.Öncül Testler.....	23
2.3.2.2.İkincil Testler.....	24
2.3.2.3.Kullanım Testleri.....	25

	<u>Sayfa no</u>
2.3.3.Hücre Kültürü	26
2.3.3.1.Hücre Kültürü Test Yöntemleri	29
2.3.3.1.1.Agar Difüzyon Test Yöntemi	30
2.3.3.1.2.Agarose Test Yöntemi.....	31
2.3.3.1.3.Milipore Filtre Test Yöntemi.....	31
2.3.3.1.4.Krom Salınım Yöntemi	32
2.3.3.1.5.Model Kavite Test Yöntemi	32
2.3.3.1.6. Diş Kavite Test Yöntemi	32
2.3.3.1.7.MTT Test Yöntemi	33
2.3.3.1.8. XTT Test Yöntemi	33
2.3.3.1.9. WST-1 Test Yöntemi.....	34
2.3.3.2.Hücresel Değişiklikler	34
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	36
3.1. ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI	37
3.1.1. IPS E.max Seramik Örneklerinin Hazırlanması	38
3.1.2. In-Ceram Alumina Seramik Örneklerin Hazırlanması	39
3.1.3. In-Ceram Zirkonya Seramik Örneklerin Hazırlanması.....	41
3.1.4. Finesse Seramik Örneklerinin Hazırlanması	43
3.1.5. Zirkonzahn (CAD-CAM) Seramik Örneklerin Hazırlanması	44
3.1.6. Turkom Cera Seramik Örneklerin Hazırlanması.....	45
3.2. SIZINTI ÜRÜNLERİNİN TOPLANMASI.....	47
3.3. YAŞLANDIRMA İŞLEMİ.....	49
3.4. HÜCRE KÜLTÜRÜ	50
3.5. MİKROPLATELERİN HAZIRLANMASI.....	53
3.6. SİTOTOKSİSİTE TESTİNİN YAPILMASI.....	53
4.BULGULAR	60
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	78
6.KAYNAKLAR	92
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO LİSTESİ

Sayfa no

Tablo 2.1:	Dental seramiklerde renk oluşturan metal oksitler ve oluşturdıkları renkler	6
Tablo 3.1:	Çalışmada kullanılan tam seramik sistemleri.....	37
Tablo 3.2:	IPS E. max alt yapı için Densply Touch & Press fırınına ait değerler	38
Tablo 3.3:	In-Ceram Alumina alt yapı için Vita In-Ceram 3 fırınına ait değerler	40
Tablo 3.4:	In-Ceram Zirkonya alt yapı için Vita In-Ceram 3 fırınına ait değerler	42
Tablo 3.5:	Finesse alt yapı için Densply Touch & Pres fırınına ait değerler	44
Tablo 3.6:	Turkom Cera alt yapı için Vita Vacumat 40 T fırınına ait değerler	46
Tablo 3.7:	Sızıntı ürünlerinin biriktirilmesinde kullanılan malzemeler	47
Tablo 3.8:	Hücre kültür ortamının oluşturulmasında kullanılan malzemeler	50
Tablo 3.9:	Test sıvılarının mikropate içinde yerleşimleri	55
Tablo 4.1:	Yaşlandırma işlemi uygulanmadan önce tam seramik alt yapı materyallerine ait hücre proliferasyon değerleri	61
Tablo 4.2:	Yaşlandırma işlemi uygulandıktan sonra tam seramik alt yapı materyallerine ait hücre proliferasyon değerleri	62
Tablo 4.3:	Yaşlandırma işlemi öncesi test gruplarının tüm zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerlerinin karşılaştırması	64
Tablo 4.4:	Yaşlandırma işlemi sonrası test gruplarının tüm zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerlerinin karşılaştırması	66
Tablo 4.5:	Yaşlandırma işlemi öncesi test gruplarının tüm zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerlerinin pozitif kontrol grubu ile karşılaştırılması	68
Tablo 4.6:	Yaşlandırma işlemi sonrası test gruplarının tüm zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerlerinin pozitif kontrol grubu ile karşılaştırılması	69
Tablo 4.7:	Test gruplarının farklı zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerlerinin yaşlandırma işlemi öncesi karşılaştırılması	71
Tablo 4.8:	Test gruplarının farklı zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerlerinin yaşlandırma işlemi sonrası karşılaştırılması	72

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa no

Şekil 4.1:	Yaşlandırma işlemi öncesi tam seramik alt yapı materyallerinin 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftadaki hücre proliferasyon yüzdeleri	62
Şekil 4.2:	Yaşlandırma işlemi sonrası tam seramik alt yapı materyallerinin 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftadaki hücre proliferasyon yüzdeleri	63
Şekil 4.3:	Yaşlandırma işlemi öncesi test gruplarının farklı zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerleri	72
Şekil 4.4:	Yaşlandırma işlemi sonrası test gruplarının farklı zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerleri	73
Şekil 4.5:	6 farklı tam seramik alt yapı materyalinin yaşlandırma öncesi ve sonrası 1. gün hücre proliferasyonu yüzdeleri	74
Şekil 4.6:	6 farklı tam seramik alt yapı materyalinin yaşlandırma öncesi ve sonrası 2. gün hücre proliferasyonu yüzdeleri	75
Şekil 4.7:	6 farklı tam seramik alt yapı materyalinin yaşlandırma öncesi ve sonrası 1. hafta hücre proliferasyonu yüzdeleri	76
Şekil 4.8:	6 farklı tam seramik alt yapı materyalinin yaşlandırma öncesi ve sonrası 2. hafta hücre proliferasyonu yüzdeleri	77

RESİM LİSTESİ

Sayfa no

Resim 3.1: Çalışmada kullanılan metal kalıp.....	37
Resim 3.2: IPS E.max Seramik Örnekler	39
Resim 3.3: Vita In-Ceram Alumina porselen tozu ve sıvısı.....	39
Resim 3.4: In-Ceram Alumina Seramik Örnekler	41
Resim 3.5: Vita In-Ceram Zirkonya porselen tozu ve sıvısı	41
Resim 3.6: In-Ceram Zirkonya Seramik Örnekler.....	43
Resim 3.7: Finesse Seramik Örnekler	44
Resim 3.8: Zirkonzahn Seramik Örnekler.....	45
Resim 3.9: Turkom Cera Seramik Örnekler.....	46
Resim 3.10: 6 farklı tam seramik materyalinden elde edilen 72 adet örnek.....	47
Resim 3.11: MTT testinde kullanılan malzemeler	48
Resim 3.12: Örnek gruplarına ait sızıntı ürünlerini içeren tüpler.....	48
Resim 3.13: Farklı zaman aralıklarına ait sızıntı ürünlerini içeren tüpler.....	49
Resim 3.14: L929 fibroblast hücrelerinin inverted ışık mikroskopunda görünüşleri.....	50
Resim 3.15: Hücre kültür ortamının oluşturulmasında kullanılan malzemeler	51
Resim 3.16: Flask'ta besiyeri ortamı ile fibroblast hücreleri	51
Resim 3.17: Inverted ışık mikroskopu.....	52
Resim 3.18: Tripsin/EDTA solüsyonu	52
Resim 3.19: İnkübatör	52
Resim 3.20: Hücre süspansiyonu ilave edilmiş mikropate.....	53
Resim 3.21: Mikropate'de sızıntı ürünü içeren DMEM	54
Resim 3.22: MTT solüsyonu	55
Resim 3.23: Kuyucuklara MTT solüsyonu ilave edilirken.....	56
Resim 3.24: Her bir kuyucuğa 10 µl MTT solüsyonu ilave edilen mikropate	56
Resim 3.25: MTT solüsyonu ile 4 saat inkübasyondan sonra mikropate	57
Resim 3.26: DMSO eklenmiş mikropate	57
Resim 3.27: Formazan kristalleri	58
Resim 3.28: ELISA okuyucusuna yerleştirilen mikropate	58

KISALTMALAR

MTT	: [3,(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide]
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DMEM	: Dulbeco's Modified Eagles Medium
Mm	: milimetre
Mpa	: Megapaskal
CAD-CAM	: Computer Aid Design-Computer Aided Manufacture System
ATP	: Adenozin trifosfat
FDI	: Uluslararası Diş Hekimliği Birliği
ADA	: Amerikan Diş Hekimliği Akademisi
ISO	: Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu
µl	: Mikrolitre
FBS	: Fetal Bovine Serum
BSA	: 3% bovine serum albumin
L929	: Fare fibroblast hücresi
LDH	: Laktat Dehidrogenaz

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Diş hekimliğinde kaybolan diş dokusunu yenilemek, estetik, fonksiyon ve biyolojik uyumu sağlamak için yoğun çalışmalar devam etmektedir. Sabit protezlerde kullanılan seramik, estetik ve doku dostu bir materyaldir.

Seramiklerin gerilim kuvvetlerine karşı dirençlerinin düşük olması sebebiyle metal bir alt yapı ile desteklenerek, zayıf gerilim dirençleri arttırılmaya çalışılmıştır ve bu hususta da başarılı olunmuştur. Metal alt yapıli seramiklerin; ışık geçirgenliğinin olmaması, renk derinliğinin yetersizliği, istenilen estetiğin sağlanamaması, seramiklerin metal alaşımındaki gümüş nedeniyle bağlanma dayanıklılığının azalması, fırınlama sonrası metal yüzeyinde ortaya çıkan oksit tabaksının metal-seramik birleşmesini etkilemesi gibi bazı dezavantajları vardır.

Bu nedenlerden dolayı tam seramik sistemler diş hekimliğinin kullanımına sunulmuş bir seçenektir. Hastaların, doğal diş renginde restorasyonlar istemesi ve yeni tam seramik sistemlerin geliştirilmesi çeşitli restoratif durumlarda tam seramik materyallerinin kullanılmasını arttırmıştır.

Canlı dokular ile yapay materyalleri yakın temasta kullanma gereksinimi biyolojik uyumluluk kavramını beraberinde getirmektedir. Tam seramik restorasyonlar periodontal dokularla uzun süreler yakın temasta bulunmaktadır. Bu nedenle tam seramikleri güçlendirmek için kullanılan alt yapı sistemlerinin biyouyumluluğu merak konusudur.

Feldspatik seramiklerin sitotoksisitesini inceleyen çalışmalara literatürde rastlanmakta olup; tam seramiklerin sitotoksisitesini inceleyen çalışma sayısı çok azdır.

Bu çalışmanın amacı, günümüzde sıklıkla kullanılan altı adet tam seramik alt yapı materyalinin sitotoksisitelerinin incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DENTAL SERAMİKLER

2.1.1. Dental Seramiklerin Tarihçesi ve Gelişimi

Seramik, yunanca “keramos, keramikos” kelimesinden gelmektedir. Tam karşılığı yanık maddedir, fakat daha çok ateşte yanarak spesifik olarak üretilen madde anlamında kullanılmaktadır. Seramik kelimesi çok geniş anlamda kullanılan bir terimdir. Kendi içinde porselen, çimento, fayans, kiremit, tuğla, çömlek, camlar, kil ürünleri, metal olmayan manyetikler, ileri teknoloji seramikleri gibi geniş bir yelpazeyi barındırır (1). Seramikler genel olarak silikat yapısındadır. Genellikle oksijen gibi metal olmayan bir element ile diğer metallerden birinin kombinasyonudur (2).

Seramik M.Ö. 50 yıllarında Çinliler tarafından kullanılmış, XVI. yüzyılda Portekizli denizciler tarafından Avrupa'ya getirilmiştir ve Avrupa'da ilk olarak 1500 yılında üretilmiştir (3).

Seramiğin diş hekimliğinde kullanılabileceği ilk kez 1723 yılında Pierre Fauchard tarafından bildirilmiştir (4).

Seramik, diş hekimliğinde ilk olarak 1774 yılında bir eczacı olan Duchateau tarafından kullanılmıştır. Duchateau, sert porselenden total protez dişlerinin yapımını denemiştir. 1788 yılında Nicholas Dubois de Chemant, Duchateau'nun yöntemini geliştirmiş ve ilk protez dişler için patent almıştır (3).

1808'de İtalyan Giussepangelo Fonzi porselen dişlerin, arka yüzeylerine platin pinler yerleştirerek, metal kaide plağına lehimlenebilmelerini sağlayan bir yöntem geliştirmiştir (5).

1895 yılında C.K.Land, platin yaprak üzerinde porselen fırınlamayı başararak günümüzde kullanılan porselen jaket kronların gelişmesine katkıda bulunmuştur (4,6,7).

Başlangıçta porselen çalışmalarından pek parlak sonuçlar alınamıyor ve pişirildikten sonra porselende oluşan pörözitenin yok edilmesi çalışmaların başında geliyordu. Tüm çabalar 1949 yıllarına doğru olumlu sonuçlarını vermeye başladı. Ortaya atılan değişik tekniklerin arasında Almanya'da Gatzka'nın etkisiyle, Wienond firması vakumda ilk suni porselen dişleri elde etmeyi başardı. Bunu takiben porselen jaket kron, inlay ve benzeri porselen işleri vakumda hazırlanabildi. Bu porselen için büyük bir aşama sayıldı (8-13).

Dental seramikler, mevcut olan birçok olumlu niteliklerine karşın pöröz yapısı yüzünden kırılımandır. Bu nedenle üreticiler bir destek bulmaya yönelmiş ve bu amaçla metal alt yapı kullanılmıştır (14-16).

1950'lerde "lösit" eklenmesi ile seramiğin genleşme katsayısı yükseltilerek altın alaşımları ile güçlü bağlantı sağlanmış (4), 1958 yılında ise Vines ve arkadaşları vakum ile pişirilen ince seramik tozunu ve vakumlu fırınlamayı geliştirmişlerdir (4,17).

1962 yılında Weinstein ve arkadaşları ilk defa % 11-15 oranında K₂O (potasyum oksit) içeren seramik tozu ile metal destekli seramik restorasyonları yapmışlardır (17).

1970'lerde altın fiyatlarındaki artışın da etkisi ile yarı değerli metal alaşımlarının kullanımına başlanmıştır. Vines, Semmelman, Lee ve Fonvielle vakum altında pişirme tekniğini bularak, porselenin ışık geçirgenliğinde önemli gelişme sağlamışlardır (2,5).

Ancak metal alt yapının ışığın geçişine izin vermemesi nedeniyle mevcut doğal dişlerle renk uyumunun sağlanması zaman zaman sorunlar ortaya çıkmaktadır (18).

Metal alt yapının ağız sıvılarından etkilenecek korozyona uğraması dişetinde renklenmelere sebep olabilmektedir (19). Ayrıca bazı hastalarda çeşitli metallere karşı hassasiyet ve allerji gelişebilmektedir (20).

Metal alt yapının dezavantajları, araştırmacıları daha başka arayışlara yöneltmiştir. Bunun sonucunda, ışığın doğal dişe benzer şekilde kırılarak geçebildiği ve yansıyabildiği, metal alt yapı içermeyen tam seramikler üretilmiştir (15,20).

1965 yılında McLean ve Hughes, alt yapısı % 40-50 oranında alumina kristalleri ile kuvvetlendirilmiş seramik ile jacket kron yapımını geliştirmişlerdir (17,21,22).

1972 yılında ise Southan ve Jorgensen'in "refraktör day" materyalini geliştirmeleri ile diş hekimliğinde tam seramik sistemleri yaygınlaşmıştır (18).

1976 yılında McLean ve Sced, çift folyo tekniği ile platin folyoyu kron iç yüzeyinde bırakarak alumina seramik jaket kronların güçlendirilmesini sağlamışlardır (17,21).

80'li yıllardan itibaren günümüze kadar hem estetik hem de dayanıklılığı arttırmak için tam seramik sistemleri üzerinde çalışmalar yapılmış olup, pek çok sayıda tam seramik sistemi geliştirilmiştir (21).

2.1.2. Dental Seramiğin Bileşimi

a) Feldspar ($K_2O-Al_2O_3-6SiO_2$): Dental seramiklere eritici ve birleştirici olarak etki eder. Seramik kitlesine akıcılık kazandırır ve camı yapıdan sorumlu esas elementtir. Feldspar 1250-1500 °C civarında eriyerek serbest kristalin fazında cama dönüşür, kuartz ve kaoline yapı olarak yardımcı olur. Feldsparın soda formu ergime sıcaklığını düşürürken, potas formu ergimiş materyalin (camın) viskozitesini arttırarak fırınlama sırasında oluşan toplanma ve piroplastik akmayı azaltır. Bu özellik seramiğin kenarların yuvarlaklaşmasını, diş formunun ve yüzey detaylarının kaybolmasını önler. Feldspar, porselen kitlesindeki ısıya dirençli elemanları birbirine bağlar. Porselene % 70-85 oranında katılır (2,4,8,23,24).

b) Kuartz (SiO_2): Ergime derecesi 1700 °C'dir. Erime ısını yükselterek seramiğin sertliğini ve stabilitesini sağlar. Kuartz, seramik kitlesine şeffaflık verir ve fırınlama sonrası kontraksiyonu engeller. Seramiğe % 10-22 oranında katılır (2,4,8,24).

c) Kaolin ($\text{Al}_2\text{O}_3\text{SiO}_2\text{H}_2\text{O}$): Ergime ısısı 1300 °C'dir. Volkanik taştan şekillendirilen bir kildir. Seramik hamuruna plastisite kazandıran opak yapıda dehidrate olmuş bir aliminyum silikat olup, kitleye mat bir görüntü verir. Bu yüzden mine tozlarına hiç eklenmez. Kaolin fırınlanmamış seramiklerin modelajını kolaylaştırdığı için bir bağlayıcı olarak eklenir. Seramiğe % 1-3 oranında katılır (2,4,24).

Diş hekimliğinde kullanılan seramik tozu yukarıda bahsedilen içeriklerin basit bir karışımı değildir. Bu tozlar önce bir kez fırınlanır, üretici firma bunları belirli oranlarda karıştırır, ilave metal oksitler katar, birleştirir ve erimiş kitleyi suda soğutur. Sonuçta çıkan bu ürün 'frit' olarak bilinir. Bu ani soğutmaya bağlı olarak cam içinde önemli bir stres birikimi ve yaygın çatlaklar oluşur. Bu materyal kolayca ezilerek toz haline getirilir ve diş teknisyenleri tarafından kullanılan ince seramik tozu elde edilir (25).

2.1.3. Dental Seramiğin Renginin Oluşturulması

İlk rengi beyaz olan seramik, translusent bir yapıya sahiptir. Renk ve gölge değişimleri pigment ilaveleriyle elde edilir.

Tablo 2.1. Dental seramiklerde renk oluşturan metal oksitler ve oluşturdıkları renkler

Metal ve Oksitleri	Renk
Titan Oksit	Sarı
Uranyum Oksit	Sarı portakal
Krom Alüminat	Gül rengi
Metalik Altın	Kahverengi-kırmızı
Demir Oksit ya da Nikel Oksit	Kahverengi
Kobalt Alüminat	Mavi
Krom ya da Bakır Oksit	Mavi – yeşil
Manganez	Gri-lavanta yeşili
Demir fosfat ya da Platin	Gri

Pigmentler seramik karışımları ile birlikte pişirilen metal oksitlerdir. Uygun seramik beyazı; zirkonyum, silisyum ilaveleriyle elde edilebilir. Sarı; vanadyum ya da krom ile birlikte Ti oksit kullanılarak elde edilir. Kırmızımsı renklerin elde edilmesi çok zordur. Koloidal şeklindeki altın bu işlem için en uygun olanıdır. Mavi ise kobalt tozları kullanılarak elde edilir. Genel olarak glazür materyali, bor oksitleriyle beraber kullanılan, pişmeyi kolaylaştırıcı katkılardan hazırlanır (8,22,26).

2.1.4. Luminisans Özelliği

Luminisans; parlama ışıldama anlamına gelir. Flouresans ve fosforesans adı verilen iki optik etkinin birleşimi ile oluşur. Fosforesans, üzerine gelen primer ışık ortadan kalktıktan sonra da daha önce absorbe ettiği ışıklardan daha uzun dalga boylu ışık yaymaya devam eden cisimlerin özelliğidir. Diş hekimliğinde kullanılan seramiklerde bu özellik görülmez. Belli bir dalga boyuna sahip ışınların cisim tarafından absorbe edilerek daha uzun dalga boylu bir radyasyon şeklinde geri yayılmasına ‘flouresans’, bu tür cisimlere ‘flouresan’ denir (22,24). Doğal dişler gün ışığında bir miktar flouresans gösterirler. Seramik üreticileri flouresans özelliğinin elde edilmesinde büyük ilerlemeler sağlamışlardır. Bazı yeni seramikler ultraviyole ışık altında mavimsi beyaz bir flouresans özelliğine sahiptir. Bu özelliğin elde edilmesi uranyum tuzları ve sodyum diüronat gibi radyoaktif maddelerin eklenmesiyle gerçekleşmekteydi. Ancak günümüzde bunların zararlı etkileri nedeniyle europinyum, samaryum, uterbiyum gibi lanthanidler yani dünya elementleri kullanılmaya başlanmıştır (21,27-29).

2.1.5. Dental Seramiklerin Sınıflandırılması

Piştirme ısılarına göre;

- Yüksek ısı seramiği 1300°C,
- Orta ısı seramiği 1100-1300°C,
- Düşük ısı seramiği 850-1100°C,
- Ultra düşük ısı seramiği 850°C den düşük.

Bileşimlerine göre;

- Felspatik dental seramik,
- Metal destekli dental seramik,
- Metal desteksiz dental seramik.

Fırınlama yöntemlerine göre;

- Atmosfer basıncı altında fırınlananlar,
- Vakum altında fırınlananlar.

İşlenme yöntemlerine göre;

- Sinterleme yöntemiyle hazırlananlar,
- Döküm yöntemiyle hazırlananlar,
- Freze yöntemiyle hazırlananlar.

Alt yapı materyallerine göre;

- Döküm metal alt yapı ile,
- Metal folyo metal alt yapı ile,
- Cam seramik metal alt yapı ile,
- Cad-Cam porseleni alt yapı ile,
- Sinterlenmiş seramik kor alt yapı ile.

Kullanım alanlarına göre;

- Yapay dişlerin üretiminde kullanılanlar,
- Kron, köprü, veneer ve inley yapımında kullanılanlar,
- Metal kron köprülerin kaplamasında kullanılanlar (8,23).

Dental seramiğin baskı kuvvetine olan direnci, gerilme kuvvetlerine olan direncinden fazladır. Bu nedenle seramik restorasyonlar ilk geliştirildikleri 1950’li yıllardan günümüze kadar metal alt yapı ile desteklenerek kullanılmaktadır. Klinik incelemelerindeki %97 ile 99 oranındaki başarılarına rağmen metal destekli seramik restorasyonların halen aşağıda sıralanan dezavantajları bulunmaktadır (8,30-32).

Metal Destekli Seramik Restorasyonların Dezavantajları

1. Seramiğin bağlandığı metal alaşımın alerjik reaksiyon potansiyeli ve korozyon toksisitesi,
2. Metal alaşımın, içerdiği gümüş nedeniyle seramikte katsayısı uyumsuzluğuna neden olması, bunun da metalin seramiğe olan bağlanma dayanıklılığını azaltması,
3. Metal ile seramik arasındaki ısısal genleşme katsayısı uyumsuzluğu nedeniyle metalin seramiğe olan bağlanma dayanıklılığını azaltması,

4. Fırınlama sonrası metal yüzeyinde ortaya çıkan oksit tabakasının metal seramik birleşimini etkilemesi,
5. Metalin ışık geçirgenliği olmaması nedeniyle, renk derinliğindeki yetersizlik ve restorasyonun doğal görünümünü elde etmedeki güçlük (18,32-35).

Bu dezavantajlar ve bilhassa anterior bölgedeki estetik gereksinim, bu tip restorasyonlarda metal alt yapının elimine edilmesine yönelik arayışları arttırmıştır. Önceleri özel basamak materyali kullanılmış (metal yerine shoulder seramiği), daha sonra platin folyo tekniği ile metal kalınlığı en aza indirilmeye çalışılmış ve zamanla metal destekli olmayan tam seramik restorasyonlar geliştirilmiştir (2,18,35-37).

2.2. TAM SERAMİKLER

Tam seramik restorasyonların avantajları şu şekilde sıralanabilir:

- Estetik özelliği mükemmeldir (18,38).
- Renkte derinlik sağlarlar ve ışığı yansıtma özelliklerine sahip oldukları için doğal diş yapısına daha yakın görünümde dirler (39).
- Dokularla biyolojik olarak uyumludurlar ve korozyona dirençlidirler (18).
- Doğal diş dokusuna yakın ısısal genleşme katsayısına ve ısı iletkenliğine sahiptirler (18,40).
- Komşu ve karşı metal dolgularla teması sonucu galvanik akıma neden olmazlar (18,38).
- Baskı kuvvetlerine karşı dayanıklıdır (14,41).
- Radyolusent olup, radyografik teşhiste engel teşkil etmezler (18,38).
- Metal destekli seramik restorasyonlarda ortaya çıkan gingival renklenme ve alerjik kontakt stomatit tam seramik restorasyonlarda görülmez (42,43).
- Veneer seramiği ile kor arasında, metal-seramik arasında olduğu gibi bir bağlantı sorunu yoktur (18,38).

2.2.1. Tam Seramik Sistemleri

Hastaların estetik beklentilerine daha uygun olan tam seramik restorasyon sistemleri yapım tekniğine göre 4 gruba ayrılabilirler;

1. Dökülebilir tam seramikler,
2. Refraktör Die'lar üzerinde fırınlanan seramikler,
3. Isı ile presleme tekniği kullanılarak elde edilen seramikler,
4. Bilgisayar destekli tam seramik kopyalama sistemi ile üretilen seramikler

2.2.1.1. Dökülebilir Tam Seramikler

Cam seramikler, camın kontrollü kristalizasyonu ile hazırlanan katı polikristalinlerdir. Orijinal cam seramik tetrasilik flormika kristalleri içerir ($K_2Mg_5SiO_2OF_4$). Bunlar arasında en bilineni Dicor'dur (4).

Dicor: 1983 yılında Grossman ve 1984 yılında Adair'in çalışmaları sonucunda ortaya çıkan döküm tam seramik sistemidir (14,18,24,44).

Dicor, kimyasal olarak CaO , P_2O_5 , MgO , SiO_2 , K_2O , Al_2O_3 ve renklendirici ajanlardan oluşur. Temel yapısını tetrasilicis fluormika ($K_2Mg_5Si_8O_{24}F_4$) cam porselen materyali oluşturur.

Cam seramik; gözeneksiz, homojen ve mikro yapıdadır. Camın şekilsiz bir matriks içerisindeki kristallerinin gelişmesinin kontrol edilmesinden uniform hacimli olduğu ortaya çıkmıştır. Gelişmiş kristal tipleri ve gelişmiş kristallerin genişliği cam seramiğin özellikleri olarak belirlenmiştir (44,45,46).

Dökülebilir cam seramikler yüksek basınç dayanıklılığına, doğal mine sertliğine ve benzer yoğunluğa sahiptir.

Metal veya kor olmadığı için, metal-seramik kromda olduğu kadar fazla dış preparasyonu gerektirmemektedir. Bu materyalin biyolojik uyumunun çok iyi olduğu ileri sürülür. Bu materyalin, doğal dişlerle karşılaştırıldığında, 7 kat daha az plak birikimine neden olduğu gösterilmiş, ayrıca karşıt dişin minesinde daha az abrazyona yol açtığı belirtilmiştir (14,18,24,46).

Cam seramik sisteminde, mum örnek bilinen yöntemlerle işlenir, muflalanır, yakılır ve cam ile döküm yapılır. Döküm, mika tip kristallerden oluşan parsiyel kristalin safhasında uyumlandırılır ve konturlanır. Renk porseleni, istenilen rengi elde etmek için yüzeye seri halinde 4 tabaka şeklinde sürülür. Komşu dişlerin renkleriyle son derece iyi uyum gösterirler. Kronlar için en iyi estetik, cam seramikten kor yapısını döküp feldspatik porselenin veneerini eklemek ile elde edilir (18,24,46,47).

Ceraparl: Hobo ve Iwata, doğal diş yapısını taklit etmek için sentetik hidroksilapatitin en ideal restoratif materyal olacağı düşüncesiyle 1985 yılında indirekt bir teknik geliştirmişlerdir (48). Cera-Pearl adı verilen bu sistemin tekniği Dicor cam porselene benzemektedir. Bu sistemde kalsiyum fosfat esaslı cam, kontrollü ısı uygulamasıyla kısmen kristalin bir yapıya dönüştürülür. Bu ilk kristalin faz oksipatit yapısındadır.

Suyun varlığında hemen hidroksilapatite çevrilir. Işığın kırma özelliği, yoğunluğu ve termal iletkenliği doğal mineye benzer bulunmuştur (49).

CD 200: Kimyasal olarak dayanıklı, esneme direnci iyi olan biyolojik uyumlu bir maddedir. Yapısında % 50 SiO₂, % 10 Al₂O₃, % 10 P₂O₅, % 20 CaO ve % 10 MgO bulunur. Mum atımı sonrası cam kütle 1500 °C’de döküm makinesinde şekillendirilir. Bu şekilde 15 dakika kalan kütle daha sonra 890 °C’de 2 saat kristalizasyon işlemine tabi tutulur. Rövetmanın uzaklaştırılması sonrası yüzey renklendirmesi için 830 °C’de fırınlama işlemine tabi tutulur. Kenar uyumu iyi olan CD-200 materyali yaygın olarak kullanılmamaktadır (50).

Dökülebilir kalsiyum fosfat cam seramik (CCPG): Bu tip dökülebilir cam seramiklerde cam oluşumu P₂O₅ tarafından gerçekleştirilir. Doğal dişe çok yakın bir sertlikte olan CCPG, aluminus seramiklere yakın bir direnç sergiler (50).

Olympuss Dökülebilir seramik (OCC): Mika ve lityum alumina silikat beta spodumen içerikli dökülebilir seramik materyalidir. Lityum alumina silikat, materyalin direncini artırır. Baskı kuvvetlerine karşı direnci (850 MPa), esneme direnci (220-300 MPa) kabul edilebilir sınırlardadır. Klinik çalışmalarda mekanik performansı iyi bulunmuştur (50).

2.2.1.2.Refraktör Die’lar Üzerinde Fırınlanan Seramikler

Hi-Ceram: % 70 Al₂O₃ içeren bir kor materyalidir. Kor seramiği, seramiğin platin yaprağı ıslatmasındaki zorluklardan dolayı direkt olarak ısıya dayanıklı day üzerinde fırınlanmakta, dentin ve mine ise daha sonra bilinen yöntemlerle kor üzerinde şekillendirilmektedir (14).

Geleneksel seramiklere göre % 25 daha serttir. Day materyali, kor seramiği ve bunun üzerinde pişirilen seramik ile eşit ısısal genleşme katsayısına sahip olduğundan, Hi-Ceram kor seramiğinin fırınlanmasına olanak verir. Hi-Ceram sistemi, üstün estetik sağlar, kenar uyumu ve boyutsal stabilitesi iyidir. Tekniği diğer metal desteksiz seramik sistemlerine göre daha ucuzdur. Röntgende translüsent görüntü vererek radyografik teshisi kolaylaştırır. Doğal dişle aynı ışık geçirgenliğine sahiptir. Bunun yanında, diğer tam seramik sistemlerine göre daha fazla çalışma aşaması gerektirir. Son fırınlamadan sonra aşındırıcılarla day materyali krandan uzaklaştırılırken kenar uyumu bozulabilir. Kenar uyumu bozulduğu takdirde seramik mum tekniği ile basamak seramiği

kullanılarak kenar uyumunun düzeltilmesi gerekir. Partiküller arasında homojenite sağlanamaması sonucu pörözite olabilir (51).

Alceram/Cerestore: 1983'te Soziyo ve Riley, Cerestore sistemini tanıtmışlardır (52). Bu sistem, ısıya dayanıklı plastik die ve enjekte edilen alüminous kor seramiği içermektedir. Sürenin ve pişirme siklusunda ısının kontrolü ile büzülmenin olmadığı bir seramik sisteminin elde edilmesi düşünülmüştür. Orijinal materyalden daha fazla yer tutan magnezyum oksit ($MgAl_2O_4$) kristallerinin oluştuğuna, böylece büzülmenin kompanse edildiğine inanılmıştır (53,54).

Kor materyali %70 oranında alümina kristali içerdiği için, direnç daha fazla olmakta, ancak veneer seramiği ile maskelenmesi zor olan daha parlak kor oluşmaktadır. Enjeksiyon muflalamaya ve uzun, yavaş pişirme zamanına bağlı olarak marjinal adaptasyon mükemmel olmaktadır. Muflalama, döküm ve pişirme için özel ekipman gerektirdiği için pahalı bir sistemdir (14,53,54).

Seramik kor için, bilinen yöntemlerle mum örnek hazırlanır ve plastik die ile birlikte muflaya alınır. Mum, kaynar su ile elimine edildikten sonra, seramik, akıcı kıvama kadar ısıtılır ve daha sonra muflaya enjekte edilir. Soğuyan seramik die'dan çıkarılır, düzeltilir ve 14 saat süre ile pişirilir. Bu aşamadan sonra, veneer seramiği bilinen yöntemlerle uygulanır (14,18,46,53,54,).

In-Ceram Alumina: 1989'da Dr. Michael Sadoun sıvı faz içerisinde dağılmış alumina partikülleri anlamında tanımladığı "Slip Cast" dirençli alumina seramikleri olarak In-Ceram'ı keşfetmiştir (39).

In-Ceram ince grenli Al_2O_3 'in ince cam tabakasıyla birbirine kaynaşmış, homojen ve pörözsüz yapısı nedeniyle, bu güne kadar kullanılan dental porselen materyallerinin hepsinden daha yüksek eğilme dayanıklılığına sahiptir (34,55,56).

%90 Al_2O_3 içeren bir core materyalidir. Çok ince granüllü Al_2O_3 parçacıkları içeren toz özel bir sıvı ile karıştırılır ve oluşturulan süspansiyon die üzerine sürülür. Hızla sıvı kaybına uğrayan yapı iyice yoğunlaşır ve özel fırında $1120\text{ }^{\circ}C$ 'de 10 saat fırınlanır. Daha sonra ortaya çıkan bu pöröz yapıya yine çok ince cam (lanthanum silikat) taneciklerinden oluşan yapı sürülür (49,57).

İkinci fırınlamada camın tüm pöröz boşluklara kılcal hareketle akması sağlanır (57). Ortaya çıkan kor materyalinin üzeri yüzey porseleni ile kaplanarak restorasyon son haline getirilir (49,56).

Ağız içinde yüksek çiğneme kuvvetlerine maruz kalan dental seramiğin direncini arttırmak için kullanılan en yaygın metot, cam yapı içindeki kristallerin yükü karşılama kapasitesini arttırmaktır. Yüksek dirence ve elastisiteye sahip seramik kristalleri dental seramiğin cam fazı içine ilave edildiğinde oluşan seramiğin direnç ve elastisitesi de artacaktır. Böylece kuvvet karşısında seramiğin iç yapısında oluşan çatlakların ilerlemesi durdurulacaktır (49). Crispin'in belirttiğine göre In-Ceram tam seramik sistemi, yüksek kırılma direnci sayesinde ön ve arka bölgedeki kronların ve ön bölgedeki köprü protezlerinin yapımında kullanılabilir (58).

In-Ceram seramik sistemi alumina ve cam denilen ve üç boyutlu olarak birbirleriyle iç içe geçme gösteren iki devre içermektedir (4). Bu sistemde kor materyaline yüksek direnç sağlayan 1-5 mikron gren boyuna sahip alüminyum oksit kristalleri kullanılır. (2,14). Bu sistemde alumina kristallerinin su içindeki süspansiyonuna "slip" adı verilir ve bu slip özel refraktör die alçısı üzerine sürülerek fırınlanır (slip casting) (2,4,14).

Diş kesiminde dikkat edilmesi gereken noktalar diğer tam seramik sistemlerinde olduğu gibi 1-1,5 mm.lik aşındırmanın yapılması ve 90°'lik veya 120°'lik Sholder tipi basamak kesimine gerek duyulmasıdır. Diş kesiminde undercut olmamalı, tüm keskin kenarlar ve köşeler yuvarlatılmalıdır. In-Ceram core kalınlığı 0,5 mm.'den az olmamalıdır (49).

In-Ceram restorasyonlar mükemmel bir marjinal adaptasyon ve dayanıklılığa sahiptir ve araştırmalarda iyi sonuçlar verdiği rapor edilmiştir. Ancak pahalı olması yapımının zaman alması ve özel alet ve ekipman gerektirmesi gibi dezavantajları vardır (14, 45,59).

In-Ceram Zirkonya: In-Ceram Zirkonya sistemi, kor materyali olarak % 35 lik bölümlü stabilize zirkonya ile cam infiltre alüminayı birleştirmiştir. In-Ceram Alumina sisteminde olduğu gibi, bu sistemde de, slip casting tekniği ya da prefabrike sinterize bloklar kullanılabilir. Kor materyalinin rapor edilen esneme dayanıklılığı 421-800 MPa arasındadır. Cam infitre alumina kor materyali için kırılma sertlik değeri ise, 6-8 MPa/m^{1/2} dir. Bu tip restorasyonlar için konnektörün minimum okluzogingival boyutu 4-5 mm, bukkolingual boyutu ise 3-4 mm'dir. In-Ceram Zirkonya koru opak olduğu

için, estetiğin en önemli faktör olduğu anterior sabit bölümlü protez uygulamalarında önerilmemektedir (34).

Optec HSP: Lösit ile güçlendirilmiş (%50) bir feldspatik seramik olan Optec, iyon değişimiyle güçlendirilmiştir. Geleneksel seramik gibi kondanse edilir ve sinterlenir. Alt yapı kullanılmadan hazırlanan kronlar, alüminyum folyo veya ısıya dayanıklı daylar üzerinde şekillendirilir. Alüminöz kronlar ve cam infiltre edilmiş alüminöz kuronlardan daha saydamdır. Cam matriks ve lösit kristallerinin yansıma indekslerinin yakın olması nedeniyle yüksek oranda yarı şeffaf bir yapı gösterir. Dayanıklılık, büyük ölçüde lösit kristallerinin çekirdek oluşumuyla sağlanır (2,18,54).

Optec tam seramik sisteminin kenar uyumunun iyi olmaması en büyük dezavantajdır. Çünkü, lösitle güçlendirilmiş seramik kondanse olurken ve sinterlenirken, hacimsel küçülme meydana gelir. Bu da kenar uyumunu olumsuz etkiler. Son derece estetik olduğu için, estetiğin önemli olduğu ve fazla kuvvetin gelmediği yerlerde kullanılmalıdır (2,18,33,54).

Mirage: Refraktör day üzerinde fırınlanarak hazırlanan Mirage, zirkonyum oksit kristalleriyle güçlendirilmiş kor seramiğidir (50).

Vitadur: % 50 oranında Al_2O_3 içeren feldspatik seramiktir. Vitadur, refraktör day üzerine uyumlanan platin folyonun üzerine fırınlanarak elde edilir (18,50).

2.2.1.3. Isı İle Presleme Tekniği Kullanılarak Elde Edilen Seramikler

a) Lösit Esaslı Seramikler

IPS Empress: Doğal dişe benzer özelliklerinden dolayı canlı dişlerde; yarı şeffaf bir seramik materyalinin kullanımı, estetik açıdan son derece önemli bir üstünlüktür. Dökülebilir cam seramikler ve ısıya dayanıklı die üzerinde hazırlanan tam seramik teknikleri, bu gereksinimi karşılamak üzere geliştirilmiştir. Eriyerek yapılma esasına dayanan, ısıya dayanıklı day tekniklerinde en önemli olumsuzluk, seramik partikülleri arasında homojenite olmamasından kaynaklı küçük porözitelerin oluşmasıdır. Bu porözitelerin, çatlak oluşumunu başlatabileceği ve restorasyonlarda, erken başarısızlığa neden olabileceği iyi bilinmektedir. Son yıllarda döküm tekniği ile porözitesi en aza indirilebilen Dicor ve CeraPearl gibi dökülebilir seramik sistemlerinde de, ısı işlem kullanılarak kristalizasyon olayının kontrol edilmesi gerekir. Ancak bu seramikte ilave bir büzölmeye neden olur (46,54,55,58,60).

Bu olumsuzlukları yenmek amacıyla, 1983 yılında Z r h  niversitesinde ısı ile presleme tekniğinin kullanıldığı IPS Empress Sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemde seramik l s t kristalleri ile (SiO_2 Al_2O_3 K_2O) güçlendirilmiştir (46,55,58). Yaklaşık 1-5 μm büyüklüğünde olan l s t kristalleri silikat cam matriks hacminin % 40'ını oluştururlar. Sistemde kontrol edilmiş yüzey kristalizasyonu söz konusudur (61).

Mum modelaj ve kayıp mum tekniğı kullanılan bu sistemde, fosfat bağılı revetman içinde kısmen  n işlemlere tabi tutulmuş ve renklendirilmiş cam-l s t tabletler ısıtılıp preslenmektedir (14,50,56).

Boyama ve tabakalama olmak üzere iki farklı yapım tekniğine sahiptir. Boyama tekniğ nde elde edilen kron, estetiğıe uygun olarak boyanıp, glaze işlemi ile bitirilir. Tabakalama tekniğ nde ise preslemeden sonra, elde edilen yapı kontrollü olarak aşındırılarak üzerine uygun veneer seramik materyali uygulanıp, fırınlanır (38,62).

IPS Empress'in aşındırma etkisi ve yüksek yarı ge irgenliğı doğıal dişlerdeki benzer, bükülme kuvvetlerine karşı dayanıklılığı 120-200 MPa'dır (56).

IPS Empress inley, onley ve tek kron yapımında kullanılmaktadır.    veya daha fazla üyeli köprülerde kullanılmaz (17,20,45).

Finesse Tam Seramik Düşük Isı Seramiğı: L s t oranı düşük olan feldspatik cam seramiktir. Bu seramikte, dental seramiklerin arzu edilen özelliklerini maksimuma çıkarmak için l s t içeriğı azaltılmıştır. L s t içeriğı % 8-10 oranındadır.

Finesse seramikler, klasik yüksek ısılı seramiklerin istenilen pozitif özelliklerinin hepsine sahiptir. Ayrıca diğ r dental seramiklerde bulunmayan eşsiz fiziksel özellikler gösterirler (50). Yapılan  alışmalarda Finesse seramiklerin yüksek ısılı seramiklere kıyasla % 70 daha az abraziv olduğı gösterilmiştir (63,64). Finesse seramik, l s t içeriğinin düşük olması nedeniyle karşıt dentisyona daha az zarar verir. Düşük fırınlama ısısı mine seramiğinin opasitesinin artmasına neden olur. Polisaj kolaylığı nedeniyle uyumlamadan sonra tekrar glaze yapmaya gerek kalmaz. Bu da diş hekimi ve hasta için daha az zaman kaybı demektir (63).

Optec Preslenebilir Seramikler: Optec OPC l s t miktarı artmış bir feldspatik seramik türüdür. Basınç ve ısı altında muflanarak şekillendirilirler. Basınçlı fırın ve day materyali gibi özel ekipman gerektirirler. Kor yapımında da kullanılabilir. Kor yapı,

Optec HSP seramiğine benzer yüksek l  sit ihtiva eden feldspatik seramiklerle veneerlenebilir (50).

b) Lityum silikat esaslı seramikler

IPS Empress 2: IPS Empress 2, 1998 yılında Beall ve Echeverria tarafından geliştirilmiştir (65). Esas kristal faz lityum disilikattan ($\text{Li}_2\text{Si}_2\text{O}_5$) oluşmaktadır ve cam, seramiğin hacminin % 70'ini oluşturmaktadır. İkinci kristal faz lityum ortofosfat (Li_3PO_4) içermektedir ve daha düşük hacimdedir. Bu seramiğin mekanik özellikleri l  sit esaslı seramiklerin mekanik özelliklerinden oldukça yüksektir. Fleksural (esneme) dayanıklılığı 350-450 MPa'dır ve kırılma dayanımı yaklaşık olarak l  sit cam seramiklerden 3 kat daha fazladır (51).

Isı ve basınç tekniğinin, lityum disilikat kristal fazda homojen yapı oluşumunu sağladığı, kontrol edilemeyen mikro çatlak oluşumunu engellendiğı, kısa sürede ve kolay restorasyon hazırlanmasına olanak sağladığı ifade edilmiştir. Seramik ingotlar EP500 adı verilen özel fırında 920   C'de visk  z akma özelliğine ulaşır ve basınçla revetman boşluğunun içine yollanır. Lityum cam seramik kor yapı üzerine, tabakalama tekniğı ile florapatit yapıda cam seramik uygulanır. Isısal genleşme katsayıları birbiri ile uyumlu olan lityum disilikat kor yapı ile üzerine pişirilen apatit cam porselen materyaller arasında oluşan bağlanmanın güvenilir olduğı gösterilmiştir (17,66).

Sistem ikinci premolara kadar bölgedeki tek diş eksikliğinde     yeli köprülerin yapılmasına olanak tanımaktadır. Ancak bu restorasyonların klinik ömrünü ve dayanıklılığını arttırmak için seramik yüzeyinin p  r  zlendirilip adeziv simantasyon tekniğı ile yapıştırılması önerilir (67,68).

IPS E.max: 2005 yılının sonunda firma IPS Empress II'nin bir sonraki jenerasyonu olarak IPS E.max sistemini piyasaya sunmuştur. Pres tekniğı ile kullanılan lityum disilikat cam seramiktir. Temel kristal faz olan lityum disilikat 3 ila 6   m uzunluğundaki iğne benzeri kristallerden oluşur. Bu lityum disilikat kristaller cam matriks içine gömülmüş şekildedir. Bu teknikte, renk pigmentleri erime ısısına ulaştığında eriyeyeceğı için materyale ilave edilmezler. Bunun yerine cam içinde c  z  nen polivalent iyonlar arzu edilen rengi sağlamak için kullanılır. İyon esaslı renklendirme mekanizmasının kullanılmasının avantajı, renk salan iyonların materyal içinde homojen olarak dağılabilmesidir. Bunun aksine renk pigmentleri mikroyapıda kusurlara neden olmaktadır.

İngotlar şeklinde bulunur ve iki farklı opasitesi mevcuttur. Kırılma dayanıklılığı 400 MPa'dır. Bu sayede IPS E.max anterior ve posterior bölgede hem tek kron hem de tek diş eksikliği durumunda 3 üyeli köprülerin yapımında kullanılabilir (51,69).

2.2.1.4. Bilgisayar Destekli Tam Seramik Kopyalama Sistemi ile Üretilen Seramikler

CAD-CAM (Computer Aid Design-Computer Aided Manufacture System) teknolojinin birçok alanında kullanılan bir üretim şeklidir. Bilgisayar destekli tasarım ve bilgisayar destekli üretim şeklinde ifade edilebilir (64). Sistem önceden üretilen porselen blokların bilgisayar destekli freze yardımı ile şekillendirilmesi esasına dayanır. Kamera yardımı ile elde edilen veriler bilgisayara yüklenir. Daha sonra tasarımları (CAD) yapılarak, üretime (CAM) geçilir. Sisteme bağlı torna aletine aktararak feldspatik veya dökülebilir seramikten çeşitli üreticiler tarafından hazırlanmış porselen blokların tornalanması yolu ile istenilen restorasyonlar elde edilir (14,34).

Cerec: Cerec tekniği, kusursuz marjinal uyumu olan uzun süre kalıcı dental restorasyonlarla ilgili pratik gereksinimleri karşılamak için, 1984 yılında geliştirilmiştir. 19 Eylül 1985'te, Zürih Üniversitesi Dental Enstitüsünde ilk seramik inley bilgisayar yardımıyla dizayn edilerek yapılmıştır. Cerec tekniği ve Cerec 1 cihazı şaşkınlık ve şüpheyle karşılanmış ve bununla ilgili sayısız yayın çıkarılmış, en sonunda 1994 yılında bilimsel olarak kabul görmüştür (70). Aynı yıl, Siemens Cerec 2'yi tanıtmıştır. Bu sistemin geliştirilmesi ile literatüre ilk kez 'optical impression' yani 'görsel ölçü' terimi girmiş ve korelasyon, fonksiyon yapı modellerinin tüm etkisi o zamanki bilgisayarların kısıtlı etkinliği ile sınırlandırılmıştır. Üretim işlemlerinde iki ayrı frez kullanılarak restorasyonun altı eksenle şekillendirilmesi sağlanmıştır (70,71).

Cerec 3, 2000 yılında Sirona firması tarafından üretilmiştir. Bu sistemde Windows NT programı kullanılmıştır. Bilgisayar teknolojisindeki gelişmeler bu cihazın kullanımındaki sınırlamaları önemli ölçüde ortadan kaldırmıştır. Üretim işlemi çabuklaştırılmış, görüntü elde etme ve veri toplama işlemleri önemli derecede hızlandırılmıştır (70).

Dicor MGC, Vita Mark II, Vita Celay ve IPS E.max CAD gibi bu cihazlarda kullanılmak üzere üretilen seramik bloklar dental laboratuvarlarda klasik yöntemlerle yapılan seramiklere nazaran daha yüksek dayanım gücüne sahiptir. Ancak freze işlemi

sırasında oluşabilecek yüzey hatalarının bu dayanıklılığı azaltabileceği gerçeği göz ardı edilmemelidir (29).

Procera: Yüksek saflıkta alüminyum oksit seramik olarak bilinen Procera, Andersson ve Oden tarafından 1993'de geliştirilmiştir (17). Teknikte ölçü, Procera tarayıcı ile laboratuvar ortamından sonra, taranan görüntü e-mail yoluyla Nobel Biocare Sandvik'e yollar. Toplanan veriler bilgisayara transfer edilir. Bu dosya bilgisayar ekranında day'ın uzun ekseninde iki boyutlu kesit alanlar şeklinde yansıtılır. Orjinalinden taranan model üzerinde tüm ince detaylar belirlenerek bilgisayar destekli cihazlar yardımıyla, özel geliştirilmiş CAD software programı kullanılarak koping şekillendirilir (14).

IPS E.max CAD: Lityum disilikat cam seramik bloklardır. Bu kristalin fazda blok olağanüstü bir homojenlik gösterir ve bir CAD-CAM ünitesinde kolaylıkla şekillendirilir. Pek çok CAD-CAM seramiğinin aksine bu materyal 30 dakikalık kristalizasyon süresi boyunca büzülmeyle maruz kalmaz. 3 üyeli anterior köprü kopingi olarak, anterior ve posterior bölgede tek diş kor alt yapı olarak kullanılır. Bu alt yapılar IPS E.max Ceram ile kaplanır (69).

IPS E.max ZirCAD: Yttrium (Y-TZP) oksit ile kısmen stabilize edilmiş, kısmen sinterize zirkonyum oksit bloklardır. 900 MPa gibi çok yüksek dayanıklılık değerleri gösterirler. İşlenmiş kopingler Sintramat'da (yüksek ısı fırını Ivoclar-Vivadent) sinterizasyon işlemine tabi tutulur. Bu aşamada materyal, posterior bölgede yüksek çiğneme kuvvetlerine karşı koyacak kırılma dayanıklılığı kazanır (69).

Lava: 2003 yılında kullanıma sunulan Lava (3M ESPE) tam seramik sisteminde, üstün özelliklere sahip zirkonya seramikler kullanılır. Zirkonya seramiklere özgü sertleşme mekanizması ve suda çözünmeye karşı, Lava zirkonyayı posterior bölgede köprü uygulamaları için uygun materyal yapar. Zirkon blokların yarı sinterize oluşu işlenmelerini kolaylaştırır (72). Lava tam seramik sistemi için kullanılan ekipmanlar, özel bir tarayıcı (Lava Scan), bilgisayara bağlı işleme makinası (CAM) (Lava Form) ve sinterizasyon fırınından (Lava Therm) oluşur. Sinterizasyon büzülmesini tolere etmek için CAD sisteminde restorasyonun dizaynı gerçek boyutundan % 20 daha büyük yapılır (51).

Celay: Celay sistemi, İsviçre Zürih Üniversitesi Protez Kliniğinde, 1988 yılında mikroteknoloji kullanılarak geliştirilmiştir. Amaç, dayanıklı ve yüksek estetiğe sahip seramik restorasyonların daha hızlı üretimini sağlamaktır (60).

Celay-kopya freze cihazının ana prensibi, kapı anahtarı yapma düzeneklerindeki prensibe çok benzemektedir (73).

Celay cihazında iki oda vardır. Cihazın sol tarafındaki bölüme tarama veya kopyalama odası, sağ tarafındaki bölüme aşındırma veya freze odası denir. Freze işlemi özel bir turbin sistemi ile gerçekleştirilir. Kullanıcı, yapılacak olan restorasyonun maketini tarama odasında manuel olarak tararken, aşındırma odasındaki türbin sistemi, tarayıcı uçlarla senkronize olarak seramik blok üzerinde aşındırma işlemini yapar (60,74).

Celay-kopya freze sistemiyle tam seramik restorasyon elde etmek için; kompozit esaslı bir malzemeye restorasyonun alt yapı modelajı yapıp, ışıkla sertleştirilir. Kompozit esaslı model, aletin kopyalama odası denilen bölümüne bağlanır. Kopyalama odasında, aşındırma özelliği olmayan özel tarayıcı uçlar, kompozit maketin yüzeyinde dolaştırıldığında, freze odasında özel frezler senkronik olarak porselen bloğu şekillendirmeye başlar. Kopyalama odasındaki frezler en inceden kalına doğru yerleştirilerek kullanılır (54,74).

Celay sisteminin elektronikten bağımsız tamamen mekanik bir sistem olması, restorasyonun üretim süresinin oldukça kısa olması önemli avantajlarıdır. Dental teknisyenin laboratuvarında yaptığı seramikte, daha homojen olan seramik materyalini karşılaştırdığımızda, homojen olan celay sistemin fiziksel özellikler bakımından daha avantajlı olduğu görülür (73).

2.3. BİYOLOJİK UYUM

Biyouyumluluk, canlı dokularla temasta olan herhangi bir materyalin antijenik, allerjik, toksik, mutajenik veya karsinojenik etki yapmaması (inert), vücudun yumuşak ve sert dokularında olumlu yönde doku reaksiyonları oluşturmaması (biyoaktif etki) olarak ifade edilir. Biyouyumlu maddelere genel olarak biyomateryal denir (75).

Biyolojik uyum için; malzemenin 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 malzemeler değişik doku reaksiyonlarına neden olurlar (76,77).

Materyallerin dokularla etkileşimi normal metabolizmayı ve fizyolojik süreçleri değiştirebilir. Bu etkileşimler fiziksel veya kimyasal olabilir, hücreleri ilerleyici yıkım aşamalarıyla ölüm ve nekroza götürebilir. Herhangi bir ajan tarafından hücrelere ve

dokulara olan hasarın üç aşaması vardır. Kronolojik olarak sıralandığında bunlar (1) biyokimyasal lezyon, (2) fonksiyonel lezyon ve (3) morfolojik lezyondur. Hasarın bir örneği iskemi (diğer bir deyişle dolaşımın ve oksijenin akut kaybı) sonucu oluşan doku enfarktüsüdür. Hücrelere sağlanan O₂ 'de azalma, oksidatif fosforilasyonun ve adenozin trifosfat (ATP) üretiminin saniyeler ve dakikalar içinde baskılanmasıyla sonuçlanır (biyokimyasal lezyon), ardından hücre membranının sodyum pompasının fonksiyonu azalır. Pompanın başarısızlığı su ve sodyum retansiyonu ile hücresel şişme ve fonksiyonda azalma ile sonuçlanır. (örnek olarak azalan protein sentezi veya mobilite [fonksiyonel lezyon]). Sonuç olarak hücre ve çekirdek membranlarının bütünlüğü kaybolur ve lizozomal enzimler açığa çıkar (morfolojik lezyon ve nekroz). Bu kimyasal ve fiziksel hasarlar inflamatuvar reaksiyonlar, immunolojik reaksiyonlar ve tamir olarak sınıflandırılan bir dizi bağ dokusu değişikliklerine yol açar (75).

2.3.1. Materyallerin Biyolojik Durumları Üzerinde Etkili Olan Koşullar

a) Kompozisyon etkileri: Özellikle uzun süre insan dokuları ile temasta olan materyalin kompozisyonu, basit ama hayati bir konudur. Bu nedenle malzemelerin doku reaksiyonlarını araştıran çalışmalar diş hekimliğinde geniş yer tutmaktadır (75).

b) Fiziksel etkiler: Bu tür etkiler materyalin sadece doku ile yakın temasta olmasından kaynaklanır. Restoratif materyalin üzerindeki girinti ve çıkıntılar, restorasyonun şekli, karşıt dişte atrizyon veya abrazyona neden olabilir. Taşkın amalgam dolgular, kompozit rezin yüzeyleri, restorasyon kenarlarının subgingival sonlanmaları ve uygun olmayan kron morfolojisi gibi olumsuz faktörlerin yol açacağı irritasyonlarda fiziksel etkilere örnek olarak gösterilebilir (75,78).

c) Kimyasal etkiler: Dental materyaller toksik ve kanserojen elementler ve bileşikler ihtiva etmemelidirler. Çinkofosfat simanın pulpadaki etkisi gibi kısa süreli ve direkt etki olabilir ya da bu irritasyon uzun süreli olup nekroz ya da apikal lezyonla sonuçlanır. Materyal ile tekrarlayan karşılaşmalar, duyarlılık kontakt dermatitisi veya stomatitise, bununla birlikte sistemik toksik etkilere yol açabilir. Metal alaşımlarının dökülebilirliğini arttırmak için katılan berilyum ile çalışan teknisyenlerde sistemik toksik etkiler görülebilmektedir (75,79).

d) Karsinojenik etki: Neoplazm formasyonu, koşulların özel bir kombinasyonu neticesinde ortaya çıkar. Aromatik aminler, metaller (Ni, Co) gibi kimyasal karsinojenik ajanların ufak miktarlarına bile uzun süre maruz kalan bireylerde 12-25 yıllık indüksiyon periyodundan sonra tümör formasyonu görülmüştür (75).

e) Galvanik etki: Elektrokimyasal etkiler kimyasal aktivitenin sebep olduğu durumdur. Ağızdaki alaşımların korozyon oranı, çok sayıda lokal faktöre bağlıdır. Tükürüğün miktarı, niteliği, bakteriyel plak birikimi, pH değeri, yiyecek ve içeceklerin fiziksel ve kimyasal özellikleri, ilaç alımı, genel ve lokal sağlık durumları ve ısıdaki düzensiz değişimlere göre kullanılan tüm dental alaşımlar az veya çok korozyona uğrarlar (78,79).

2.3.2.Biyolojik Uyum Testleri

İn vitro koşullarda kullanılması düşünülen materyallerin vücut dokuları üzerindeki toksik etkilerinin değerlendirilmesi ve oluşturabilecekleri biyolojik reaksiyonların taklit ve tahmin edilebilmesi amacı ile in vitro biyouyumluluk testleri geliştirilmiştir (77,80)

Bir materyalin biyolojik uyumluluğunun test edilmesi, test yöntemlerinin çeşitliliğinin gün geçtikçe artması ve görüntüleme yöntemlerindeki teknolojik gelişmelerin hızlı bir şekilde ilerlemesi nedeni ile gün geçtikçe daha karmaşık hale gelmektedir. Geçmişte; yeni üretilen bir materyalin biyouyumluluğu sadece insanlar üzerinde test edilirdi. Fakat günümüzde bir materyalin insanlar üzerinde kullanılması için ilk olarak biyouyumlu olduğunun gösterilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, materyallerin biyolojik olarak kabul edilebilir olduğunu test etmek için çeşitli teknikler kullanılmaktadır (81).

İn vitro araştırmalar, hücre ve dokuda oluşan yaralanmaların dönüşebilir (dejeneratif) ve dönüşümsüz (nekrotik) aşamalarında ortaya çıkan spesifik olayları incelemektedir. İn vitro biyouyumluluk testlerinde; vücut dokularının üzerine veya içerisine yerleştirilen malzemelere karşı gelişecek olan biyolojik reaksiyonların test ortamında oluşturulması amaçlanmaktadır (77). Öncül laboratuvar testleri yapılmadan hayvan testlerinin gerçekleştirilmesi çok zaman alıcı ve masraflı olmaktadır (77,82).

Bir materyalin biyouyumluluğunun belirlenmesinde en önemli aşama, materyale uygun özellikteki en ideal test yönteminin seçilmesidir. Çünkü biyolojik uyumun belirlenmesinde kullanılacak olan testler hem materyalin uygulandığı bölgeye hem de beklenen zararlı etkilere göre farklılık göstermektedir.(83)

İn vitro biyouyumluluk testlerinin uygulanmasında bazı problemlerle karşılaşmaktadır. Biyolojik reaksiyonların in vitro testlerle şekillendiği koşullarda, elde edilen sonuçlar in vivo sistem içerisinde yer alan koruyucu mekanizmalardan etkilenmediklerinden, sadece test edilen parametreyle ilgili olarak şekillenmektedirler. Bununla birlikte, uygulanan test yöntemlerinin tekrarlanabilir özellikte olabilmeleri için standart test yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir (84).

Tüm materyaller için uniform bir test geliştirmeye yönelik çabalar ilk olarak 1933' te Dixon ve Rickert tarafından yapılan çalışmada mevcuttu. Bu çalışmada günümüzde kullanılan dental materyallerin çoğunun toksisitesi derialtı dokudaki cepler içinde implante edilen materyaller yoluyla incelendi. Küçük standart boyuttaki altın, amalgam, gutaperka, silikalar ve bakır-amalgam sterilize edildi ve iskeletsel kas dokusu içinde eş boyutlu cepler içine yerleştirildi. 6 ay sonra mikroskopik olarak biyopsi örnekleri değerlendirildi. Standardize teknikler için diğer erken dönem çabalar bağ dokusu üzerinde Mitchell tarafından (1959) ve diş pulpası üzerinde Massler tarafından (1958) gerçekleştirildi. 1976' daki kongrede medikal alet yasa tasarısı yayınlanana kadar tüm medikal aletler için (dental materyaller de dahil) biyolojik testler yüksek bir üstünlük vermedi (85).

Günümüze dek hücresel ve moleküler biyolojideki hızlı gelişmelere paralel olarak materyallerin biyouyumluluğunu belirlemek amacıyla çok sayıda test yöntemi geliştirilmiş olmakla birlikte, bu yöntemlerin standardize edilmemesi nedeni ile testler, geliştirilen malzemelerdeki teknik ilerlemelerin gerisinde kalmıştır. Ancak 1982 yılında FDI (Uluslararası Diş Hekimliği Birliği), ISO (Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu) ve ADA (Amerikan Diş Hekimliği Akademisi) tarafından ortak bir görüşe varılarak diş hekimliğinde kullanılacak malzemelerin biyolojik uyumunun araştırılmasına yönelik testler oluşturulmuştur (77,84).

Materyallerin biyouyumluluğunun değerlendirilmesinde kullanılacak olan testler öncül testler, ikincil testler ve kullanım testleri olmak üzere üç aşamada gerçekleştirilmektedir. Diş hekimliği malzemelerinin biyolojik uyumluluğu, genellikle, öncül testler grubunda yer alan sitotoksikite testleri ile değerlendirilmektedir (82).

2.3.2.1.Öncül Testler

Bu testler deneysel olarak kontrol edilebilir, tekrarlanabilir, hızlı, göreceli olarak daha az maliyetli ve kolaydırlar. Aynı zamanda bu testler, hayvan ve insan çalışmalarının etik sorunlarını elimine ederler. En büyük dezavantajları ise, birçok farklı biyolojik cevabın olduğu vücut ortamının tam olarak yaratılamamasıdır. Bu nedenle, materyale karşı oluşan nihai cevabın alınmasında eksik sonuçlar verebilirler (82,86).

Öncül testler;

- a) LD50 ağız içi test,
 - b) LD10 karın içi test,
 - c) Soluma testi,
 - d) Hemolizis testi,
 - e) Ames testi,
 - f) Styles testi,
 - g) Dominant letal test,
 - h) Sitotoksikite testi.
- a) **LD50 Ağız İçi Test:** Deney hayvanlarında, ağırlıklarının her kilogramı için belirli bir oran esas alınarak denek grubunun %50' sinin ölümüne neden olan dozun belirlenmesi için malzemenin oral olarak uygulandığı test yöntemidir.
 - b) **LD10 Karın İçi Test:** Ağız içi test yönteminde kullanılan yöntem, karın içi enjeksiyonu olarak kullanılır.
 - c) **Soluma Testi:** Gaz halindeki maddelerin soluma yoluyla deney hayvanlarına verilmesi ile toksisite değerlerinin belirlendiği test yöntemidir.
 - d) **Hemolizis Testi:** Test edilen malzemenin kanda oluşturduğu hemoliz değerleri ile bir akut toksisite indeksinin oluşturulduğu test yöntemidir.
 - e) **Ames Testi:** Salmonella typhium bakterilerinin kültürleri kullanılarak yürütülen bu test yönteminde hücrelerdeki mutasyon farklılıkları gözlenerek malzemenin mutajenik etkisi belirlenir.
 - f) **Styles Testi:** Ames testinin fibroblast hücre kültürleri kullanılarak uygulanan formudur.

- g) **Dominant Letal Test:** Deney hayvanları ile yürütülen bu test yönteminde, toksik olduğu düşünülen malzemenin üreme üzerine etkisi araştırılır (82).
- h) **Sitotoksosite Testleri:** Test malzemesinin uygun hücre kültürlerindeki hücre büyüme oranı ve morfolojik özellikleri üzerine etkisinin negatif ve pozitif kontrol grupları kullanılarak değerlendirildiği yöntemdir (87,88).

Sitotoksosite testleri genellikle malzemelerin,

- Hücre sayısı veya büyümesi,
- Hücre membran bütünlüğü,
- Biyosentez veya enzim aktivitesi,
- Hücre genetik malzemesi üzerindeki etkilerini ölçer.

İn vitro sitotoksosite testlerinin avantajları:

1. Diğer metabolik olaylardan farklı olarak hücre metabolizmasında spesifik bir fonksiyonun değerlendirilmesi,
2. Çok sayıda örneğin kısa zamanda ve ekonomik olarak değerlendirilebilmesi,
3. Kantitatif sonuçlara ulaşılabilmesi,
4. Kullanım testlerine oranla toksik maddenin daha hassas değerlendirilebilmesi,
5. Test yöntemlerinin standardize edilebilmesidir.

İn vitro sitotoksosite testlerinin dezavantajları:

1. Her test için bir tür hücre kullanılması,
2. Kültür hücrelerinin konak hücrelerinden farklı olması,
3. Kültür ortamında enflamatuar ve diğer doku koruyucu mekanizmaların olmamasıdır.

Tüm sitotoksosite testlerinde, test sisteminin non-toksik, steril ve tekrarlanabilir olması önemlidir (89).

2.3.2.2. İkincil Testler

Alınan biyolojik cevap in vitro testlere oranla daha kapsamlıdır. Bununla beraber, hayvan testlerinde değişkenlerin kontrolü genellikle zordur. Bu testler zaman alıcı ve pahalıdır. Son olarak uygulayıcı için önemli bir nokta da, hayvan türlerinin insanlardaki cevabı aynı şekilde vermelerinin şüpheli olmasıdır (81).

İkincil testler;

- a) Kemik implantasyon testi,
 - b) Oral mukoza membran testi,
 - c) Sensitizasyon testi,
 - d) Subkutanöz implantasyon testi.
- a) **Kemik İmplantasyon Testi:** Standart bir yöntem olmamakla birlikte malzemenin kemik içine implantasyonu sonrasında oluşacak reaksiyonların değerlendirildiği yöntemdir (87,88).
- b) **Oral Mukoza Membran Testi:** Deney hayvanlarının palatinal ya da yanak mukozası içine yerleştirilen test malzemesinin mukozada oluşturduğu reaksiyonların izlendiği test yöntemidir (87,88).
- c) **Sensitizasyon Testi:** Deney hayvanlarında derinin hassaslaştırılmasından sonra 24 saat – 2 haftalık dönemde deri üzerine yama testi ile uygulanan malzemenin etkileri değerlendirilir (87,88).
- d) **Subkutanöz İmplantasyon Testi:** Test örneklerinin cerrahi yöntem kullanılarak deri altında derin dermis bölgesine yerleştirilmesi esasına dayanır (87,88).

2.3.2.3.Kullanım Testleri

Bu testler materyaller için önemli klinik denemelerdir. Materyal son kullanılacak haliyle gönüllü bir insana yerleştirilir. Kullanım testleri en yararlı biyouyumluluk testleridir. Ancak birtakım yan etkileri ve problemleri de bulunmaktadır. Maliyetli, zaman alıcı, kontrolü ve yorumlanmaları oldukça zordur. Ayrıca hukuksal ve etik açıdan da oldukça karmaşıktırlar (81).

Kullanım testleri

- a) Restoratif malzemeler için pulpa ve dentin testi,
 - b) Kuafaj ve pulpatomi malzemeleri testi,
 - c) Endodontik malzeme testi,
 - d) Kemik içi implant malzemesi testi.
- a) **Restoratif Malzemeler İçin Pulpa ve Dentin Testi:** Deney hayvanlarında pulpa üzerinde 1 mm sağlam dentin kalıncaya kadar açılan kavitelere yerleştirilen test malzemelerinin etkisinin kontrol grupları ile karşılaştırılması ile uygulanan yöntemdir (87,88).

- b) **Kuafaj ve Pulpatomi Malzemeleri Testi:** Steril frez ile perfore edilen pulpa üzerine direkt test malzemesi uygulanarak belirlenen zaman aralıklarında tamir dentini oluşumu ya da enflamasyon izlenir (87,88).
- c) **Endodontik Malzeme Testi:** Kanal içerisine yerleştirilen malzemenin etkisi belirlenen zaman aralıklarında klinik ve histolojik olarak değerlendirilir (87,88).
- d) **Kemik İçi İmplant Malzemesi Testi:** Kemik ile uzun dönem temasta kalacağı düşünülen malzemelere ait test örneklerinin toksisitelerinin invivo olarak değerlendirildiği yöntemdir (87,88).

Bir dental materyal her üç basamağa da tabi tutulmalıdır. Bu işlemler sırasıyla basit testlerden daha karmaşık olanlarına, in vitro testlerden in vivo testlere, prelinik testlerden klinik testlere doğru olacak şekilde gerçekleştirilmelidir. Yeni geliştirilen birçok materyal ilk testi geçtikten sonra sırasıyla ikinci ve üçüncü testlere tabi tutulmalıdır (89). Günümüzde; bu sınıflama in vitro ve in vivo test sistemleri olarak ikiye ayrılmaktadır. Bir hayvan sistemi dışında gerçekleştirilen, birincil testlerin de bu gruba dahil olduğu tüm testlere “in vitro test sistemleri”, hayvanlarda gerçekleştirilen sekonder ve kullanım testlerini de içine alan testlerin tümüne “in vivo test sistemleri” adı verilmektedir. Dental materyallerin yol açabileceği biyolojik etkilerin çeşitliliği nedeni ile, biyouyumluluk değerlendirmeleri bir tek test sonucuna bağlanamaz. Bu nedenle, her bir materyal için, belirli bir sıra ve temel doğrultusunda değerlendirmelerin yapılması önerilmektedir. Böylece dental materyaller, basitten karmaşık test yöntemlerine, in vitrodan hayvan testlerine ve klinik öncesi testlerden, insanlardaki klinik testlere doğru belirli bir sistemde değerlendirilmektedir. Geliştirilen çok sayıda yeni materyalden sadece birinci basamağı başarılı şekilde geçenler bir üst basamakta test edilmektedir. Dolayısı ile, tüm materyaller için zaman alıcı, pahalı ve daha sofistike test yöntemlerinin uygulanmasına gerek kalmamaktadır (82). Ayrıca, böyle bir sıranın takip edilmesi, hayvan çalışmalarına duyulan gereksinimleri azaltacağı gibi, yetersiz materyallerin insanlarda kullanılması olasılığını da azaltmaktadır (90).

2.3.3.Hücre Kültürü

Hücrelerin, dokudan mekanik yollarla ve bunu takiben de proteolitik enzimlerle muamele edilerek tek hücre veya küçük kümeler halinde ayrıştırılmasına ve bunların bir besi yeri ile cam veya plastik şişelerde doku ile bağlantısı olmadan in vitro olarak çoğaltılmasına hücre kültürü adı verilmektedir (91).

Hücre ve doku kültürlerinin kullanılması ile son yıllarda moleküler biyoloji ve tıp alanlarında büyük aşamalar sağlanmış, hastalıkların epidemiyolojisi, patogenezi, teşhis ve tedavisinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Hücre kültürü çalışmaları, hücre metabolizmasının organizmanın ölümünden sonra bir süre daha devam ettiğinin gözlenmesi ile ortaya çıkmıştır (84).

Hücre kültürleri, canlı dokuların vücut dışında yaşatılmasını, sürekli üretilmesini ve gelişimini ifade etmektedir. Canlı yapılardan elde edilen dokular, vücut ısısında kültüre edilmekte ve vücudun özgün fizyolojik konumunu taklit eden besleyici sıvılarda beslenerek çoğaltılmaktadır. Besleyici sıvılar, hayvan embriyo ekstraları, plazma ve serum, amino asit, mineraller, şeker, tuz, vitamin ve antibiyotikleri içermektedir (87,88).

Hücre ve doku kültürü üretmek için kullanılan vasatlarda, hücrel metabolizma faaliyetlerinin devamı ve hücrelerin çoğalması bazı belli maddelerin varlığı ile sağlanabilmektedir. Hücre, bu maddeleri diğer moleküllerden kendi sentezleyememekte ve bu gerekli maddeler ortama ilave edilen vasatlardan sağlanmaktadır. Vasatlar, doğal ve sentetik materyallerin çeşitli kombinasyonlarını kapsamaktadır. Hücre üretme vasatları, hücrenin organlardan ayrılmasından sonra doku tabakası oluşana kadar hücrelerin üretilmesi için kullanılmakta, genel olarak serumla birlikte hücrelerin çabuk üremelerini sağlayan diğer maddeleri içermektedir. Hücrelerin in vitro olarak çoğaltılabilmeleri için en uygun ortam, in vivo ortama en yakın olan ortamdır (91). Hücreler günümüzde rutin olarak kültüre edilmektedirler. Vasat içerisinde; enerji kaynağı olarak glikoz, plazma ve serum, esansiyel aminoasitler, vitamin, mineraller, şeker, tuz ve antibiyotikler yer almaktadır (84,91). Hücre kültürleri; bireysel faktörlerden etkilenmemeleri, materyaller arasında parametrik karşılaştırmalara olanak tanımaları, tekrarlanabilme özellikleri, çalışma koşullarının standardize edilebilmesi, deneylerde kullanılacak hayvanların öldürülmemesi gibi etik nedenlerden dolayı da tercih edilmektedir (92). Buna karşın, hücre kültürü testleri ile sadece materyallerin ilk toksisite reaksiyonları konusunda bilgi edinilebilmekte, materyalin uzun süreli doku temasında oluşturacağı sitotoksosite düzeyi konusunda ise veri elde edilememektedir.(93).

Farklı dokulardan üretimi sağlanan hücre kültürleri üç grupta toplanır (94):

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

Primer hücre kültürleri, orijinal dokudan yeni ayrılan ve ilk olarak kültür şartlarında bulunan hücreleri içerir. Dokunun fizyolojik durumunu yansıtan bu hücreler, genotip ve fenotip olarak orijinal doku hücresi ile aynı özellikleri içerir. Ancak; bu hücrelerin deneysel çoğalmaları sınırlıdır. 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, hücrelerin alındığı dokuların özelliklerine göre değişmek şartıyla değişen oranlarda subkültüre izin verirler.

Devamlı hücre kültürleri, subkültürleri sonsuz olarak yapılabilen ve karyotipleri alındıkları dokulardan farklı olarak geliştirilmiş kültürlerdir. Transformasyonları nedeniyle fizyolojik özelliklerinin tümünü koruyamazlar. Diploid hücre kültürleri, primer kültürlerin subkültürlerinin yapılmasından elde edilir. Ancak; bu kültürdeki bütün hücreler alındıkları dokunun karyotipini %85 oranında korurlar. Diploid kültürlerde bazı hücrelerde kromozom tipleri kaybolabilir (87,88).

Primer hücrelerin, devamlı hücrelere oranla sitotoksitesinin değerlendirilmesinde daha etkili olacağı görülmektedir. Ancak; primer ve devamlı hücre kültürlerinin sitotoksik maddeye verdikleri metabolik cevapta bazı farklılıklar olmaktadır. Devamlı hücre kültürlerinin genetik ve metabolik stabiliteleri nedeniyle test sonuçlarının standardizasyonunda kolaylık sağlanmaktadır.

Dental malzemelerin biyolojik uyumunun saptanmasında kullanılan hücre kültürü teknikleri organ veya doku bağlantısını temsil etmez. Dental dokulara ait kültürler, bağımsız üniteler olarak morfolojileri, DNA ve protein sentezleri ile tek tek hücreler olarak değerlendirmede kullanılırlar (77,87,88).

L929 ve Balb3T3 devamlı hücre kültür hatları; dental malzemelerin sitotoksitesite testlerinde standart olarak kullanılan fibroblast hücre kültürleridir (87,88).

Hücre Kültürlerinin Avantajları

1. Hücre kültürü ortamında fizikokimyasal çevre ve buna bağlı olarak fizyolojik koşullar daha iyi kontrol edilebilmektedir. Sıcaklık, pH, osmotik basınç, oksijen ve karbondioksit kısmi basınçları gibi fizikokimyasal koşullar hücre kültüründe daha kolay sağlanırken, canlı vücutunda sabit bir çevre oluşturarak bir takım testleri yapmak daha zordur.

2. Örnek homojenitesinin kontrolü sağlanabilmektedir. Doku örnekleri çoğunlukla heterojendir. Ancak birkaç pasaj sonra kültüre edilmiş hücreler homojen hale gelmektedirler. Hücrelerin homojenitesi, elde edilen ürünlerin homojenitesi açısından son derece önemlidir. Bunun sağlanmasının bir diğer yolu da çalışan kişilerin homojenitesi ve çalışmaların aynı koşullarda yapılmasıdır.

3. Hücre kültürleri ekonomiktir. İn vivo sistemlerde test için canlı organizmaya verilen maddelerin bir kısmı çeşitli yollarla dışarıya atılacak, bir kısmı da organizmanın bağışıklık sistemi tarafından ortadan kaldırılacaktır. Bu koşullarda canlı bir organizmada verilen maddenin ancak % 10'una cevap alınabilirken, hücre kültürlerinde bu oran % 90'lara çıkabilmektedir.

4. Hücre kültürleri ürün elde edilmesinde endüstriyel amaçlı olarak kullanılabilir. Son yıllarda geliştirilen teknikler ile bu daha kolay hale gelmiştir (84,91).

Hücre Kültürlerinin Dezavantajları

1. Primer kültür ile başlandığında, birbirini izleyen pasajlarda hücreler farklılaşmakta ve her zaman bir miktar ölüm gerçekleşmektedir. Yani hücre kültürlerinde zamana bağlı bir kararsızlık söz konusudur.

2. Hücre kültürlerinde hijyen çok önemli olduğundan primer kültürlerin elde edildiği doku ve bunların bulunduğu koşullar hücre kültürlerini etkilemektedir.

3. Deneyim çok önemli bir faktördür. İn vitro çalışmalarda sterilizasyon, kültürlerin hazırlanması ve mikroskopik inceleme uzmanlık gerektirmektedir.

4. Hücre kültürleri, in vivo yöntemlere oranla daha ekonomik olmasına karşın kullanılan hücre üretme vasatları ve diğer malzemeler son derece pahalıdır. Buna rağmen elde edilen ürünün saf olması önemli bir avantajdır. Ancak son yıllarda bu teknolojinin gelişmesi, kullanılan malzemelerin geliştirilmesine ve giderek daha da ucuzlamasına olanak tanımaktadır.(84,91)

2.3.3.1.Hücre Kültürü Test Yöntemleri

Dental malzemelerin sitotoksitesi, in vitro koşullarda genel olarak beş şekilde belirlenmektedir (77,87,88):

1. Hücre sayısı ve büyüme testleri,

2. Mitotik aktivite (koloni oluşturma etkinliği) testleri,
3. Oksijen alımında ve glikoz metabolizmasındaki değişikliklerin saptanması,
4. Membran bütünlük testleri,
5. Enzim aktivitesi testleri.

Hücre kültürleri kullanılarak dental malzemelerin biyolojik uyumlarının belirlenmesi için çok sayıda invitro test yöntemi kullanılmaktadır. Ancak; FDI ve ISO teknik raporlarında önerilen in vitro test yöntemleri; (95)

- a) Agar difüzyon test yöntemi,
- b) Agarose test yöntemi,
- c) Milipore filtre test yöntemi,
- d) Krom salınım test yöntemi,
- e) Model kavite test yöntemi,
- f) Diş kavite test yöntemi,
- g) MTT Test Yöntemi (Mitokondrial Dehidrogenaz Aktivitesi) olarak belirtilmiştir.

2.3.3.1.1. Agar Difüzyon Test Yöntemi

Agar difüzyon testi katı malzemelerin ve katı malzemelerden sızan komponentlerin ya da filtre kağıdına emdirilmiş sıvı örneklerin akut sitotoksitesinin 24 saat süreyle belirlenmesinde kullanılır. Bir tabakalı hücrelere %1 agar ve vital boya ilave edilip test örneği agar tabakasının yüzeyine temasta olacak şekilde yerleştirilir. Agar hücreler ve materyal arasında, agarın en üstte yer aldığı bir bariyer şekillendirir. Besinler, gaz ve çözülebilen toksik maddeler agar içine diffüze olabilirler (82).

Agar difüzyon testinde sitotoksitenin etkinliği toksik maddelerin difüzyon bölgelerindeki hücrelerde yol açtığı boya kaybıyla gösterilebilmektedir. Hücrelerin erimesi (lisis), difüze olan toksik maddelerin konsantrasyonunun yüksek olduğu bölgelerde izlenebilir (82,95,96).

Sitotoksik cevap, renk değiştiren bölgedeki difüzyon büyüklüğüne bağlı olarak erimeye uğrayan bölgedeki hücrelerin yüzdesinin belirlenmesine yönelik hücre erime indeksi (Lizis indeksi) ile değerlendirilmektedir. Mikroskopik olarak yapılan bu değerlendirmede faz-kontrast mikroskopunda hücre erimesi olan bölgelerin çapları belirlenir (87,95,96).

Hücre erime indeksi (87):

- 0- görülebilir bir erime yok,
- 1- alan çapının %20'sinde erime var,
- 2- alan çapının %20 - 40'ında erime var,
- 3- alan çapının %40 - 60'ında erime var,
- 4- alan çapının %60 - 80'inde erime var,
- 5- alan çapının %80 ve fazlasında erime var.

Hücre erime indeksi skorlarına göre sitotoksik etkinin şiddeti şu şekilde belirlenir (87):

- 0 - 0,5 = sitotoksik değil,
- 0,6 - 1,9 = hafif sitotoksik,
- 2,0 - 3,9 = orta derecede sitotoksik,
- 4,0 - 5,0 = şiddetli sitotoksik.

Agar difüzyon testleri ve mitokondrial aktiviteyi gösteren MTT testleri malzemelerin sitotoksitesini belirlemeye yönelik en güvenilir testlerdir (82).

2.3.3.1.2. Agarose Test Yöntemi

Hensten-Pettersen, 1973 yılında Wilsnack ve arkadaşları tarafından agar difüzyon test yöntemine benzer olan agarose test yönteminin tanıtıldığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar materyallerin agarosedaki difüzyon yeteneğinin daha yüksek olduğunu bildirerek, agar difüzyon test yönteminin daha hassas şekilde uygulanabilmesi için, agar yerine agarose kullanılması gerektiğini öne sürmüşlerdir (83).

2.3.3.1.3. Milipore Filtre Test Yöntemi

İn vivo ortamda hücreler ve test edilecek malzeme arasında, genellikle direkt temas bulunmamaktadır. Keratinize epitel, dentin veya ekstraselüler matriks direkt teması engellemektedir. Bu durumda in vivo koşulları tam anlamıyla oluşturabilmek için bazı in vitro bariyer testleri geliştirilmiştir. Böylece materyallerden açığa çıkan herhangi bir maddenin hücreler üzerinde toksik etki oluşturabilmesi için 0,45 ml' lik filtre porlarının içine difüze olması gerekmektedir (83,97).

Selüloz esterlerinden yapılmış filtre üzerine hücrelerin tek tabaka halinde yapışması sağlandıktan sonra hücre kültür ortamı % 1 agar içeren ortam ile değiştirilmekte ve bu ortamın hücreler üzerinde jel haline gelmesi beklenmektedir. Ardından filtre-hücre tabakası-agardan oluşan üçlü yapı ters çevrilerek filtrenin üstte kalması sağlanmaktadır.

Katı veya çözülebilen test örneği filtre üzerine yerleştirilerek belirlenen test süresi boyunca beklenmektedir. Bu test yönteminde değerlendirme; hücre ve materyalin temas bölgesinde ve boyanan alanın koyuluk değeri, çapı ve genişliği göz önüne alınarak yapılmaktadır (83,88,97).

Milipore filtre test yöntemi, özellikle katı ve pat yapısındaki materyallerin test edilmesinde kullanılmakta, likitler de bu yöntemle değerlendirilebilmektedir. Sıvı materyallerin test edilmesi için materyalin 0,1 ml' si selüloz bir diske emdirilerek milipore filtre üzerine yerleştirilmelidir (83,84).

2.3.3.1.4.Krom Salınım Yöntemi

Bu yöntemle likit ve katı yapıdaki materyallerin sitotoksitesi değerlendirilmektedir. Bu amaçla hücreler $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ ile işaretlenmektedirler.

$\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ içerisindeki heksavalent Cr^{51} , hücrelerin içine girdikten sonra hücre proteinleri ile hücresel yapılara tutunmakta ve trivalent forma dönüşmektedir. Hücrelerin işaretlenmesinden sonra, hücre ve materyaller direkt temas halinde 4-24 saat süreyle inkübe edilmektedir. Hücrelerin ölümü, hücre zarı geçirgenliğini değiştirdiğinden trivalent formdaki Cr^{51} hücre dışına çıkmaktadır. Hücre dışına çıkan Cr^{51} , in radyoaktivitesinin ölçülmesiyle hücre ölümü konusunda net ve kesin bir sayı ve bilgi edinilmektedir. Bu yöntemle hücre ölümünü takiben gelişen subletal değişiklikler ölçülememektedir. Aynı test yöntemi, hücreler ^3H -Thymidine ile işaretlenerek de gerçekleştirilmektedir (83,97,98).

2.3.3.1.5.Model Kavite Test Yöntemi

Bu yöntemde, polimetil metakrilattan hazırlanmış kavite modelinde, kavite tabanına bir filtre ya da dentin tabakası yerleştirilmekte ve hücre kültürleri bu tabakanın altında üretilmektedir. Materyalin toksitesi, sırasıyla lizozomal ve mitokondrial enzim isaretleyicileri olan asit fosfataz ve süksinat dehidrojenaz analizi ile yapılmaktadır (83,84).

2.3.3.1.6. Diş Kavite Test Yöntemi

Restoratif materyallerin kimyasal toksitesini saptamak amacıyla kullanılmaktadır. İlk basamakta, dentine uygulanan materyallerden toksik maddelerin difüzyonu belirlenmektedir. Genellikle 3. molar dişlerin çekimini takiben dişler fosfat tamponlu salinde 3–4 saat bekletilmektedir. Normal kavite ya da kron preparasyonundan sonra

sistem dentin duvarına penetre olabilen solüsyonlarla uygulanmaktadır. Bu yöntemin *in vivo* verilerle uyumlu sonuçlar verdiği belirtilmektedir (83,84).

2.3.3.1.7.MTT Test Yöntemi (Mitokondrial Dehidrogenaz Aktivitesi)

Sitotoksiste çalışmalarında en sık kullanılan *in vitro* enzimatik test MTT'dir. MTT testini ilk Mosmann kullanmıştır (99). MTT yöntemi ile bir hücre topluluğundaki canlı hücreler kolorimetrik ve kantitatif olarak saptanabilmektedir. Bu test mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesini ölçer. MTT'nin ana bileşeni 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliumbromid'dir. Özel bir çözücü ile çözündürülen MTT sarı renklidir. Canlı hücrelerin mitokondriyal dehidrogenaz enzimleri MTT'nin tetrazolyum halkasını parçalayarak suda çözünmeyen mor-mavi renkli formazan kristallerini oluştururlar (100). Bu kristaller asitlendirilmiş izopropanol içinde çözünürler. Sonuçta elde edilen mor solüsyon spektrofotometrik olarak ölçülür. Hücre sayısındaki artma veya azalma, hücre sayısı ile bağlantılı olarak oluşan formazan miktarında değişmeye neden olur (101). Spektrofotometrik ölçüm sonucu elde edilen değer test edilen malzemenin toksisitesini belirler. Bu yöntem diğer sitotoksiste test yöntemlerine göre çok daha hassastır ve tekrarlanabilir sonuçlar vermektedir, ayrıca uygulaması kolay ve hızlı bir metottur (102).

2.3.3.1.8. XTT Test Yöntemi

Sitotoksitenin değerlendirilmesi için XTT içeren tetrazolyum tuzlarının kullanımından, radyoaktivitenin engellenmesi, hızlı ve hassas bir yöntem olması, tekrarlanabilir sonuçlar elde edilmesi ve pratik bir yöntem olması nedeniyle, birçok araştırma merkezinde yararlanılmaktadır. Tetrazolyum tuzlarının formazana dönüşümü metabolik olarak aktif hücrelerin mitokondrilerindeki süksinat tetrazolyum redüktaz sistemi aracılığıyla meydana gelmektedir. Reaksiyon temel olarak mitokondrial enzimler ve elektron taşıyıcılar tarafından yönlendirilmektedir. Sarı renkli bir tetrazolyum tuzu olan XTT, reaksiyon sonrası suda çözünebilir turuncu renkli bir formazan boyaya dönüşür ve elde edilen sonuçlar 450-490 nm' de ELİSARader'da değerlendirilir. XTT'nin etkin bir şekilde indirgenmesi ve doğru, pratik bir değerlendirme yapılabilmesi için bir elektron transfer ajanı gereklidir. MTT gibi çözünme safhaları içermeyen bu test, günümüzde hücre proliferasyon ve canlılığının belirlenmesinde ve sitotoksiste analizlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (80,81).

2.3.3.1.9. WST-1 Test Yöntemi

Sitotoksik ve sitostatik bileşiklerin analizinde ve hücre büyümesini inhibe eden antikor ve fizyolojik mediatörlerin değerlendirilmesinde kullanılan bu prosedürde WST-1 tetrazolyum tuzu, yalnızca canlı hücrelerde aktif olan ve mitokondrial respiratuar zincirde yer alan süksinat-tetrazolyum redüktaz tarafından suda çözünebilen formazan boyasına dönüştürülmektedir. Bu yöntemde bir örnekteki bu mitokondrial dehidrogenazın total aktivitesi, canlı hücrelerin artmasıyla yükselmektedir. Enzimin aktivitesinin artması, kültür medyumundaki metabolik olarak aktif hücrelerin sayısı ile direkt ilişkili olarak formazan boyasının üretiminde ve miktarında artışa neden olmaktadır. Bu dönüşüm esnasında ise Elisa-Reader kullanılarak absorpsiyon sayılabilir hale gelmektedir (80,81).

Hücre kültürü test yöntemleri laboratuvar koşullarında kesin kurallar dahilinde gerçekleştirilebilmektedir. Bu nedenle kontrol edilebilirlik olanakları yüksektir ve tekrarlanabilirlik özellikleri vardır. Ayrıca sonuçlar daha kısa sürede alınabilmektedir. Ancak sitotoksikite testleri, ilk 12-24 saat içerisinde toksik madde ile temasa bağlı olarak oluşan sınırlı etkileri belirleyebilir. Konak hücreler ya iyileşirler ya da kimyasal yaralanmaya bağlı olarak ölürlür. Buna karşın *invivo* biyolojik reaksiyonların çoğu basit bir sitotoksikite değildir ve 24 saat boyunca yayılırlar, enflamatuar ve immün reaksiyonlar gelişir (77). Bu nedenle malzemeye olan öncül tepkiler belirlendikten sonra malzemenin uzun dönem kullanımı sonrasında oluşacak enflamasyon, immün cevaplar, mutagenез ve karsinogenез gibi subakut toksisite değerlerini yansıtan ikincil testler denenmelidir (103).

Hücre kültür metotları farklı dental materyallerin toksisitelerini karşılaştırmada kullanılabilirler. Ancak, gözlemlenen toksisitenin nedenini belirleyemezler (82).

2.3.3.2. Hücresel Değişiklikler

Toksik bileşenler, genellikle hücrelerin metabolik mekanizmasını etkilerler. Kompozitlerden salınan ürünlerin hücre canlılığı ve fonksiyonu üzerinde etkileri olabilmektedir. Bazı kimyasallar, özellikle hücre mitokondrilerini etkilemekte ve MTT testi ile değerlendirilmekte, bazı kimyasallar özellikle lizozomal fonksiyonları etkilemekte ve nötral kırmızı testi ile değerlendirilmekte, bazı kimyasallar ise hücre zarı fonksiyonlarını etkilemekte ve agar difüzyon testi ile değerlendirilmektedir.

Metil metakrilat gibi hidrofilik maddeler oksidatif süreci etkileyerek ATP sentezini inhibe eder. Lipofilik maddeler membran bütünlüğünü etkiler. Metakrilatlar hücrel kolesterol ve fosfolipidleri etkileyerek membran fonksiyonlarını bozarlar (104).

Sitotoksiste testleri sırasında oluşan hücrel morfolojik değişiklikler konusunda yapılmış çok fazla çalışma yoktur. En sık karşılaşılan hücrel bozulma, hücrelerin yapıştıkları yüzeyden ayrılmalarıdır (77).

Dental restoratif malzemelerin hangi tip hücre ölümüne neden oldukları konusunda çalışmalar devam etmektedir. Hücre ölümleri apoptatik ve nekrotik olarak iki şekilde izlenebilmektedir. Apoptosis, fizyolojik hücre ölümü ya da programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır. Hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri programlı, aktif protein sentezine ve enerjiye gereksinim gösteren bu fizyolojik ölüm formu, patolojik ölüm formu olan nekrozdan tamamen farklıdır. Apoptosisin temel özelliği, hücre zarında kalın boğumlar oluşmasına rağmen zar bütünlüğünün bozulmamasıdır. Sitoplazmik büzülme nedeniyle iğ şeklindeki fibroblast hücreleri yuvarlaklaşırlar, hücre duvarı buruşuk ve kabarcıklı bir görünüm alır, sitoplazma içeriği parçalanarak bir zarla çevrelenir ve hücre içinde biriktirilir. Nukleus küçük parçalara ayrılır. Apoptotik hücre ölümü enflamasyon oluşturmaz. Bu olayın tersine nekroz, hücrel yaralanma sebebiyle oluşan hücre ölümünün patolojik formudur. Hücre zarı bütünlüğünün erken kaybına bağlı olarak sitoplazma içeriği dağılır ve enflamatuvar reaksiyon başlatır. Nekrotik hücrelerde kontrollü oto sindirim yoktur, organelleriyle birlikte toksik içeriklerini de ortama bırakarak nekrotik reaksiyonun yayılmasına neden olurlar. Bu tarz değişiklikler faz-kontrast mikroskobu kullanılarak tespit edilebilmektedir (77,82,105).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Altı adet tam seramik alt yapı materyalinin sitotoksisite özelliklerinin fare fibroblastları üzerinde hücre kültürü yöntemi ile değerlendirildiği bu araştırma, Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı Laboratuvarlarında, Cumhuriyet Üniversitesi Mikrobiyoloji Bölümü Anabilim Dalı Laboratuvarlarında ve Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Merkezi (CÜTFAM)'nde yürütüldü. Hücre kültürü ortamının hazırlanmasında, International Organization for Standardization (ISO) tarafından hazırlanan 10993-5 no'lu 'Sitotoksisite Testleri-*In Vitro* Yöntemler' bölümü (International Organization for Standardization. Biological Evaluation of Medical Devices-Part 5: Tests for *In Vitro* Cytotoxicity. ISO Standard 10993-5, 1999.) rehber alındı. Çalışmamızda altı farklı tam seramik alt yapı materyalinin sitotoksisitelerinin değerlendirilmesinde aşağıda belirtilen işlemler takip edildi:

- Örneklerin hazırlanması,
- Sızıntı ürünlerinin toplanması,
- Yaşlandırma işlemi,
- Hücre kültürü,
- Mikroplatelerin hazırlanması,
- Sitotoksisite testinin yapılması.

3.1. ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI

Çalışmada kullanılan tam seramikler ve üretici firmalar Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Kullanılan tam seramiklerden 12’şerli 6 grup olmak üzere toplam 72 adet örnek, üretici firma talimatlarına uygun olarak 6×3 mm boyutlarında hazırlandı. Örneklerin standardizasyonunu sağlamak amacıyla, iki özel metal kalıp kullanılmıştır. Metal kalıpların üzerinde her seferinde 3 adet tam seramik disk hazırlayabilmek için 6×3 mm boyutlarında boşluklar bulunmaktadır (Resim 3.1).

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan tam seramik sistemleri

Seramik Sistemi	Üretici Firma
IPS E.max	Ivoclar-Vivadent, Schaan /Liechtenstein
In-Ceram Alumina	Vita-Zahnfabrik, Almanya
In-Ceram Zirkonya	Vita-Zahnfabrik, Almanya
Finesse	Dentsply International Inc., Ceramco, NJ, Amerika
Zirkonzahn (CAD-CAM)	ICE Zirkon, ZirkonZahn, İtalya
Turkom Cera	Turkom-Ceramic SDN-BHD, Kuala Lumpur, Malezya



Resim 3.1. Çalışmada kullanılan metal kalıp

3.1.1. IPS E.max Seramik Örneklerin Hazırlanması

Metal kalıp kullanılarak 12 adet mum (BEGO, Wilhelm – Herbst – Strabe 1 D – 28359 Bremen, Almanya) örnek elde edildi. Mum örnekler tijlenip, kağıttan özel olarak hazırlanmış manşete (IPS E.max Universal Paper Ring, Ivoclar, Schaan, Liechtenstein) yerleştirildiler. Fosfat bağlı özel revetman (IPS E.max Special Investment Material, Ivoclar, Schaan, Liechtenstein) 100 gr toz, 15,5 ml revetman sıvısı ve 6,5 ml distile su olacak şekilde 20 sn elde, 60 sn’de vakumlu karıştırıcıda (Motova SL, BEGO Bremer Goldschlägerei Wilh. Herbst GmbH & Co, Bremen, Almanya) karıştırılarak manşete döküldüler. Rövetmanın sertleşmesi için bir saat beklendi ve kağıt manşet çıkarıldı. Manşet, Al_2O_3 silindir ve IPS E.max çekirdeği (IPS E.max, Ivoclar, Schaan, Liechtenstein) ile birlikte ön ısıtma fırınına konuldu. Dakikada 5 °C artacak şekilde 30 dakika 250 °C’de ve 60 dakika 850 °C’de bekletildiler. Ön ısıtması tamamlanan manşete, Al_2O_3 silindir ve çekirdek yerleştirildi ve manşet Touch & Press fırınına (Dentsply, Konstanz, Almanya) alındı. Üretici talimatlarına göre presleme işlemi tamamlandı ve manşet fırından alınarak soğumaya bırakıldı (Tablo 3.2). Soğuyan manşet separeyle kesildi ve örnekler çıkarıldı. Seramik örnekler, 4 bar basınç altında kabaca 125 μm Al_2O_3 ile kumlandı. Ardından 2 bar basınçla 50 μm ’ lik Al_2O_3 ile tamamen temizlendiler. Örnekler tijlerden elmas separe yardımıyla ayrıldı. 6x3 mm boyutlarındaki IPS E.max seramik örneklerinden 12 adet elde edildi (Resim 3.2). Elde edilen örneklerin boyutları aynı araştırmacı tarafından digital mikrometre ile kontrol edildi.

Tablo 3.2. IPS E. max altyapı için Densply Touch & Press fırınına ait değerler.

Pişirme Aşaması	Başlangıç Isısı	Vakum Seviyesi	Isı Artışı	Presleme Isısı	Bekleme Süresi	Presleme süresi
Çekirdek	700 °C	2.5 in hg	80 °C / dak	970 °C	20 dak.	10 dak.



Resim 3.2. IPS E.max Seramik Örnekler

3.1.2. In-Ceram Alumina Seramik Örneklerin Hazırlanması

6x3 mm boyutlarındaki In-Ceram kor yapısı hazırlamak için metal kalıp kullanıldı. In-Ceram tozu ve sıvısı üretici talimatlarına göre karıştırıldı (Resim 3.3). 38 gr toz (In-Ceram mixing powder, Vita-Zahnfabrik, Almanya) ve 5 ml sıvı (In-Ceram Spezial Plaster, VITA Zahnfabrik, Almanya) havan kenarında cam spatula ile ezilerek homojen bir kıvama getirildi. Bir kaba alınan karışım 7 dakika Vitasonic (Vita In-Ceram Vitasonic II, VITA Zahnfabrik, Almanya) içerisinde bekletildi. Karışım tamamlandığında homojen bir yağlı boya görünümü aldı. Bir dakika vakumda tutulduktan sonra kullanıma hazır hale geldi.



Resim 3.3. Vita In-Ceram Alumina porselen tozu ve sıvısı

Karışım özel bir spatül kullanılarak metal kalıba alındı. 5 no'lu samur fırça (Vident, Almanya) kullanılarak karışımın metal kalıp içerisine tam olarak yerleştirilmesi sağlandı. Bu işlem sırasında fırça ısıtılmadı. Metal kalıp çekirdek materyali ile tamamen kaplandıktan sonra çekirdek yapının fazlalıkları bıçak ile alındı. Yalnız sinter pişiminden sonra da bir miktar tesviye yapılacağı göz önüne alınarak biraz daha fazla hamur yığıldı. Daha sonra bu örnekler Vita In-Ceramat 3 (Vita-Zahnfabrik, Almanya) fırınına alındılar. 20 °C'den 120 °C'ye 6 saatte ulaşan porselen fırını, alüminyum tozların birbirlerine yakınlaşmasını sağladı. Daha sonra ısı 2 saatte 120 °C'den 1120 °C'ye çıkarıldı ve bu sıcaklıkta 2 saat bekletildi. Bu durum alüminyum-oksitlerin birbirlerine yapışmalarında etkili oldu.

Pişim bittikten sonra örnekler kapalı fırında 400 °C' ye kadar bekletildi ve fırının kapağı açıldı. Seramik örnekler açılan fırında oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi. Örneklerde yapılacak son tesviyeler için, ince grenli elmas frezler çok düşük devirlerde kullanıldı. Ardından cam infiltrasyon işlemine geçildi. Bu işlem için VITA In-Ceram alumina cam tozu (Glass Powder, Vita-Zahnfabrik, Almanya) distile su ile karıştırıldı ve elde edilen karışım, örnek üst yüzeyine fırça ile uygulandı. Sonra örnekler platin folyo üzerinde taşıyıcı petek üzerine yerleştirildi. Örneklerle Vita In-ceramat 3 (Vita-Zahnfabrik, Almanya) fırınında 4 saat 1100 °C'de cam emdirme işlemi uygulandı.

Camlanmış çekirdeklerden, camın fazlası elmas mōletlerle aşındırılarak uzaklaştırıldıktan sonra, kalan az miktardaki cam 50 µm'lik Al₂O₃ kum kullanılarak, 3 bar'lık basınç altında, çekirdekten uzaklaştırıldı.

Sonuçta, 12 adet 6x3 mm boyutlarında In-Ceram Alumina alt yapı örneği elde edildi (Resim 3.4). Elde edilen örneklerin boyutları aynı araştırmacı tarafından digital mikrometre ile kontrol edildi.

Tablo 3.3. In-Ceram Alumina alt yapı için Vita In-Ceramat 3 fırınına ait değerler.

Pişirme aşaması	Ön ısıtma sıcaklığı	Ön ısıtma süresi	Pişirme sıcaklığı	Pişirme sıcaklığına yükselme süresi	Pişirme sıcaklığında kalma süresi	Pişirme süresi	Vakumda pişirme süresi
Çekirdek	120 °C	6 saat	1120 °C	2 saat	2 saat	10 saat	--
Camlama	200 °C	-	1100 °C	30 dak.	4 saat	4.5 saat	--



Resim 3.4. In-Ceram Alumina Seramik Örnekler

3.1.3. In-Ceram Zirkonya Seramik Örneklerin Hazırlanması

6x3 mm boyutlarındaki In-Ceram Zirkonya kor yapıyı hazırlamak için metal kalıp kullanıldı. 45 gram Vita In-Ceram Zirkonya tozu ölçüldü. Bir ampül Vita In-Ceram Zirkonya karıştırma sıvısı ve 4 damla Vita In-Ceram Zirkonya additive'in Vitasonic (Vita In-Ceram Vitasonic II, VITA Zahnfabrik, Almanya) ile ön karışımı hazırlandı ve 45 gram zirkonya tozu ile karıştırılarak, 1 dakika süreyle bu karışımın hava ile teması kesildi, ardından karışım plastik bir kap içerisine alındı (Resim 3.5).



Resim 3.5. Vita In-Ceram Zirkonya porselen tozu ve sıvısı

Karışım özel bir spatül kullanılarak metal kalıba alındı. 5 no'lu samur fırça kullanılarak karışımın metal kalıp içerisine tam olarak yerleştirilmesi sağlandı. Bu işlem sırasında fırça ıslatılmadı. Metal kalıp çekirdek materyali ile tamamen kaplandıktan sonra çekirdek yapının fazlalıkları bıçak ile alındı. Daha sonra bu örnekler Vita In-Ceramat 3 fırınına alındılar. Seramik örnekler 6 saat 120 °C de bekletildiler, daha sonra dakikada 8,33 °C ısı artışı olacak şekilde 2 saat, ve 1120 °C de 2 saat bekletildiler. Bu işlemler tamamlandıktan sonra sinterlenmiş kor yapı üzerinde tekrar çalışıldı. Vita In-Ceram Zirkonya cam tozları ilave edildi. Vita Inceramat'da 1140 °C'de 2.5 saat cam infiltrasyonu için fırındı. Camlanmış çekirdeklerden, camın fazlası elmas möletlerle aşındırılarak uzaklaştırıldıktan sonra, kalan az miktardaki cam 50 µm'lik Al₂O₃ kum kullanılarak, 3 bar'lık basınç altında, çekirdeklerden uzaklaştırıldı.

Sonuçta, 12 adet 6x3 mm boyutlarında In-Ceram Zirkonya alt yapı örneği elde edildi (Resim 3.6). Elde edilen örneklerin boyutları aynı araştırmacı tarafından digital mikrometre ile kontrol edildi.

Tablo 3.4. In-Ceram Zirkonya altyapı için Vita In-Ceramat 3 fırınına ait değerler.

Piştirme aşaması	Ön ısıtma sıcaklığı	Ön ısıtma süresi	Piştirme sıcaklığı	Piştirme Sıcaklığına Yükselme Süresi	Piştirme sıcaklığında Kalma süresi	Piştirme süresi	Vakumda Piştirme süresi
Çekirdek	120 °C	6 saat	1120 °C	2 saat	2 saat	10 saat	--
Camlama	200 °C	-	1140 °C	50 dak.	4 saat	4 saat 50 dak.	--



Resim 3.6. In-Ceram Zirkonya Seramik Örnekler

3.1.4. Finesse Seramik Örneklerin Hazırlanması

IPS E.max sistemine benzer şekilde hazırlanan metal kalıp kullanılarak mum örnekler elde edildi. Mum örnekler tijlenip, üretici firmanın (Dentsply International Inc., Ceramco, NJ, USA) kendi manşet kağıdıyla özel olarak hazırlanmış manşetlere yerleştirildiler. Firmanın kendi revetmanı (Finesse All Ceramic Investment, Ceramco, USA), 200 gr. revetman tozu 32 ml. revetman sıvısı ve 22 ml. distile su oranıyla önce elde 30 saniye, sonra vakumlu karıştırma makinasında 1.5 dakika olmak üzere toplam 2 dakika karıştırıldı. Hazırlanan revetman vibratör üstünde duran manşete döküldü. Bir el aleti kullanılarak mum örneklerin içinde hava kabarcığı kalmaması sağlanarak manşet dolduruldu ve manşet kapağı kapatıldı. Finesse All-Ceramic seramik ingotların ön ısıtma fırınına konması tavsiye edilmemektedir. Ön ısıtma fırınında 850 °C'de 1 saat bekleyen manşetler Touch & Press (Dentsply, Konstanz, Almanya) fırınına alındı. Manşetin haznesine ingot yerleştirildikten sonra tepici piston ile 930 °C'de preslendi. Soğuyan manşetlerden çıkan örneklere 100 µm Al₂O₃ ile 4 barlık basınç altında kalın kumlama yapıldı. Daha sonra asit etching yapılarak tekrar 50 µm Al₂O₃ ile 2 barlık basınç altında ince kumlama yapıldı. Örnekler tijlerden elmas separe yardımıyla ayrıldı. 6x3 mm boyutlarındaki Finesse seramik örneklerden 12 adet elde edildi (Resim 3.7). Elde edilen örneklerin boyutları aynı araştırmacı tarafından digital mikrometre ile kontrol edildi.

Tablo 3.5. Finesse altyapı için Densply Touch & Pres fırınına ait değerler.

Piştirme Aşaması	Başlangıç Isısı	Vakum Seviyesi	Isı Artışı	Presleme Isısı	Bekleme Süresi	Presleme süresi
Çekirdek	700 °C	1.5 in hg	60 °C /dak	930 °C	20 dak.	10 dak.

**Resim 3.7.** Finesse Seramik Örnekler

3.1.5. Zirkonzahn (CAD-CAM) Seramik Örneklerin Hazırlanması

Zirkonzahn seramik örneklerin hazırlanmasında ön sinterlenmesi (sertleşmemiş frezelenmeye uygun halde) tamamlanıp kazıma için hazır hale getirilmiş Zirkonzahn (ICE Zirkon, ZirkonZahn, İtalya) zirkonyum bloklar kullanıldı. 6x3 mm. boyutlarında disk şeklindeki örnekler CAD-CAM sisteminin CAD ünitesinde dizayn edildi. Bilgisayarda hazırlanan tasarıma uygun olacak şekilde CAD-CAM freze cihazında zirkonyum bloklardan örnekler biçimlendirildi. Örnekler, sinterlenme sırasında oluşacak büzülmeyi karşılamak amacıyla % 25 daha büyük hazırlandılar.

Hazırlanan örnekler Zirkonzahn (Steger, Brunneck, İtalya) sinterleme fırınında üretici firmanın önerileri doğrultusunda 1500 °C'de 8 saat sinterlendiler. İşlem sonucunda; örneklerin, kumpas yardımı ile tek tek yapılan ölçümlerinde %25 küçülerek 6x3 mm. orijinal boyutlarına ulaştıkları tesbit edildi. Uygulamalar sırasında oluşan toz ve artıkların uzaklaştırılabilmesi için örnekler kumlama cihazında 50 µm Al₂O₃ ile 4 atm basınç altında kumlandı ve buhar makinesinde temizlendiler. 6x3 mm boyutlarındaki Zirkonzahn seramik örneklerden 12 adet elde edildi (Resim 3.8).



Resim 3.8. Zirkonzahn Seramik Örnekler

3.1.6. Turkom Cera Seramik Örneklerin Hazırlanması

Turkom Cera (Turcom-Ceramic SDN-BHD, Kuala Lumpur, Malezya) alt yapıların hazırlanması için metal kalıp kullanıldı. 38 gr toz (In-Ceram mixing powder, Vita-Zahnfabrik, Almanya) ve 5 ml sıvı (In-Ceram Spezial Plaster, VITA Zahnfabrik, Almanya) havan kenarında cam spatula ile ezilerek homojen bir kıvama getirildi. Karışım tamamlandığında homojen bir yağlı boya görünümü aldı. Bir dakika vakumda tutulduktan sonra kullanıma hazır hale geldi.

Karışım özel bir spatül kullanılarak metal kalıba alındı. Sentetik bir fırça kullanılarak karışımın metal kalıp içerisine tam olarak yerleştirilmesi sağlandı. Bu işlem sırasında fırça ıslatılmadı. Metal kalıp çekirdek materyali ile tamamen kaplandıktan sonra çekirdek yapının fazlalıkları bıçak ile alındı.

Daha sonra örnekler porselen fırınına alındılar (VITA Vacumat 40 T, VITA Zahnfabrik, Almanya). Fırının başlangıç ısısı 600 °C' ye ayarlandı ve dakikadaki ısı artışı 100 °C olacak şekilde fırının ısısı 1150 °C'ye getirildi. Bu ısıda 5 dakika beklenildi.

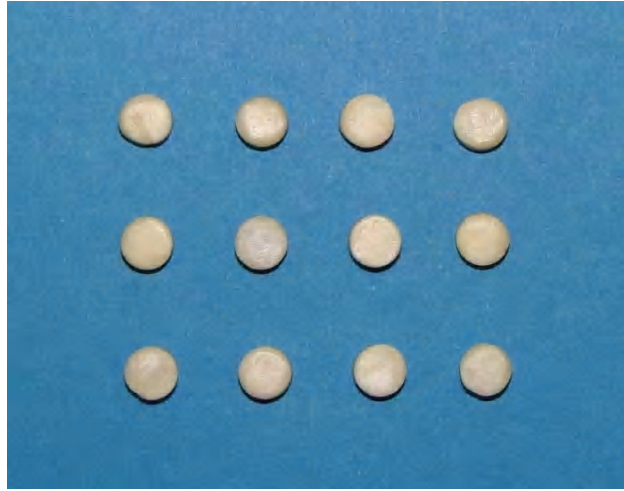
Pişim bittikten sonra alt yapı kapalı fırında 400 °C' ye kadar bekletildi ve fırın açıldı. Açılan fırında oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi. Sinterleme işlemi tamamlanan alt yapılar, sisteme ait kristal tozlarıyla güçlendirildi. İkinci fırınlama işlemi için aynı fırın kullanıldı. Fırının başlangıç ısısı 600 °C' ye ayarlandı ve dakikadaki ısı artışı 80 °C olacak şekilde fırının ısısı 1180 °C'ye getirildi. Bu ısıda 30 dakika beklenildi.

Camlanmış çekirdeklerden, camın fazlası elmas m  letlerle   şındırılarak uzaklaştırıldıktan sonra, kalan az miktardaki cam 50   m’lik Al₂O₃ kum kullanılarak, 3 bar’lık basınç altında, çekirdekten uzaklaştırıldı.

Sonuçta, 12 adet 6x3 mm boyutlarında sinterlenmiş Turkom Cera alt yapı   rneği elde edildi (Resim 3.9). Elde edilen örneklerin boyutları aynı araştırıcı tarafından digital mikrometre ile kontrol edildi.

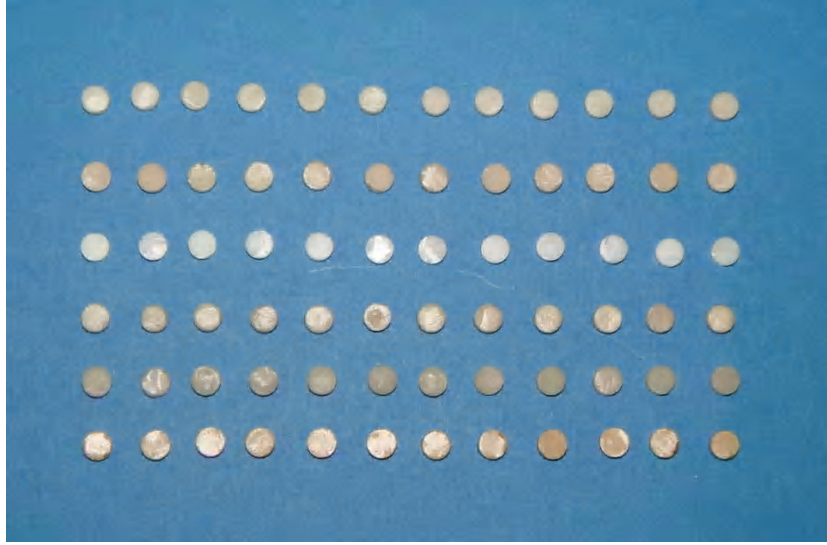
Tablo 3.6. Turkom Cera altyapı için Vita Vacumat 40 T fırınına ait değerler.

Pişirme Aşaması	Başlangıç Isısı	Isı Artışı	Pişirme Isısı	Bekleme Süresi
Çekirdek	600 ��C	100 ��C /dak	1150 ��C	5 dak.
Camlama	600 ��C	80 ��C /dak	1180 ��C	30 dak.



Resim 3.9. Turkom Cera Seramik   rnekler

Elde edilen 72 örneğin yüzeyleri 600’den 1200 gritliğe kadar silikon karbit   şındırıcılarla (3M, St. Paul, MN, USA) su kullanılarak ve bir piyasemen yardımıyla dikkatlice polisajlandı. Daha sonra örnekler ultrasonik su banyosundaki (Whaledent Biosonic Jr., Whaledent International, Newyork, 56 USA) ultrasonik temizleme likitinde (Pro-Portion; Sultan, USA) 10 dakika temizlenip, hava ile kurutuldu (Resim 3.10).



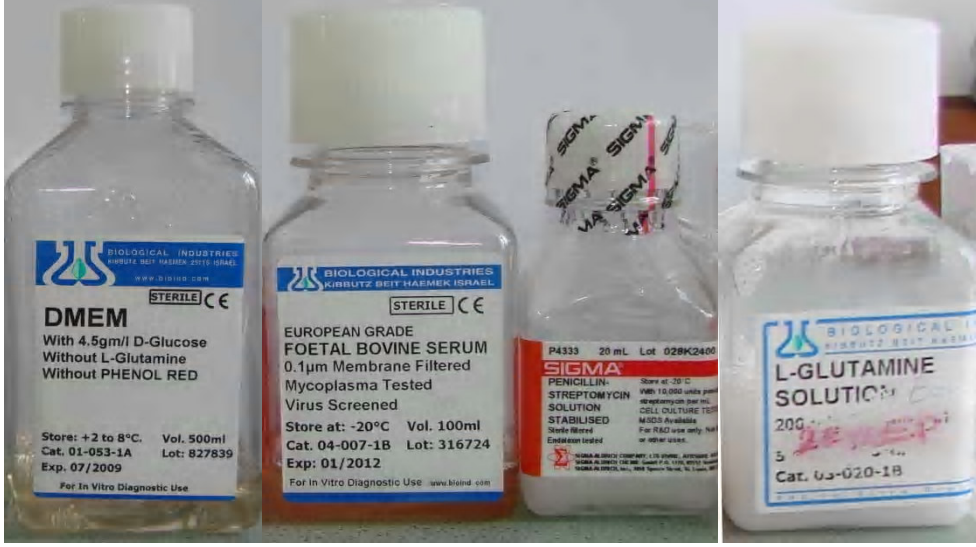
Resim 3.10. 6 farklı tam seramik materyalinden elde edilen 72 adet örnek

3.2. SIZINTI ÜRÜNLERİNİN TOPLANMASI

Tam seramik alt yapı materyallerinin sitotoksisitelerinin değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan ve enzimatik bir test olan MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] testi tercih edildi. MTT testi ile, tam seramik alt yapı örneklerinden açığa çıkan sızıntı ürünlerinin direkt temas ile farklı zaman aralıklarında oluşturduğu toksik etkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Sızıntı ürünlerinin toplandığı solüsyon, ISO 10993-5 numaralı protokolünde belirtildiği üzere fenolred içermeyen DMEM içerisine, FBS, L-glutamin ve penicillin/streptomycin ilave edilerek hazırlandı (Tablo 3.7, Resim 3.11).

Tablo 3.7. Sızıntı ürünlerinin biriktirilmesinde kullanılan malzemeler.

Hücre kültür ortamı	Kullanılan miktar	Firma	Lot. No.
Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (fenolred içermeyen)	100 ml.	Biological Industries, Israel	827839
Penicilin – Streptomycin (1000 U/10000 Mg/ml)	1 ml	Sigma Aldrich, Germany	028K2400
L-glutamin	1 ml	Biological Industries, Israel	709682
Fetal Bovine Serum (FBS)	4 ml	Biological Industries, Israel	316724



Resim 3.11. MTT testinde kullanılan malzemeler

Tüm örnekler her tüpte 3'er adet örnek olacak şekilde tüplere alınarak üzerlerine 5 ml fenolred içermeyen DMEM ilave edildi. Disk şeklindeki örneklerin yüzey alanının fenolred içermeyen DMEM'in hacmine oranı $0.65 \text{ cm}^2/\text{ml}$ olarak hesaplandı. Bu oran ISO'nun tavsiye ettiği $0.5\text{-}6.0 \text{ cm}^2/\text{ml}$ oranına uygundur. 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. hafta sonunda sızıntı ürünlerini içeren DMEM toplandı (Resim 3.12).



Resim 3.12. Örnek gruplarına ait sızıntı ürünlerini içeren tüpler.

3.3. YAŞLANDIRMA İŞLEMİ

1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. hafta sonunda sızıntı ürünlerini içeren DMEM toplandıktan sonra tüm seramik örnekler yaşlandırma işlemine tabi tutuldu. Yaşlandırma işlemi dental materyallerin uzun süre kullanımını taklit etmek için yapılır ve materyalden komponent salınımının hızlanmasını sağlar. Örnekler steril su ile yıkandı, daha sonra 3% bovine serum albumin (BSA; Sigma Aldrich Inc. St. Louis, Missouri, USA) solüsyonunda 96 saat süreyle bekletildi. BSA solüsyonu daha önceki çalışmalarda etkili yaşlandırma solüsyonu olarak belirtilmiştir (76,81,92). BSA solüsyonundan çıkarılan örnekler tekrar steril su ile yıkandı. Daha sonra yeniden tüm örnekler her tüpte 3'er adet örnek olacak şekilde tüplere alınarak üzerlerine 5 ml fenolred içermeyen DMEM ilave edildi ve 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. hafta sonunda sızıntı ürünlerini içeren DMEM toplandı.

Yaşlandırılan ve yaşlandırılmayan her örnek grubunun dört farklı zaman aralığına ait sızıntı ürünleri ayrı ayrı tüplere yerleştirildi (Resim 3.13).

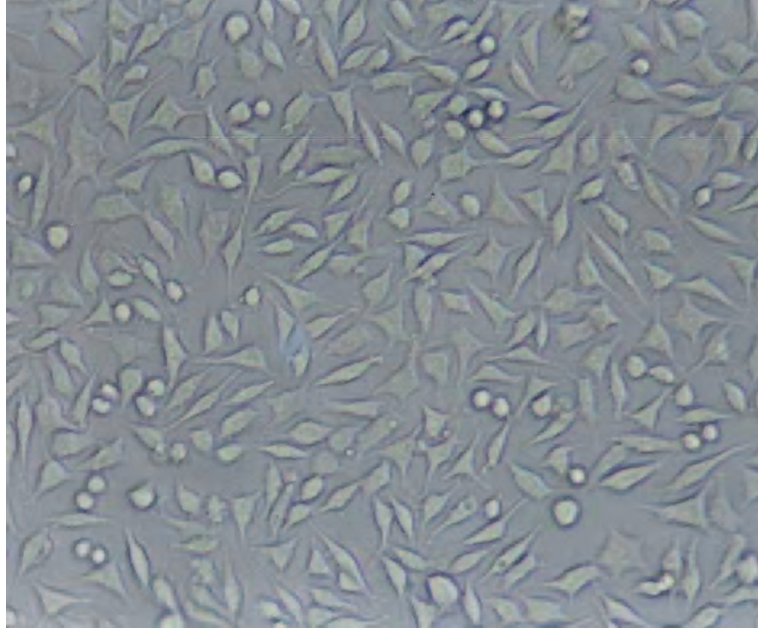


Resim 3.13. Farklı zaman aralıklarına ait sızıntı ürünlerini içeren tüpler.

Toplanan sızıntı ürünleri MTT testi uygulanıncaya kadar dondurularak saklandı.

3.4. HÜCRE KÜLTÜRÜ

Araştırmada hücre kültürünün oluşturulmasında L929 fare fibroblast hücre serisi (Sigma Aldrich Inc. St. Louis, Missouri, USA) kullanıldı (Resim 3.14). Hücreler saklama ortamı olan -80°C ' den çıkartılarak 37°C ' deki su banyosunda kısa sürede çözündürüldü.



Resim 3.14. L929 fibroblast hücrelerinin inverted ışık mikroskopunda görünimleri

Hücre kültüründe kullanılacak besi yeri, Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) içerisine penicilin – streptomycin, L-glutamin ve Fetal bovine serum (FBS) ilave edilerek hazırlandı (Tablo 3.8, Resim 3.15). Çözdürülen hücreler besiyeri ortamı ile 25 cm^2 hücre kültürü üretme kaplarına (flask) alındı (Resim 3.16).

Tablo 3.8. Hücre kültür ortamının oluşturulmasında kullanılan malzemeler

Hücre kültür ortamı	Kullanılan miktar	Firma	Lot. No.
Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)	100 ml.	Biological Industries, Israel	843064
Penicilin – Streptomycin (1000 U/10000 Mg/ml)	1 ml	Sigma Aldrich, Germany	028K2400
L-glutamin	1 ml	Biological Industries, Israel	709682
Fetal Bovine Serum (FBS)	4 ml	Biological Industries, Israel	316724



Resim 3.15. Hücre kültür ortamının oluşturulmasında kullanılan malzemeler

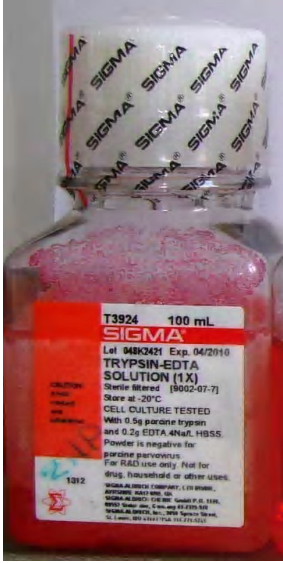


Resim 3.16. Flask'ta besiyeri ortamı ile fibroblast hücreleri

Hücrelerin üremeleri ve flask yüzeyini kaplayıp kaplamadıkları inverted ışık mikroskobu (Nikon ECLIPSE TS 100, Japonya) (Resim 3.17) kullanılarak kontrol edildi ve yüzeyi tamamen kapladıklarında kültür kabındaki besi ortamı aspire edildi. FBS (Fötal Bovine Serum) içermeyen DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) ile hücreler yıkandıktan sonra Tripsin / EDTA solüsyonu (%0,05 trypsin + % 0,02 EDTA, Biochrom KG, Berlin, Almanya) ile çalkalandı. Daha sonra tripsin aspire edildi ve hücreler 37 °C'deki inkübatörde (Heracell, Almanya) 5 dakika inkübasyona bırakıldı ve tripsinizasyon işlemi tamamlandı (Resim 3.18, Resim 3.19).



Resim 3.17. Inverted ışık mikroskobu



Resim 3.18. Tripsin/EDTA solüsyonu



Resim 3.19. İnkübatör

Bu süre sonunda makroskobik ve mikroskobik olarak incelenen hücrelerin flask yüzeyinden ayrıldıkları görüldü. DMEM ilave edilerek hücre süspansiyonu oluşturuldu. Hazırlanan hücre süspansiyonu flasklara bölünerek pasajlandı. Hücre kültür kaplarındaki hücre çoğalması izlenerek bu işlem tekrarlandı ve hücre kültür serisinin devamlılığı sağlandı.

Çalışmada L929 fibroblast hücre serisinin 6 ile 11. pasajlar arasındaki hücreleri kullanıldı.

3.5. MİKROPLATELERİN HAZIRLANMASI

Logaritmik üreme tarzında olan, aktif ve yüzeyi % 90–95 oranında kaplamış L929 hücreleri, pasajlama işleminde olduğu gibi tripsinizasyonla flask yüzeyinden kaldırıldı ve fenolred içermeyen DMEM ilave edilerek hücre süspansiyonu hazırlandı. Bu hücre süspansiyonu 96 kuyucuklu hücre üretme kaplarına (mikroplate) her bir kuyucuğa 100 μ l hücre süspansiyonu ($\sim 2 \times 10^5$ hücre/ml) olacak şekilde taksim edildi (Resim 3.20).



Resim 3.20. Hücre süspansiyonu ilave edilmiş mikroplate

Mikroplateler, 37°C’de % 5 CO₂’li inkübatörde hücrelerin kuyucuk tabanına yapışması için 24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda mikroplatelerdeki hücrelerin inverted ışık mikroskopunda üremeleri ve ortamın sterilitesi kontrol edildi. İnkübasyon periodundan sonra sitotoksisite testi yapıldı.

3.6. SİTOTOKSİSİTE TESTİNİN YAPILMASI

Mikroplate kuyucuklarındaki hücre çoğalması istenilen yoğunluğa geldikten sonra kuyucuklardaki fenolred içermeyen DMEM aspire edilerek dört farklı zaman dilimine ait her örnek grubu için 10 kuyucuk kullanılarak sızıntı ürünü içeren DMEM’den 100 μ l ilave edildi (Resim 3.21). Mikroplateler tekrar 37°C’de %5 CO₂’li inkübatörde 24 saat inkübasyona bırakıldı.



Resim 3.21. Mikroplate’de sızıntı ürünü içeren DMEM.

Test sıvılarının mikroplate kuyucuklarındaki yerleşimleri tablo 3.9’da görülmektedir.

Tabloda,

PK: Pozitif kontrol (DMEM)

NK: Negatif Kontrol (DMSO)

Ö: Örnek (6 mikroplate’in her birinde IPS E.max, In-Ceram Alumina, In-Ceram Zirkonya, Finesse, Zirkonzahn, Turkom Cera test gruplarından biri yer almaktadır)

1: 1. güne ait sızıntı ürünü solüsyonu

2: 2. güne ait sızıntı ürünü solüsyonu

3: 1. haftaya ait sızıntı ürünü solüsyonu

4: 2. haftaya ait sızıntı ürünü solüsyonu

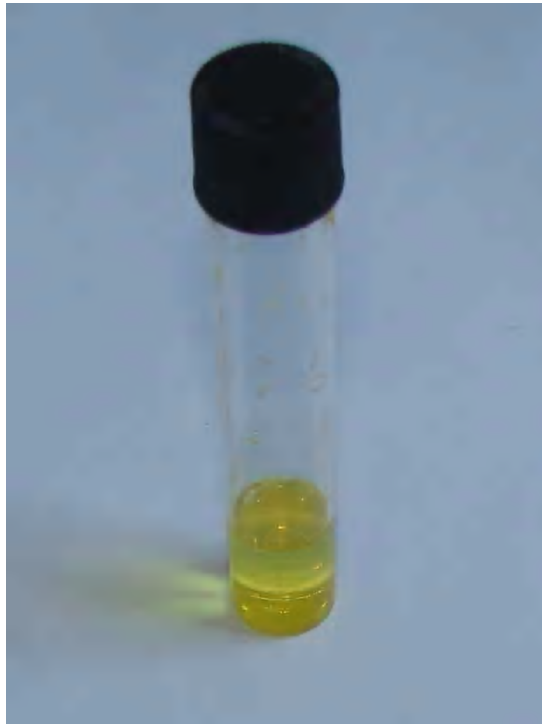
y: Yaşlandırma yapılmamış örnek

e: Yaşlandırma yapılmış örneği ifade etmektedir.

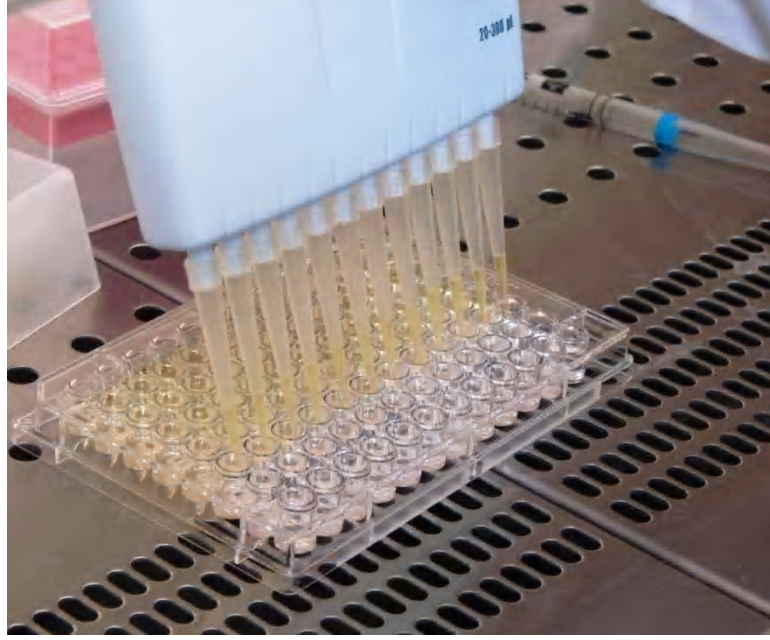
Tablo 3.9. Test sıvılarının mikropate içinde yerleşimleri.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PK	Ö1y	Ö1y	Ö1y	Ö1y	Ö1y	Ö1y	Ö1y	Ö1y	Ö1y	Ö1y	NK
PK	Ö2y	Ö2y	Ö2y	Ö2y	Ö2y	Ö2y	Ö2y	Ö2y	Ö2y	Ö2y	NK
PK	Ö3y	Ö3y	Ö3y	Ö3y	Ö3y	Ö3y	Ö3y	Ö3y	Ö3y	Ö3y	NK
PK	Ö4y	Ö4y	Ö4y	Ö4y	Ö4y	Ö4y	Ö4y	Ö4y	Ö4y	Ö4y	NK
PK	Ö1e	Ö1e	Ö1e	Ö1e	Ö1e	Ö1e	Ö1e	Ö1e	Ö1e	Ö1e	NK
PK	Ö2e	Ö2e	Ö2e	Ö2e	Ö2e	Ö2e	Ö2e	Ö2e	Ö2e	Ö2e	NK
PK	Ö3e	Ö3e	Ö3e	Ö3e	Ö3e	Ö3e	Ö3e	Ö3e	Ö3e	Ö3e	NK
PK	Ö4e	Ö4e	Ö4e	Ö4e	Ö4e	Ö4e	Ö4e	Ö4e	Ö4e	Ö4e	NK

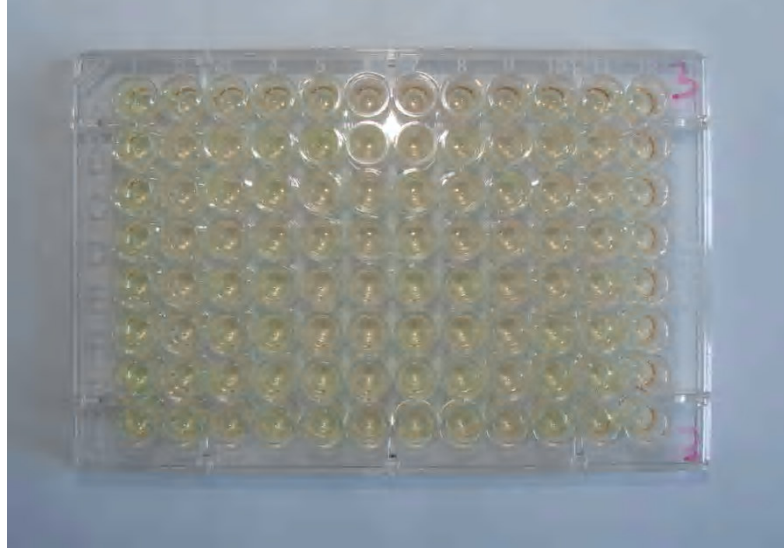
MTT solüsyonunun hazırlanması: MTT (Sigma Aldrich Inc. St. Louis, Missouri, USA) fenol red içermeyen DMEM ile karıştırılarak homojenize edildi ve 5 mg/ml konsantrasyonunda MTT solüsyonu hazırlandı (Resim 3.22).

**Resim 3.22.** MTT solüsyonu.

Sızıntı ürünlerini içeren DMEM 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldıktan sonra mikroplatelerden uzaklaştırıldı ve mikroplate üzerindeki her bir kuyucuğa 10 μ l MTT solüsyonu ilave edildi (Resim 3.23, Resim 3.24).

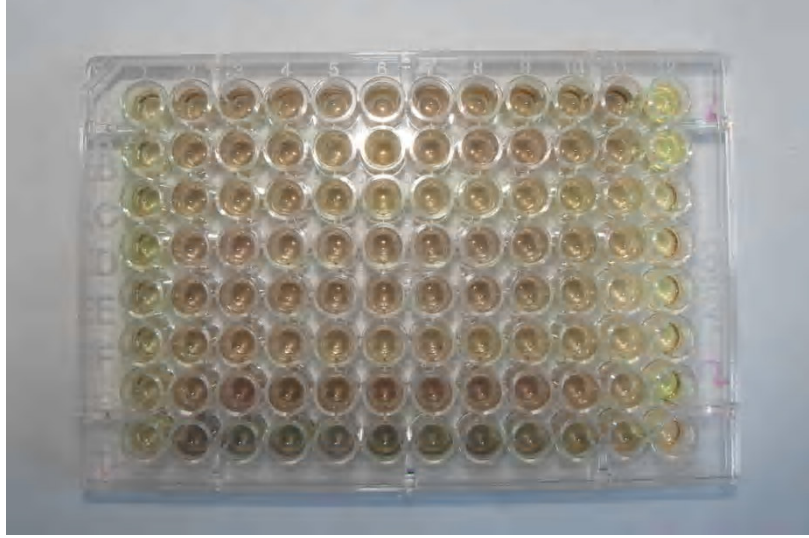


Resim 3.23. Kuyucuklara MTT solüsyonu ilave edilirken

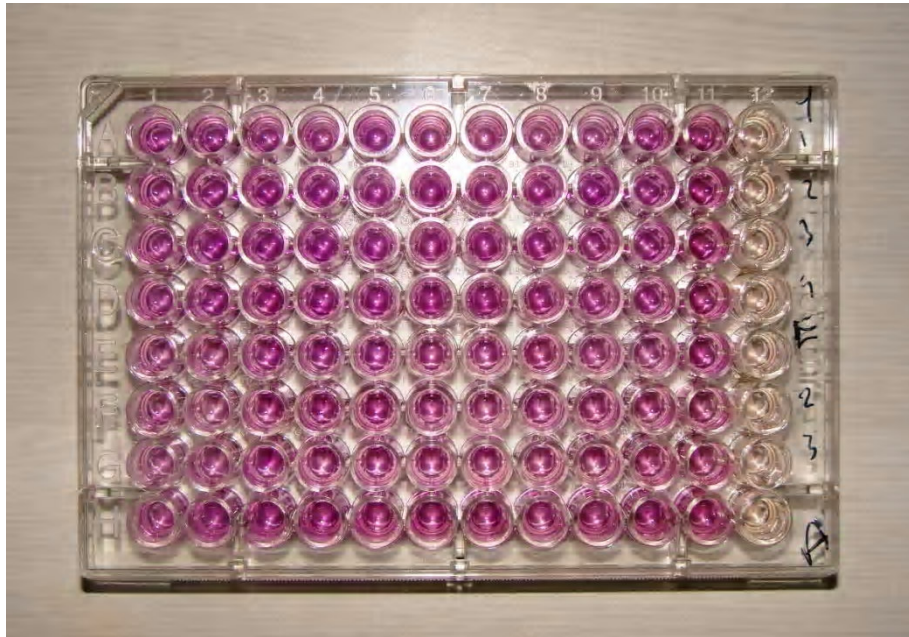


Resim 3.24. Her bir kuyucuğa 10 μ l MTT solüsyonu ilave edilen mikroplate.

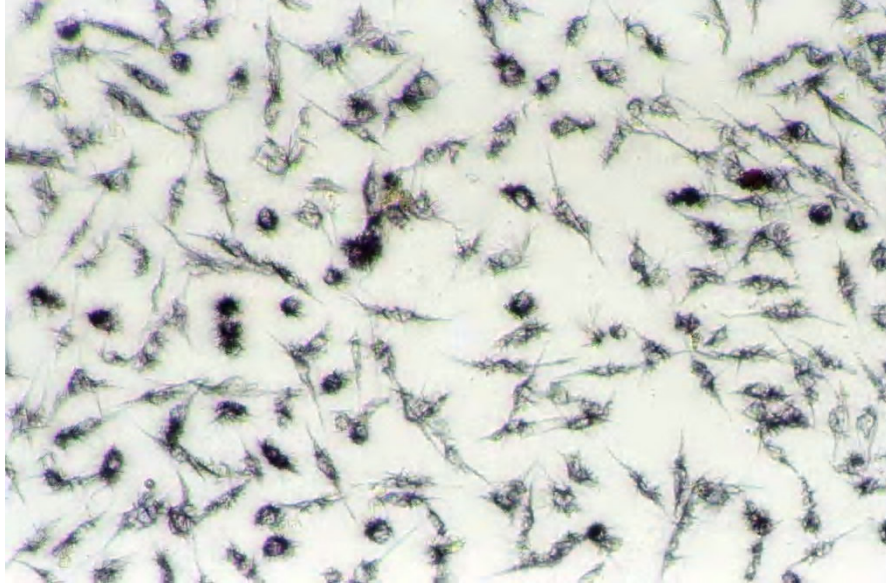
Mikroplate kuyucuklarındaki hücreler karanlık bir ortamda, 37° C' de 4 saat süreyle inkübe edildi (Resim 3.25).



Resim 3.25. MTT solüsyonu ile 4 saat inkübasyondan sonra mikropate.



Resim 3.26. DMSO eklenmiş mikropate.



Resim 3.27. Formazan kristalleri.



Resim 3.28. ELISA okuyucusuna yerleştirilen mikropate.

İnkübasyon sonrası MTT solüsyonu içeren sıvılar aspire edilerek ortamdan uzaklaştırıldı. Daha sonra her bir kuyucuğa oda ısısında 100 μ l dimetilsülfoksit (DMSO) ilave edildi (Resim 3.26, Resim 3.27). Formazan kristallerinin tamamen çözünmesi ile mavi/mor renge dönüşümünü takiben plateler ELISA okuyucusuna (Bio-tek EL 312, Bio-tek Instruments, Winooski, VT, USA) yerleştirildi. Oluşan formazanın optik yoğunluğu 450 nanometrede okunarak belirlendi (Resim 3.28).

Optik okuyucudan elde edilen değerler aşağıdaki formüle konularak, test materyallerinin ayrı ayrı hücre proliferasyon yüzdeleri hesaplandı.

$$\text{Hücre Proliferasyon Yüzdesi} = \frac{A - B}{C - B} \times 100$$

A: Test örneklerine ait kuyucuklardaki optik değerlerin ortalaması

B: Kör olarak kullanılan kuyucuklardaki optik değerlerin ortalaması

C: Pozitif kontrol grubuna ait değerlerin optik değerlerin ortalaması

Çalışma sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi, SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois 60606, USA) yazılımı kullanılarak, Kruskal-Wallis varyans analizi, Mann-Whitney U testi, Tukey çoklu karşılaştırma testi, tekrarlanabilir ölçümlerde Friedman varyans analizi ve Wilcoxon t testi yöntemleri ile yapıldı.

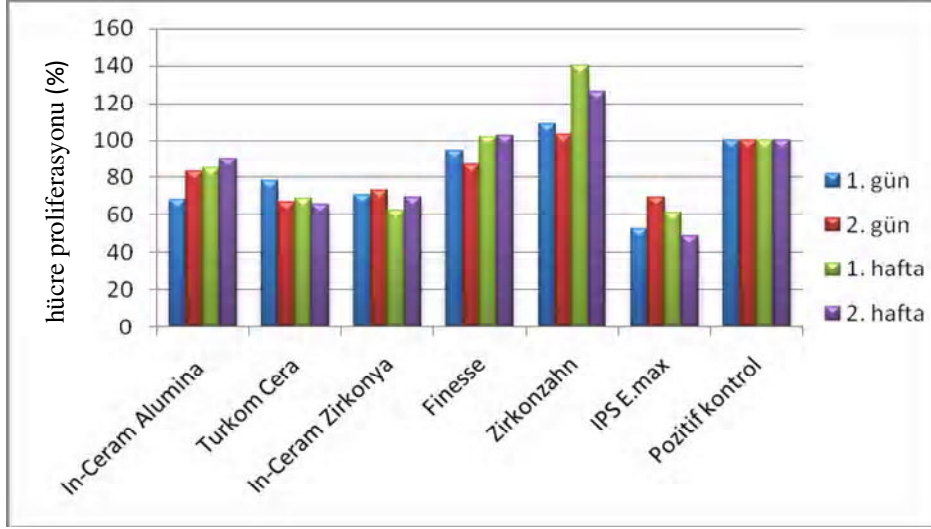
4. BULGULAR

Çalışmada kullanılan altı farklı tam seramik alt yapı materyalinin 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. hafta sitotoksisite değerlendirmesinden elde edilen hücrelerin proliferasyon yüzdeleri (optik yoğunluk değerleri) ortanca değerleri Tablo 4.1 ve 4.2’de verilmektedir.

Şekil 4.1 ve 4.2’de gösterilen *optik yoğunluk değerleri*, pozitif kontrol grubunun değeri % 100 olarak kabul edildiğinde, diğer gruplarda basit oran hesabı ile elde edilen % değeridir ve canlı hücre oranını simgelemektedir.

Tablo 4.1 Yaşlandırma işlemi uygulanmadan önce tam seramik altyapı materyallerine ait hücre proliferasyon değerleri (%) (Optik Yoğunluk Değerleri)

Test Grupları	Zaman	Ort(%25-%75)
In-Ceram Alumina	1. gün	67,9(61,5-85,5)
	2. gün	82,8(73,1-107,8)
	1. hafta	84,6(65,7-93,8)
	2. hafta	90,2(83,8-102,8)
Turkom Cera	1. gün	78(69-88)
	2. gün	66,5(58-79)
	1. hafta	68,5(61-76)
	2. hafta	65,5(57-71)
In-Ceram Zirkonya	1. gün	70,5(67-74)
	2. gün	73(65-77)
	1. hafta	62,5(60-72)
	2. hafta	69,5(63-81)
Finesse	1. gün	94,5(71-103)
	2. gün	87(51-101)
	1. hafta	102(60-159)
	2. hafta	102,5(82-146)
Zirkonzahn	1. gün	108,5(83-147)
	2. gün	103(86-129)
	1. hafta	140(114-180)
	2. hafta	126,5(119-165)
IPS E.max	1. gün	52,5(47-63)
	2. gün	69,5(50-81)
	1. hafta	61(49-67)
	2. hafta	48,5(45-59)
Pozitif kontrol	1. gün	100
	2. gün	100
	1. hafta	100
	2. hafta	100



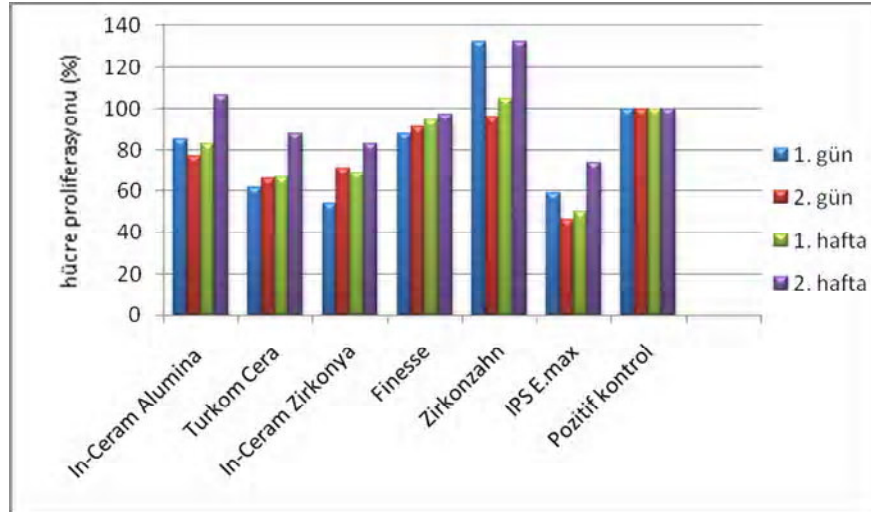
Şekil 4.1. Yaşlandırma işlemi öncesi tam seramik altyapı materyallerinin 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftadaki hücre proliferasyon yüzdeleri

Tablo 4.2. Yaşlandırma işlemi uygulandıktan sonra tam seramik altyapı materyallerine ait hücre proliferasyon değerleri (%) (Optik Yoğunluk Değerleri)

Test Grupları	Zaman	Ort(%25-%75)
In-Ceram Alumina	1. gün	85,2(78,9-92,1)
	2. gün	76,8(60,3-88,8)
	1. hafta	82,8(72,2-92,1)
	2. hafta	106,3(97,9-147,1)
Turkom Cera	1. gün	61,5(56-66)
	2. gün	66(54-69)
	1. hafta	66,5(63-75)
	2. hafta	88(80-93)
In-Ceram Zirkonya	1. gün	54(48-57)
	2. gün	71(60-78)
	1. hafta	68,5(61-76)
	2. hafta	83(79-94)
Finesse	1. gün	88(69-103)
	2. gün	91(62-136)
	1. hafta	94,5(75-118)
	2. hafta	97(82-122)

Tablo 4.2. Yaşlandırma işlemi uygulandıktan sonra tam seramik altyapı materyallerine ait hücre proliferasyon değerleri (%) (Optik Yoğunluk Değerleri) (**devamı**)

Test Grupları	Zaman	Ort(%25-%75)
Zirkonzahn	1. gün	132,5(100-150)
	2. gün	96(89-127)
	1. hafta	105(79-142)
	2. hafta	132,5(121-148)
IPS E.max	1. gün	59(59-59)
	2. gün	46(42-54)
	1. hafta	50(48-53)
	2. hafta	73,5(64-91)
Pozitif kontrol	1. gün	100
	2. gün	100
	1. hafta	100
	2. hafta	100



Şekil 4.2. Yaşlandırma işlemi sonrası tam seramik altyapı materyallerinin 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftadaki hücre proliferasyon yüzdeleri

1.Kruskal-Wallis varyans analizi ve Tukey testi: Gruplar arasında sitotoksik özellik bakımından farklılığın istatistiksel değerlendirmesinde Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığına ise Tukey çoklu karşılaştırma testi ile bakıldı (Tablo 4.3, Tablo 4.4).

Tablo 4.3. Yaşlandırma işlemi öncesi test gruplarının tüm zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerlerinin karşılaştırması

Gruplar	1. gün Ort(%25-%75)	2. gün Ort(%25-%75)	1. hafta Ort(%25-%75)	2. hafta Ort(%25-%75)
In-Ceram Alumina	67,9(61,5-85,5) ^{abd}	82,8(73,1-107,8) ^{ab}	84,6(65,7-93,8) ^{ab}	90,2(83,8-102) ^{ab}
Turcom Cera	78(69-88) ^{ab}	66,5(58-79) ^b	68,5(61-76) ^b	65,5(57-71) ^b
In-Ceram Zirkonya	70,5(67-74) ^{ac}	73(65-77) ^b	62,5(60-72) ^b	69,5(63-81) ^b
Finesse	94,5(71-103) ^{ab}	87(51-101) ^{ab}	102(60-159) ^{ab}	102,5(82-146) ^{ab}
Zirkonzahn	108,5(83-147) ^b	103(86-129) ^a	140(114-180) ^a	126,5(119-165) ^a
IPS E.max	52,5(47-63) ^{cd}	69,5(50-81) ^b	61(49-67) ^b	48,5(45-59) ^b

Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$)

1. gün;

1. günde çalışmada kullanılan altı materyalin hücre proliferasyon yüzdeleri arasında istatistiksel açıdan belirgin farklılık görüldü ($P = < 0,001$).

- IPS E.max grubunun hücre proliferasyon düzeyinin Zirkonzahn, Finesse ve Turcom Cera gruplarının hücre proliferasyon düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük olduğu ($P < 0.05$),
- Diğer grupların hücre proliferasyon düzeylerinin istatistiksel açıdan birbirlerinden farklı olmadığı gözlemlendi ($P > 0.05$).

2. gün;

2. günde çalışmada kullanılan altı materyalin hücre proliferasyon yüzdeleri arasında istatistiksel açıdan belirgin farklılık görüldü ($P = 0,003$).

- Zirkonzahn grubunun hücre proliferasyon düzeyinin IPS E.max, Turkom Cera ve In-Ceram Zirkonya gruplarının hücre proliferasyon düzeylerinden yüksek olduğu ve farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ($P < 0.05$),
- Diğer grupların hücre proliferasyon düzeylerinin istatistiksel açıdan birbirlerinden farklı olmadığı gözlemlendi ($P > 0.05$).

1. hafta;

1. haftada çalışmada kullanılan altı materyalin hücre proliferasyon yüzdeleri arasında istatistiksel açıdan belirgin farklılık görüldü ($P = < 0.001$).

- Zirkonzahn grubunun hücre proliferasyon düzeyinin IPS E.max, Turkom Cera ve In-Ceram Zirkonya gruplarının hücre proliferasyon düzeylerinden yüksek olduğu ve farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ($P < 0.05$),
- Diğer grupların hücre proliferasyon düzeylerinin istatistiksel açıdan birbirlerinden farklı olmadığı gözlemlendi ($P > 0.05$).

2. hafta;

2. haftada çalışmada kullanılan altı materyalin hücre proliferasyon yüzdeleri arasında istatistiksel açıdan belirgin farklılık görüldü ($P = < 0.001$).

- Zirkonzahn grubunun hücre proliferasyon düzeyinin IPS E.max, Turkom Cera ve In-Ceram Zirkonya gruplarının hücre proliferasyon düzeylerinden yüksek olduğu ve farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ($P < 0.05$),
- Diğer grupların hücre proliferasyon düzeylerinin istatistiksel açıdan birbirlerinden farklı olmadığı gözlemlendi ($P > 0.05$).

Tablo 4.4. Yaşlandırma işlemi sonrası test gruplarının tüm zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerlerinin karşılaştırması

Gruplar	1. gün Ort(%25-%75)	2. gün Ort(%25-%75)	1. hafta Ort(%25-%75)	2. hafta Ort(%25-%75)
In-Ceram Alumina	85,2(78,9-92,1) ^{bc}	76,8(60,3-88,8) ^a	82,8(72,2-92,1) ^a	106,3(97,9-147) ^{bc}
Turcom Cera	61,5(56-66) ^{ac}	66(54-69) ^{ab}	66,5(63-75) ^{ab}	88(80-93) ^{ac}
In-Ceram Zirkonya	54(48-57) ^a	71(60-78) ^{ab}	68,5(61-76) ^{ab}	83(79-94) ^{ac}
Finesse	88(69-103) ^c	91(62-136) ^a	94,5(75-118) ^a	97(82-122) ^{abc}
Zirkonzahn	132,5(100-150) ^b	96(89-127) ^a	105(79-142) ^a	132,5(121-148) ^b
IPS E.max	59(59-59) ^{ac}	46(42-54) ^b	50(48-53) ^b	73,5(64-91) ^a

Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$)

1. gün;

1. günde çalışmada kullanılan altı materyalin hücre proliferasyon yüzdeleri arasında istatistiksel açıdan belirgin farklılık görüldü ($P = < 0.001$).

- Zirkonzahn grubunun hücre proliferasyon düzeyinin In-Ceram Alumina grubu hariç diğer grupların hücre proliferasyon düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu ($P < 0.05$),
- In-Ceram Zirkonya grubunun hücre proliferasyon düzeyinin In-Ceram Alumina, Zirkonzahn ve Finesse gruplarının hücre proliferasyon düzeylerinden istatistiksel açıdan anlamlı oranda düşük olduğu gözlemlendi ($P < 0.05$).

2. gün;

2. günde çalışmada kullanılan altı materyalin hücre proliferasyon yüzdeleri arasında istatistiksel açıdan belirgin farklılık görüldü ($P = < 0.001$).

- IPS E.max grubunun hücre proliferasyon düzeyinin In-Ceram Alumina, Zirkonzahn ve Finesse gruplarının hücre proliferasyon düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük olduğu ($P < 0.05$), Turcom Cera ve In-Ceram Zirkonya ile ise aralarında istatistiksel farklılık olmadığı gözlemlendi ($P > 0.05$).

1. hafta;

1. haftada çalışmada kullanılan altı materyalin hücre proliferasyon yüzdeleri arasında istatistiksel açıdan belirgin farklılık görüldü ($P = <0,001$).

- IPS E.max grubunun hücre proliferasyon düzeyinin In-Ceram Alumina, Zirkozahn ve Finesse gruplarının hücre proliferasyon düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük olduğu ($P<0.05$), Turkom Cera ve In-Ceram Zirkonya ile ise aralarında istatistiksel farklılık olmadığı gözlemlendi ($P>0.05$).

2. hafta;

2. haftada çalışmada kullanılan altı materyalin hücre proliferasyon yüzdeleri arasında istatistiksel açıdan belirgin farklılık görüldü ($P = <0,001$).

- Zirkozahn grubunun hücre proliferasyon düzeyinin IPS E.max, Turkom Cera ve In-Ceram Zirkonya gruplarının hücre proliferasyon düzeylerinden yüksek olduğu ve farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu gözlemlendi ($P<0.05$).
- IPS E.max grubunun hücre proliferasyon düzeyinin In-Ceram Alumina, ve Zirkozahn gruplarının hücre proliferasyon düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük olduğu ($P<0.05$), Turkom Cera, Finesse ve In-Ceram Zirkonya ile ise aralarında istatistiksel farklılık olmadığı gözlemlendi ($P>0.05$).

2. Mann-Whitney U testi: Bu analiz yöntemi ile çalışmada kullanılan her bir tam seramik alt yapı materyalinin gingival fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik etki yapıp yapmadığını incelemek için, her bir grup ayrı ayrı pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Bu karşılaştırmada veriler normal dağılıma uygun olmadığı için Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Tablo 4.5. Yaşlandırma işlemi öncesi test gruplarının tüm zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerlerinin pozitif kontrol grubu ile karşılaştırılması

Gruplar	1. gün Ort(%25-%75)	2. gün Ort(%25-%75)	1. hafta Ort(%25-%75)	2. hafta Ort(%25-%75)
In-Ceram Alumina	67,9(61,5-85,5)*	82,8(73,1-107)	84,6(65,7-93,8)	90,2(83,8-102)
Turcom Cera	78(69-88)*	66,5(58-79)*	68,5(61-76)*	65,5(57-71)*
In-Ceram Zirkonya	70,5(67-74)*	73(65-77)*	62,5(60-72)*	69,5(63-81)*
Finesse	94,5(71-103)	87(51-101)	102(60-159)	102,5(82-146)
Zirkonzahn	108,5(83-147)	103(86-129)	140(114-180)*	126(119-165)*
IPS E.max	52,5(47-63)*	69,5(50-81)*	61(49-67)*	48,5(45-59)*

* (P<0.05)'i ifade eder.

- In-Ceram Alumina tam seramik alt yapı materyalinin 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftadaki hücre proliferasyon ölçüm değerleri (% 67,9, % 82,8, % 84,6, % 90,2), pozitif kontrol grubunun hücre proliferasyon ölçüm değeri (% 100) ile karşılaştırıldığında, bu materyalin 1. günde pozitif kontrol grubuna göre gingival fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir (P<0.05). 2. gün, 1. hafta ve 2. haftada ise sitotoksik etkide pozitif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (P>0.05).
- Turkom Cera tam seramik alt yapı materyali 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftada (% 78, % 66,5, % 68,5, % 65,5) pozitif kontrol grubu (% 100) ile hücre proliferasyon yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (P<0.05).
- In-Ceram Zirkonya tam seramik alt yapı materyalinin 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftadaki hücre proliferasyon ölçüm değerleri (% 70,5, % 73, % 62,5, % 69,5), pozitif kontrol grubunun hücre proliferasyon ölçüm değeri (% 100) ile karşılaştırıldığında, bu materyalin tüm zaman dilimlerinde pozitif kontrol grubuna göre daha sitotoksik olduğu görülmektedir (P<0.05).

- Finesse tam seramik alt yapı materyali 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftada (% 94,5, % 87, % 102, % 102,5) pozitif kontrol grubu (% 100) ile hücre proliferasyon yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($P>0.05$).
- Zirkonzahn tam seramik alt yapı materyalinin 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftadaki hücre proliferasyon ölçüm değerleri (% 108,5, % 103, % 140, % 126), pozitif kontrol grubunun hücre proliferasyon ölçüm değeri (% 100) ile karşılaştırıldığında, bu materyalin tüm zaman dilimlerinde pozitif kontrol grubuna göre hücre proliferasyonunun daha fazla olduğu görüldü. Bu farkın 1. gün ve 2. günde istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($P>0.05$) 1. hafta ve 2. haftada ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($P<0.05$).
- IPS E.max tam seramik alt yapı materyali 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftada (% 52,5, % 69,5, % 61, % 48,5) pozitif kontrol grubu (% 100) ile hücre proliferasyon yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($P<0.05$).

Tablo 4.6. Yaşlandırma işlemi sonrası test gruplarının tüm zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerlerinin pozitif kontrol grubu ile karşılaştırılması

Gruplar	1. gün Ort(% 25-% 75)	2. gün Ort(% 25-% 75)	1. hafta Ort(% 25-% 75)	2. hafta Ort(% 25-% 75)
In-Ceram Alumina	85,2(78,9-92)	76(60-88)*	82,8(72,2-92)	106(97-147)
Turcom Cera	61,5(56-66)*	66(54-69)*	66,5(63-75)*	88(80-93)
In-Ceram Zirkonya	54(48-57)*	71(60-78)*	68,5(61-76)*	83(79-94)
Finesse	88(69-103)	91(62-136)	94,5(75-118)	97(82-122)
Zirkonzahn	132(100-150)*	96(89-127)	105(79-142)	132(121-148)*
IPS E.max	59(59-59)*	46(42-54)*	50(48-53)*	73,5(64-91)*

* ($P<0.05$)'i ifade eder.

- In-Ceram Alumina tam seramik alt yapı materyalinin 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftadaki hücre proliferasyon ölçüm değerleri (% 85,2, % 76, % 82,8, % 90,2), pozitif kontrol grubunun hücre proliferasyon ölçüm değeri (% 100) ile karşılaştırıldığında, bu materyalin 2. günde pozitif kontrol grubuna göre gingival fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir ($P<0.05$). 1. gün, 1. hafta ve 2. haftada ise sitotoksik etkiye pozitif kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$).
- Turkom Cera tam seramik alt yapı materyali 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftada (% 61,5, % 66, % 66,5, % 88) pozitif kontrol grubu (% 100) ile hücre proliferasyon yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında 2. haftada farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($P>0.05$). Diğer zaman dilimlerinde hücre proliferasyon oranında istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş olduğu gözlemlendi ($P<0.05$).
- In-Ceram Zirkonya tam seramik alt yapı materyalinin 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftadaki hücre proliferasyon ölçüm değerleri (% 54, % 71, % 68,5, % 83), pozitif kontrol grubunun hücre proliferasyon ölçüm değeri (% 100) ile karşılaştırıldığında, bu materyalin 2. hafta hariç diğer tüm zaman dilimlerinde pozitif kontrol grubuna göre daha sitotoksik olduğu görülmektedir ($P<0.05$).
- Finesse tam seramik alt yapı materyali 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftada (% 88, % 91, % 94,5, % 97) pozitif kontrol grubu (% 100) ile hücre proliferasyon yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($P>0.05$).
- Zirkozahn tam seramik alt yapı materyalinin 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftadaki hücre proliferasyon ölçüm değerleri (% 132, % 96, % 105, % 132), pozitif kontrol grubunun hücre proliferasyon ölçüm değeri (% 100) ile karşılaştırıldığında, 1. gün ve 2. haftada hücre proliferasyonunun pozitif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($P<0.05$) 2. gün ve 1 haftada bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($P>0.05$) tespit edildi.
- IPS E.max tam seramik alt yapı materyali 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftada (% 59, % 46, % 50, % 73,5) pozitif kontrol grubu (% 100) ile hücre proliferasyon yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($P<0.05$).

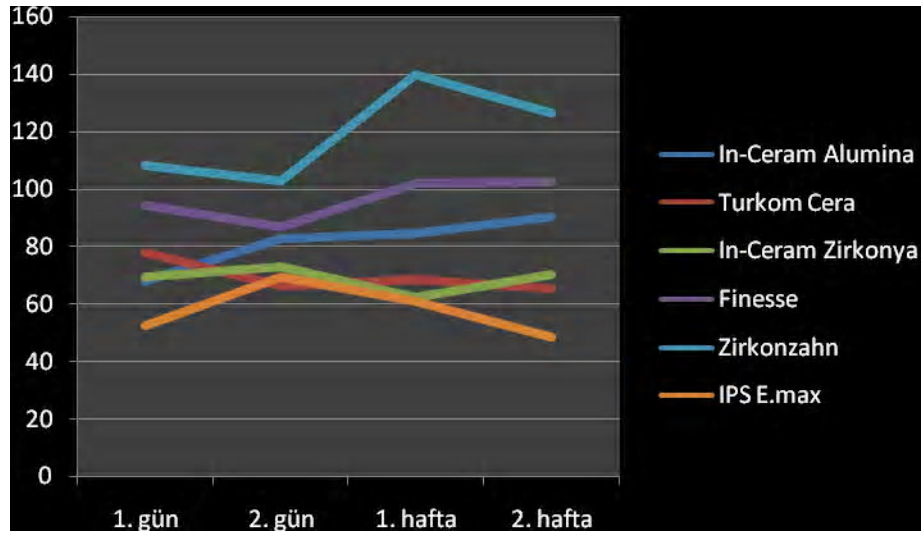
3. Tekrarlanabilir ölçümlerde Friedman varyans analizi ve Tukey testi: Aynı materyalin zaman içindeki sitotoksosite düzeyini gösteren ortanca değerlerini karşılaştırmak için tekrarlanabilir ölçümlerde Friedman varyans analizi kullanıldı. Ortancalar arasındaki farkın anlamlı bulunduğu durumlarda farkın hangi gruptan kaynaklandığını söylemek için Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanıldı.

Tablo 4.7. Test gruplarının farklı zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerlerinin yaşlandırma işlemi öncesi karşılaştırılması

Gruplar	1. gün Ort(%25-%75)	2. gün Ort(%25-%75)	1. hafta Ort(%25-%75)	2. hafta Ort(%25-%75)
In-Ceram Alumina	67,9(61,5-85,5) ^a	82,8(73,1-107) ^{ab}	84,6(65,7-93,8) ^{ab}	90,2(83,8-102) ^b
Turcom Cera	78(69-88) ^a	66,5(58-79) ^b	68,5(61-76) ^b	65,5(57-71) ^b
In-Ceram Zirkonya	70,5(67-74) ^a	73(65-77) ^a	62,5(60-72) ^a	69,5(63-81) ^a
Finesse	94,5(71-103) ^a	87(51-101) ^a	102(60-159) ^a	102,5(82-146) ^a
Zirkonzahn	108,5(83-147) ^a	103(86-129) ^a	140(114-180) ^a	126,5(119-165) ^a
IPS E.max	52,5(47-63) ^a	69,5(50-81) ^a	61(49-67) ^a	48,5(45-59) ^a

Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$)

- In-Ceram Alumina grubunun 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. hafta hücre proliferasyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($P = 0,018$). 2. haftada hücre proliferasyon düzeyi 1. güne oranla istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.05$).
- Turcom Cera grubunun 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. hafta hücre proliferasyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlıdır ($P = 0,002$). 1. günde hücre proliferasyon düzeyinin istatistiksel olarak diğer zaman dilimlerinden belirgin ölçüde daha fazla olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). 2. gün, 1. hafta ve 2. hafta arasında hücre proliferasyon düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($P > 0.05$).
- In-Ceram Zirkonya, Finesse, Zirkonzahn ve IPS E.max tam seramik alt yapı materyallerinin, farklı zaman aralıklarında hücre proliferasyonu istatistiksel olarak anlamlı değildir ($P > 0.05$).



Şekil 4.3. Yaşlandırma işlemi öncesi test gruplarının farklı zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerleri

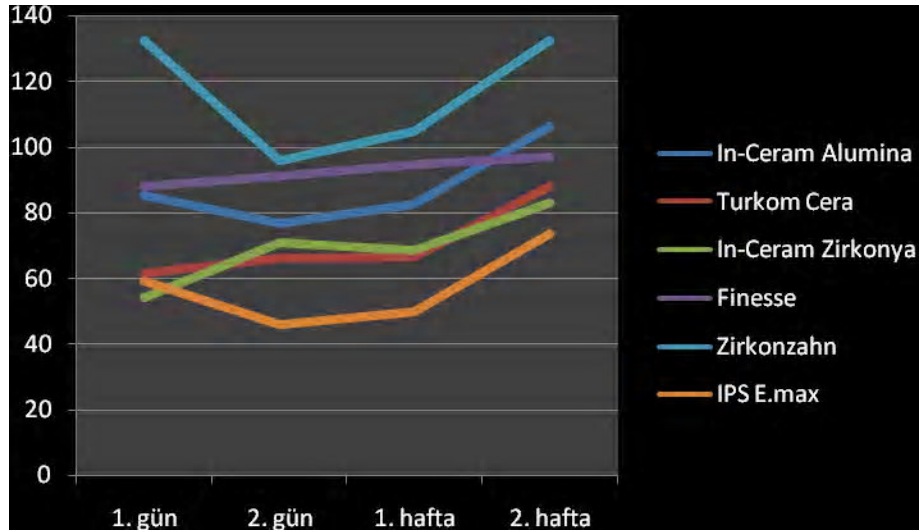
Tablo 4.8. Test gruplarının farklı zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortanca ölçüm değerlerinin yaşlandırma işlemi sonrası karşılaştırılması

Gruplar	1. gün Ort(%25-%75)	2. gün Ort(%25-%75)	1. hafta Ort(%25-%75)	2. hafta Ort(%25-%75)
In-Ceram Alumina	85,2(78,9-92) ^{ab}	76,8(60,3-88,8) ^a	82,8(72,2-92,1) ^a	106,3(97,9-147) ^b
Turcom Cera	61,5(56-66) ^a	66(54-69) ^a	66,5(63-75) ^{ab}	88(80-93) ^b
In-Ceram Zirkonya	54(48-57) ^a	71(60-78) ^{ab}	68,5(61-76) ^{ab}	83(79-94) ^b
Finesse	88(69-103) ^a	91(62-136) ^a	94,5(75-118) ^a	97(82-122) ^a
Zirkonzahn	132,5(100-150) ^a	96(89-127) ^a	105(79-142) ^a	132,5(121-148) ^a
IPS E.max	59(59-59) ^{ab}	46(42-54) ^b	50(48-53) ^b	73,5(64-91) ^a

Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$)

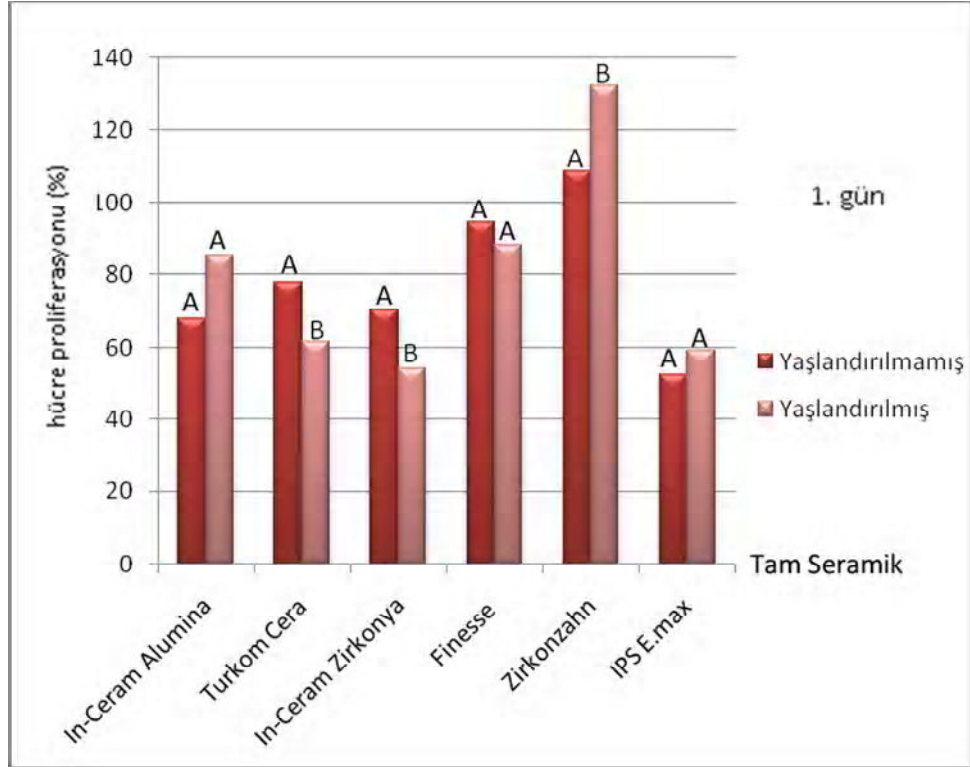
- In-Ceram Alumina grubunun 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. hafta hücre proliferasyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($P = 0,007$). 2. haftada hücre proliferasyon düzeyi 2. gün ve 1. haftaya oranla istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.05$).

- Turkom Cera grubunun 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. hafta hücre proliferasyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($P = 0,004$). 2. haftada hücre proliferasyon düzeyi 1. gün ve 1. haftaya oranla istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.05$).
- In-Ceram Zirkonya grubunun 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. hafta hücre proliferasyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($P = < 0,001$). 2. haftada hücre proliferasyon düzeyi 1. güne oranla istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.05$).
- Finesse grubunun farklı zaman aralıklarında hücre proliferasyon değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$).
- Zirkonzahn grubunun farklı zaman aralıklarında hücre proliferasyon değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$).
- IPS E.max grubunun 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. hafta hücre proliferasyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($P = < 0,001$). 2. haftada hücre proliferasyon düzeyi 2. gün ve 1. haftaya oranla istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.05$).



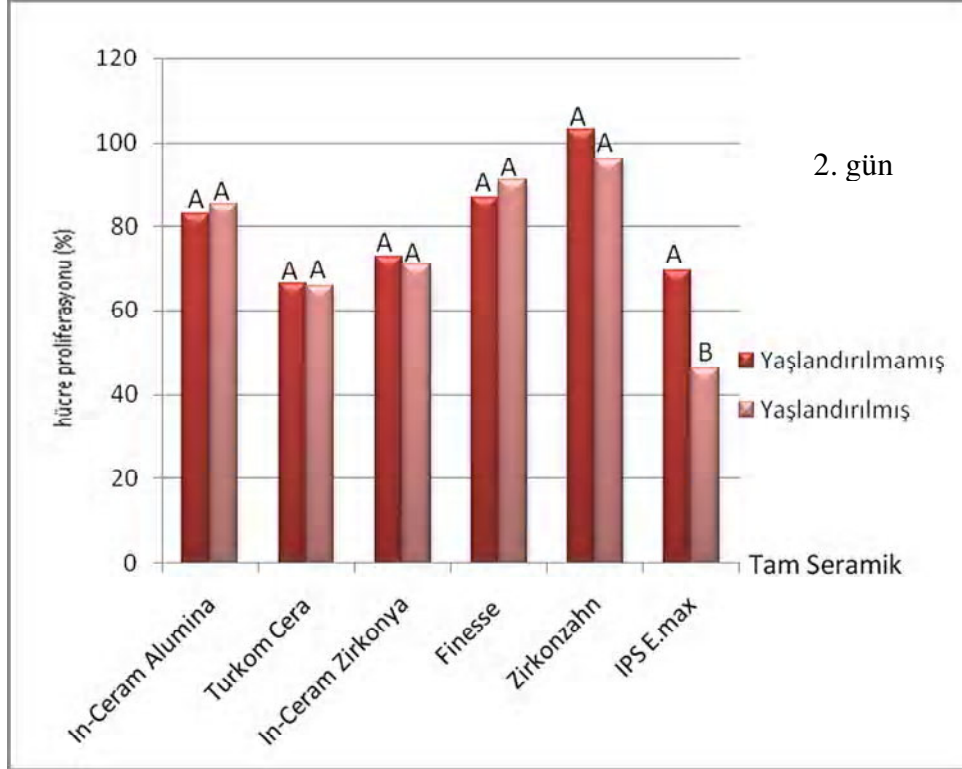
Şekil 4.4. Yaşlandırma işlemi sonrası test gruplarının farklı zaman dilimlerindeki hücre proliferasyonu ortalama ölçüm değeri

4. Wilcoxon t testi: Altı farklı tam seramik alt yapı materyalinin yaşlandırma öncesi ve sonrası hücre proliferasyonu değerlerinin karşılaştırılması için wilcoxon t testi kullanıldı. Tam seramik alt yapı materyallerinin 1. gün, 2. gün, 1. hafta ve 2. haftalardaki yaşlandırma öncesi ve sonrası hücre proliferasyonu değerleri Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de görülmektedir.



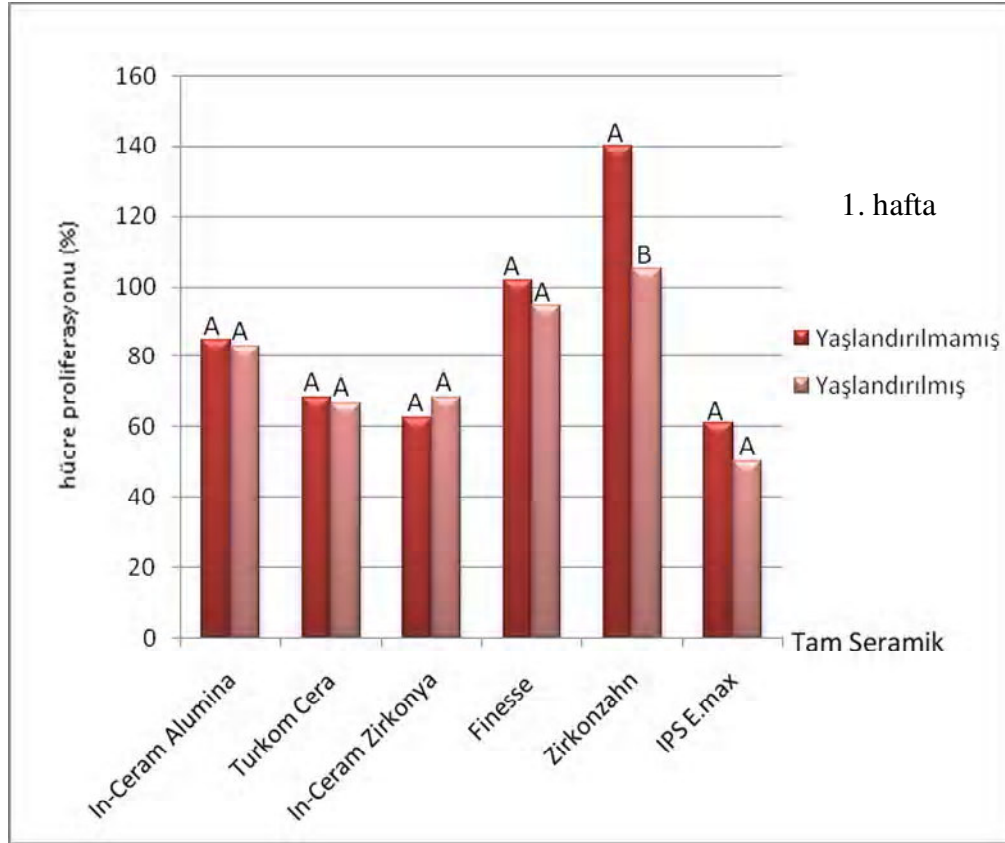
Şekil 4.5. 6 farklı tam seramik alt yapı materyalinin yaşlandırma öncesi ve sonrası 1. gün hücre proliferasyonu yüzdeleri. Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

Tam seramik alt yapı materyallerinin yaşlandırma öncesi ve sonrası hücre proliferasyonu değerleri karşılaştırıldığında, 1. günde In-Ceram Zirkonya’da ve Turkom Cera’da yaşlandırma işleminin, hücre proliferasyonunu istatistiksel olarak azalttığı dolayısıyla sitotoksik etkiyi arttırdığı, Zirkonzahn’ın ise hücre proliferasyonunu istatistiksel olarak arttırdığı gözlemlendi ($p < 0.05$). Diğer zaman aralıklarında yaşlandırma işleminin sitotoksik etkiyi istatistiksel olarak anlamlı etkilemediği tespit edildi ($p > 0.05$).



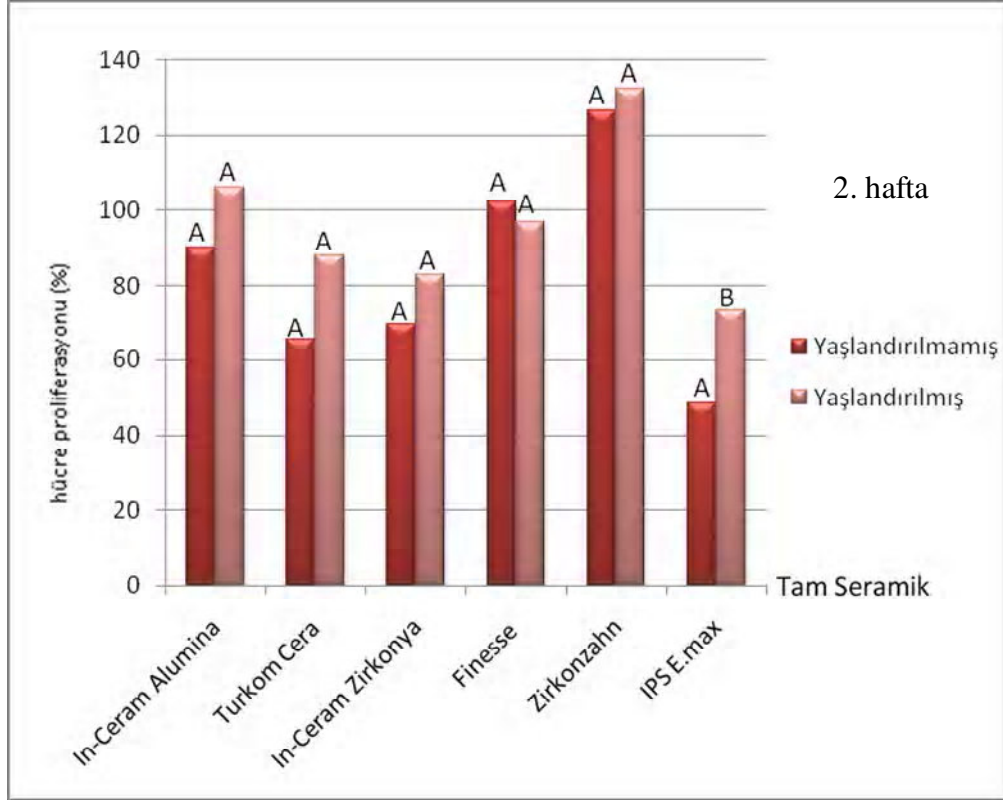
Şekil 4.6. 6 farklı tam seramik alt yapı materyalinin yaşlandırma öncesi ve sonrası 2. gün hücre proliferasyonu yüzdeleri. Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

Tam seramik alt yapı materyallerinin yaşlandırma öncesi ve sonrası sitotoksikite değerleri karşılaştırıldığında, yaşlandırma işleminin 2. günde IPS E.max'ın hücre proliferasyonunu azalttığı, dolayısıyla sitotoksik etkisini arttırdığı gözlemlendi ($p<0.05$). Diğer zaman aralıklarında yaşlandırma işleminin sitotoksik etkiyi istatistiksel olarak anlamlı etkilemediği tespit edildi ($p>0.05$).



Şekil 4.7. 6 farklı tam seramik alt yapı materyalinin yaşlandırma öncesi ve sonrası 1. hafta hücre proliferasyonu yüzdeleri. Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

Tam seramik alt yapı materyallerinin yaşlandırma öncesi ve sonrası sitotoksikite değerleri karşılaştırıldığında, yaşlandırma işleminin 1. haftada Zirkonzahn'ın hücre proliferasyonunu azalttığı, dolayısıyla sitotoksik etkisini arttırdığı gözlemlendi ($p<0.05$). Diğer zaman aralıklarında yaşlandırma işleminin sitotoksik etkiyi istatistiksel olarak anlamlı etkilemediği tespit edildi ($p>0.05$).



Şekil 4.8. 6 farklı tam seramik alt yapı materyalinin yaşlandırma öncesi ve sonrası 2. hafta hücre proliferasyonu yüzdeleri. Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

Tam seramik alt yapı materyallerinin yaşlandırma öncesi ve sonrası sitotoksikite değerleri karşılaştırıldığında, yaşlandırma işleminin 2. haftada IPS E.max'ın hücre proliferasyonunu arttırdığı, dolayısıyla sitotoksik etkisini azalttığı gözlemlendi ($p<0.05$). Diğer zaman aralıklarında yaşlandırma işleminin sitotoksik etkiyi istatistiksel olarak anlamlı etkilemediği tespit edildi ($p>0.05$).

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Günümüzde diş hekimlerinin kullanabileceği çok sayıda estetik restoratif malzeme bulunmaktadır. İlk uygulanmaya başladıkları günden bu yana sürekli geliştirilen bu malzemelerin farklı fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler taşıması doğaldır (95). Uygulanan protezler ile estetik, fonksiyon ve fonasyon optimal düzeyde oluşturulurken, çevre dokuların sağlıklarının korunması esastır. Bu amaç için, diş hekimliği alanında yeni materyaller ve yöntemler geliştirilmektedir (71).

Yeni gelişen seramik sistemleri ile çok fazla klinik deneyim ve ekipman gerektirmeden daha komplike ve estetik restorasyonlar kolayca yapılabilmektedir. Ayrıca tam seramik sistemleri son yıllarda adeziv diş hekimliğinin günden güne gelişmesi ile hem anterior bölge hem de posterior bölgedeki restorasyonların yapımı için kullanılan önemli materyallerdir ve uzun süreyle de kullanılabilen bu materyallerin ağız içi dokularla uyum içerisinde olmaları gerekmektedir (106).

Özellikle estetiğe artan ilgi ile birlikte Sadoun, metal alt yapının yerini alan In-Ceram seramik kor materyalini geliştirmiştir. Bu kor materyali düşük vizkositeye sahip camın içerisinde sinterlenmiş alümina partikülleri içerir ve diğer seramik sistemlerine göre oldukça yüksek eğilme dayanımına sahiptir (107,108).

IPS E.max, IPS Empress II'nin bir sonraki jenerasyonu olarak piyasaya sunulmuştur ve lityum disilikat cam seramiktir. Kırılma dayanıklılığı 400 MPa'dır. Bu sayede IPS E.max anterior ve posterior bölgede hem tek kron hem de tek diş eksikliği durumunda 3 üyeli köprülerin yapımında kullanılabilmektedir (51,69). Karşıt doğal diş aşınmasının daha az olması, optik özellikleri ve translüsenslik açısından diğer tüm seramiklerden daha avantajlıdır (109).

CAD/CAM sistemi seramik blokların işlenmesinde kullanılır. Zirkonzahn materyali posterior inley, onley restorasyonların, kronların ve köprülerin yapımı için geliştirilmiştir (110). Yttrium ile deteklenmiş Zirkonyumdioksit (sertleşmemiş frezelenmeye uygun halde) ön sinterlenmesi tamamlanıp kazıma için hazır hale getirilmektedir. Hacim olarak %25 daha büyük frezelenen restorasyon yaklaşık 1500 °C deki sinterlenme fırınının da orjinal boyutuna geri döner (111).

Finesse, karşıt dentisyonda minimal aşınmaya neden olan düşük aşınma direncine sahip, ultra-düşük ısı porselenidir. Finesse'in diğer konvansiyonel porselenlere göre kristal içeriği daha azdır ve kristallerin partikül büyüklüğü daha küçüktür (112).

Bu çalışmada materyal olarak 6 farklı seramik sistemi; IPS E.max, Zirkonzahn, In-Ceram Alumina, In-ceram Zirkonya, Turkom Cera ve düşük ısı porseleni olarak Finesse tercih edilmiştir. Bu materyallerin seçilmesinin nedeni, yukarıda bahsedildiği gibi içerik ve yapım teknikleri olarak birbirlerinden farklı olmaları ve son yıllarda klinisyenler tarafından kullanımlarının gittikçe artmasıdır.

Dental materyaller değerlendirilirken çoğunlukla fiziksel ve mekanik özellikler hedeflenmekte, biyolojik özellikler ise geri planda kalmaktadır. Ancak son yıllarda yeni geliştirilen materyallerin klinik uygulamaları öncesinde biyouyumluluk değerlendirilmesinin gerekliliği vurgulanmaktadır (89).

İki temel risk, toksisite ve alerjidir. Her iki durumunda ortaya çıkabilmesi için malzemeden biyolojik olarak aktif komponentlerin salınması gerekmektedir. Sıklıkla kullanılan bu materyallerin sistemik toksisite oluşturma olasılıkları oldukça azdır, çünkü sızıntı ürünlerinin miktarı vücutta yaygın reaksiyon oluşturacak kadar fazla değildir. Ancak bu miktar diş pulpası, periodontal ve periapikal dokular ve ağız mukozasında toksisite oluşturabilecek potansiyele sahip olabilir. Çünkü, başta restoratif materyaller olmak üzere, pek çok dental materyal; bu dokularla uzun zaman periyotları boyunca temasta kalmaktadırlar (92).

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin dokular üzerinde yarattığı toksik etkilerinin değerlendirilmesinde in vitro ve in vivo koşullarda yürütülen yöntemler kullanılmaktadır (113,114). Toksisitesi bilinmeyen bir ajanın insanlarda kullanımı etik açıdan mümkün değildir. Bu nedenle, insanlarda kullanılması düşünülen materyallerin toksisitesinin in vivo koşullarda değerlendirilmesi amacıyla hayvan deneyleri yapılmaktadır. Ancak hayvanlar ve insanlardaki fizyolojik reaksiyonlar birbirinden farklı olabilmektedir. Deneyler sırasında hayvanlara bağlı yapısal faktörler deney sonuçlarını ve çalışmanın güvenilirliğini etkileyebilmekte, ortaya çıkabilecek biyolojik etkileşimler sonucunda anlamlı sonuçlar elde edilmesi engellenebilmektedir. Ayrıca hayvan deneyleri pahalı olmakta, hayvanların beslenme ve bakımıyla ilgili sorunlarla karşılaşlabilmekte, bilimsel araştırmalarda hayvan deneklerin kullanımı, hayvan hakları açısından sorgulanarak sınırlandırılmaktadır (114). Bunların dışında, bu tür test yöntemlerinde dental materyallere karşı gelişen cevapları gözlemlemek için uzun zaman periyotları gerekli olduğundan akut toksik etkiler geleneksel in vivo test yöntemleri ile belirlenememektedir (92). Bu nedenle in vivo şartlarda uygulanması planlanan materyallerin vücut dokuları üzerindeki toksik etkilerini değerlendirmek ve oluşturabilecekleri biyolojik reaksiyonları taklit ve tahmin edebilmek için in vitro biyouyumluluk testleri geliştirilmiştir (77,116). İn vitro koşullarda yürütülen test yöntemleri, dental materyallerin temel biyolojik fonksiyonlar üzerine etkilerinin ve bunlara karşı oluşan hücresel yanıtların belirlenmesinde yardımcı olmaktadır. İn vitro çalışmalar; kontrol edilebilen koşullarda yürütülen ve hücresel toksisitenin mekanizmasını açıklayan, uygulanması kolay araştırmalardır (117).

Kontrollü deneysel koşullarda yürütülen, canlı deney modellerini etkileyebilecek değişkenleri içermeyen ve tekrarlanabilen in vitro deney yöntemlerinin de, kendine özgü eksiklikleri bulunduğu bildirilmektedir. Örneğin in vivo koşullardaki konak doku ile materyal arasındaki etkileşimler; metabolik, immunolojik ve enflamatuvar cevapları içeren pek çok faktöre bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Oysa in vitro yöntemlerde tek bir hücre tipi kullanıldığı için bu tür etkileşimler gerçekleşmemektedir (88,89).

İn vitro test yöntemlerinde testlerin doğasından kaynaklanan problemlerin aşılabilmesi için mümkün olduğunca klinik koşulları taklit eden deney sistemleri hazırlanmalıdır. Deney düzeneği, test materyalleri klinik kullanıma benzer şekilde ya doku ile kendisi veya ekstraktı temasta olacak şekilde ya da arada bir bariyer yerleştirilerek

hazırlanmalıdır. Materyal örneğinin yüzey alanı ve kompozisyonu, toksik profilini etkileyen en önemli değişkenlerdir. Bu nedenle dokularla temasta olan materyal yüzey alanı mümkün olduğunca klinik koşullara yaklaştırılmaya çalışılmalıdır. Benzer şekilde, kültür ortamının hacmi ve materyal yüzey alanı ilişkisi de klinik koşullara yakın olmalı ve hedef dokulara göre şekillendirilmelidirler (84).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, sitotoksitenin belirlenmesinde, genellikle, hücre kültürü test yöntemlerinin kullanıldığı görülmektedir (97,118,119). Hücre kültürü test yöntemleri; bireysel faktörlerden etkilenmemeleri, materyaller arasında parametrik karşılaştırmalara olanak tanımaları, tekrarlanabilme özellikleri ve çalışma koşullarının standardize edilebilmesi nedeniyle tercih edilmektedirler (88,89,120). Bu nedenle, sunulan çalışmada da tam seramik alt yapı materyallerinin sitotoksiteleri, hücre kültürü yöntemi ile in vitro koşullarda değerlendirilmiştir.

Hücre kültürü çalışmalarında, hangi hücre tipinin seçilmesi gerektiğiyle ilgili kesin bir cevap bulunmamaktadır. Diploid hücrelerin kullanılması, laboratuvarlar arası karşılaştırmaların yapılmasında güçlükler çıkartmaktadır. Bu karşılaştırmaların yapılması, bütün dünyada kullanılabilecek devamlı hücre hatlarının kullanılması ile daha kolay hale gelmektedir. Devamlı hücre hatları aneuploid kromozoma sahiptirler, hızlı üremektedirler ve doğru pasajlandıklarında çok uzun süreyle yaşatılmaları mümkündür. Elde edilmeleri de primer hücre kültürüne oranla daha kolaydır. Çok uzun bir dönem boyunca fenotipik özelliklerinde kayıp söz konusu değildir. Devamlı hücre hatları ile primer hücre kültürlerinden daha hızlı sonuç elde edilmektedir (84,121) Bu nedenlerden dolayı bu tez çalışmasında da devamlı hücre hatları kullanılmıştır.

Dış hekimliğinde kullanılan materyallerin çeşitli özelliklerinin araştırılmasında farklı yöntemlerin kullanılmasıyla elde edilen bulguların değerlendirilmesinde ve birbiri ile karşılaştırılmasında problemler ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, dental materyallerin biyolojik uyumlarının değerlendirilmesinde standart uygulamaların önemi üzerinde durulmaktadır (89). Çünkü çok sayıda test yöntemi ile bazen aynı materyal için farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Standart test yöntemlerini kullanmanın başlıca avantajı yeniden tekrarlanabilirliği ve farklı laboratuvar koşullarında elde edilen verilerin karşılaştırılabilmesine olanak sağlamasıdır. Standardizasyon aynı zamanda test seçimi ve adaptasyonun usule uygun hale gelmesi anlamına gelmektedir. Ancak standart uygulamalar daha fazla zaman alıcıdır. Ayrıca böyle standartlarda yeni geliştirilen test

yöntemleri bulunmayabilir (89,92). Çünkü teknoloji standartlardan daha hızlı ilerlemektedir, bu durum standartların sürekli olarak uygulanmasını güçleştirmektedir (77). Bununla birlikte koşullar uygunsa standart test yöntemlerinin uygulanması ve standart testlerin kullanılmadığı durumlarda açıklayıcı nedenlerin ortaya konulması gerektiği vurgulanmaktadır (89).

Dental materyallerin özelliklerinin incelendiği özel raporlar hazırlanması, standardizasyonlar ilgili bu zorlukların büyük oranda ortadan kalkmasına neden olmuştur. Bu nedenle çalışmamızda tam seramik alt yapı materyallerinin sitotoksitesilerinin araştırılması amacı ile kullanılan hücre kültürünün hazırlanmasında, 'International Organization for Standardization' (ISO) tarafından hazırlanan 10993-5 no'lu protokolün 'Sitotoksitesite Testleri-*In Vitro* Yöntemler' bölümü rehber alınmıştır (87,88).

Wataha ve arkadaşları, dental alaşımların toksik etkilerini farklı sitotoksitesite test yöntemleri ile karşılaştırdıkları çalışmalarının sonucunda; MTT yönteminde kullanılan boyanın, hücre içerisinde kısa sürede metabolize edilebilmesi ve verilerin Elisa okuyucusunda ya da spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi nedeniyle tekrarlanabilir olduğunu, farklı zamanlarda yapılan araştırmalara ait sonuçların karşılaştırılabilmesi nedeniyle, bu yöntemin, diğer sitotoksitesite testlerine oranla daha avantajlı olduğunu ifade etmişlerdir (122). Benzer şekilde Bean ve arkadaşları da, aynı anda çok sayıda örneğin test edilebilmesine olanak sağlayan MTT test yönteminin hücre içi biyokimyasal değişiklikleri göstermesi ve tekrarlanabilir sonuçlara ulaşılabilmesi nedeniyle tercih edilmesi gerektiğini vurgulamışlardır (123). Rezin kompomer monomerlerinin insan fibroblastları üzerinde yaptığı sitotoksik etkiyi ölçmek amacı ile yapılan diğer bir çalışmada LDH (Laktat Dehidrogenaz) ve MTT testleri karşılaştırılmış ve sonuç olarak MTT testinin daha duyarlı ve güvenilir olduğu gösterilmiştir (124).

Materyallerin sitotoksitesitesini belirlemeye yönelik, güvenilir bir diğer yöntem olan agar difüzyon testinde toksik elemanların yayıldığı bölgelerin sınırları belirgin olmadığından, canlı hücre sayımı yorucu ve zaman alıcı olup, yanılğı payı yüksektir (125).

Yapılan bu araştırmalar ışığında biz de çalışmamızda sitotoksitesite düzeylerinin belirlenmesinde kullanılacak test yöntemi olarak MTT yöntemini seçtik.

MTT yöntemi, biyouyumluluk testleri içerisinde, hızlı sonuç alınması ve çok hassas olmasının yanı sıra materyallerin çok düşük düzeydeki toksisitelerinin dahi değerlendirilebilmesine olanak sağlaması nedeniyle en güvenilir testlerden biri olarak kabul edilmektedir (91,122).

Dokuların dental materyallerle *in vivo* olarak temas şekli direkt veya indirekt olarak gerçekleşmektedir. Direkt temas, açık pulpa, oral mukoza hücreleri, kan hücreleri ve deri hücreleri ile veya oral mukozanın tükürğe salınan monomerlere maruz kalması durumunda olduğu gibi rezinlerden yakın çevreye salınan komponentler tarafından gerçekleşmektedir. İndirekt temas testlerinde ise, materyal ve hücreler bir bariyer ile ayrılmışlardır (89). *In vitro* testler tasarlanırken, testlerin bu gibi direkt ve indirekt temas yollarını taklit etmesi istenir. Direkt hücre materyal teması test örneklerinin hücrelerin üzerine yerleştirilmeleri ile sağlanır, diğer bir direkt temas şekli ise ekstraktlarının kullanılması ile gerçekleşir. *In vivo* olarak indirekt temasın sağlanması ise agar overlay, milipor filtre veya dentin bariyer gibi sert ara bir katmanın hücreler ve materyal arasına yerleştirilmesi ile gerçekleşir (77,89).

Araştırmamızda hücre materyal teması için ekstraksiyon test yönteminin seçilmesinin nedeni de oral mukozanın primer olarak dental maddelerden tükürğe salınan komponentler ile temasta olmasıdır (126).

ISO 10993-5 ‘Sitotoksosite Testleri-*In Vitro* Yöntemler’65 standardına göre; *in vitro* çalışmalarda dental malzemelerin sitotoksik etkilerinin araştırılmasında, standart olarak L929 ya da Balbc3T3 fibroblast kültürlerinin kullanılması önerilmektedir (87,88). Schedle ve arkadaşları, metal alaşımlarının toksik etkilerini karşılaştırmak amacıyla, materyalleri 7 gün süre ile L929 hücreleri, dişeti fibroblast hücreleri ve mast hücreleri ile inkübe ederek, direkt temas yöntemi ile hücre proliferasyonundaki değişiklikleri değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar çalışma sonucunda, *in vitro* sitotoksosite testlerinde L929 fibroblastlarının, primer dişeti fibroblast ve mast hücre kültürlerine oranla, üreme yeteneklerinin gelişmiş olması nedeniyle kullanımlarının daha uygun olacağını belirtmişlerdir (127). Taira ve arkadaşları, metil metakrilatın sitotoksik etkisini dört farklı fibroblast kültürü üzerinde inceleyerek sonuçlar arasında farklılık olduğunu saptamışlar, kullanılan hücre kültürlerini, hassasiyet derecelerine göre L929, C3H10T1/2, Balb3T3, MC3T3-E1 olarak sıralamışlar ve dental materyallerin sitotoksitesinin belirlenmesinde, hücre hatları içerisinde en duyarlı ve güvenilir

şekilde kullanılabilecek hücre kültür ortamının L929 fare fibroblastları olduğu sonucuna varmışlardır (128). Thonemann ve arkadaşları, primer sığır dental papilla hücreleri (CPC), SV40T antijeniyle transforme edilen CPC hücreleri (tCPC B), E6/E7 onkojeni ile transforme edilen CPC hücreleri (tCPC E) ve L929 fare fibroblast hücrelerini 24 saat süreyle dental rezin bileşikleriyle temasta bırakarak, MTT analizi ile sitotoksikite değerlendirmesi yaptıkları çalışmalarında, bu hücrelerden hangisi ile daha hassas sonuçlar elde edilebileceğinin tespitini amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda kullanılan hücrelerin hassasiyetlerini $CPC = tCPC B < tCPC E < L929$ şeklinde sıralayarak, en iyi sonuçların L929 fare fibroblastları ile elde edildiğini belirtmişlerdir (129).

Bu çalışmada da, yukarıda belirtilen çalışma sonuçlarının ışığında ve ISO 10993-5 numaralı standarda uygun olması amacıyla, tam seramik alt yapı materyallerinin sitotoksikite L929 fare fibroblast hücre kültürü kullanılarak değerlendirilmiştir.

Tam seramiklerin sitotoksikite özelliklerinin değerlendirildiği çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Yapılan çalışmalarda bu materyallerin genel olarak biyouyumlu materyaller olduğu bildirilmekle birlikte (125,130, 131, 132, 133, 134) bazı çalışmalarda toksik olduklarını belirtmişlerdir (135,136,137).

Pera ve arkadaşları, In-Ceram, Cergo, IPS Empress II, Cercon ZrO₂, Finesse All Ceram tam seramiklerin sitotoksikite fare fibroblast hücrelerinin (L929) kullanıldığı hücre kültüründe MTT test yöntemi ile incelemişlerdir. Sonuç olarak bu beş tam seramik alt yapı materyalinin hiçbirinin sitotoksik olmadığı sonucuna ulaşmışlardır (130).

Uo ve arkadaşları, Denzir, IPS Empress 1, IPS Empress 2, Vita VMK 68, Vita VMK 95, Vitadur Alpha, Vitadur N ve Duceratin olmak üzere 8 farklı dental seramiğin sitotoksik özelliklerini Alamar blue assay ve DNA quantitation olmak üzere iki farklı yöntemle incelemişlerdir. Sonuç olarak materyallerin sitotoksik olmadığını ve dental restorasyonlarda güvenle kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (131).

Josset ve arkadaşları, zirkonya ve alumina seramikler ile kültüre edilen insan osteoblastlarının reaksiyonunu değerlendirmişlerdir. Bu makalede sitotoksikite DNA sentezi ve hücre proliferasyonu ile değerlendirilmiştir ve materyallerin sitotoksik olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (132).

Rafaelli ve arkadaşları Lava CAD-CAM sistemi kullanılarak hazırladıkları zirkonya disklerin sitotoksitesini MTT yöntemi ile in vitro olarak araştırdıkları çalışmalarında, zirkonyanın biyouyumlu bir materyal olduğunu belirtmişlerdir (133).

Özen ve arkadaşları, In-ceram aluminanın sitotoksitesini MTT analizi yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak, In-ceram aluminanın sitotoksik bir materyal olmadığını belirtmişlerdir (134).

Sjögren ve arkadaşları, Vita VMK 95, Vitadur Alpha, IPS Empress 2 ve Duceratin olmak üzere 4 dental seramiğin sitotoksitesini MTT analizi, Milipore filtre methodu ve agar difüzyon yöntemi olmak üzere üç farklı test ile değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, tüm dental seramiklerin biyouyumlu olduğunu, bununla birlikte in vitro testlerin, in vivo koşulları tam olarak yansıtamayacağını bildirilmişlerdir (125). Çalışmamızda tam seramik alt yapı materyalleri gingival fibroblast hücreleri ile yaşlandırma öncesi ve sonrası 1 gün, 2 gün, 1 hafta ve 2 hafta inkübe edilmiştir. In-ceram Zirkonya, Turkom Cera ve IPS E.max kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı toksik etki gösterirken, In-Ceram Alumina, Finesse ve Zirkonzahn'ın, kontrol grubuna göre toksik etkileri istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Tam seramiklerin sitotoksik olmadığını belirten çalışmalarla bizim çalışmamızın sonuçları arasındaki farklılığın kullanılan hücre tipi, yöntem ve materyal farklılığına dayandığı düşünülebilir.

Messer ve arkadaşları, 2 feldspatik seramik (Vita Omega ve Duceragold), 2 lityum disilikat içerikli tam seramik (Stylepress ve IPS Empress 2) ve bir lösit içerikli tam seramiğin (IPS Empress 1) sitotoksitesilerini Balb/c 3T3 fare fibroblastı kullanarak, oluşturdukları hücre kültüründe, MTT analizi ile değerlendirdikleri çalışmalarında, IPS Empress 1, Stylepress ve IPS Empress 2 gruplarının kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini ve seramik gruplar içerisinde en toksik olan materyalin lityum disilikat içerikli Empress 2 olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda kullanılan seramik test grupları da In-Ceram Alumina, In-Ceram Zirkonya, Turkom Cera ve IPS E.max MTT testi ile yapılan değerlendirmede farklı zaman dilimlerinde toksik etki göstermiştir. Her iki çalışma, seramik materyallerden biyolojik ortamda salınan düşük molekül ağırlıklı komponent ve iyonların hedef hücrelerin metabolik aktivitesini değiştirdiğini göstermesi bakımından, benzerlik göstermektedir. Öte yandan, Messer ve arkadaşları, % 3 bovin serum albuminle 96 saat yapılan yaşlandırmadan 2 hafta sonraki değerlendirmede feldspatik seramiklerin (Vita Omega ve Duceragold) hücre

proliferasyonunda belirgin değişme olmadığı, l s t içerikli tam seramiğin (IPS Empress 1) hücre proliferasyon değerinde anlamlı azalma olduğu, lityum disilikat içerikli tam seramiklerin (Stylepress ve IPS Empress 2) hücre proliferasyon değerlerinde belirgin artış olduğunu rapor etmişlerdir. Lityum disilikat'ın ilk hücresel cevabı klinik olarak kabul edilebilir düzeyde değildir, fakat yaşlandırma işlemi ile sitotoksisitede belirgin azalma görülmüştür (136). Bizim  alışmamızda, yaşlandırma işleminin, 1. günde In-Ceram Zirkonya'nın, Turkom Cera'nın, 2. günde IPS E.max'ın ve 1. haftada Zirkonzahn'ın hücre proliferasyonunu istatistiksel olarak azalttığı dolayısıyla sitotoksik etkiyi arttırdığı, 1. günde Zirkonzahn'ın ve 2. haftada IPS E.max'ın hücre proliferasyonunu arttırdığı, dolayısıyla sitotoksik etkisini azalttığı gözlenmiştir. Yaşlandırma işleminin diğer materyallerin hücre proliferasyonunu istatistiksel olarak etkilemediği tespit edilmiştir. Çalışmamızın sonuçları, Messer ve arkadaşlarının bulgularına benzer şekilde yaşlandırma işleminin bazı materyallerin hücre proliferasyonunu azaltırken, bazılarının hücre proliferasyonunu arttırdığını ya da etkilemediğini ortaya koymuştur. Çalışmada kullanılan materyallerin fiziksel ve kimyasal olarak detaylı olarak karakterize edilmemiş olmasına bağlı, tam seramik alt yapı materyallerinin neden farklı biyolojik davranış sergilediğini açıklamak zor olabilir. Tam seramiklerin biyolojik cevabını anlamak için mikroyapı, porözite ve komponent salınımına yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Brackett ve arkadaşları,     preslenerek, ikisi ise CAD-CAM sistemi ile üretilen 5 farklı lityum disilikat içeren tam seramiğin sitotoksik özelliklerine yaşlandırma ve polisaj işleminin etkisini MTT analizi ile in vitro olarak incelemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre, tüm lityum disilikat materyallerinde, başlangıç olarak, %50-70 oranında hücresel mitokondriyel aktivitenin baskılandığını bulmuşlardır. Araştırmacılar materyallerden komponent salınımını sağlamak ve uzun süreli, klinik kullanım koşullarını taklit etmek için, örnekleri steril yapay t kr kte bekletmişlerdir. Bu yaşlandırma işleminin lityum disilikatın sitotoksisitesini azalttığı belirtilmiş, polisaj işleminin ise sitotoksisiteyi belirgin şekilde etkilemediği rapor edilmiştir. Bu çalışmada lityum disilikat içeren materyallerin mitokondriyal baskılamaya neden olduğu belirtilse de, birkaç haftalık yaşlandırma işleminin sonra bu materyallerin ilk sitotoksisitesindeki azalma ve yeniden polisaj sonrası sitotoksisitenin stabil kalması uzun dönemde klinik olarak iyi bir materyal olduğunu göstermektedir (137). Çalışmamızda, lityum disilikat içerikli IPS E.max materyalinin hücre proliferasyonu yüzdesi yaşlandırma işlemi öncesi ve sonrası

tüm zaman dilimlerinde pozitif kontrol grubuna oranla daha düşük bulunmuştur. % 3 bovin serum albuminle 96 saat yapılan yaşlandırmadan sonra 2. günde hücre proliferasyonu değeri azalırken, 2. hafta da hücre proliferasyonu değerinde artış görülmüştür. Her iki çalışma, seramik materyallerden biyolojik ortamda salınan düşük molekül ağırlıklı komponent ve iyonların hedef hücrelerin metabolik aktivitesini değiştirdiğini göstermesi sebebiyle, yöntem ve sonuçlar açısından benzerlik göstermektedir.

Kokoti ve arkadaşları dental seramik materyallerin Vera hücreleri üzerindeki toksik etkisini yaşlandırma işlemi uygulamadan ve uyguladıktan sonra MTT yöntemi ile değerlendirmiş, tüm seramik test gruplarının 72 saatlik inkübasyondan sonra kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde toksisiteye neden olduğunu ve yaşlandırma işlemi ile proliferasyon inhibisyonunun anlamlı oranda arttığını ortaya koymuşlardır (135). Bu çalışma yöntem ve sonuçlar açısından çalışmamızla paralellik göstermekle birlikte, yüzey özelliklerinin proliferasyon oranına etkisini göstermek açısından dikkat çekicidir. Bu bağlamda tam seramiklerin daha biyoyumlu hale getirilebilmesi için farklı yüzey özelliklerini içeren benzer çalışmaların yapılması zorunluluğu ortaya çıkmaktadır.

İlbars ve arkadaşları, zirkonyum tam seramik (Procera), alüminyum tam seramik (Procera) ve IPS Empress 2 tam seramik olmak üzere üç adet tam seramik grubunun gingival fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini, hücre kültürü şartlarında, mitokondrial süksinik dehidrogenaz aktivitesini ölçen hücre canlılığı ve proliferasyonu testi XTT ile invitro koşullarda, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon periodlarından sonra araştırmışlardır. Araştırmanın sonucu tüm tam seramik test gruplarının gingival fibroblast hücreleri üzerinde, ölçülen tüm proliferasyon zaman dilimlerinde, kontrol gruplarına göre anlamlı oranda sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır (138). Bizim araştırmamızın bulguları da, kullanılan bazı tam seramik alt yapı materyallerinin gingival fibroblast hücreleri üzerinde, ölçülen bazı hücre proliferasyon zaman dilimlerinde, kontrol grubuna göre anlamlı oranda sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Yaşlandırma işlemi öncesi, In-Ceram Alumina'nın 1.günde pozitif kontrol grubuna göre gingival fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik olduğu, Turkom Cera, In-Ceram Zirkonya ve IPS E.max tam seramik alt yapı materyallerinin tüm zaman dilimlerinde pozitif kontrol grubuna göre daha sitotoksik olduğu görülmektedir. Yaşlandırma işlemi sonrası, In-Ceram Alumina'nın 2. günde pozitif kontrol grubuna

göre gingival fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik olduğu, ancak sitotoksik etkinin 1. haftadan sonra azaldığı, Turkom Cera ve In-Ceram Zirkonya'nın 1. gün, 2. gün ve 1. haftada pozitif kontrol grubuna göre daha sitotoksik olduğu ancak 2. haftada hücre proliferasyonunun artış gösterdiği ve IPS E.max tam seramik alt yapı materyalinin, tüm zaman dilimlerinde pozitif kontrol grubuna göre daha sitotoksik olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar göstermektedir ki, In-Ceram Alumina, Turkom Cera ve In-Ceram Zirkonya tam seramik alt yapı materyalleri pozitif kontrol grubuna göre hücrelere zararlıdır. Bu materyaller organik bir ortama tabi tutulduğunda hücreler üzerindeki zararlı etkilerinde azalma görülebilmektedir. IPS E.max tam seramik alt yapı materyali ise pozitif kontrol grubuna göre daha sitotoksiktir ve bu materyal organik bir ortama tabi tutulduğunda da pozitif kontrol grubuna göre sitotoksik etkisi devam etmektedir. Muhtemelen, bu materyallerde görülen SDH cevabındaki değişiklikler, element salınımına bağlı oluşmaktadır.

Bizim çalışmamızda yaşlandırma işlemi yapılmadan önce gruplar arasındaki sitotoksisite değerleri karşılaştırıldığında 2. gün hariç tüm saatlerde IPS E.max grubunun sitotoksisitesi en yüksek görülürken, sitotoksisitesi en düşük olan grup Zirkonzahn'dır. 2. günde ise, Turkom Cera grubunun sitotoksisite değeri, IPS E.max'ın sitotoksisite değerinden daha yüksektir.

Yaşlandırma işlemi sonrası gruplar arasındaki sitotoksisite değerleri karşılaştırıldığında en biyouyumlu materyal Zirkonzahn olarak görülürken, 1. gün haricinde en sitotoksik materyal yine IPS E.max olarak görülmektedir. 1. günde ise, In- ceram Zirkonya grubunun sitotoksisite değeri, IPS E.max'ın sitotoksisite değerinden daha yüksektir.

Yaşlandırma işlemi yapılmadan önce grupların tek tek zamana bağlı sitotoksisite değerleri incelendiğinde, In-ceram Alumina grubu için, 1. gün ile 2. haftadaki canlı hücre sayısı arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu ($P<0.05$) gözlemlendi. Buna göre 1. günde hücrelerde oluşan sitotoksik etki daha fazla görülürken, bu durumun 2. haftada azaldığı belirlendi. Turkom Cera grubunun 1. günde hücre proliferasyon düzeyinin istatistiksel olarak diğer zaman dilimlerinden belirgin ölçüde daha fazla olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Diğer tam seramik gruplarının sitotoksisite değerindeki zamana bağlı değişimin anlamlı olmadığı gözlemlendi ($P>0.05$).

Yaşlandırma işlemine tabi tutulan gruplarda Finesse ve Zirkonzahn gruplarının sitotoksisite değerindeki zamana bağlı değişimin istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı ($P>0.05$), In-ceram Alumina, Turkom Cera, IPS E.max ve In-Ceram Zirkonya gruplarının 2. haftada canlı hücre sayısında istatistiksel açıdan belirgin şekilde artış gerçekleştiği saptandı. Bu sonuçlara göre 1. günden 2. haftaya doğru gelindiğinde hücre proliferasyonu düzeyinde giderek artma olduğu söylenebilir.

Yaşlandırmanın tam seramik alt yapı materyallerinin sitotoksisite değerleri üzerindeki etkisi karşılaştırıldığında, 1. günde In-Ceram Zirkonya'nın, Turkom Cera'nın, 2. günde IPS E.max'ın ve 1. haftada Zirkonzahn'ın hücre proliferasyonunu istatistiksel olarak azalttığı dolayısıyla sitotoksik etkiyi arttırdığı, 1. günde Zirkonzahn'ın ve 2. haftada IPS E.max'ın hücre proliferasyonunu arttırdığı, dolayısıyla sitotoksik etkiyi azalttığı gözlenmiştir. Diğer zaman aralıklarında yaşlandırma işleminin sitotoksik etkiyi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde etkilemediği tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda sitotoksisite testleri sırasında en sık karşılaşılan hücresel bozulma, hücrelerin yapıştıkları yüzeyden ayrılmaları ve sitoplazmik büzülme nedeniyle iç şeklindeki fibroblast hücrelerinin yuvarlaklaşması, mikrovillusların kaybolması, vakuol oluşumu, hücre organellerinin sitoplazmada dağılması sonunda hücrenin parçalanması olarak belirlenmiştir (123,139). Taira ve arkadaşları, bu tarz değişikliklerin faz-kontrast mikroskobu kullanılarak da tespit edilebileceğini bildirmişlerdir (128).

Bizim çalışmamızda da, sitoplazma büzülmesi nedeniyle hücrelerin yuvarlak şekil aldığı, mikrovillusların kaybolduğu, hücre organellerinin dağılıp sitoplazma içerisinde toplanarak apoptik yapı oluşturdıkları, nukleusun çok parçalı yapı oluşturmaları, hücre zarında katlanma nedeniyle oluşan kalın görüntü ve son olarak hücre zarının parçalanması ile hücre içeriğinin dağıldığı gözlenmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, bazı tam seramik materyallerin in vivo sitotoksisite risklerinin bulunabileceğini göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçlarından allerji, inflamasyon ve mutagenite gibi diğer biyolojik cevapların gelişip gelişmeyeceği tahmin edilemez.

Gelecekteki çalışmalar, gözlenen sitotoksisitedeki değişikliğin sebebinin anlaşılabilmesi için ve bu değişikliklerin klinik pratiğe yorumlanabilmesi için tam seramik alt yapı materyallerinin karakterizasyonunu içermelidir. Kimyasal yüzey analiz teknikleri, element salınımının ölçülmesi ve fiziksel yüzey karakterizasyonu ile mikroyapı ve pörözitenin incelenmesi tam seramik alt yapı materyallerinin biyolojik yanıtının

anlaşılabilmesini sağlayabilir. Bu durumun anlaşılması çok daha iyi biyolojik özelliklere sahip tam seramiklerin geliştirilmesine imkan verebilir.

Altı adet tam seramik alt yapı materyalinin sitotoksikite özelliklerinin fare fibroblastları üzerinde hücre kültürü yöntemi kullanılarak MTT analizi ile değerlendirildiği bu tez çalışmasından şu sonuçlar elde edilmiştir:

1. Tam seramik alt yapı materyalleri sitotoksik etki bakımından pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, In-Ceram Alumina, In-Ceram Zirkonya, Turkom Cera ve IPS E.max'ın sitotoksik olduğu belirlenmiştir. Zirkonzahn ve Finesse'in ise pozitif kontrol grubuna göre sitotoksik olmadığı tespit edilmiştir.
2. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda, yaşlandırma işlemi öncesi hücre proliferasyon bulgularına göre tam seramik alt yapı materyallerinin sitotoksik potansiyelleri sırasıyla,
 1. **gün:** IPS E.max>In-Ceram Alumina>In-Ceram Zirkonya>Turcom Cera Finesse>Zirkonzahn
 2. **hafta:** IPS E.max>Turcom Cera>In-Ceram Zirkonya>In-Ceram Alumina >Finesse>Zirkonzahn olarak belirlenmiştir.
3. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda, yaşlandırma işlemi sonrası hücre proliferasyon bulgularına göre tam seramik alt yapı materyallerinin sitotoksik potansiyelleri sırasıyla,
 1. **gün:** In-Ceram Zirkonya>IPS E.max>Turcom Cera>In-Ceram Alumina >Finesse>Zirkonzahn olarak belirlenmiştir.
 2. **hafta:** IPS E.max>In-Ceram Zirkonya>Turcom Cera>Finesse>In-Ceram Alumina>Zirkonzahn olarak belirlenmiştir.
4. Gruplar yaşlandırma öncesi sitotoksikite özelliklerinin zamana bağlı değişimi açısından değerlendirildiğinde, In-Ceram Aluminanın sitotoksikitesinde 1. güne oranla 2. haftada belirgin azalma olduğu gözlenmiştir. Turkom Cera'nın sitotoksikitesinde ise 1. günden 2. haftaya doğru artış olduğu belirlenmiştir. Diğer grupların sitotoksikitesinin zamana bağlı değişim göstermediği bulunmuştur.
5. Gruplar yaşlandırma sonrası sitotoksikite özelliklerinin zamana bağlı değişimi açısından değerlendirildiğinde, In-Ceram Alumina, IPS E.max, Turkom Cera ve In-

Ceram Zirkonya grupları için zamana bağılı sitotoksikite değerlerinde azalma görülmüştür.

6. Yaşlandırmanın tam seramik alt yapı materyallerinin sitotoksik özellikleri üzerindeki etkisi karşılaştırıldığında, 1. günde In-Ceram Zirkonya ve Turkom Cera'nın, 2. günde IPS E.max'ın ve 1. haftada Zirkonzahn'ın yaşlandırma sonrası sitotoksik etkilerinin arttığı bulunmuştur. 2. haftada ise, IPS E.max'ın sitotoksik etkisinin azaldığı tespit edilmiştir. Diğer zaman aralıklarında yaşlandırma işleminin sitotoksik etkiyi etkilemediği görülmüştür.

6. KAYNAKLAR

1. Callister WD. Materials science and engineering (4th Ed), John Willey and Sons, New York, 1997:372-433
2. Mclean JW. The science and art of dental ceramics. The nature of dental ceramics and their clinical use. Quintessence Publishing Co, Chicago, 1979:23-28
3. Christensen GJ. Porcelain fused to metal vs. nonmetal crowns. J Am Dent Assoc 1999; 130:409-411
4. Kelly JR, Nishimura I, Campbell SD. Ceramics in dentistry: historical roots and current perspective. J Prosthet Dent 1996; 75:18-30
5. Naylor WP. Introduction to metal ceramic technology. Quintessence Publishing Co, Chicago, Illinois, 1992: 9-10
6. Efeoğlu A. Dişhekimliği tarihi, Alemder Ofset, İstanbul,1992
7. Jones DW. Development of dental ceramics: An historical perspective. Dent Clin North Am 1985; 29(4):621-643
8. Akın E. Diş hekimliğinde porselen, 2. Baskı, İ.Ü. Diş Hek. Fak. Yayınları, İstanbul, 1983

9. Leinfelder KF, Lemons JE. Clinical Restorative Materials and Techniques, Philadelphia, Lea and Febiger, 1988
10. McCabe JF. Applied Dental Materials (7 th Ed), London, Mass Publishing Co, 1994
11. Mclean JW. Dental Ceramics, Proceedings of the First International Symposium on Ceramics, Chicago, Quintessence Publishing Co, 1983
12. O'brien WJ. Dental Materials, Properties and Selection, Chicago, Quintessence Publishing Co, 1989
13. Rufenacht CR. Fundamentals of Esthetics, Chicago, Quintessence Publishing Co, 1990
14. Wall JG, Cipra DL. Alternative crown systems. Dent Clin North Am 1992; 36:765-782
15. Robert GC. Restorative Dental Materials (9th Ed), Mosby Year Book Inc, London, 1993
16. Kelly JR. Clinically relevant approach to failure testing of all-ceramic restorations. J Prosthet Dent 1993; 81:652-661
17. McLean JW, Odont D. Evolution of dental ceramics in the 20 th century. J Prosthet Dent 2001; 85:61-66
18. Hondrum SO. A review of the strenght properties of dental ceramics. J Prosthet Dent 1992; 67:859-865.
19. Palmer DS, Barco MT, Billy EJ. Temperature extremes produced orally by hot and cold liquids. J Prosthet Dent 1992; 67:325-327
20. Rosenblum MA, Schulman A. A review of all ceramic restoration. JADA 1997; 128:297-307
21. O'Brien WJ. Dental Materials and their selection (2nd ed), Quintessence Publishing Co Inc, Chicago, 1997:97-106
22. Shillingburg HT. Fundamentals of fixed prosthodontics (3rd ed), Quintessence Publishing Co, 1997
23. Anusavice KJ. Science of Dental Materials (10 th ed), WB. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1996
24. Zaimoglu A, Can G, Ersoy AE, Aksu L. Dişhekimliğinde Maddeler Bilgisi, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1993
25. Van Noort R. Introduction to Dental Materials (2 nd ed), 2002
26. Arcasoy A. Seramik Teknolojisi, Marmara Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 1983

27. Leinfelder K. Porcelain esthetics for the 21st century. JADA 2000; 131:47-51
28. Yavuzylmaz H, Bavbek B, Turhan B, Kurt E. Tam porselen sistemleri I. GÜ Diş Hek Derg 2001a; 22(1):41-48
29. Yavuzylmaz H, Bavbek B, Turhan B, Kurt E. Tam porselen sistemleri II, GÜ Diş Hek Derg 2005b; 22(1):49-60
30. Blatz MB. Long-term clinical success of all-ceramic posterior restorations. Quintessence Int 2002; 33:415-426
31. Chai J, Takahashi Y, Sulaiman F, Chong K. Probability of fracture off all-ceramic crowns. The Int Journal of Prostodontics 2000;13(5):420-424
32. Grey N.A, Piddock V, Wilson HJ. In-vitro comparison of conventional crowns and a new all-ceramic systems. Journal of Dentistry 1993; 21:47-51
33. Wohlwend A, Strup JR, Scharer P. Metal ceramic and all porcelain restorations current considerations. The Int Journal of Prostodontics 1989; 2:13-26
34. Gökçe SH. In-Ceram kor destekli porselen kronlarda kor tasarımının dayanıklılığa etkisi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 1999
35. Toksavul S, Artunç C, Ulusoy M, Toman M. Tüm Seramik kronlar, 1. Baskı, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir, 2000
36. Jones DW. Development of dental ceramics. An historical perspective. Dent Clin North Am 1985; 29(4):621-643
37. Nayır E. Dişhekimliği maddeler bilgisi, İstanbul 7. baskı,1999
38. Seghi RR, Denry I, Brajevic F. Effect of ion exchange on hardness and fracture toughness of dental ceramics. Int J Prosthodont 1992; 5(4):309-314
39. Giordano RA, Pelletier L, Campbell S, Pober R. Flexural strength of an infused ceramic, glass ceramic and feldspathic porcelain. J Prosthet Dent 1995; 73:411-418
40. Ludwig K. Studies on the ultimate strength of all-ceramic crowns. Dent Labor 1991; 39:647-651
41. Anusavice J, Hjjatie B. Tensile stress in glass ceramic crowns: Effect flaws and cement voids. Int J Prosthodont 1992; 5:352-358
42. Christensen GJ. Ceramic vs. porcelain-fused to metal crowns: Give your patient a choice. J Am Dent Assoc 1994; 125:311

43. Hansen PA, West LA. Allergic reaction following insertion of Pd-Cu-Au fixed partial denture: A clinical report. *J Prosthodont* 1997; 6:144-148
44. Bowley JF, Stocksill JW. The Dental Clinics of North America. 1992; 36(3):765-781
45. Rosenstiel SF, Land MF, Fujimoto J. Contemporary Fixed Prosthodontics 1992; 538-546
46. Özkan P, Yüksel G, Çekiç C. Metal desteksiz porselen sistemleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hek Fak Derg* 2000;10(2):79-88
47. Thompson JY, Anusavice KJ. Effect of surface etching on the flexure strength and fracture toughness of dicor disks containing controlled flaws. *Journal Dental Restorations* 1994; 73:505-510
48. Hobo S, Iwata T. A New Laminate Veneer Technique Using a Castable Apatite Ceramic Materials. I. Theoretical Consideration, *Quintessence Int*, 1985; 16:451-458
49. Coşkun A. Farklı metal desteksiz porselen sistemlerinin kenar uyumu ve mikrosızıntıya etkisi ile eğilme dayanaklarının incelenmesi, Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas 2002
50. Gür E. Tam seramik materyalleri ile rezin simanlar arasındaki bağlanma dayanımının incelenmesi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya 2006
51. Bozoğulları HN. İki farklı tam seramik kor materyalinin baskı dayanıklılığı ve marjinal uyumu üzerine farklı marjinal dizayn ve taper açılarının etkisi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya 2007
52. Philips RW. *Skinner's Science of Dental Materials* (9th ed), WB. Saunders Company, Philadelphia, 1991
53. Mclean JW. High-strength ceramics. *Quintessence international* 1987; 18(2):97-106
54. Zortuk M. Üç farklı tam porselen sisteminin kırılma dirençlerinin karşılaştırılması, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır 2006
55. Suliman F, Chai J, Jameson LM, Wozniak WT. A Comparison of the Marginal Fit of In-Ceram, IPS Empress, and Procera Crowns. *Int J Prosthodont* 1997; 10:478-84
56. Pröbster L, Diehl J. Slip-Casting Alumina Ceramics for Crown and Bridge Restorations. *Quintessence Int* 1992; 23:25-31
57. Yoshinari M, Derand T. Fracture Strength of All-Ceramic Crowns. *Int J Prosthodont* 1994; 7:329-338

58. Crispin BJ. Contemporary Esthetic Dentistry: Practice Fundamentals, Chapter 6: Esthetic Ceramic Restorative Materials and Techniques, Quintessence Pub Co Inc, Chicago, 1994
59. Chiche GJ, Pinault A. Esthetics of anterior fixed prosthodontics, Quintessence Pub Co Inc, Chicago, 1994
60. Strub R, Beschmidt M. Fracture strenght of 5 different all-ceramic crown systems. Int Journal of Prostodontics 1998; 11(6):602-609
61. Holand W, Frank M. Material science of Empress glass ceramic, Ivoclar Vivadent-Report 1994; 10:3-8
62. Myers ML, Ergle JW, Fairhurst CW, Ringle DR. Fatigue failure parameters of IPS Empress porcelain. Int J Prosthodont 1994; 5:409-414
63. Leinfelder K. Porcelain esthetics for the 21st century. JADA 2000; 131:47-51
64. Yazgan YK. Porselen kron sistemlerinin estetik ve mekanik özelliklerinin değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2003
65. Schweiger M, Holand W, Frank M, Drescher H, Rheinberger V. IPS Empress 2: A new pressable high-glass ceramic for esthetic all-ceramic restoration. QDT 1999; 143-151
66. Ural Ç. Beş farklı seramik restorasyon yapım yönteminde marjinal uyumların invitro olarak değerlendirilmesi, Doktora Tezi, 19 Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun 2006
67. Sorensen JA. The IPS Empress II system: defining the possibilities. Quintessence Dent Technol 1999; 22:153-163
68. Raigrodski AJ. Contemporary materials and technologies for all-ceramic fixed partial dentures: A review of the literature. J Prosthet Dent 2004; 92:557-562
69. Ivoclar Vivadent AG. The Compatible All-Ceramic System, Dental Technician and Instructor, Schaan, Liechtenstein, 2005
70. Mörmann WH and Bindl A. All ceramic, chair side computer aided design/computer aided machining restorations. Dent Clin N Am 2002; 46:405-426
71. Pekkan G. Tam seramikler ve dentin arasındaki dual-cure rezin simanların kesme ve gerilme dayanıklılığının incelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Doktora Tezi, Ankara 2005
72. Sorensen JA. Lava All-Ceramic System: CAD/CAM Zirconia Prosthodontics for the 21st Century. Synergy in Dentistry 2003;2:1-12

73. Hwang JW, JH Yang. Fracture strength of copy-milled and conventional In-ceram crowns. *Journal of Oral Rehabilitation* 2001; 28:678-683
74. Eidenbentz S, Lehner CR, Schaerer P. Copy milling ceramics inlays from resin analogs. *The Int Journal of Prostodontics* 1994; 7:134-139
75. Smith DC. Tissue Reaction to Noble and Base Metal Alloys. *Biocompatibility of Dental Materials* 1982
76. Edgerton M, Levine JM. Biocompatibility: It's future in prosthodontic research. *J Prosthet Dent* 1993; 69:406-415
77. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: a review. *Dent Mater* 1996; 12:186-193
78. Lidums U. Determination of Cobalt in Blood and Urine by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. *Atomic Absorption Newsletter* 1979; 18: 289-290
79. Workshop. Biocompatibility of Metal in Dentistry. *JADA* 1984; 109:469-471
80. Smith DC, Williams DF. *Biocompatibility of Dental Materials. Vol II*, Boca Raton Crc, Florida, 2001
81. Wataha JC. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J Prosthet Dent* 2001; 86: 203-209
82. Tunçel A. Sabit protetik restorasyonlarda kullanılan farklı fiberle güçlendirilmiş kompozit yapıların yüzey sertliği, yüzey pürüzlülüğü ve sitotoksitelerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas 2005
83. Hensten-Pettersen A. Comparison of the Methods Available for Assessing Cytotoxicity. *Int Endod J* 1988; 21: 89-99
84. Özdemir G.K. Farklı yumuşak astar mataryellerinin sitotoksitelerinin fare fibroblastları üzerinde hücre kültürü yöntemi ile in vitro olarak değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2007
85. Craig RG, Ward ML. *Restorative Dental Materials* 1997
86. Hamid A, Okamoto A, Iwaku M, Hume WR. Compomer release from light activated glass ionomer and compomer cement. *J Oral Rehabil* 1998; 25:94-99
87. ISO 10993 part 5, 1999. International Standard 10993 "Biological evaluation of medical devices Part 5: Tests for cytotoxicity: In-vitro methods." International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 1999

88. ISO 7405, 1997. International Standard 7405. "Dentistry- preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry – test methods for dental materials." International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 1997
89. Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. Clin Oral Investig 1997; 1:154-162
90. Torabinejad M, Hong C, Lee SJ, Monsef M, Pittford TR. Investigation of mineral trioxide aggregate for rootend filling in dogs. J Endod 1995a; 21:603-608
91. Freshney RI. Animal Cell Culture: A Practical Approach. IRL Pres Limited, Oxford, 1986
92. Browne RM. The In Vitro Assessment of the Cytotoxicity of Dental Materials. Does It Have a Role? Int Endod J 1988; 21: 50-58
93. Schmalz G. Use of Cell Cultures for Toxicity Testing of Dental Materials-Advantages and Limitations. J Dent 1994; 22(2):6-11
94. Edgerton M, Levine JM. Biocompatibility: It's future in prosthodontic research. J Prosthet Dent 1993;69:406-415
95. Deliağa N. Farklı Estetik Materyallerle Hazırlanan Protetik Restorasyonların Hücre Kültüründe Sitotoksik Etkilerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir 2002
96. Mjör JA. Current views on biological testing of restorative materials. J Oral Rehabil 1990; 17:530-507
97. Wennberg A. In Vitro Assessment of the Biocompatibility of Dental Materials-the Millipore Filter Method. Int Endod J 1988; 21:67-71
98. Spangberg LS, Al-Nazhan SA. The Radiochromium Release Method for Evaluation of Cytotoxicity In Vitro. Int Endod J 1988; 21:72-78
99. Karmaker AC, Di Benedetto AT, Goldberg AJ. Extent of conversion and its effect on the mechanical performance of Bis-GMA/PEGDMA-based resins and their composites with continuous glass fibers. J Mater Sci Mater Med 1997; 8:369-374
100. Kawahara H, Yamagami A, Nakamura M Jr. Biological testing of dental materials by means of tissue culture. Int Dent J 1968; 18:443-467
101. Kehe K, Reichl FX, Durner J, Walther U, Hickel R, Forth W. Cytotoxicity of dental compositecomponents and mercury compounds in pulmonary cells. Biomaterials 2001; 22:317-322

102. Kildal KK, Ruyter L. How different curing methods affect the degree of conversion of resin based inlay/onlay materials. *Acta Odontol Scand* 1994; 52:315-322
103. Ferracane JL. Elution of leachable components from composites. *J Oral Rehabil* 1994; 21:441-452
104. Gaynour B, Sletten BG, Dahl JE. Cytotoxic effects of extracts of compomers. *Acta Odontol Scand* 1999; 57:316-322
105. Quinlan CA, Zistere DM, Tipton KF, O'Sullivan MI. In vitro cytotoxicity of a composite resin and compomer. *Int Endod J* 2002; 35:47-55
106. Kawai K, Urano M, Ebisu S. Effect of surface roughness of porcelain on adhesion of bacteria and their synthesizing glucans, *J Prosthet Dent* 2000; 83:664-667
107. Chu F, Frankel N, Smales R. Surface roughness and flexural strength of Selfglazed, polished and reglazed In-Ceram/Vitadur Alpha porcelain laminates. *Int J Prosthodont* 2000; 13:66-71
108. Esbach S, Wolfart S, Bohlsen F, Kern M. Clinical evaluation of all-ceramic posterior three unit FDPs made of In-Ceram Zirconia. *Int J Prosthodont* 2009; 22: 490-2
109. Höland W, Schweiger M, Frank M, Rheinberger V. A comparison of the microstructure and properties of the IPS Empress 2 and the IPS Empress glass ceramics. *J Biomed Mater Res* 2000; 53:297-303
110. Chen HY, Hickel R, Setcos J, Kunzelmann KH. Effect of surface finish and fatigue testing on the fracture strenght of CAD-CAM and pressed-ceramic crowns. *J Prosthet Dent* 1999; 82:468-75
111. Kou W, Molin M, Sjögren. Surface roughness of five different dental ceramic core materials after grinding and polishing. *J Oral Rehabil* 2006; 33:117-124
112. Wright MD, Masri R, Driscoll CF, Romberg E, Thomson GA, Runyan DA. Comparison of three systems for the polishing of an ultra-low fusing dental porcelain. *J Prosthet Dent* 2004; 92:486-490
113. Kleinsasser NH, Wallner BC, Harreus UA, Kleinjung T, Folwaczny M, Hickel R, Kehe K, Reichl FX. Genotoxicity and Cytotoxicity of Dental Materials in Human Lymphocytes as Assessed by the Single Cell Microgel Electrophoresis (Comet) Assay. *J Dent* 2004; 32: 229–234
114. Dammaschke T, Stratmann U, Mokrys K, Ott KHR. Histocytological Evaluation of the Reaction of Rat Pulp Tissue to Carisolv™. *J Dent* 2001; 29:283–290

115. Schuster U, Schmalz G, Thonemann B, Mendel N, Metzl C. Cytotoxicity Testing with Three-Dimensional Cultures of Transfected Pulp-Derived Cells. *J Endod* 2001; 27: 259–265
116. Botham P, Purchase I. Why Laboratory Rats are Here to Stay. *New Sci* 1992; 134:29–30
117. Tai KW, Chang YC. Cytotoxicity Evaluation of Perforation Repair Materials on Human Periodontal Ligament Cells In Vitro. *J Endod* 2000; 26: 395–397
118. Al RH, Dahl JE, Morisbak E, Polyzois GL. Irritation and Cytotoxic Potential of Denture Adhesives. *Gerodontology* 2005; 22:177-183
119. Nishijima M, Hashimoto Y, Nakamura M. Cytocompatibility of New Phthalate Ester-Free Tissue Conditioners In Vitro. *Dent Mater J* 2002; 21:118-132
120. Nahid M, Bottenberg P. Importance of Cell Cultures in Biocompatible Dental Materials Research. *Rev Belge Med Dent* 2003; 58:189–196
121. Spangberg LSW. The Study of Biological Properties of Endodontic Biomaterials in Experimental Endodontics, Spangberg LSW, CRC Pres, Baco Raton, Florida, 1990
122. Wataha JC, Craig RG, Hanks CT. Precision of and New Methods for Testing In Vitro Alloy Cytotoxicity. *Dent Mater* 1992; 8:65–70
123. Bean TA, Zhuang WC, Tong PY, Eick JD, Chappelow CC, Yourtee DM. Comparison of Tetrazolium Colorimetric and 51Cr Release Assays for Cytotoxicity Determination of Dental Biomaterials. *Dent Mater* 1995; 11:327–331
124. Issa Y, Watts D, Brunton PA, Waters CM, Duxbury AJ. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dent Mater* 2004; 20(1):12-20
125. Sjogren G, Sletten G, Dahl JE. Cytotoxicity of Dental Alloys, Metals, and Ceramics Assessed by Millipore Filter, Agar Overlay, and MTT Tests. *J Prosthet Dent* 2000; 84: 229-236
126. Tang AT, Li J, Extrand 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* 1999; 45(3):214-22
127. Schedle A et al. Response of L-929 fibroblasts, human gingival fibroblasts, and human tissue mast cells to various metal cations. *J Dent Res* 1995; 74(8):1513-20

128. Taira M, Nakao H, Matsumoto T, Takahashi J. Cytotoxic Effect of Methyl Methacrylate on 4 Cultured Fibroblasts. *Int J Prosthodont* 2000; 13: 311–315
129. 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; 18:318–323
130. Pera P, Conserva E, Pin D, Acquaviva A, Riboldi A, Mariottini GL, Pane L. Cytotoxicity in vitro analysis of ceramic materials for "metal free" prosthetic substructures. *Minerva Stomatol* 2005; 54(6):363-71
131. Uo M, Sjögren G, Sundh A, Watari F, Bergman M, Lerner U. Cytotoxicity and bonding property of dental ceramics. *Dent Mater* 2003; 19(6):487-92.
132. Josset Y, Oum'Hamed Z, Zarrinpour A, Lorenzato M, Adnet JJ, Laurent-Maquin D. In vitro reactions of human osteoblasts in culture with zirconia and alumina ceramics. *J Biomed Mater Res*. 1999; 47(4):481-93
133. Raffaelli L ve ark. Growth, viability, adhesion potential, and fibronectin expression in fibroblasts cultured on zirconia or feldspatic ceramics in vitro. *J Biomed Mater Res A*. 2008; 86(4):959-68
134. Özen J, Atay A, Beydemir B, Serdar MA, Ural AU, Dalkız M, Soysal Y. In vitro IL-1beta release from gingival fibroblasts in response to pure metals, dental alloys and ceramic. *J Oral Rehabil*. 2005 ;32(7):511-7
135. Kokoti, M., Sivropoulou, A., Koidis, P., Garefis, P., Comparison of cell proliferation on modified dental ceramics, *J. Oral Rehabil.*, 28, 880-87, 2001.
136. Messer RL, Lockwood PE, Wataha JC, Lewis JB, Norris S, Bouillaguet S. In vitro cytotoxicity of traditional versus contemporary dental ceramics. *J Prosthet Dent* 2003; 90(5):452-8
137. Brackett MG, Lockwood PE, Messer RL, Lewis JB, Bouillaguet S, Wataha JC. In vitro cytotoxic response to lithium disilicate dental ceramics. *Dent Mater* 2008; 24(4):450-6
138. İlbars N. Yeni nesil metal desteksiz seramikler ve yapıştırılmasında kullanılan rezin simanların biyouyumluluğunun değerlendirilmesi, Doktora Tezi, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2007
139. Al-Nazhan S, Spanberg L. Morphological cell changes due to chemical toxicity on human periodontal ligament fibroblasts and L929 cells. *J Endod* 1990; 16:129-134

ÖZGEÇMİŞ

Kerem KILIÇ 24. 11. 1979'da Kayseri'de doğdu. İlköğretimini Ahmet Paşa İlköğretim Okulu'nda, ortaöğretimini Kayseri Eğitim ve Kültür Vakfı Özel Lisesi'nde ve liseyi Melikgazi Lisesi'nde tamamladı. 1998'de Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ni kazandı.2003 yılında mezun oldu. 2004'te Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı. 2006 yılında Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. Halen aynı görevi sürdürmektedir.