

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

TEK RENKLİ ÜNİVERSAL REZİN
KOMPOZİTLERİN TOTAL ANTİOKSİDAN
KAPASİTESİ VE SİTOTOKSİSİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Betül ERDAL

RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ
ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Gökhan KARADAĞ

KIRIKKALE-2024

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

TEK RENKLİ ÜNİVERSAL REZİN
KOMPOZİTLERİN TOTAL ANTİOKSİDAN
KAPASİTESİ VE SİTOTOKSİSİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Betül ERDAL

RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ
ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

Bu araştırma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2023/168 numaralı
proje ile desteklenmiştir.

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Gökhan KARADAĞ

KIRIKKALE-2024

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalında Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 04/11/2024

Doç. Dr. Alper KAPTAN

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Diş Hekimliği Faköltesi

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Volkan ARIKAN

Kırıkkale Üniversitesi, Diş Hekimliği
Faköltesi

Üye

Doç. Dr. Ayşe Tuğba ERTÜRK AVUNDUK

Mersin Üniversitesi, Diş Hekimliği
Faköltesi

Üye

Doç. Dr. Yusuf BAYRAKTAR

Kırıkkale Üniversitesi, Diş Hekimliği
Faköltesi

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Gökhan KARADAĞ

Kırıkkale Üniversitesi, Diş Hekimliği
Faköltesi

Üye

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY

İÇİNDEKİLER.....	ii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖNSÖZ.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Rezin Kompozitler	3
2.1.1. Rezin Kompozitlerin Yapısı.....	3
2.1.1.1. Organik Matriks Fazı.....	3
2.1.1.2. İnorganik Faz.....	10
2.1.1.3. Ara Faz.....	11
2.1.2. Rezin Kompozitlerin Sınıflandırılması.....	11
2.1.2.1. İnorganik Doldurucu Boyutuna Göre.....	11
2.1.2.2. Rezin Kompozitin Viskozitesine Göre.....	13
2.1.2.3. Polimerizasyon Şekline Göre.....	13
2.1.3. Rezin Kompozitlerdeki Güncel Gelişmeler.....	14
2.1.3.1. Bulk Fill Rezin Kompozitler.....	14
2.1.3.2. Ormoserler.....	15
2.1.3.3. Siloran Bazlı Rezin Kompozitler.....	16
2.1.3.4. Fiberle Güçlendirilmiş Rezin Kompozitler.....	16
2.1.3.5. Tek Renkli Üniversal Rezin Kompozitler.....	17
2.2. Oksidatif Stres.....	18

2.2.1.	Oksidatif Stres Kavramı.....	18
2.2.2.	Reaktif Oksijen/Azot Türleri.....	19
2.2.3.	Antioksidanlar.....	22
2.2.3.1.	Antioksidanların Etki Mekanizması.....	23
2.2.3.2.	Antioksidan Kapasite Ölçümü.....	24
2.3.	Biyouyumluluk ve Sitotoksosite.....	26
2.3.1.	Sitotoksosite Belirleme Yöntemleri.....	27
2.3.1.1.	Boyama Yöntemleri.....	29
2.3.1.2.	Kolorimetrik Yöntemler.....	29
2.3.1.3.	Florometrik Yöntemler.....	33
2.3.1.4.	Luminometrik Yöntemler.....	34
2.4.	Dental Rezin Kompozitlerin Sitotoksitesisi.....	36
2.4.1.	Rezin Kompozitlerin Sitotoksitesisini Etkileyen Faktörler.....	39
2.4.2.1.	Materyalin Dönüşüm Derecesi.....	39
2.4.2.2.	Materyalin Kimyasal Bileşimi.....	40
2.5.	Çalışmanın Amacı.....	40
2.6.	Hipotez.....	40
3.	GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	42
3.1.	Rezin Kompozit Disk Örneklerinin Hazırlanması.....	42
3.2.	Hücrelerin Pasajlanması ve Çoğaltılması.....	45
3.3.	Rezin Kompozit Örneklerin Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi.....	47
3.4.	Total Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi.....	49
3.5.	İstatistiksel Değerlendirme.....	50
4.	BULGULAR.....	51
4.1.	Total Antioksidan Kapasite Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	51
4.2.	Sitotoksosite Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	52
5.	TARTIŞMA.....	55
6.	SONUÇ	63
KAYNAKLAR.....	64	
ÖZGEÇMİŞ.....	78	

ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Betül ERDAL

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim ve tez sürecim boyunca akademik ve klinik anlamda bilgi ve tecrübesiyle yol gösteren, her soruma cevap bulduğum değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Gökhan KARADAĞ 'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilimsel ve klinik olarak tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Çiğdem ÇELİK ve Doç. Dr. Yusuf BAYRAKTAR'a,

Özellikle tez çalışma sürecimde ve yaşamımda yanımda olan kuzenim olmaktan ziyade ablam olan, her problemimde çözüm üreten, tezimin deneylerini yapan Sayın Öğr. Gör. Ebru ERDAL'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca her sorunumda yanımda olan, çok şey öğrendiğim kıdemlim Dr. Öğr. Üyesi Baturalp AYHAN'a,

Birlikte çok güldüğümüz, uzmanlık eğitimi sürecinde çok eğlendiğim Uzm. Dt. Işıl CAN, Dt. Zeynep Ezgi KARTALOĞLU, Dt. Gamze Ebrar NALBANT, Dt. Merve DUMAN ve tüm asistan arkadaşlarıma,

Uzmanlık eğitimim sürecinde çalışma ortamımı güzelleştiren, birlikte çok uyumlu çalıştığımız Uzm. Dt. Merve HABERAL, Dt. Ahmet Yasin İREN, Dt. Ezgi TÜRKOĞLU, Dt. Erhan AL, Dt. Ahmet TÜRKOĞLU, Dt. Robin ALTINKILIÇ ve Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı ailesine,

Aramızda kilometreler olsa da bana çok yakın olan, arkadaşlığıyla desteğini her zaman hissettiğim, her problemimde yanımda olan, bir tanecik dostum Dr. Beyza ÇAĞLAYAN'a,

Destekleriyle her zaman yanımda olan, bugünlere gelmemi sağlayan, geriye dönüp baktığımda iyi ki onların kızıyım dedirten canım annem Mine ERDAL ve canım babam Halil ERDAL'a, yaşamı eğlenceli hale getiren canım kardeşlerim Vet. Hek. Ali ERDAL ve Mustafa Semih ERDAL'a,

Tüm kalbimle teşekkürlerimi sunuyorum.

SİMGELER ve KISALTMALAR

$\pm$	: Artı eksi
+	: Artı
X	: Çarpı
=	: Eşittir
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür
%	: Yüzde
C°	: Santigrat derece
BisEMA	: Bisfenol A etoksi dimetakrilat
BisGMA	: Bisfenol A glisidil metakrilat
CDO	: Charisma Diamond One
CMU	: Clearfil Majesty Es-2 Universal
EU	: Essentia Universal
HEMA	: Hidroksietil metakrilat
HGF-1	: İnsan gingival fibroblast hücre hattı
LED	: Işık yayan diyot üniteleri/ Light Emitting Diode
M	: Mol
ml	: Mililitre
mm	: milimetre
mM	: Milimol
mW/cm²	: Milivat bölü santimetre kare
µl	: Mikrolitre

µm	: Mikrometre
µM	: Mikromol
nm	: Nanometre
OC	: Omnichroma
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
sn	: Saniye
TAK	: Total Antioksidan Kapasite
TCD	: Trisiklodekan
TEGDMA	: Trietilen glikol dimetakrilat
UDMA	: Üretan metakrilat
UV	: Ultraviyole
VAU	: Vittra APS Unique
XF	: X-tra fill
ZC	: Zenchroma

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan monomerlerin moleküler yapıları

Şekil 2.2. BisGMA sentez reaksiyonu

Şekil 2.3. HEMA sentez reaksiyonu

Şekil 2.4. UDMA sentez reaksiyonu

Şekil 2.5. Oksijen indirgenme reaksiyonları

Şekil 2.6. Suyun radyolizi reaksiyonu

Şekil 2.7. Peroksinitrit ayrışma reaksiyonu

Şekil 2.8. MTT'nin kimyasal yapısı

Şekil 2.9. MTT testinin yapılışı

Şekil 2.10. Gerçek zamanlı canlılık belirleme yöntemlerinin esası

Şekil 3.1. Kompozit disk örneklerinin hazırlanması

Şekil 3.2. Hazırlanan rezin kompozit örnekler

Şekil 3.3. Kullanılan otoklav cihazı

Şekil 3.4. a. Hücre kültür deneylerinin yapıldığı laminar flow cihazı **b.** CO₂ inkübatör

Şekil 3.5. Canlı hücre sayımının yapıldığı ışık mikroskobu

Şekil 3.6. Sitotoksisite deneyi için kullanılan iki bölmeli sistem

Şekil 3.7. HGF-1 hücreleri ve rezin kompozitlerin birlikte inkübe edildiği iki bölmeli sistem

Şekil 3.8. Hücre kültür kuyucuklarının absorbands değerlerinin belirlendiği mikropłaka okuyucu

Şekil 3.9. Total antioksidan kapasite belirleme kiti

Şekil 4.1. Resin kompozitlerle inkübe edilen grupların total antioksidan kapasitesi

Şekil 4.2. Grupların HGF-1 hücreleri üzerindeki yüzde canlılık etkileri



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Endojen antioksidanlar

Tablo 2.2. Ekzojen antioksidanlar

Tablo 3.1. Kullanılan rezin kompozitler

Tablo 4.1. Çalışma gruplarının total antioksidan kapasite değerleri

Tablo 4.2. Çalışma gruplarının hücre canlılık değerleri



ÖZET

Tek Renkli Üniuersal Rezin Kompozitlerin Total Antioksidan Kapasitesi ve Sitotoksisitesinin Değerlendirilmesi

Kırıkkale Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Gökhan KARADAĞ

Kasım 2024

Bu çalışmanın amacı tek renkli üniuersal rezin kompozitlerin total antioksidan kapasitesi ve sitotoksisitesinin karşılaştırılmasıdır. Tek renkli üniuersal rezin kompozitler, restoratif diş tedavisi alanında kullanılan, klinikte renk seçim aşamasını ortadan kaldıran güncel rezin kompozitlerdir. Kliniklerde aktif olarak kullanıldığı için hücreler üzerindeki etkisi önemlidir. Bu amaçla, bu çalışmada, piyasada bulunan 7 farklı tek renkli üniuersal rezin kompozitin (Vittra APS Unique (FGM Dental Group, Brezilya), Clearfil Majesty Es-2 Universal (Kuraray Noritake Dental Inc., Japonya), X-tra fill (VOCO, Almanya), Zenchroma (President Dental, Almanya), Charisma Diamond One (Kulzer, Almanya), Essentia Universal (GC, Japonya), Omnicroma (Tokuyama, Japonya)) insan gingival fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisine 1. gün ve 7. gün bakılmıştır. Bununla birlikte hücrelerin total antioksidan kapasitesi karşılaştırılmıştır. Sitotoksisite deneyleri için MTT analizi, hücrelerin total antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için FRAP testi kullanılmıştır. Çalışmada elde edilen veriler, Kruskal-Wallis H ve Wilcoxon işaret testleri ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir ($p<0,05$). Bir günlük sitotoksisite deneyinde Charisma Diamond One test edilen rezin kompozitler arasında sitotoksik etkisi en yüksek grup olarak belirlenmiştir. Zenchroma, Clearfil Majesty Es-2 Universal, Vittra APS Unique ile inkübe edilen hücreler kontrol grubuyla benzer canlılık göstermiştir. Yedi günlük sonuçlar ele alındığında ise tüm rezin kompozitler, kontrol grubuna göre hücre canlılığında anlamlı derecede azalmaya neden olmuştur. Charisma Diamond One ve Zenchroma yedi günlük sonuçlara bakıldığında test edilen rezin kompozitler arasında sitotoksik etkisi en yüksek gruplar olarak belirlenmiştir. İki zaman aralığındaki değerler karşılaştırıldığında Charisma Diamond One, Essentia Universal ve Omnicroma zaman içinde anlamlı bir değişim göstermemiştir. Rezin kompozitlerle

inkübe edilen hücrelerin total antioksidan kapasiteleri karşılaştırıldığında Charisma Diamond One ile inkübe edilen hücreler en yüksek değerleri gösterirken Omnichroma grubu test edilen diğer rezin kompozitlerden anlamlı derecede düşük değer göstermiştir.

Bu *in-vitro* çalışmanın kısıtlılıkları dahilinde rezin kompozitlerin sitotoksitesini azaltacak işlemlerin (polisaj, gliserin jel uygulaması, ışık süresinin arttırılması vb.) daha dikkatli uygulanması önerilebilir.

Anahtar Sözcükler: tek renkli universal rezin kompozit, sitotoksiste, total antioksidan kapasite, rezin monomer



ABSTRACT

Evaluation of Total Antioxidant Capacity and Cytotoxicity of Single Shade Universal Resin Composites

Kırıkkale University

Faculty of Dentistry

Specialty Thesis in Restorative Dentistry

Supervisor: Asst. Prof. Gökhan KARADAĞ

November 2024

The aim of this study is to compare the total antioxidant capacity and cytotoxicity of single-shade universal resin composites. Single-shade universal resin composites are contemporary restorative dental materials that eliminate the need for shade selection during clinical procedures. Due to their active use in clinical applications, understanding their effects on cells is of great importance. For this purpose, in this study, the cytotoxic effects of seven different commercially available single-shade universal resin composites (Vittra APS Unique (FGM Dental Group, Brazil), Clearfil Majesty Es-2 Universal (Kuraray Noritake Dental Inc., Japan), X-tra fill (VOCO, Germany), Zenchroma (President Dental, Germany), Charisma Diamond One (Kulzer, Germany), Essentia Universal (GC, Japan), Omnicroma (Tokuyama, Japan)) on human gingival fibroblast cells were evaluated on day 1 and day 7. Additionally, the total antioxidant capacity of the cells was compared. MTT assay was used for the cytotoxicity analysis, and the FRAP test was applied to determine the total antioxidant capacity of the cells. The data obtained from the study were statistically analyzed using the Kruskal-Wallis H test and the Wilcoxon signed-rank test ($p < 0.05$).

In the one-day cytotoxicity test, Charisma Diamond One was identified as the group with the highest cytotoxic effect among the tested resin composites. Cells incubated with Zenchroma, Clearfil Majesty Es-2 Universal, and Vittra APS Unique exhibited similar viability to the control group. When examining the seven-day results, all resin composites caused a significant reduction in cell viability compared to the control group. Charisma Diamond One and Zenchroma were determined to have the highest cytotoxic effects among the tested resin composites in the seven-day results. When

comparing the values at the two time points, Charisma Diamond One, Essentia Universal, and Omnicroma did not show significant changes over time. In the comparison of the total antioxidant capacities of the cells incubated with resin composites, cells incubated with Charisma Diamond One exhibited the highest values, while the Omnicroma group showed significantly lower values compared to the other tested resin composites.

Within the limitations of this *in-vitro* study, it is recommended that procedures designed to mitigate the cytotoxicity of resin composites (e.g. polishing, glycerine gel application, increasing the light-curing time, etc.) be performed with precision and caution.

Keywords: Single shade composite, cytotoxicity, total antioxidant capacity, resin monomer



1. GİRİŞ

Restoratif diş hekimliğinde doğru tanı ve tedavi ile yapıların bütünlüğünün korunması sağlanarak estetik ve fonksiyonun yeniden kazandırılması amaçlanmaktadır. Adeziv diş hekimliği Dr. Buonocorre'un mineyi asitle pürüzlendirme tekniğini tanıtmasıyla başlamıştır (Buonocore, 1955). Adeziv diş hekimliğindeki gelişmeler sayesinde, doğal diş dokusundan minimum kayıp ile restorasyonları yapmak mümkün olmaktadır (Fahad ve Majeed, 2014). Adeziv diş hekimliğinde en sık kullanılan materyal olan rezin kompozitler ilk olarak Dr. Bowen tarafından tanıtılmış ve günümüzde de geliştirilmesi devam etmektedir (Bowen, 1962).

Restoratif diş hekimliğinde altın standart olan rezin kompozitler hastaların estetik beklentilerini karşılamalı, diş yapısal bütünlüğünü geri kazandırmalı, mekanik olarak dayanıklı ve canlı dokular için biyouyumlu olmalıdır (Wiertelak-Makala, Szymczak-Pajor, Bociong ve Śliwińska, 2023).

Rezin kompozit restorasyonlarda doğal dişlerin optik özelliklerini karşılamak için her tabakada farklı renk ve opasitede rezin kompozitlerin kullanıldığı tabakalama tekniği uzun yıllardır kullanılmaktadır. Bu teknik renk uyumu için yeterli sonuçlar sağlasa da teknik beceri gerektirmekte ve hasta başında geçen süreyi uzatmaktadır. (Dietschi ve Fahl, 2016).

Renk seçimi çevresel faktörlere ve klinisyene bağlı olduğundan dolayı bu aşamayı kolaylaştırmak için tek renkli universal rezin kompozitler geliştirilmiştir. Tek renkli universal rezin kompozitler çevre diş dokusunun rengini yansıtmaları sayesinde renk seçimi aşamasını ortadan kaldırır ve dişle uyumlu restorasyonlar yapılmasına olanak sağlar (Ahmed, Jouhar ve Khurshid, 2022). 2019 yılında Tokuyama firması tarafından tanıtılan Omnicroma ilk tek renkli universal rezin kompozittir (Eliezer, Devendra, Ravi, Tangutoori ve Yesh, 2020). Zaman içerisinde farklı üretici firmalar da bu özellikte rezin kompozitler üreterek piyasaya sürmüşlerdir (Yılmaz Atalı vd., 2022).

Yapılan restorasyonlar ağız boşluğu ile temas halinde olduğundan biyouyumlu olmalıdır (Kavuncu vd., 2020). Rezin kompozitlerin polimerizasyonunun %100 olmaması nedeniyle oluşan artık monomerler ve yaşlanma, aşınma, hidroliz gibi nedenlerle ağız ortamında bozulması sonucu oluşan ürünler hücreler üzerinde oksidatif stresi indükleyerek hücre içi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan üretim kapasitesini aşar. Bu durum hücrede reaktif oksijen türlerinin üretimine neden olur. Reaktif oksijen türlerinin üretimi rezin kompozitlerin sitotoksitesinde erken belirteçlerden biri olarak tanımlanmaktadır (Poljsak, Šuput ve Milisav, 2013; Shahi vd., 2019; Wiertelak-Makala vd., 2023).

Araştırmacılar genellikle tek renkli universal rezin kompozitlerin optik özellikleri üzerine çalışmışlardır (De Abreu, Sampaio, Benalcázar Jalkh ve Hirata 2021; Ersöz, Karaoğlu, Oktay ve Aydin, 2022; Lucena, Ruiz-López, Pulgar, Della Bona ve Pérez, 2021). Yılmaz Atalı vd. (2022) yılında yaptığı çalışmada tek renkli universal rezin kompozitlerin fiziksel ve mekanik özelliklerini incelemiştir. Çalışmanın sonucunda test edilen rezin kompozitler Uluslararası Standartlar Teşkilatı (International Organization for Standardization-ISO) standartlarına uygun bulunmuştur. Araştırmacılar tek renkli universal rezin kompozitlerden bazılarının hücreler üzerinde oluşturduğu toksik etkiyi konvansiyonel rezin kompozitlerle karşılaştırırsa da bu konudaki çalışmalar kısıtlıdır.

Bu tez çalışmasında 7 farklı tek renkli universal rezin kompozitle inkübe edilen insan gingival fibroblast hücre hattının (HGF-1) total antioksidan kapasitesi ve bu kompozitlerin hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi *in-vitro* olarak incelenmiştir.

Çalışmanın sonuçları klinisyenlerin kullandığı rezin kompozit seçimini ve sitotoksitesiyi azaltacak işlemleri (oksijen inhibisyon zonu ve artık monomer oluşumunu azaltma, dönüşüm derecesini artırma gibi) daha dikkatli uygulamayı etkileyecektir. Böylece hastaların periodontal hastalık ve diş çürüğü riski azalarak tedavi maliyetleri düşecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Rezin Kompozitler

Günümüzde rezin kompozitler restoratif materyaller arasında ilk tercihtir. Restoratif diş hekimliğinde altın standart olan rezin kompozitlerin; diş dokusuna adezyonla bağlanması, dişin yapısal bütünlüğünü geri kazandırması, üstün estetik sağlaması ve uygun mekanik performans gibi avantajları mevcuttur (Demarco, Corrêa, Cenci, Moraes ve Opdam, 2012; Riva ve Rahman, 2019; Smith vd., 2023; Wiertelak-Makala vd., 2023).

Bu avantajlara rağmen polimerizasyon büzülmesi ve buna bağlı oluşabilecek sekonder çürükler, renklenmeler, chipping veya kırıklar, zaman içinde gelişen degradasyon-bozunmaya bağlı gelişebilecek hücresel toksisite gibi problemler hala devam etmektedir (Demarco vd., 2012; He, Lassila, Garoushi ve Vallittu, 2023; Khan vd., 2023). Bu problemlerin giderilebilmesi için rezin kompozitlerin gelişimi hızla devam etmektedir (Wiertelak-Makala vd., 2023).

2.1.1. Rezin Kompozitlerin Yapısı

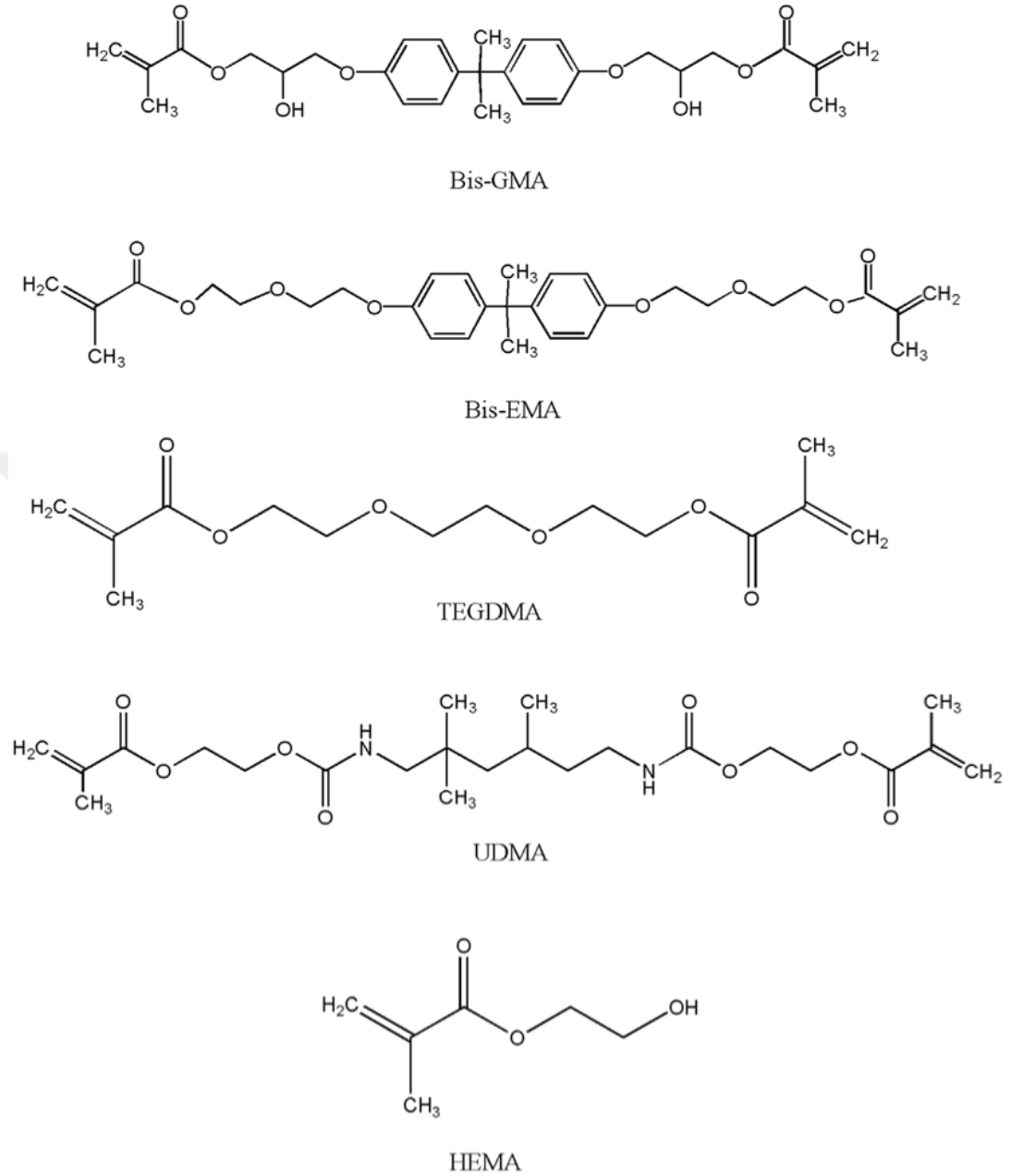
Rezin kompozitler; organik matriks fazı, inorganik faz ve ara faz olmak üzere üç temel bileşenden oluşmaktadır (Alzraikat, Burrow, Maghaireh ve Taha, 2018).

2.1.1.1. Organik Matriks Fazı

Organik matriks fazı; monomer, inhibitör, polimerizasyon başlatıcı ve aktivatörlerden oluşmaktadır (Dayangaç, 2000; Uluakay, İnan, Yamanel ve Arhun, 2011).

Restoratif materyallerin; fiziksel ve mekanik özelliklerinin geliştirilmesi için sıklıkla bisfenol A-glisidil metakrilat (BisGMA), trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA), üretan dimetakrilat (UDMA), hidroksietil metakrilat (HEMA), bisfenol A etoksi dimetakrilat (BisEMA), etilen glikol dimetakrilat (EDMA), metil metakrilat (MMA),

üretan tetra metakrilat (UTMA) gibi monomerler kullanılmaktadır (Celik, 2017; Dayangaç, 2000).

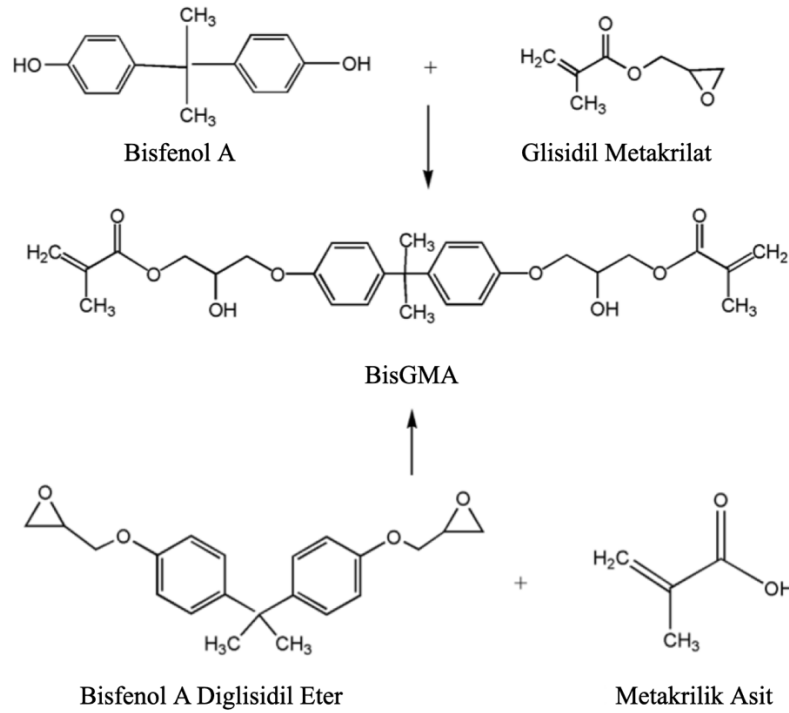


Şekil 2.1. Diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan monomerlerin moleküler yapıları
(Pratap, König, Hellwig ve Kümmerer, 2019)

- **Bisfenol A-Glisidil Metakrilat (BisGMA)**

1960'lı yıllarda Dr. Bowen tarafından geliştirilen BisGMA (2, 2-bis [4-(2-hidroksi-3-metakriloloksipropoksi)]-fenil propan), bisfenol A'nın metakrilik asit ve diglisidil eterinin bir reaksiyon ürünüdür veya alternatif olarak Şekil. 2.2'de gösterildiği gibi

bisfenol A ve glisidil metakrilatın ilave reaksiyonu yoluyla da meydana gelir (Bowen, 1963; Peutzfeldt, 1997).



Şekil 2.2. BisGMA sentez reaksiyonu (Pratap vd., 2019)

Moleküler yapısı Şekil 2.1’de gösterilen BisGMA, rezin bazlı dental materyaller arasında en sık kullanılan monomerdır (Yoshinaga, Yoshihara ve Yoshida, 2021). BisGMA’nın metil metakrilat gibi diğer küçük boyutlu monomerlere göre daha düşük büzülme, yüksek elastisite modülü ve daha düşük toksisiteye sahip olma avantajları vardır (Pratap vd., 2019). Yüksek viskozite ve düşük dönüşüm derecesi BisGMA’nın dezavantajlarından (Peutzfeldt, 1997). BisGMA’nın yüksek viskozitesiyle başa çıkmak için daha esnek olan dimetakrilat monomeri, yani TEGDMA kullanılmaktadır (Kumar, Patnaik ve Bhat, 2016). Monomer karışımının viskozitesi ne kadar düşük olursa, kompozite daha fazla doldurucu eklenebilir. Diğer tüm bileşenler eşit olduğunda doldurucu içeriğinin artması kompozitin; dayanıklılık, sertlik ve termal genleşme katsayısı gibi mekanik özelliklerini iyileştirecektir. Ancak BisGMA’nın seyreltilmesi polimerizasyon büzülmesini arttırabilir (Peutzfeldt, 1997).

BisGMA diğer monomerlere kıyasla daha yüksek kırılma direncine sahip olduğu için rezin kompozitlerde kullanılması için iyi bir seçimdir (Pratap vd., 2019).

- **Trietilen Glikol Dimetakrilat (TEGDMA)**

Etilenin yüksek sıcaklık ve gümüş oksit katalizörü varlığında oksidasyonu, hidrasyon sonrasında reaksiyon ürünü olarak trietilen glikol (TEG) veren etilen oksiti üretir. Metakrilik asit, TEG ile reaksiyona girdiğinde TEGDMA olarak bilinen bir dimetakrilat oluşur. Bu reaksiyonda, metakrilat grupları TEG'in her iki ucuna bağlanır (Pratap vd., 2019). TEGDMA'nın moleküler yapısı Şekil 2.1'de gösterilmiştir.

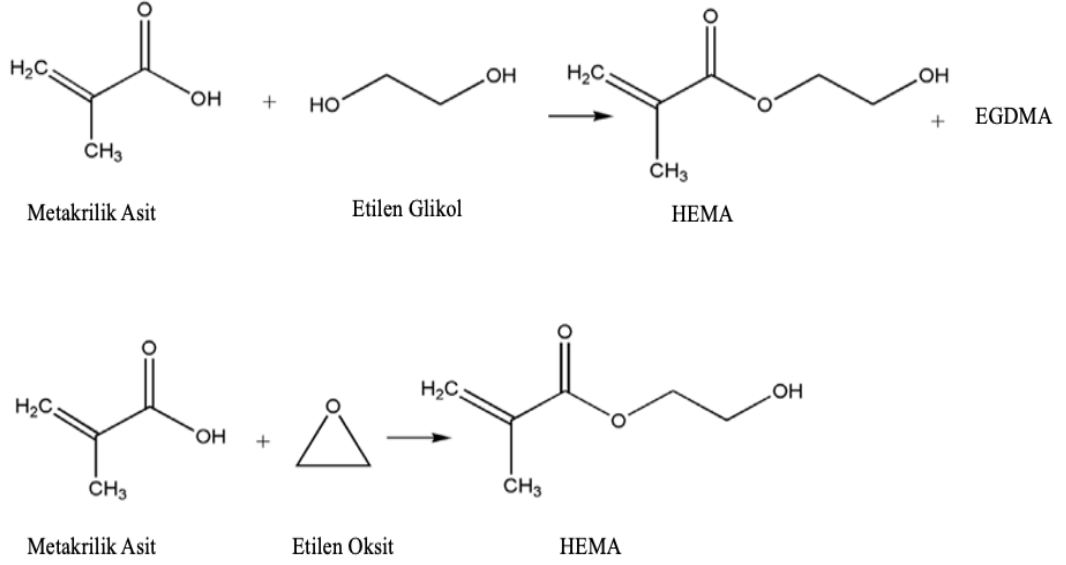
TEGDMA zincirleri arasındaki polar bağ etkileşimi zayıftır ve omurga yapısı oldukça esnektir, bu da düşük viskoziteye yol açar (Pratap vd., 2019). Daha az viskozite nedeniyle, BisGMA için seyreltici olarak kullanılır ve daha yüksek dolgu yükü ile rezin kompozitin kullanımını iyileştirir (Kumar vd., 2016). Bununla birlikte, rezin matrisine TEGDMA eklemenin başlıca dezavantajları; yüksek su absorpsiyonu, azalmış mekanik özellikler ve düşük renk stabilitesidir (Pratap vd., 2019)

- **Bisfenol A Etoksi Dimetakrilat (BisEMA)**

BisGMA'nın hidroksil grubunun bir epoksi türü ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$) ile değiştirilmesi sonucu BisGMA'nın hidrofobik bir analogu olan BisEMA olarak bilinen, moleküler yapısı Şekil 2.1'de gösterilen bisfenol a etoksi dimetakrilat elde edilir. Etoksilasyon reaksiyonu için genellikle reaktif molekül olan etilen oksit kullanılır. TEGDMA yerine rezin matrisinde kullanılmasını sağlayan düşük viskozitesi, düşük su absorpsiyonu ve düşük polimerizasyon büzülmesi BisEMA'nın başlıca avantajlarıdır (Pratap vd., 2019).

- **Hidroksietil Metakrilat (HEMA)**

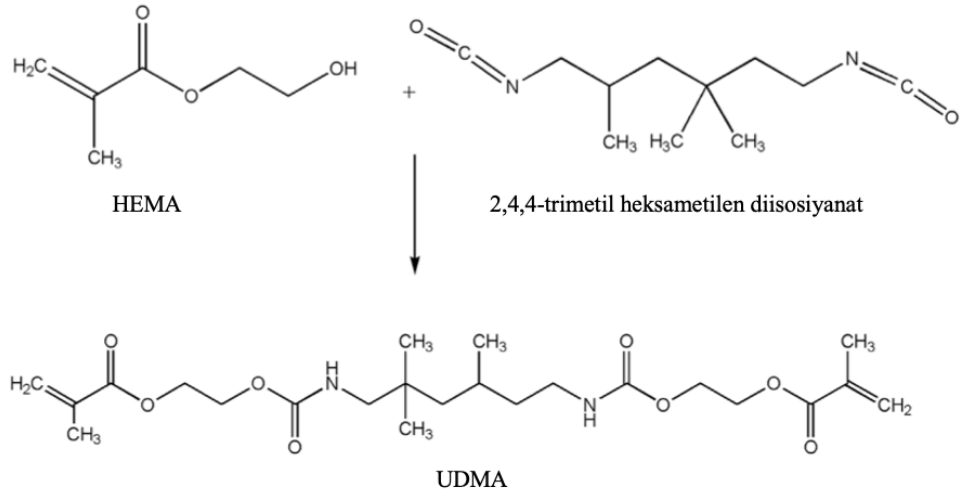
Hidrofilik özellikleri ile karakterize edilen ve çoğu adeziv sistemin önemli bir bileşeni olan HEMA düşük moleküler ağırlıklı bir monomerdur. Moleküler yapısı Şekil 2.1'de gösterilen HEMA, Şekil 2.3'de gösterildiği gibi metakrilik asitten; etilen glikolün transesterifikasyon reaksiyonu veya etilen oksit ve metakrilik asitin reaksiyonu yoluyla sentezlenir (Pratap vd., 2019).



Şekil 2.3. HEMA sentez reaksiyonu (Pratap vd., 2019)

- **Üretan Dimetakrilat (UDMA)**

Foster ve Walter tarafından 1974 yılında geliştirilen, moleküler yapısı Şekil 2.1’de gösterilen UDMA; Şekil 2.4’de gösterildiği gibi HEMA ve 2,4,4-trimetil heksametilen diisosiyanatın reaksiyon ürünüdür (Polydorou, König, Hellwig ve Kümmerer, 2009b). Dördüncü monomer zincirinde bir fenol halkasının olmaması, BisGMA’ya kıyasla daha yüksek esneklik ve dayanıklılığa yol açar (Pratap vd., 2019). Ayrıca UDMA bazlı rezin kompozitler, BisGMA bazlı rezin kompozitlere göre daha yüksek dönüşüm derecesine sahiptir (Stansbury ve Dickens, 2001). Önemli ölçüde daha düşük viskozite ve dolayısıyla UDMA’nın daha yüksek hareketliliği nedeniyle ticari olarak temin edilen birçok rezin kompozitte BisGMA’nın yerini almıştır (Polydorou vd., 2009b; Pratap vd., 2019).



Şekil 2.4. UDMA sentez reaksiyonu (Pratap vd., 2019)

UDMA, ikincil amin (-NH-) ve karbonil grupları (C=O) arasındaki hidrojen bağı nedeniyle TEGDMA ve BisEMA'dan daha yüksek viskozite gösterir, ancak bu BisGMA'nın viskozitesinden çok daha düşüktür, çünkü imino grupları hidroksil gruplarına kıyasla daha zayıf hidrojen bağları oluşturur (Khatrı, Stansbury, Schultheisz ve Antonucci, 2003; Pratap vd., 2019).

UDMA veya diğer üretan dimetakrilat bazlı rezin kompozitler ile BisGMA bazlı rezin kompozitler arasındaki farkın *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalardan anlaşılması zordur. Bu zorluğun nedeni bu monomer sistemlerinin neden olduğu farklılıkların doldurucu türü ve miktarı, fotobaşlatıcıların türü ve miktarı, silanizasyon kalitesi gibi birçok faktörden etkilenmesidir. Ancak bu monomer seçiminin önemsiz olduğu anlamına gelmez. Monomer sistemi dışındaki değişkenler sabit tutulduğu *in-vitro* çalışmaların sonuçları; UDMA bazlı rezin kompozitlerin BisGMA bazlı rezin kompozitlere kıyasla gelişmiş mekanik özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Bunun yanında üretan dimetakrilat bazlı rezin kompozitlerde dönüşüm derecesi BisGMA-TEGDMA karışımlarına göre daha yüksektir. Diğer her şey eşitse bu durum rezin kompozitin biyouyumluluğunun artmasıyla sonuçlanacaktır (Peutzfeldt, 1997).

Günümüzde de başarı ile kullanılan BisGMA, UDMA gibi metakrilat bazlı sistemler daha düşük viskoziteli monomerlerin elde edilmesi amacıyla modifiye edilmektedir (Yoshinaga vd., 2021). Hidroksil içermeyen BisGMA, alifatik üretan dimetakrilat (UEDMA), aromatik üretan dimetakrilat ve metakrilatlar daha düşük viskoziteli monomerlere örnek verilebilir (Ilie ve Hickel, 2011).

Ek olarak, spiro-ortokarbonatlar gibi açılabilir halka monomerler de rezin kompozitlere eklenerek polimerizasyon büzülmesinin hiç olmaması veya çok az olması hedeflenmiştir (Eick, Robinson, Byerley ve Chappelow, 1993). Dimer asit-baz dimetakrilatlar, trisiklodekan (TCD)  retan ve organik modifiye seramikler gibi yüksek monomer ağırlığına sahip monomerler de aynı amaçla geliştirilmiştir (Ilie ve Hickel, 2011; Moszner, Gianasmidis, Klapdohr, Fischer ve Rheinberger, 2008).

- **Polimerizasyon Başlatıcılar ve Aktivatörler**

Uçlarında bir metakrilat grubu bulunan lineer moleküller, rezin kompozitte en sık kullanılan monomerlerdir. Zincir büyüme polimerizasyonu, monomerlerin polimerizasyon yoluyla polimerlere üç aşamada (başlatma, yayılma ve sonlandırma) dönüştürülmesinden sorumludur. Metakrilat bazlı rezin kompozitlerin çoğunda fotobaşlatıcılar tarafından serbest radikaller oluşturulur (Pratap vd., 2019).

Dental rezinler 1970'li yıllardan itibaren fotopolimerizasyon prensibi ile polimerize edilmiştir. Fotopolimerizasyon süreci, fotobaşlatıcı ve bir elektron donörü veya tersiyer aminden oluşan fotobaşlama sistemiyle başlar (Pratap vd., 2019). İki tip fotobaşlatıcı vardır:

Tip-1; homolitik bölünme üzerine polimerizasyonu başlatan iki radikal veren düşük enerjili bağlara sahip fotobaşlatıcılardır. Trimetilbenzoil-difenilfonsin oksit (TPO), benzoil peroksit (BPO) tip 1 fotobaşlatıcılardır. Tip-1 fotobaşlatıcılar UV-A ve görünür ışığı güçlü bir şekilde absorbe eder (Kowalska, Sokolowski ve Bociong, 2021).

Tip-2; radikallerin oluşması için kobaşlatıcılara ihtiyaç vardır. Kobaşlatıcılar genellikle üç zincirli nitrojen atomuna sahip ve protonu yüksek derecede uyarılmış başlatıcıya vererek serbest radikal oluşturan tersiyer aminlerdir. Mavi ışığa maruz kalmasıyla başlatıcı-kobaşlatıcıdaki elektron değişimi hidrojen soyutlanması yoluyla radikaller üretir. Kamforakinon (CQ), fenantrekinon (PQ), benzofenon (BP) tip-2 fotobaşlatıcılardır (Kowalska vd., 2021; Pratap vd., 2019).

Aminler, başlatıcı radikaller yoluyla proton ve elektron transferi yoluyla polimerizasyonu hızlandırmak için aktivatörler olarak kullanılır. En sık kullanılan aktivatörlerden biri olan N, N-dimetil-p-toludinin (DMPT) düşük molekül ağırlığından dolayı toksik olduğu bildirilmektedir. Etil-4-(dimetilamino)benzoat (4-EDMAB), 2-

(N,N-dimetilamino) etil metakrilat (DMAEMA) bilinen diğer aktivatörlerdir (Dunnick, Brix, Sanders ve Travlos, 2014; Khatri vd., 2003; Pratap vd., 2019).

- **İnhibitörler**

Monomerlerin kendi kendine polimerize olmasını engellemek amacı ile organik matriks içine eklenen inhibitörler fenol türevi bileşiklerdir. En yaygın kullanılan inhibitörler 4-metoksifenol ve 2,4,6-tritersiye bütülfenoldür (Dayangaç, 2000).

- **Ultraviyole stabilizatörleri**

Özellikle kimyasal sertleşen kompozitlerin polimerizasyonunun ardından reaksiyona girmeyen artık ürünler ultraviyole ışığın etkisiyle kahverengi renklenmelere neden olabilir. Bunu engellemek amacıyla kompozitlerin içerisine 2-hidroksi 4-metoksi benzofenon gibi UV stabilizatörleri eklenmiştir (Dayangaç, 2000; Kowalska vd., 2021).

2.1.1.2. İnorganik Faz

Organik matriksi güçlendirmek, materyalin optik özelliklerini iyileştirmek, polimerizasyon büzülmesini ve su emilimini azaltmak amacıyla organik matriks içinde dağılmış halde bulunan çeşitli şekil ve boyutlarda inorganik doldurucular rezin kompozitin yapısına eklenmiştir (Ilie ve Hickel, 2011; Pratap vd., 2019). Kuartz, koloidal silika, borosilikat cam, lityum alüminyum silikat, stronsiyum, baryum alüminyum silikat, stronsiyum alüminyum silikat inorganik dolduruculardandır (Dayangaç, 2000; Zimmerli, Strub, Jeger, Stadler ve Lussi, 2010).

İnorganik doldurucular rezin kompozitin dayanıklılık, elastikiyet, aşınma direnci ve marjinal uyum gibi fiziksel özelliklerini iyileştirir (Zimmerli vd., 2010). İçerisine eklenen stronsiyum, baryum, çinko, zirkonyum gibi maddelerle rezin kompozite radyoopak özellik kazandırır (Burgess, Walker ve Davidson, 2002). Resin kompozitin şekillendirilmesini ve uygulanabilmesini kolaylaştırır ve daha iyi estetik özellik kazandırır (Klapdohr ve Moszner, 2005).

İnorganik doldurucu boyutu ortalama 10-50 µm olan makrofil rezin kompozitler 1960 ve 1970'lerde silikatlara alternatif olarak tanıtıldı (Bowen, 1963; Pratap vd., 2019; Puckett, Fitchie, Kirk ve Gamblin 2007; Zimmerli vd., 2010). İnorganik doldurucu boyutu giderek azalmaya başladı ve sonucunda mikrofil, mikrohibrit, nanofil ve nanohibrit rezin kompozitler üretildi. Doldurucuların azaltılmış boyutu ve artan

doldurucu içeriği nedeniyle daha estetik ve mekanik performansı yüksek malzemeler elde edildi (Celik, 2017).

2.1.1.3. Ara Faz

Rezin kompozitte organik matriks ile inorganik faz arasında sıkı bir bağlanmaya ihtiyaç vardır. Bu bağlanma silanlarla sağlanır (Dayangaç, 2000). Silan inorganik doldurucuları kaplayarak organik matriks ile birleşmesini sağlar. Sonuçta bir tarafında metakrilat, diğer tarafında silan bulunan iki faz arasında kovalent bağa sahip bir molekül oluşur. Doldurucuların silan ile organik matrikse bağlanması mekanik ve fiziksel özellikler için çok önemlidir. Silan, yoğun kuvvet altında yükün doldurucuya aktarılmasını böylece iki fazın ayrılmasını sağlar (Pratap vd., 2019). Silan bağlama ajanları ayrıca rezin-doldurucu ara yüzü boyunca suyun geçişini önleyerek hidrolitik dengeyi sağlarken rezinin çözünürlüğünü ve su emilimini azaltır (Dayangaç, 2000).

Rezin kompozitlerde en sık kullanılan silan 3-metakrilolpropiltrimetoksisilandır (MPTS) (Pratap vd., 2019). Üretan dimetakrilat silan (UDMS), 10-metakriloksisipiltrimetoksisilon (MDTMD), oktiltrimetoksisilan (OTMS) gibi silanlar da rezin kompozit yapısına katılmaktadır (Karabela ve Sideridou, 2008).

2.1.2. Rezin Kompozitlerin Sınıflandırılması

Rezin kompozit geleneksel olarak; inorganik doldurucu boyutuna, rezin kompozitin viskozitesine ve polimerizasyon şekline göre sınıflandırılabilir (Dayangaç, 2000).

2.1.2.1. İnorganik Doldurucu Boyutuna Göre

Megafil Rezin Kompozitler: 50-100 μm büyüklüğünde inorganik doldurucu partiküllere sahip rezin kompozitlerdir. Yüksek aşınma oranı ve düşük polisajlanabilme kapasitesiyle kötü estetiğe yok açar (Pratap vd., 2019).

Makrofil Rezin Kompozitler: 10-100 μm büyüklüğünde inorganik doldurucu partiküllere sahip rezin kompozitlerdir. Kuartz ve/veya cam yapıdaki doldurucu partikülleri içerir. Rezin kompozitin polisajlanabilme kapasitesi ve renk stabilitesi düşüktür (Dayangaç, 2000; Pratap vd., 2019).

Midifil Rezin Kompozitler: 1-10 μm büyüklüğünde inorganik doldurucu partiküllere sahip rezin kompozitlerdir. Bu partikül boyutu mikrofil rezin kompozitlerden daha

yüksek dayanıklılık, makrofil rezin kompozitlerden daha iyi polisajlanabilirlik sağlamaktadır (Burgess vd., 2002; Dayangaç, 2000).

Minifil Resin Kompozitler: 0,1-1 μm büyüklüğünde inorganik doldurucu partiküllere sahip rezin kompozitlerdir. Doldurucu partikül boyutu küçüldüğü için ağırlıkça oranı %75-80'lere ulaşmıştır (Dayangaç, 2000). Baryum ve stronsiyum gibi cam yapıdaki dolduruculara sahiptir. Bu sayede aşınma direnci ve polisajlanabilme kapasitesi artmıştır (Celik, 2017).

Mikrofil Resin Kompozitler: 0,01-0,1 μm (ortalama 0,04 μm) büyüklüğünde inorganik doldurucu partiküllerine sahip rezin kompozitlerdir (Burgess vd., 2002). Mikrofil rezin kompozitlerin doldurucu miktarı makrofil rezin kompozitlerden hacimce azdır ve doldurucu oranı ağırlığının %35-60'ını oluşturur (Dayangaç, 2000). Mikrofil rezin kompozitler estetiğin önemli olduğu restorasyonlarda tercih edilmektedir (Ilie ve Hickel, 2009; Pratap vd., 2019).

Nanofil Resin Kompozitler: İnorganik doldurucu partikülleri 5-100 nm (ortalama 2-20 nm) büyüklüğünde olan rezin kompozitlerdir (Dayangaç, 2000; Pratap vd., 2019). Nanofil rezin kompozitlerin; daha iyi mekanik ve optik özelliklere sahip olması, düşük polimerizasyon büzülmesi göstermesi, daha iyi polisajlanabilmesi gibi avantajlara sahiptir (Pratap vd., 2019).

Hibrit Resin Kompozitler: Makrofil ve mikrofil rezin kompozitlerin olumlu özelliklerinden yararlanabilmek amacıyla geliştirilen farklı büyüklükte inorganik doldurucu içeren rezin kompozitlerdir. Hibrit rezin kompozitin türünün belirlenmesinde yüzdesi en fazla olan inorganik doldurucunun adı kullanılır. Mikro doldurucuların oranı yüksekse mikrohibrit, nano doldurucuların oranı yüksekse nanohibrit olarak adlandırılır (Dayangaç, 2000; Pratap vd., 2019).

Hibrit rezin kompozitlerin inorganik doldurucu oranı ağırlıklarının %70-80'i kadar olmaktadır. Farklı büyüklüklerde inorganik doldurucu içermesi materyalin aşınma ve kırılma direncini artırır, polisajlanabilme kapasitesini geliştirir. Böylece hem estetiğin önemli olduğu anterior bölgede hem de dayanıklılığın önemli olduğu stres altındaki posterior bölgede kullanılabilir (Dayangaç, 2000).

2.1.2.2. Rezin Kompozitin Viskozitesine Göre

Kondanse Olabilen (Tepilebilir) Rezin Kompozitler: Amalgama alternatif olarak geliştirilen bu rezin kompozitler yüksek oranda (hacimce %60-75) inorganik doldurucu içermektedir. Bu rezin kompozitlerdeki viskozite artışı partiküllerin boyut, şekil ve dağılımında yapılan değişikliklerle sağlanmıştır. Kondanse olabilen rezin kompozitlerin avantajları arasında kontakt noktalarının ideale yakın yapılabilmesi, şekillendirmenin daha kolay yapılması, daha düşük polimerizasyon büzülmesi, daha yüksek aşınma direnci, daha iyi polimerizasyon derinliği göstermesi vardır (Dayangaç, 2000; Ilie ve Hickel, 2009; Puckett vd., 2007).

Akışkan Rezin Kompozitler: Düşük viskoziteli hibrit rezinlerdir (Helvatjoglu-Antoniades vd., 2006). Kavite duvarlarına adaptasyonları tepilebilir kompozitlere göre oldukça iyidir. İnorganik doldurucu miktarı az (ağırlıkça %45-67) olduğu için aşınmaya karşı dirençleri düşüktür (Dayangaç, 2000).

Fissür sealant ve kavite liner olarak, servikal abfraksiyon lezyonlarında ve küçük kavitelere kullanılmaktadır. Kondanse olabilen rezin kompozitlerin altında stres kırıcı olarak da kullanılabilir (Helvatjoglu-Antoniades, Papadogiannis, Lakes, Dionysopoulos ve Papadogiannis, 2006; Bagherian ve Shiraz, 2018; Magne ve Belser, 2023).

2.1.2.3. Polimerizasyon Şekline Göre

Kimyasal Olarak Polimerize Olan (Otopolimerizan) Kompozitler: Bu tip kompozitler firmalar tarafından çift pat sisteminde üretilmişlerdir. Polimerizasyon iki patın karıştırılması ile başlar. Patların ikisi de organik monomer ve doldurucu içerir. Patlardan biri polimerizasyon başlatıcı benzoil peroksit, diğeri aktivatör organik amin içerir. İki patın karıştırılmasıyla amin, benzoil peroksit ile reaksiyona girer ve polimerizasyon başlamış olur. İki patın karıştırılması sırasında arada kalan hava kabarcıklarının poröziteye neden olması, uygulama süresinin hekimin kontrolünde olmaması, içerdiği aminin zamanla renklenmesi bu kompozitlerin dezavantajlarıdır (Altun, 2005; Dayangaç, 2000; Kowalska vd., 2021; Stansbury, 2000).

Işık ile Polimerize Olan (Fotopolimerizan) Rezin Kompozitler: İlk olarak 1972 yılında tek pat sistemi ile üretilen bu rezin kompozitlerin polimerizasyonu ışık aktivasyonu ile başlar (Stansbury, 2000; Windle, Hill, Tantbirojn ve Versluis, 2022). İlk üretildiklerinde yaklaşık 365 nm dalga boyuna sahip UV cihazlar ile polimerize

olan bu kompozitlerin polimerizasyonunda yıllar geçtikçe kuvars tungsten halojen lambalar (QHT), ışık yayan diyot üniteleri (LED), plazma ark lambaları ve argon iyon lazer cihazları kullanılmıştır (Szalewski, Wójcik, Sofińska-Chmiel, Kuśmierz ve Różyło-Kalinowska, 2022).

Işıkla polimerize olan rezin kompozitlerin avantajları arasında; tek pat şeklinde olması böylece karıştırma işlemi gerektirmemesi ve daha az porözite görülmesi, çalışma süresinin hekimin kontrolünde olması ve kullanımının daha kolay olması, tabakalama tekniği kullanılarak daha az polimerizasyon büzülmesi görülmesi ve renginin daha stabil olması vardır (Dayangaç, 2000; Stansbury, 2000).

Hem Kimyasal Hem de Işık ile Polimerize Olan (Dual-Cure) Kompozitler:

İçeriğinde kimyasal başlatıcılarla birlikte fotokimyasal başlatıcıları da içeren bu kompozitlerin polimerizasyonu ışık ile başlamakta; ışığın erişemediği yerlerin polimerizasyonu kimyasal reaksiyon ile tamamlanmaktadır. Derin kavitelerde, görüşün zor olduğu interproksimal bölgelerde, fiber postlarda, lamineler ve zirkon altyapılı porselenlerde simantasyon materyali olarak kullanılmaktadır (Dayangaç, 2000; Vandewalker, Casey, Lincoln ve Vandewalker, 2016; Windle vd., 2022).

2.1.3. Rezin Kompozitlerdeki Güncel Gelişmeler

Günümüzde yapacağımız restorasyonlar için rezin kompozit seçimi önemli ve kritik bir süreçtir. Seçtiğimiz rezin kompozitin yüksek kırılma dayanımına ve yüzey sertliğine sahip olması, düşük aşınma, su emilimi ve çözünürlük göstermesi, polimerizasyon büzülmesinin az olması gibi mekanik özellikler istenmektedir. Aynı zamanda, biyouyumlu olması, postoperatif hassasiyete neden olmaması, dışın yapısal bütünlüğünü korumasının yanı sıra sekonder çürükleri önlemesi, renk uyumunun ve stabilitesinin sağlanması, renk seçiminin kolay olması, polisajlanabilme kapasitesinin yüksek olması ve bunu koruması da istenen özellikler arasında yer almaktadır (Celik, 2017).

İstenen özellikleri karşılayabilmek, materyali her yönüyle mükemmel hale getirebilmek için farklı özelliklere sahip birçok ticari ürün piyasaya sunulmaktadır.

2.1.3.1. Bulk Fill Rezin Kompozitler

Klinik işlemleri basitleştirmek ve hızlandırmak için mevcut materyallerin bulk fill formları geliştirilmiştir (Magne ve Belser, 2023). Geleneksel rezin kompozitler

kaviteye inkremental (tabakalı yerleştirme) teknikle yerleştirilmektedir. Bu sayede ışık materyale daha iyi nüfuz eder, polimerizasyon büzülme stresi azalır. Ancak bu teknikte, tabakalar arası hava kabarcığı kalması, iki tabakanın bağlanmaması, çalışma süresinin uzaması gibi dezavantajlar mevcuttur. Bulk fill rezin kompozitler büyük miktarda ve tek tabakada yerleştirilebilir. Böylece klinik çalışma süresi kısalmış ve daha az teknik hassasiyet gerektirir (El-Damanhoury ve Platt, 2014; El-Safty, Silikas ve Watts, 2012).

Üreticiler için polimerizasyon derinliği bir endişe kaynağı olmuştur. Üreticiler polimerizasyon derinliğini arttırmak için doldurucu içeriğini azaltma, doldurucu partikül boyutunu arttırma ve ilave fotobaşlatıcılar ekleme gibi yöntemleri kullanmaktadır (Chesterman, Jowett, Gallacher ve Nixon, 2017). Bu yöntemlerin yanında en basit yöntem translusent doldurucu oranının arttırılmasıdır. Bulk fill rezin kompozitlerin translusentlikleri içerdikleri baryum alüminyum silikat cam, iterbiyum triflorit ve zirkonyum silika partikülleri sayesinde artar. Bu durum ışık gücünün daha derinlere ulaşmasını sağlar (Bucuta ve Ilie, 2014).

Bulk fill rezin kompozitler için bir diğer endişe ise rezin kompozitin kaviteye büyük miktarda yerleştirildiği için polimerizasyon stresi olmuştur. Üreticiler; daha yüksek moleküler ağırlıklı monomerlerin kullanılması, stres gidericilerin eklenmesi, doldurucu içeriğinin değiştirilmesi gibi yöntemlerle polimerizasyon büzülme stresini azaltmışlardır (Rizzante vd., 2019).

Akışkan bulk fill rezin kompozitler daha az doldurucu içerdiği için daha zayıf mekanik özelliklere sahiptir ve fonksiyonel stabiliteyi sağlamak için geleneksel rezin kompozitle kapatılması gereklidir (Ilie, 2022; Magne ve Belser, 2023).

Bulk fill rezin kompozitlerin; işlem süresinin önemli olduğu posterior bölgedeki restorasyonlarda, çocuk ve kaygılı hastalarda kullanılması önerilmektedir (Chesterman vd., 2017).

2.1.3.2. Ormoserler

Rezin kompozitlerin polimerizasyon büzülmesi sonucu oluşan sorunları elimine etmek için yeni bir materyal olan ormoser (organic-modified-ceramic) geliştirilmiştir (Gunwal vd., 2018). Ormoserler silisyum dioksit (SiO_2) yapısındaki inorganik iskeletten oluşur ve bu da üç boyutlu polimer zinciri olan ormoseri meydana getirir. Doldurucu partiküller, bu çapraz bağlı inorganik ve organik ağ yapısındaki matrikse

yerleşmiştir (Moszner ve Salz, 2001). Materyalin organik matriksini metakrilatlar oluşturur. Metakrilatlar polimerizasyondan, materyalin sertliğinden ve optik özelliklerinden sorumludur (Ilie ve Hickel, 2011).

Doğal diş yapısına benzer bir termal genleşme katsayısına sahip bu malzemelerin aynı zamanda daha düşük polimerizasyon büzülmesi, yüksek aşınma direnci ve yüksek biyouyumluluk gibi avantajları vardır (Del Giudice vd., 2024; Klauer, Belli, Petschelt ve Lohbauer, 2019).

2.1.3.3. Siloran Bazlı Rezin Kompozitler

Polimerizasyon büzülmesini azaltmak için siloran adı verilen monomer geliştirilmiştir. Siloksan ve oksiran fonksiyonel gruplarını içerir (Weinmann, Thalacker ve Guggenberger, 2005). Siloksan monomere hidrofobik özellik kazandırırken, bir siklik eter olan sikloalifatik oksiran halka polimerizasyon göstererek ve polimerizasyon büzülmesini azaltarak materyalin dayanıklılığını artırır (Ilie ve Hickel, 2011; Weinmann vd., 2005).

Literatürde siloran bazlı rezin kompozitlerin metakrilat bazlı rezin kompozitlerle kıyaslandığında belirgin bir üstünlük göstermediği sonucuna varılmıştır (Magno vd., 2016). Bunun yanında bu materyallerin kendilerine özel bir adezivle kullanılması, renk seçeneklerinin kısıtlı olması, klinik kullanımının posterior dişlerde sınırlı kalması sebebiyle yaygın kullanılmamaktadır (Zimmerli vd., 2010).

2.1.3.4. Fiberle Güçlendirilmiş Rezin Kompozitler

Rezin kompozitlerin geliştirilmesinde yapılan modifikasyonlardan biri de inorganik faza eklenen çeşitli boy, çap, yapı ve yönde fiberler olmuştur (Garoushi, Säilynoja, Vallittu ve Lasilla, 2013; Garoushi, Gargoum, Vallittu ve Lasilla, 2018). Fiberlerin diş hekimliğinde kullanılması 1960'lı yıllarda Smith'in polimetil metakrilatı geliştirmek için cam fiberleri kullanmasıyla başlamıştır (Butterworth, Ellakwa ve Shortall, 2003). Günümüzde üreticiler dentin yerine geçebilecek fiberle güçlendirilmiş rezin kompozitleri geliştirmişlerdir (Magne ve Belser, 2023). Fiberle güçlendirilmiş rezin kompozitlerin mekanik özelliklerinin geleneksel rezin kompozitlere göre gelişmiş olduğu literatür tarafından kabul edilmiştir. Fiberle güçlendirilmiş rezin kompozitler kompozit restorasyonu destekler ve çatlak ilerlemesini durdurur (Garoushi, Vallittu ve Lassila 2007; Garoushi vd., 2018).

Fiberle güçlendirilmiş rezin kompozitlerde organik matriks, fiber etrafında bir faz oluşturarak gelen kuvvetleri en güçlü kısım olan fiberlere aktarır ve etrafını sardığı fiberleri nemin etkisinden korur. Fiberle güçlendirilmiş rezin kompozitlerin yorulma direnci çok yüksektir. Çünkü fiberleri saran rezin matriks fiberlerin geometrik yapısını sabitler, optimal gücü sağlamak için fiberi belirlenen pozisyonda tutar. Fiber doldurucuların güçlendirebilme etkisi oluşan stresin polimer matriksten fiberlere aktarılabilmesinden ve fiberlerin çatlak oluşumuna karşı dayanıklı yapısıyla güçlü bir destek altyapı oluşturmasından kaynaklanmaktadır. Resin kompozitlerde herhangi bir çatlak oluştuğunda fiberlerin çatlak yüzeylerini birbirine doğru çekmesi ile çatlağın ilerlemesi durdurulmaktadır (Garoushi vd., 2007, 2013, 2018; Garoushi, Vallitu ve Lassila, 2017).

2.1.3.5. Tek Renkli Üniversal Resin Kompozitler

Kompozit restorasyonlar için tabakalama tekniğı uzun yıllardır önerilmektedir. Bu teknikte doğal dişlerin optik özelliklerini karşılamak için her tabakada farklı renk ve opasitede resin kompozit kullanılmaktadır (Dietschi ve Fahl, 2016). Renk uyumu için tabakalama tekniğı estetik sonuçlar verse de iki veya tek ton tekniğine göre daha karmaşıktır, daha fazla teknik beceri ve daha fazla klinik zaman gerektirmektedir (Fahl, 2012).

Renk seçimi çevresel faktörlere ve klinisyene bağılı olduğundan, bu seçimi kolaylaştırmak için tek renk üniversal resin kompozitler geliştirilmiştir (Fidan, Karaaslan ve Kutlu, 2023). Tek renkli üniversal resin kompozitler renk uyumunun algısal bileşeni olan, literatürde bukalemun etki olarak da geçen blending (harmanlama) etkisini kullanır. Bukalemun etki materyalin etrafındaki diş sert doku rengiyle uyum gösterme yeteneğidir (Lucena vd., 2021; Paravina, Westland, Kimura, Powers ve Imai, 2006). Bu özellikleri sayesinde tek renk üniversal resin kompozitler çarpıcı ve işlevsel olarak estetik restorasyonlar yapılmasını sağlayan hızlı ve kolay bir yöntem sunar (Ahmed vd., 2022).

Bukalemun etkiye sahip ilk ticari ürün olarak Tokuyama firması 2019 yılında Omnichroma isimli kompoziti piyasaya sürmüştür. İnorganik doldurucu olarak supra-nano sferik doldurucu (260 nm SiO₂-ZrO₂) içeren Omnichroma monomer olarak UDMA/TEGDMA içerirken renk pigmenti içermez. Optik özellikleri resin kompozitin diş renk alanı içinde belirli bir dalga boyunu doğru bir şekilde yansıtarak belirli bir

frekanstaki ışık dalgalarına tepki verdiği bir akıllı kromatolojik teknolojiye dayanmaktadır (Eliezer vd., 2020). Bu teknolojiye rezin kompozitler renk skalasının kırmızı-sarı bölgesi boyunca iletilen ışığı yayar ve hastanın kalan diş dokusuyla eşleşme gösterirler (Graf ve Ilie, 2022).

Zaman içerisinde farklı üretici firmalar (Vittra APS Unique (FGM Dental Group, Brezilya), Clearfil Majesty Es-2 Universal (Kuraray Noritake Dental Inc., Japonya), Admira Fusion X-tra Universal (VOCO, Almanya), Zenchroma (President Dental, Almanya), Charisma Diamond One (Kulzer, Almanya), Essentia Universal (GC, Japonya)) da tek renk üniversal rezin kompozitleri üretmişlerdir (Yılmaz Atalı vd., 2022).

Bu kompozit sisteminin temel özellikleri arasında bukalemun etkiye sahip olmasının yanında daha iyi polisajlanabilme kabiliyeti, üstün eğilme ve basınç dayanımı, kolay kullanım ve klinik olarak tatmin edici sonuçlar yer alır (Ahmed vd., 2022).

Son zamanlarda tanıtılan tek renk üniversal rezin kompozitler tüm kavite tiplerinde ve çoğu klinik durumda uygulanabilir. Komşu diş yapısına göre renk değiştirebilme özelliğine sahiptir ve 16 VITA skalası rengiyle eşleşebilir. Sonuç olarak, restorasyonun görünümünü estetik olarak geliştirebilir ve birçok renk tonu eşleştirme yöntemine ve renk tonu skalasına olan bağımlılığı azaltır (Ahmed vd., 2022).

2.2. Oksidatif Stres

2.2.1. Oksidatif Stres Kavramı

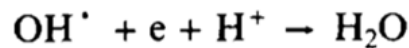
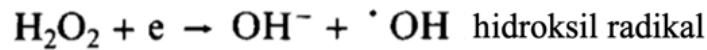
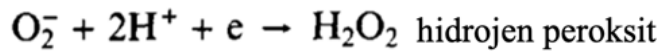
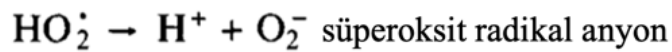
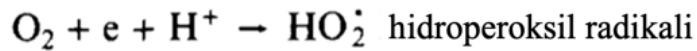
1991 yılında Sies tarafından “oksidan-antioksidan dengesinde oksidan lehine oluşan bozulma” şeklinde tanımlanan oksidatif stres aslında reaktif oksijen/azot türleri (ROT/RAT) oluşumu ile organizmanın bu ürünlere karşı oluşturduğu antioksidatif koruma sistemi arasındaki denge kaybıdır (Persson, Popescu ve Cedazo-Minguez 2014; Sies, 1991).

Oksidatif stres; artmış ROT/RAT oluşumu veya antioksidan koruma sistemindeki bozulmadan kaynaklanır ve endojen sistemlerin biyomoleküllere yönelik oksidatif saldırıya karşı savaşma kapasitesinin azalması ile karakterize edilir. Şiddeti; kardiyovasküler hastalık, kanser, yaşlanma gibi patolojilerle ilişkilidir (López-Alarcón ve Denicola, 2013).

2.2.2. Reaktif Oksijen/Azot Türleri

Serbest radikaller, en dış yörüngesinde eşleşmemiş bir elektrona sahip olan reaktif kimyasal türlerini temsil eder (Poljsak vd., 2013). Reaktif oksijen türleri (ROT) ise hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), singlet oksijen ($1/2 O_2$) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi hem serbest radikal hem de serbest radikal olmayan oksijenli moleküllerdir (Riley, 1994). Reaktif azot, demir, bakır ve kükürt türlerine de rastlanmaktadır (Poljsak vd., 2013). Bu radikal türler oksidatif stres ve redoks dengesinin bozulması ile ilişkilendirilebilir (Poljšak, Jamnik, Raspor ve Pesti, 2011). Serbest radikaller; hücresel solunum, enfeksiyonlar, yoğun fiziksel aktivite, UV radyasyonu ve toksinlerin etkisi sonucu aerobik süreçlerde üretilen dengesiz moleküllerdir. Düşük miktarlarda reaktif oksijen türleri; transkripsiyon faktörlerini tetikleyerek hücre proliferasyonu, apoptoz ve gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan sinyal moleküllerini temsil eder. Fagositler tarafından üretilmeleri, çeşitli bakteri veya mantar gibi iritanlara karşı savunma mekanizmasında kullanılmasını sağlar (Poljsak vd., 2013).

Kimyasal enerji ve ısı üretmek için; karbon ve hidrojen içeren biyomoleküllerin oksitlendiği aerobik süreçte moleküler oksijen kademeli olarak hidroperoksil radikali, süperoksit radikal anyon, hidrojen peroksit, hidroksil anyon ve hidroksil radikale indirgenir (Şekil 2.5) (Gutteridge, 1994).



Şekil 2.5. Oksijen indirgenme reaksiyonları (Gutteridge, 1994)

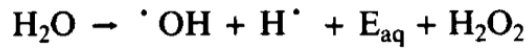
Süperoksit radikali; oksijenin nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz, ksantin oksidaz, siklooksijenaz gibi çeşitli oksidazlar tarafından bir elektron indirgenmesiyle oluşur. Süperoksit radikali, ATP üreten oksidatif fosforilasyon sırasında mitokondriyal elektron taşıma zincirinde de oluşabilir (Pisoschi ve Pop,

2015). Süperoksit radikali elektron taşıma zincirinde hücre dışı faktörlerin (radyasyon ve oksidatif bozukluklar gibi) veya oksijen metabolizmasında oluşan ve süperoksit radikallerini tüketen süperoksit dismutaz ailesine ait enzimler tarafından dönüştürülebilir (Miao ve St Clair, 2009).

Hidroperoksil radikali; süperoksit anyondan daha güçlü bir oksidan ve indirgeyicidir ancak fizyolojik pH'de (pH 7.4) çok daha az karardır. Bu fizyolojik pH'de hidroperoksil radikali ayrışır ve süperoksit radikali ortaya çıkar (Gutteridge, 1994).

Hidrojen peroksit; süperoksit radikali üreten herhangi bir sistem tarafından üretilebilir. Süperoksit radikali moleküler oksijen ve hidrojen peroksit vererek ayrışabilir (Kohen ve Nyska, 2002). Oksidazların (ürat oksidaz, glikoz oksidaz, d-aminoasit oksidaz) varlığı, moleküler oksijene iki elektron transferi ile hidrojen peroksit senteziyle sonuçlanabilir (Gutteridge, 1994). Hidrojen peroksit radikali; hidrojen peroksiti suya dönüştürmekle görevli olan katalaz enzimi tarafından kullanılabilir (Gandhi ve Abramov, 2012).

Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$); çoğu biyomolekölün oksidatif hasarından sorumlu olan oldukça agresif bir radikal türüdür. Fenton tipi reaksiyonlardan kaynaklanan hidroksil radikalleri; Şekil 2.6'da gösterildiği gibi suyun radyolizinden de ortaya çıkabilir (Gutteridge, 1994).



Şekil 2.6. Suyun radyolizi reaksiyonu (Gutteridge, 1994)

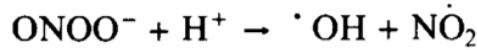
Çoğu organik ve inorganik molekül (DNA, protein, lipid, aminoasit, şeker ve metaller) ile etkileşime girebilen en güçlü oksitleyici radikal tür olarak bildirilmiştir (Kohen ve Nyska, 2002).

Moleküler oksijen; serbest bir radikal değildir, ancak oksijenin spin kısıtlaması ortadan kalktığı için yüksek reaktiviteye sahip oksijenli bir tür olarak kabul edilir ve bu da oksidatif gücünü artırır (Gutteridge, 1994).

Ozon; stratosferde güneş ışınlarına karşı önemli bir koruyucu kalkan (küresel antioksidan) sağlar. Ancak yeryüzünde zehirli ve istenmeyen bir gazdır. Şehir havasında, bilimsel ekipmanlarda kullanılan yoğun ışık kaynakları tarafından

üretilebilir. Protein, DNA ve lipitleri oksitleyerek akciğere oldukça zarar verir (Gutteridge, 1994).

Nitrik oksit ve azot dioksit; eşleşmemiş elektronlar sunar ve bu nedenle serbest radikaller olarak kabul edilebilirken, azot oksit serbest radikaller sınıfına girmez (Gutteridge, 1994). L-arginin, oksijen ve NADPH'den, nitrik oksit sentaz sınıfına ait enzimlerle veya inorganik nitratin indirgenmesi ile sentezlenen endojen nitrik oksit; vazodilatasyon ve nörotransmisyonunda yer alan nadir gaz sinyal moleküllerinden biridir. Ayrıca fagositler (monositler, makrofajlar ve nötrofiller) tarafından salınır. Süperoksit radikal anyonu ile reaksiyona girerek, birçok biyolojik moleküle karşı güçlü bir oksidan olan peroksinit gibi oldukça reaktif, zararlı bir azot türü oluşur. Peroksinitrit, Şekil 2.7'de gösterildiği gibi hidroksil radikalleri verecek şekilde ayrıştırılabilir (Green, Mellouk, Hoffman, Meltzer ve Nacy, 1990; Gutteridge, 1994; Kohen ve Nyska, 2002).



Şekil 2.7. Peroksinitrit ayrışma reaksiyonu (Gutteridge, 1994)

Hipokloröz asit (HClO); makrofajlarda ve nötrofillerde miyeloperoksidaz varlığı nedeniyle ortaya çıkar ve yüksek oksidatif yeteneklere sahiptir. Miyeloperoksidaz, klorür anyonu varlığında hidrojen peroksitten hipokloröz asidin katalitik üretilmesinden sorumludur. HClO; lipidler, proteoglikanlar, amino asitler ve ayrıca diğer membran veya hücre içi bileşikler gibi biyomoleküller üzerinde oksidatif klorlamayı indükler (Locatelli vd., 2003).

ROT hücrelerdeki biyomoleküllerle etkileşime girerek hücrenin işlevini düzenler. Lipitler oksidasyona en yatkın olanlardır. Çoklu doymamış yağ asitleri, özellikle araşidonik asit ve doksaheksaenoik asit, oksidatif hasarın bilinen belirtici olan malondialdehid ve 4-hidroksinonenale dönüşür. Lipit oksidasyonu hücre membranında hasar meydana gelir. ROT, daha sonra amino asit yan zincirleriyle etkileşime girerek proteinleri oksitler (Gandhi ve Abramov, 2012; Shahi vd., 2019).

ROT, DNA-protein çapraz bağlanmasına, iplikçik kırılmasına ve pürin-pirimidin baz yapısında değişikliğe neden olarak DNA yapısında mutasyona ve nükleik asitlerde bozunmaya yol açar (Gandhi ve Abramov, 2012; Shahi vd., 2019).

Oksijen türlerinin oluşumundaki patolojik artış sitotoksosite ile sıkı bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Hücrelerdeki antioksidan artışı enzimlerin, iyon kanallarının, yapısal proteinlerin ve membran lipidlerinin oksidatif hasarını önleyebilir. Antioksidan sistemindeki bir aksaklık hücre fonksiyon bozulmasına, patolojik sonuçlara ve en sonunda da hücre ölümüne neden olabilir (Maxwell ve Lip, 1997; Rice-Evans ve Diplock, 1993).

2.2.3. Antioksidanlar

Biyolojik antioksidan kavramı substratın oksidasyonunu geciktirebilen veya önleyebilen herhangi bir bileşiği ifade eder (Pisoschi ve Pop, 2015). Antioksidan fonksiyon; oksidatif stresi, DNA mutasyonlarını, malign dönüşümleri ve diğer hücre hasarı parametrelerini azaltmayı ifade eder. Epidemiyolojik çalışmalar, antioksidanların reaktif oksijen türleri aktivitesi üzerindeki etkilerini kanıtlamış ve kanser ve diğer dejeneratif hastalıkların insidansını azalttığını göstermiştir (Godic, Poljšak, Adamic ve Dahmane, 2014).

Oksidatif hasara karşı geliştirilen ve ilk tanımlanan antioksidan savunma sistemi türleri, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu önleyenler, oluşan radikalleri bloke edenler ve yakalayanlardır. Bu sistemler enzimatik ve enzimatik olmayan olarak sınıflandırılabilir (Cheeseman ve Slater, 1993).

Fizyolojik koşullar altında, oksidan ve antioksidan bileşikler arasındaki dengenin oksidantı desteklediği, böylece organizmanın endojen antioksidan sistemlerinin müdahalesini gerektiren hafif bir oksidatif strese neden olduğu belirtilmiştir (Dröge, 2002). Bu koşullar altında, bu oksidatif stres sorunu, endojen antioksidanlar ve onarım sistemlerinin buna etkili bir şekilde karşı koyamadığında organizma için problem haline gelir (Pisoschi ve Pop, 2015).

Hücrenin redoks homeostazı süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi endojen antioksidan enzimleri ve glutatyon, proteinler (ferritin, transferrin, seruloplasmin ve hatta albümin) gibi enzimatik olmayan bileşikleri ve ürik asit, koenzim Q ve lipoik asit gibi endojen antioksidan savunma sistemi ile sağlanır (Poljšak vd., 2013).

2.2.3.1. Antioksidanların Etki Mekanizması

Antioksidanlar; oksijeni, katalitik metal iyonlarını ve reaktif oksijen türlerini ortamdaki uzaklaştırarak, reaktif oksijen türlerini daha zayıf moleküllere çevirerek, serbest radikallere bağlı oluşan hasara neden olan reaksiyonları engelleyerek veya oluşan hasarı onararak etki gösterir (Özcan, Erdal, Çakırca ve Yönden, 2015; Pisoschi ve Pop, 2015).

Endojen ve ekzojen antioksidan türlerinin etki mekanizmaları Tablo 2.1 ve Tablo 2.2’de gösterilmiştir (Munteanu ve Apetrei, 2021; Özcan vd., 2015).

Tablo 2.1. Endojen antioksidanlar

Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	Etki Mekanizması
Albumin	Bakır ve Hem grubunu bağlar, HOCl’u ortamdaki temizler.
Serüloplazmin	Bakır iyonlarını bağlar, H ₂ O ₂ ’i kullanarak bakırın reoksidasyonunu sağlar.
Transferrin	Ferrik haldeki demir iyonlarını (Fe ⁺³) bağlar.
Laktoferrin	Ferrik haldeki demir iyonlarını (Fe ⁺³) düşük pH değerlerinde bağlar.
Haptogloblin	Hemoglobini bağlar.
Hemopeksin	Hem grubunu bağlar.
Bilirubin	Peroksil radikallerini temizler.
Glikoz	Hidroksil radikallerini temizler.
Ürat	Radikalleri temizler ve metalleri bağlar.
Melatonin	Hidroksil radikallerini temizler.
Mukus	Hidroksil radikallerini temizler.
Enzimatik Antioksidanlar	Etki Mekanizması
Süperoksit dismutaz (SOD)	Süperoksit radikalini temizler. $O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
Katalaz (CAT)	Yüksek konsantrasyondaki hidrojen peroksiti ortamdaki uzaklaştırır. $2H_2O_2 + O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
Glutatyon peroksidaz (GPx)	Düşük konsantrasyondaki hidrojen peroksiti ortamdaki uzaklaştırır. $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$
Sitokrom oksidaz	Oksijenin suya indirgenmesi sırasında aktif oksijenin ortama salınımını engelleyerek ROT (H ₂ O ₂ , OH ⁻ , O ₂ ⁻) oluşumunu engeller.

Tablo 2.2. Ekzojen antioksidanlar

Antioksidanlar	Etki Mekanizması
Askorbik Asit	Hidroksil radikallerini temizler.
Beta Karoten	Yağda çözünür radikaller ile singlet oksijeni temizler.
E Vitamini	Yağda çözünür, zincir kırıcı etki gösterir.
C Vitamini	Suda çözünür, hidrofilik fazda reaktif oksijen türlerini nötralize eder.

2.2.3.2. Antioksidan Kapasite Ölçümü

Oksidatif stres değerlendirilmesi, organizmada hem hastalık durumunun hem de antioksidanların sağlığı artırıcı etkilerinin değerlendirilmesinde önemlidir (Silvestrini, Meucci, Ricerca ve Mancini, 2023). Artan oksidanları ve redoks sinyallerini ölçmek için son yıllarda bir dizi nicel yöntem geliştirilmiştir (Pillay, Eagling, Driscoll ve Rohwer, 2016). Çevresel faktörlerin varlığında antioksidan molekülleri ölçmek için genel kabul görmüş bir yöntem yoktur ve bu dezavantaj antioksidan deneylerinin etkinliğini sınırlar (Ferrari, 2012). Oksidatif stres biyobelirteçlerinin hiçbirisi tüm biyolojik moleküllerin oksidasyon ürünlerini yansıtamaz (Pillay vd., 2016).

Total antioksidan kapasitenin (TAK) ölçülmesi, bir numunenin olası oksidan tamponlama kapasitesini ölçmek için en yaygın kullanılan yöntemlerden biri olmaya devam etmektedir. Bununla birlikte TAK deneyleri antioksidanları sıralamak ve yapı-aktivite ilişkisini tanımlamak için sıklıkla kullanılır. Bu nedenle, TAK deneyleri genellikle kompleks karışımlarda bilinmeyen antioksidanları aramak için kullanılır (Young, 2001; Silvestrini vd., 2023).

Antioksidan kapasite ölçümünün; oksidatif stres içeren hastalıkların patofizyolojisi ve klinik seyri ile ilgili bilgiyi artırması, redoks durumunun değerlendirilmesine dayalı olarak tanısal ve prognostik bir rol oynaması, endojen antioksidanlar yetersiz seviyede olduğunda uygun tedavi hakkında bilgi vermesi ve tedaviye yanıtın izlenmesi gibi klinik etkileri vardır (Silvestrini vd., 2023).

Antioksidanları ölçen testler direkt ve indirekt olarak sınıflandırılır. TAK'ı direkt ölçen testler, bir maddenin oksidasyonunu inhibe etme yeteneğine dayanır. En sık kullanılan direkt test, esas olarak ölçüm için kullanılan zaman aralığına ve radikal oluşumuna dayanan Trolox eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) testidir. Trolox (6-hidroksi-

2,5,7,8-tetrametilchroman-2-karboksilik asit) bir E vitamini analogudur. Direkt testler arasında; oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) ve toplam radikal yakalama antioksidan parametresi (TRAP) analizleri bulunur (Arts, Haenen, Voss ve Bast, 2004; Silvestrini vd., 2023).

En sık kullanılan indirekt testler arasında plazmanın ferrik indirgeyicilik yeteneği (FRAP) ve cupric-indirgeyici antioksidan kapasitesi (CUPRAC) testleri yer alır. Her iki test de numunenin bir metal kompleksinin azaltma yeteneğini belirlemeye dayanır. Bu metaller FRAP analizinde Fe^{+3} , CUPRAC analizinde Cu^{+2} 'dir. Bu testler arasındaki önemli fark TEAC, FRAP ve CUPRAC analizlerinin spektrofotometre kullanılarak, ORAC ve TRAP testlerinin florometre kullanılarak yapılmasıdır (Gupta, Finelli, Agarwal ve Henkel, 2021).

- **TEAC Testi**

TEAC analizi ilk olarak Miller tarafından bildirilmiştir (Miller, Rice-Evans, Davies, Gopinathan ve Milner, 1993). Maksimum absorbans spektrumu 415, 660, 734 ve 820 nm olan 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin 6-sülfonat) ($ABTS^{+}$) radikal katyonunun antioksidanlar tarafından absorbansının inhibisyonuna dayanır. Metmiyoglobinin H_2O_2 ile reaksiyonu, $ABTS^{+}$ ve ferrilmiyoglobin arasındaki etkileşimle oluşan radikal türleri oluşturur. Bu nedenle, TEAC tahlili bir bileşiğin $ABTS^{+}$ azaltma yeteneğini ölçer (Gupta vd., 2021).

ABTS hem organik hem de sulu çözücülerde serbestçe çözünür ve hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlara uygulanabilir. Ayrıca kullanımı basit, tekrarlanabilir ve birden fazla ortamda kullanılabilir (Cano, Maestre, Hernández-Ruiz ve Arnao, 2023; Mancini vd., 2008; Rice-Evans ve Miller, 1994).

- **ORAC Testi**

Floresans söndürmeyi (quenching) kullanarak antioksidanların etkisini değerlendirir. ORAC testi moleküler bir ölçücü eklenerek radikal reaksiyonun inhibisyonunu ve inhibisyon derecesini direkt ölçer. Aslında bu test, antioksidanların peroksil radikali kaynaklı oksidasyonu inhibe etme yeteneğini ölçer ve sonuçta, hidrojen atomu transferi ile klasik radikal zincir kırma antioksidan aktivitesini yansıtır. Bu nedenle ORAC testi, peroksil radikallerine karşı hidrofilik zincir kırma antioksidan kapasitesini ölçmekle sınırlıdır (Huang, Ou ve Prior, 2005).

- **FRAP Testi**

FRAP testi, örneklerin antioksidan gücünü değerlendirmek için kullanılan basit ve hızlı bir yöntemdir. Ancak bu yöntem radikal söndürme ile etki eden antioksidanları tespit edemez (Benzie ve Strain, 1996). Bu kolorimetrik miktar tayini, antioksidanların ferrik tridiril triazin (Fe^{+3} -TPTZ9) kompleksini düşük pH'den demir forma indirgeme kabiliyetine dayanmaktadır. Son ürün olan Fe^{+2} -TPTZ, 593 nm absorpsiyonlu yoğun bir mavi renge sahiptir ve bu, numunenin kinetik modda antioksidan kapasitesini 37°C'de 60 dakikada, tahmin etmek için bir diyot dizi spektrofotometresi kullanılarak izlenebilir (Fejér vd., 2021). Fe iyonları yerine Cu kullanan FRAP testinin modifikasyonuna CUPRAC denir ve numunedeki indirgeyici ajanların birleşik etkisiyle Cu^{2+} 'nin Cu^{+} 'a indirgenmesine dayanır (Silvestrini vd., 2023).

- **TRAP Testi**

TRAP testi, antioksidanlar tarafından peroksil radikalleri ile hedef molekül arasındaki reaksiyonu inhibe etme kapasitesine dayanmaktadır (Schlesier, Harwat, Böhm ve Bitsch, 2002). Bu tahlilde, peroksidasyon işleminde oksijen molekül tüketimi, ABAP'ın (arabilezin) termal ayrışmasını tetikler. Bu nedenle TRAP tahlili bir tuzaklama yöntemi olarak kabul edilebilir ve antioksidan kapasiteyi direkt değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmıştır (Apak, Özyürek, Güçlü ve Çapanoğlu, 2016). Ancak TRAP testi diğer testlerden daha karmaşıktır, gerçekleşmesi zaman alıcıdır ve yüksek derecede uzmanlık ve bilgi gerektirir (Silvestrini vd., 2023).

2.3. Biyoyumluluk ve Sitotoksosite

Biyoyumluluk; bir materyalin canlı dokularda sistemik ve lokal toksik, alerjik, mutajenik ve karsinojenik etki oluşturmamasını ifade eder (Kirkpatrick vd., 1998). Aslında materyalin uygulandığı konakta uygun yanıt oluşturmaması durumudur (Williams, 1999). Materyalin biyoyumluluğu yapısından salınan komponentlere ve bu komponentlerin hücresel düzeyde oluşturduğu etkilere bağlıdır (Wiertelak-Makala vd., 2023). Bu komponentler hücrelere zarar verebilir veya interlökin-1 ve interlökin-6 gibi belirli proinflamatuvar proteinlerin sentezini uyararak enflamasyona neden olabilir (Schmalz ve Arenholt-Bindslec, 2009).

Toksosite bir materyalin kimyasal yollarla biyolojik sistemlerde hasar oluşturabilme özelliğidir. Sitotoksosite ise hücresel hasarı tanımlayan kavramdır. Canlı hücreler

üzerinde kullanılan maddeler apoptoz, nekroz ve otofaji gibi farklı mekanizmalarla sitotoksositeye neden olabilir (Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

Apoptoz, hücrelerin çevre hücrelere daha az hasar vererek programlı hücre ölümüne gitmesidir. Apoptozu tetikleyen en önemli mekanizmalardan biri oksidatif stresdir. Oksidatif stres; lipid, protein ve DNA gibi makromoleküllerde hasara yol açarak hücre zedelenmesi veya hücre ölümü meydana getirir. Nekroz adı verilen hücre ölümünde etkene bağlı olarak hücreler çevrelerindeki hücreleri etkileyerek onların da ölmesine yol açar. Otofaji, yaşlanan ve bozulan hücrelerin kendi lizozomu tarafından sindirilmesidir. Aponekrozis, nekroptosis, eriptosis, NET osis, paraptosis, piroptosis adı verilen diğer programlanmış hücre ölüm mekanizmaları da mevcuttur ancak mekanizmaları ayrıntılı bir şekilde bilinmemektedir (Edinger ve Thompson, 2004; Özcan vd., 2015).

Materyallerin biyouyumluluğunun belirlenmesinde kullanılan testler; başlangıç testleri, ikincil testler ve kullanım testleri olarak sınıflandırılmıştır (Uzun ve Bayındır, 2011).

Başlangıç testleri; materyalin toksik etkisini incelemektedir. Bu testler sitotoksosite, hemoliz, sistemik toksisite, karsinogenezis ve teratojeniteyi araştırır (Hensten-Pettersen, 1988).

İkincil testler; test edilecek materyal fare, rat, koyun gibi deney hayvanlarına yerleştirilerek yapılmaktadır. Bu test yöntemleriyle materyalin biyolojik çevre ile arasında oluşacak ilişkinin incelenmesi hedeflenmektedir (Wataha, 2001).

Kullanım testleri; hayvan veya insan üzerinde, materyal klinikte kullanılacak seviyeye geldiğinde uygulanmaktadır. Bu test yöntemiyle materyal klinikte kullanıldığında oluşacak durum gözlenmeye çalışılmaktadır. Kullanım testlerinin en önemli dezavantajı karmaşık olması yani elde edilen bilgilerin değerlendirilmesinin zor olmasıdır (Wataha, 2001; Schmalz ve Arenholt-Bindslev, 2009).

2.3.1. Sitotoksosite Belirleme Yöntemleri

Yeni bir materyalin biyouyumluluğunu değerlendirmek için ilk uygulanan test yöntemidir. Test edilen materyalin, hücre kültüründeki hücre büyüme oranı ve hücrelerin morfolojik özellikleri üzerindeki etkisinin değerlendirildiği yöntemlerdir (Wataha, 2001).

İn-vitro testler, organizma dışında yapılan testlerdir. Memeli hücreleri, organeller, dokular, bakteri veya bazı enzim türleri biyolojik sistem olarak kullanılabilir. Test edilen materyal veya bu materyalden elde edilen özüt biyolojik sistemle temas edecek şekilde test kabına yerleştirilir (Uzun ve Bayındır, 2011; Wataha, 2003).

Materyallerin sitotoksitesinin belirlenmesinde, hücre ile materyallerin etkileşimi direkt veya dolaylı (indirekt) olarak gerçekleştirilir (*ISO 10993-5: Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi-bölüm 5: vücut dışı sitotoksite deneyleri*). Direkt sitotoksitede biyolojik sistem test edilen materyale, dolaylı sitotoksitede materyalin inkübe edildiği besiyerine maruz bırakılır (Wataha, 2003).

İn-vitro testler ile, materyallerin canlı vücudunda uygulanması sonucu oluşacak biyolojik reaksiyonların laboratuvar ortamında oluşması hedeflenmektedir. *İn-vitro* testler sayesinde karmaşık hayvan deneylerine geçilmeden materyalin toksik profili hakkında ön bilgi sağlanmaktadır. *İn-vitro* testler yapılmadan hayvan testlerinin yapılması zaman alıcı ve masraflı olmaktadır (Hanks, Wataha ve Sun, 1996; Saw, Cao, Yap ve Lee, 2005).

İn-vitro sitotoksite testlerinin avantajları (Browne, 1988; Hanks vd., 1996; Saw vd., 2005; Wataha, 2001, 2003):

- Ekonomik ve hızlı sonuç vermesi,
- Kantitatif ve karşılaştırılabilir sonuçlara ulaşabilmesi,
- Test yöntemlerinin standardize edilebilmesi,
- Diğer yöntemlere oranla toksik maddenin daha hassas değerlendirilebilmesi,
- Toksik materyallerin hayvan deneylerine geçmeden elimine edilmesine imkân tanınması,
- İleri test yöntemlerine göre daha geniş kullanım alanına sahip olmalarıdır.

İn-vitro sitotoksite testlerinin dezavantajları (Browne, 1988; Hanks vd., 1996; Schmalz, 1998; Wataha, 2001, 2003):

- Her bir test için tek bir hücre türünün kullanılması,
- Kültür hücrelerinin konak hücrelerinden farklı olması,
- *İn-vitro* test ortamının, immün ya da dolaşım sistemi gibi organizmanın karmaşık koordinasyon mekanizmalarına sahip olmamasıdır.

Sitotoksosite belirlemek için kullanılan test yöntemleri; boyama, kolorimetrik, florometrik ve luminometrik yöntemler olarak sınıflandırılabilir (Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

2.3.1.1.Boyama Yöntemleri

Bu yöntemde genellikle canlı hücrelerin oranı belirlenir. Tripkan mavisi, eozin, kongo kırmızısı ve eritrosin B kullanılarak gerçekleştirilir. Bu yöntemler canlı hücrelerin hücre kültüründeki boyayı dışarıda bırakması, ölü hücrelerin ise bu boyayı hücre içine alması üzerine kurulmuştur. Boyalar içinde en sık kullanılanı tripkan mavisidir (Aslantürk, 2018).

Boyama yöntemlerinin avantajları (Adan, Kiraz ve Baran 2016; Strober, 2015):

- Yöntem çok basit, uygulaması kolay ve hızlıdır.
- Süspanse hücrelere doğrudan uygulanabilir.
- Kemosenitivitenin belirlenmesi için en hızlı sonuç veren yöntemdir.

Boyama yöntemlerinin dezavantajları (Strober, 2015; Adan vd., 2016; Aslantürk, 2018):

- Prosedürü çok olduğu için fazla sayıda hücreye uygulamak zordur.
- Adheren hücrelere doğrudan uygulamak için uygun yöntemler değildir. Adheren hücreleri tripsinize etmek ve süspansiyon haline getirmek zaman alır.
- Bazı kimyasal maddelerin veya fiziksel-biyolojik ajanların hücre membran bütünlüğünü bozması birkaç gün alabilir, bu süreçte canlı hücreler bölünmeye devam edebilir. Bunun sonucunda materyalin sitotoksik etkisi olduğundan düşük çıkabilir.
- Çok hızlı apoptoza yol açan ajanlar için uygun değildir.

2.3.1.2.Kolorimetrik Yöntemler

• Nötral Kırmızısı Alımı (NRU) Testi

Sitotoksitenin belirlenmesinde en çok kullanılan kolorimetrik yöntemlerden biridir. Borenfreund ve Puerner tarafından geliştirilmiştir. Canlı hücrenin nötral kırmızısı hücre içine almasına dayanır. Nötral kırmızısı, zayıf katyonik bir boyadır. Biyolojik pH'deki net yükü sıfırdır. Böylece hücre zarından non-iyonik difüzyonla geçebilir ve lizozomda birikir. Lizozoma giren boya proton gradyanıyla yüklü hale gelir ve içeride kalır. Hücre ölürse boya hücre dışına çıkar ve sitotoksitenin belirlenmesi için

kullanılabilir. Bu nedenle “lizozomal boya” olarak bilinir (Aslantürk, 2018; Ates vd., 2017; Zuang, 2001).

Nötral kırmızısı ile boyama yönteminin avantajları (Repetto, Del Peso ve Zurita, 2008):

- Lizozomal hasarın iyi bir göstergesidir.
- Hızlı sonuç verir.
- Basit bir yöntemdir.
- Hem primer hücrelerin hem de hücre hatlarının boyanmasında iyi sonuç verir.
- Duyarlılığı yüksek, ucuz bir yöntemdir.
- Fototoksisitenin belirlenmesinde kullanılabilir.
- Ortamın sıcaklığından ve ortamda tuz oluşundan etkilenmez.

Nötral kırmızısı ile boyama yönteminin dezavantajı(Aslantürk, 2018; Zuang, 2001):

- Bazı kimyasallar boyanın hücre içinde kristaller oluşturmaya yol açar. Böylece yöntemin doğru sonuç vermesi engellenebilir.

• **Kristal Viyole Testi**

Kristal viyole suda çözünebilen ve mavi-mor çözelti oluşturan bir boyadır (Erkekoğlu ve Baydar, 2021). Bu yöntemde kristal viyolenin canlı ve adheren hücrelerin protein ve DNA'sına bağlanmasından yararlanır. Ölü hücreler adheren özelliğini yitirdiğinden dolayı kristal viyole bu hücrelerdeki protein ve DNA'ya bağlanamaz. Bu da renk yoğunluğunda azalma ile sonuçlanır (Berry, Huebner, Butler, 1996; Silva, Rollemberg, Coutinho-Filho, Krebs ve Zaia, 2013; Feoktistova, Geserick, Leverkus, 2016).

Kristal viyole ile boyama yönteminin avantajları (Feoktistova vd., 2016):

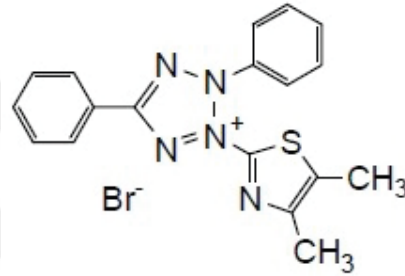
- Hızlı ve esnek bir yöntemdir.
- Güvenilir sonuçlar verir.
- Özellikle kemoterapotiklerin hücre canlılığında oluşturduğu değişikliklerin belirlenmesi için kullanılır.
- Hücrelerin hangi mekanizma (apoptoz veya nekroz) ile öldüğünün belirlenmesi için uygun bir yöntemdir.
- Moleküler çalışmalar için uygundur.

Kristal viyole ile boyama yönteminin dezavantajları (Aslantürk, 2018):

- Metabolik aktivite değişikliklerine hassas olmadığından dolayı hücrenin proliferasyon oranını ölçemez.
- Uygun şekilde çözülmezse ve yıkanmazsa mikroskop altında kristal viyole kristallerini görmek mümkündür, bu durum sonuçları etkileyebilir.

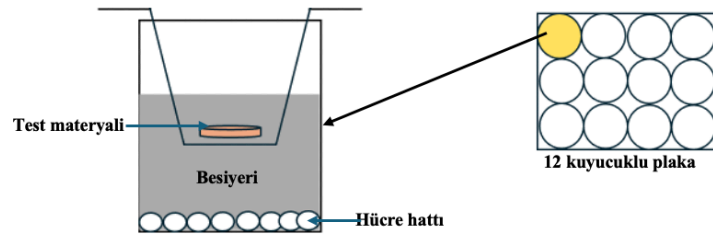
- **MTT Testi**

Hücre canlılığı, proliferasyon ve sitotoksitenin belirlenmesi için en yaygın kullanılan testlerden biri MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol -2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) testidir. 1983 yılında Mosmann tarafından geliştirilmiş, sitotoksite belirlenmesi için ISO 10993 standartlarında önerilen bir yöntemdir (Mosmann, 1983).

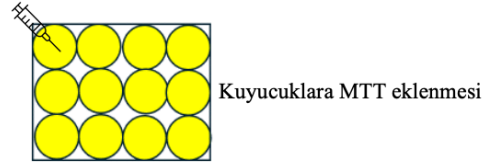


Şekil 2.8. MTT'nin kimyasal yapısı (Kumar, Nagarajan, Uchil, 2018b)

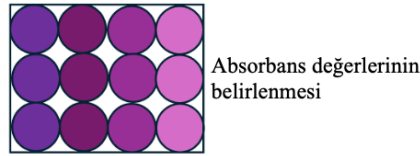
Kimyasal yapısı Şekil 2.8'de gösterilen MTT sarı renkli bir formazan tuzdur. Canlı hücreler mitokondriyal aktivite ile MTT'yi mor renkli formazan kristallerine dönüştürür. Suda çözünmeyen bu kristaller dimetil sülfoksit (DMSO) veya izopropil alkolde çözünerek hücre canlılığı spektrofotometrik olarak belirlenir. Kontrol hücrelerin canlılığı %100 kabul edilerek malzemeye maruz bırakılan hücrelerin canlılığı kontrol grubu hücrelerine göre belirlenir (Kumar vd., 2018b; Mosmann, 1983). MTT testinin yapıışının özeti Şekil 2.9'da gösterilmiştir.



İnkübasyon



Tetrazolyum → Formazan



Şekil 2.9. MTT testinin yapılışı

MTT yönteminin avantajları (Kumar vd., 2018b; Mosmann, 1983; Aslantürk, 2018):

- Tekrarlanabilirliği yüksek, güvenilir, ekonomik ve hızlı bir yöntemdir.
- Hem sitotoksitenin hem de hücre proliferasyonunun belirlenmesi için kullanılır.

MTT yönteminin dezavantajları (Kumar vd., 2018b; Mosmann, 1983; Aslantürk, 2018):

- MTT formazan kristallerinin iyi çözülmemesi absorbansın hatalı belirlenmesine ve kuyucuklar arası absorbans farkına yol açabilir.
- MTT formazanın kendisi de sitotoksiktir ve hücreler MTT solüsyonu ile 2-4 saat kadar inkübe edilirler. Mutlaka kontrol grubu kullanmak gerekir.
- Test edilen materyalin herhangi bir bileşeni MTT solüsyonu ile reaksiyona giriyor veya kendi indirgeyebiliyorsa hücre canlılığı tespiti için farklı bir yöntem seçilmelidir.

- **MTS Testi**

Test esas olarak MTT testi ile aynıdır; proliferasyona uğrayan hücreler artan mitokondriyel dehidrojenaz enzim aktivitesi ile MTS'yi (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum) koyu pembe-kırmızı formazan kristallerine dönüştürür. Üretilen formazan miktarı canlı hücre sayısına bağlıdır ve 492 nm'de spektrofotometre ile ölçülür (Aslantürk, 2018; Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

- **XTT ve WST Testleri**

XTT (2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolium-5-karboksanilid) ve WST-1'ler (2-(2-metoksi-4-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum) de MTT gibi tetrazolyum tuzlarıdır. En sık kullanılanı WST-1'dir. Hassasiyeti ve dinamik aralıkları MTT'ye göre daha yüksek olmakla birlikte MTT'ye göre daha pahalı testlerdir (Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

- **LDH Testi**

Laktat dehidrojenaz (LDH) organizmadaki bütün hücrelerde bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Hücreler, toksik bir maddeye maruz kaldığında, plazma membran bütünlükleri bozulur. LDH hücrelerden sızıp hücre medyumuna geçer ve bu geçiş spektrofotometrik olarak ölçülür. Güvenilir, hızlı ve basit bir yöntemdir. Kozmetik veya kişisel bakım ürünlerinin sitotoksosite değerlendirilmesinde kullanılır (Aslantürk, 2018; P. Kumar vd., 2018a).

2.3.1.3.Florometrik Yöntemler

- **Alamar Mavisi Testi**

Toksik olmayan ve fenoksazin-3-on yapısındaki floresan mavi indikatör bir boya olan resazurin kullanıldığı için bu yöntem aynı zamanda “resazurin redüksiyon yöntemi” olarak da bilinir. Kantitatif olarak hücre proliferasyonunun belirlenmesinde kullanılabilir. Ayrıca, sitokin ölçüm yöntemlerinde ve hücre büyümesinin izlenmesinde de kullanımı bulunmaktadır (Tokur ve Aksoy, 2017).

Alamar mavisi yönteminin avantajları (Tokur ve Aksoy, 2017; Aslantürk, 2018; Erkekoğlu ve Baydar, 2021):

- Ucuz ve hassasiyeti yüksek bir yöntemdir.

- Kaspazların aktivitesinin belirlenmesi gibi birçok farklı yöntemle birlikte kullanılabilir.

Alamar mavisi yönteminin dezavantajı (Tokur ve Aksoy, 2017; Aslantürk, 2018; Erkekoğlu ve Baydar, 2021):

- Kültür ortamındaki bazı bileşiklerle resazurinin reaksiyona girerek toksik etki göstermesi mümkündür.
- **CFDA-AM Testi**

CFDA-AM (5-karboksifluoreskein diasetat, asetoksimetil ester) sitotoksisitenin ve hücre içi reaktif oksijen bileşiklerinin oluşumunun belirlenmesinde kullanılan nonpolar bir boyadır (Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

CFDA-AM yönteminin avantajları (Bopp ve Lettieri, 2008; Gorokhova, Mattsson, Sundström, 2012):

- Basit bir yöntemdir.
- Hassasiyeti yüksektir.
- Non-toksiktir.

CFDA-AM yönteminin dezavantajı (Aslantürk, 2018):

- Test bileşiklerinin floresan özellikte olması deneyde yanlış pozitif sonuçlar görülmesine yol açabilir.

2.3.1.4.Luminometrik Yöntemler

Luminometrik yöntemler, memeli hücrelerinde hücre çoğalmasının ve sitotoksisitenin hızlı ve basit bir şekilde ölçülmesini sağlar. Bu tahlillerin önemli özelliği reaktif ilavesinden sonra üretilen parıltı tipi sinyaldir (Aslantürk, 2018).

- **ATP Yöntemi**

ATP, hücresel işlevlerin yürütülmesini sağlayan kimyasal enerji kaynağıdır. Ölen hücrelerde ATP düşerken, bu düşüş nekrozda çok hızlı apoptozda daha yavaş ilerler. Bu nedenle hücrelerdeki toplam ATP miktarının ölçülmesi hücrenin canlılığı hakkında bilgi verir. ATP ölçüm yöntemleri genellikle Mg^{+2} iyonları varlığında lusiferinin oksilusiferine dönüşmesi reaksiyonundan yola çıkar. Oluşan luminesans sinyal yoğunluğu ile ATP konsantrasyonu, ATP konsantrasyonu ile de hücre canlılığı arasında ilişki bulunmaktadır (Mueller, Kassack ve Wiese, 2004).

ATP yönteminin avantajları (Maehara, Anai, Tamada ve Sugimachi, 1987; Mueller vd., 2004):

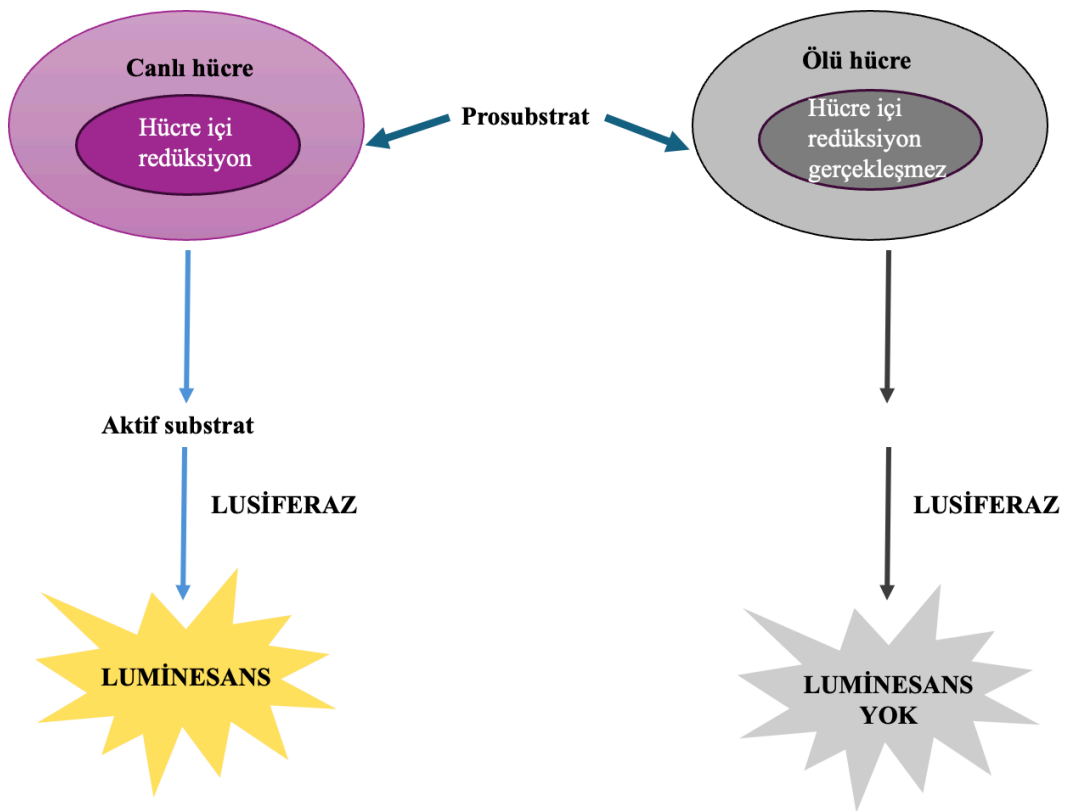
- Hassas bir yöntemdir.
- İnkübasyon süresi gerektirmediği için hücre canlılığını en hızlı belirleyen yöntemdir.

ATP yönteminin dezavantajı (Maehara vd., 1987; Mueller vd., 2004):

- Hücrelerin doğru bir şekilde sayılması ve kuyucuklara eklenmesi gerekir. Bu durum tekrarlanabilirliğin azalmasıyla sonuçlanır.

- **Gerçek Zamanlı Hücre Canlılığı Belirleme Yöntemleri**

Bu yöntemde genellikle lusiferaz ve küçük moleküllü bir prosubstrat kullanılmaktadır ve bunlar hücre kültürü ortamına eklenirler. Şekil 2.10'da gösterildiği gibi canlı hücreler prosubstratı lusiferazın kullanabileceği bir substrata dönüştürürler ve oluşan substrat bir luminesans sinyali oluşturur. Oluşan sinyal sürekli izleme yöntemiyle uzun bir süre takip edilir (Duellman vd., 2015; Fan ve Wood, 2007).



Şekil 2.10. Gerçek zamanlı canlılık belirleme yöntemlerinin esası

Gerçek zamanlı canlılık belirleme yöntemlerinin avantajları (Schäfer, Schäfer, Kiderlen, Masihi ve Burger, 1997; Duellman vd., 2015):

- Sitotoksosite ve hücre canlılığının belirlenmesinde gerçek zamanlı ölçüme izin veren tek analiz yöntemidir.
- Luminesans sinyalindeki artış ve stabil hale gelmesi kısa sürede gerçekleşir. Böylece diğer yöntemler ile kullanılabilir.

Gerçek zamanlı canlılık belirleme yöntemlerinin dezavantajı (Schäfer vd., 1997; Duellman vd., 2015):

- Prosubstratın tükenmesiyle birlikte gerçek zamanlı canlılık belirleme analizi son bulacaktır. Bundan dolayı eklenecek prosubstrat miktarı hücre tipine göre doğru olarak seçilmelidir. İzleme yapılacak sürenin standardizasyonu önemlidir.

2.4. Dental Rezin Kompozitlerin Sitotoksitesisi

Rezin kompozitlere maruz kalma sonucu oluşan toksisiteye ilişkin bildirilen moleküler mekanizmalar arasında hücrenin redoks dengesini koruyan bir tripeptit olan glutatyonun (GSH) tükenmesi bulunmaktadır. GSH nonletal konsantrasyondaki monomerleri bile detoksifiye etmek için tüketilebilir. GSH seviyelerinin tükenmesi, hücrenin redoks dengesini bozar. ROT artan miktarlarda üretilir ve DNA'ya zarar veren ve hücre ölümüyle sonuçlanan redoks dengesizliğine neden olur. Bu redoks dengesizliği, adaptif hücre mekanizmalarını, düzenleyici enzim sistemlerini aktive eder (Bapat vd., 2021; Schmalz ve Galler, 2017; Shahi vd., 2019).

Hücrel toksisite için ROT'un üretimi önemli bir husustur (Lovász vd., 2021a; Shahi vd., 2019). ROT fizyolojik olarak immünoregülasyonda ve antimikrobiyal-antiviral fonksiyonlarda etkili olsa da aşırı üretimi hücrel hasara, DNA hasarına, lipid peroksidasyonuna ve enflamatuar yanıtı yol açabilir (Lee vd., 2022; Yang vd., 2022). Tüm resin kompozitlerin toksik monomerler ve fotobaslatıcılar içerdiğinden oksidatif strese neden olmaları beklenebilir. Daha önceden belirtildiği gibi glutatyon tükenmesi hücrenin redoks dengesini bozar ve ROT artan miktarda üretilir (Bapat vd., 2021; Schmalz ve Galler, 2017). ROT'un birikmesi; DNA'ya, lipitlere ve proteinlere zarar veren oksidatif strese neden olur. Genotoksosite ROT birikmesine bağlı apoptoz indüksiyonu sitotoksosite ile sıkı bir şekilde ilişkilidir (Wiertelak-Makala vd., 2023).

BisGMA'nın toksisitesi; çocuklarda genital gelişim, bağışıklık fonksiyonu, tiroid fonksiyonu ve nörogelişim problemleri ile ilgili olduğu bilinen Bisfenol A'nın (BPA) bir türevi olması ile ilişkilendirilebilir (Jung vd., 2023; Shahi vd., 2019). Ayrıca Polydorou, König, Hellwig ve Kümmerer (2009a) ve Sonkaya, Kürklü ve Bakır (2021) yaptıkları monomer salınımı çalışmalarında gösterdiği gibi BisGMA test edilen diğer monomerlerden daha yüksek salınıma uğramaktadır. Bu da hücreler üzerinde oksidatif strese neden olarak sitotoksositeye neden olur (Wiertelak-Makala vd., 2023).

Yapılan çalışmalarda TEGDMA'nın çeşitli hücre hatlarında sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir. Ancak bu sitotoksik etkinin konsantrasyonlara bağlı olduğu gösterilmiştir. TEGDMA ile indüklenen apoptozis fosfatidilinositol 3 kinaz (hücre büyümesi, çoğalması farklılaşması ile ilişkili enzim ailesi) üzerindeki inhibitör etkisi ve mitojenle aktive edilmiş protein kinazların (MAPK) (biyomineralizasyona müdahale edebilecek ve apoptoz başlatabilecek enzim ailesi) aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Bakopoulou, Papadopoulos ve Garefis, 2009; Bapat vd., 2021; Yang vd., 2022).

TEGDMA maruziyetinin dental pulpa hücrelerinde matriks metallo proteinaz (MMP) 2-8-9 seviyelerini belirgin bir şekilde arttırdığı araştırmalarda gösterilmiştir. Bu metalloproteinazlar pulpada üretilen ve dentinde bulunan protein hidrolazlardır. İki gruba ayrılırlar. MMP 2 ve 9; doku yeniden şekillendirme ve tersiyer dentin oluşumunda rol alan jelatinazlar olarak sınıflandırılırlar. MMP 8; dentinde premineralize kollajen lif ağının düzenlenmesinde rol alan bir kollajenaz olarak sınıflandırılır (Lovász vd., 2021b). Yapılan bir başka çalışmada HEMA'nın MMP 2 ve 9'u inhibe ettiği bulunmuştur (Sun vd., 2018).

Sulek, Luczaj-Cepowicz, Marczuk-Kodala, Roslan ve Holownia (2022) toksisite belirlenmesinde insan gingival fibroblastındaki miR-9 ve 1s1 şok proteini 70 (HSP70) olmak üzere iki biyomarker analiz etmiştir. miR-9 sağlıklı fibroblastların kanser hücresine dönüşümünü gösteren stresle ilgili bir mikroRNA'dır. Bu mikroRNA mRNA'nın 3' bölgesine bağlanır, hücre fizyolojisi ve patolojisi ile ilgili birkaç genin transkripsiyonunu düzenler ve seviyesinin artması kanserli hücrelere dönüşümü gösteren epitel-mezenkimal geçiş geçiren epitel hücreleri için tipiktir. HSP70; termal, kimyasal ve oksidatif strese karşı koruma mekanizmalarında yer alan, hasarlı proteinlerin yeniden katlanmasından ve apoptozun inhibe edilmesinden sorumlu önemli bir şaperon ve stres belirtici proteindir. Sulek vd. (2022) yaptıkları çalışmada

kullandıkları kompozitlerin miR-9 ve HSP70'i önemli ölçüde arttırdığını bulmuşlardır. Başka bir çalışmada ise HEMA ve TEGDMA'nın insan monositlerinde ısı şok protein aktivitesini azalttığı gözlemlenmiştir (Shahi vd., 2019).

Makrofajların TEGDMA ile inkübasyonu, siklooksijenaz-2 ve indüklenabilir nitrik oksit sentaz gibi çeşitli proinflamatuvar mekanizmaların başlamasını tetikler (Yang vd., 2022). Yapılan başka bir çalışmada TEGDMA'nın IL-1 β ve TNF- α salgılanması üzerinde inhibitör bir etkisinin olduğu ve UDMA'nın IL-1 β 'yı azalttığı gözlemlenmiştir (Neves vd., 2019). Bu bulgular monomerlerin lokal immün enflamatuvar yanıtı müdahale edebileceğini göstermiştir (Wiertelak-Makala vd., 2023).

DNA bütünlüğünün bozulması yoluyla meydana gelen sitotoksosite ve genotoksosite, programlanmış hücre ölümü olan apoptoz ile yakından bağlantılıdır (Yang vd., 2022). Bu yol proteolitik sistenil enzimleri tarafından düzenlenir. Kaspaz-3, DNA iplik kırılmasını ve parçalanmasını başlatan kaspaz görevi görür (Chang vd., 2020; Lee vd., 2022; Yang vd., 2022). Bu kaspaz, intrinsik ve ekstrinsik yollarla aktive edilebilir. İntrinsik yol mitokondriyal bozunma ile tetiklenen kaspaz 9 aktivitesine bağlıdır. Ekstrinsik yol, ölüm reseptörü aktivasyonu yoluyla kaspaz 8 tarafından devam ettirilir (Yang vd., 2022). Hücre içi ROT birikimi kaspaz zincirinin aktivasyonundan sorumludur (Chang vd., 2020; Lee vd., 2022).

Lovász vd. (2021) arkadaşları yaptığı bir çalışmada pulpa hücrelerinde TEGDMA'nın indüklediği apoptotik hücre ölümünü araştırmıştır. TEGDMA maruziyetinin kaspazlarda ve apoptoz kaynaklı faktör (AIF) üretiminde artışa neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Apoptoz nekrozun aksine enflamatuvar bir süreç içermediğinden dolayı çalışma klinik olarak önemlidir.

Chang vd. (2020) yaptığı başka bir çalışmada makrofajlarda UDMA tarafından indüklenen apoptoz ve nekroz seviyeleri incelemiş ve düşük konsantrasyondaki UDMA'nın erken apoptozu, yüksek konsantrasyondakinin ise geç apoptoz ve nekrozu indüklediği kanıtlanmıştır.

Sonuç olarak apoptozun indüklenmesindeki olası mekanizmalar mitokondriyal disfonksiyon ve DNA üzerindeki toksik etkilerdir (Neves vd., 2019). TEGDMA'nın neden olduğu apoptoz, ROT oluşumu, mitojenle aktive olan protein kinazın fosforilasyonu ve transkripsiyon faktörlerinin azalması ile açıklanmıştır (Yang vd., 2022).

2.4.1. Rezin Kompozitlerin Sitotoksitesini Etkileyen Faktörler

Birçok araştırmacı toksik etkinin esas olarak materyalin dönüşüm derecesi ve kimyasal bileşimi ile ilişkili olduğunu bunun yanında; materyalin miktarı, materyale maruz kalma süresi, uygulanan hücre hattı, hücre membran bütünlüğü, hücre hacmi, sitoplazma hacmi gibi çeşitli faktörlerin de sitotoksiteyi etkilediği bildirmiştir (Wiertelak-Makala vd., 2023).

2.4.1.1. Materyalin Dönüşüm Derecesi

Rezin kompozitlerin organik matriksi monomerlerden oluşur. Monomerlerin polimere dönüşmesi yani rezin kompozitlerin sertleşmiş katı hale gelmesi içerdiği başlatıcıya bağlı olarak ısı, kimyasal veya radyant enerji tarafından tetiklenen polimerizasyon reaksiyonundan kaynaklanır (Riva ve Rahman, 2019). Rezin kompozitler genellikle her iki ucunda metakrilat grubu içeren lineer monomer içerirler (Pratap vd., 2019).

Bu monomerlerin polimere dönüşümü başlatma, yayılma, sonlanma aşamalarını içeren radikal zincir büyümesi polimerizasyonuyla gerçekleşir (Pratap vd., 2019; Riva ve Rahman, 2019). İki başlatma modu vardır: kimyasal olarak aktive edilmiş ve ışıkla aktive edilmiş (Guo, Yu, Gao, Zhang ve Zhao 2022; He vd., 2023). Aktif fotobaşlatıcılar, enerjiye maruz kaldığında metakrilat monomerlerinin çift C=C bağını tek C-C bağına dönüştüren serbest radikaller üretir ve rezin matriksin polimerizasyon reaksiyonunu başlatır. Ancak bu polimerizasyonun hiçbir zaman tam olarak tamamlanmadığı bilinmektedir ve kompozitlerdeki monomerlerin polimere maksimum dönüşümü rezinin “Dönüşüm Derecesi” olarak tanımlanmaktadır (Carrillo-Cotto vd., 2020; Mulligan, Hatton ve Martin, 2022; Wiertelak-Makala vd., 2023).

Dönüşüm derecesinin artması materyalin mekanik ve fiziksel özelliklerini artırır ve artık monomer miktarını düşürür. Bu duruma bağlı olarak materyalin gösterdiği sitotoksik etki de değişir (Goldberg, 2008; Hatipoğlu, Par ve Pertek Hatipoğlu, 2024). Tamamlanmamış polimerizasyon sonucu artık monomer olarak da adlandırılan ve toksik olduğu bilinen metakrilat ve dimetakrilat türevi monomerler ortama salınır. Ayrıca kompozit rezinlerin zaman içinde gösterdiği yaşlanma, aşınma, hidroliz, degradasyon-bozunma nedeniyle artık monomerlerin yanında başlatıcıların ve diğer

maddelerin de ağız boşluğuna yayılması mümkündür. Bu artık monomerler ve bozunma sonucu oluşan ürünler dokularda sitotoksik etkiler gösterir (Guo vd., 2022; Mulligan vd., 2022; Shahi vd., 2019; Wiertelak-Makala vd., 2023).

2.4.1.2. Materyalin kimyasal bileşimi

Rezin kompozitlerin toksik etkisinin inorganik dolduruculardan ziyade organik matrikse bağlı olduğu bildirilmiştir (Atalayın, Tezel ve Ergücü, 2016). Organik matriks; monomerler ve komonomerler, başlatıcılar, inhibitörlerden oluşmaktadır. Literatürde sıklıkla monomerlerin kimyasal bileşimi, sitotoksik etkisi ve hücre ölüm mekanizması üzerine durulmuştur (He vd., 2023; Riva ve Rahman, 2019; Smith vd., 2023; Zhang vd., 2021).

Monomerlerin yapısı ve özellikleri sitotoksik etkileri üzerinde etkilidir. Yapısal olarak HEMA ve TEGDMA hidrofilik, BisGMA ve UDMA ise hidrofobik monomerlerdir. Hidrofilik özelliklere sahip olan daha küçük monomerlerin (HEMA, TEGDMA gibi) hücresel membrana nüfuz ettiği, glutasyon ve lipid sentezini inhibe ettiği ve DNA'da hasara neden olduğu bulunmuştur. DNA'daki bu hasar DNA ipliklerinin bütünlüğünün bozulması ve parçalanması şeklindedir (Schmalz ve Arenholt-Bindslec, 2009). Yine de literatürde HEMA ve TEGDMA'nın BisGMA ve UDMA gibi hidrofobik monomerlere kıyasla daha düşük toksisite potansiyeli taşıdığı bildirilmiştir (Ratanasathien, Wataha, Hanks ve Dennison, 1995).

Yapılan çalışmalar sonucunda araştırmacılar monomerlerin sitotoksosite sıralamasının BisGMA>UDMA>TEGDMA>HEMA olduğu konusunda fikir birliğine varmışlardır (Lee vd., 2006; Ratanasathien vd., 1995).

2.5. Çalışmanın Amacı

Bu tez çalışmasında 7 farklı tek renkli universal rezin kompozitle inkübe edilen insan gingival fibroblast hücre hattının (HGF-1) total antioksidan kapasitesi ve bu kompozitlerin hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi *in-vitro* olarak incelenmiştir.

2.6. Hipotez

Çalışmamızın boş hipotezi şunlardır:

Hipotez 1: Kullanılan kompozitler arasında sitotoksosite açısından fark yoktur.

Hipotez 2: Kompozitlerin zaman içerisinde sitotoksitesitesi değışmez.

Hipotez 3: Kullanılan kompozitler farklı total antioksidan kapasitesine yol açmaz.



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu tez çalışması Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür. Çalışma, Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2023/168 proje numarası ile desteklenmiştir.

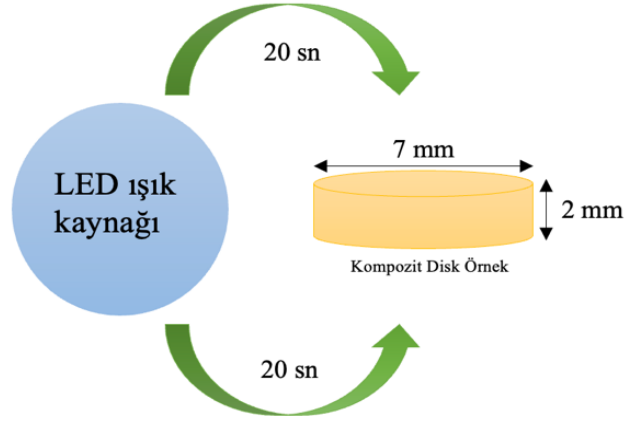
3.1. Rezin Kompozit Disk Örneklerinin Hazırlanması

Bu çalışmada, seçilen 7 farklı içerikli tek renkli universal rezin kompozit olan Omnichroma (Tokuyama Dental, Japonya), Vittra APS Unique (FGM Dental Group, Brezilya), Clearfil Majesty Es-2 Universal (Kuraray Noritake Dental Inc., Japonya), X-tra fill (VOCO, Almanya), Zenchroma (President Dental, Almanya), Charisma Diamond One (Kulzer, Almanya), Essentia Universal (GC, Japonya) ile ilgili detaylı bilgi Tablo 3.1'de verilmiştir.

Bu çalışma için 7 mm çapında 2 mm derinliğinde metal kalıp hazırlanmıştır. Metal kalıplara yerleştirilen kompozitlerden taşan materyal steril spatül kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Polimerizasyon sırasında oluşabilecek oksijen inhibisyon tabakasını önlemek için numunelerin üzerine şeffaf plastik şerit yerleştirilmiştir. Numuneler ışık gücü 1200 mW/cm² olan LED ışık cihazı (Elipar™ S10; 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) ile her iki yüzeyinden 20 sn süreyle polimerize edilmiştir (Şekil 3.1). Her kompozit materyalinden, çapı 7 mm kalınlığı 2 mm olan disk şeklinde 18 örnek hazırlanmıştır (n=6).

Tablo 3.1. Kullanılan Rezın Kompozitler

Rezın Kompozit	Üretici	Doldurucu Tipi	İçerik	Doldurucu Oranı (%) (ağırlık/hacim)	LOT Numarası
Omnichroma (OC)	Tokuyama Dental, Japonya	Nanofil	Matris: UDMA, TEGDMA Doldurucular: Supra-nano sferik doldurucu (SiO ₂ -ZrO ₂ 260 nm), yuvarlak şekilli kompozit doldurucu (260 nm sferik SiO ₂ -ZrO ₂ içerir).	79/68	107E23
Vittra APS Unique (VAU)	FGM Dental Group, Brezilya	Nanohibrit	Matris: Metakrilat monomerleri karışımı, UDMA, TEGDMA, fotobaslatıcı bileşimi (APS) Doldurucular: Boron-alüminyum-silikat cam	82/72	040723
Clearfil Majesty Es-2 universal (CMU)	Kuraray Noritake Dental Inc., Japonya	Nanohibrit	Matris: BisGMA, hidrofobik aromatik DMA ve hidrofobik alifatik DMA, kamforkinon. Doldurucular: Silanlı baryum cam (partikül boyutu 0,37–1,5 µm) ve prepolimerize doldurucu	78/40	9C0025
X-tra fil (XF)	VOCO, Almanya	Hibrit	Matris: BISGMA, UDMA, TEGDMA Doldurucular: Baryum boron alüminosilikat cam	86/70,1	2214263
Zenchroma (ZC)	President Dental, Almanya	Mikrohibrit	Matris: BisGMA, Tetrametilen dimetakrilat, Diüretan dimetakrilat. Doldurucular: Silikon dioksit, cam tozu ve ultra ince radyoopak doldurucu	75/53	2023002618
Charisma Diamond One (CDO)	Kulzer, Almanya	Nanohibrit	Matris: TCD-DI-HEA ve UDMA içerikli BPA içermez. Doldurucular: Baryum alüminyum boroflorür silikat cam	81/64	K010024
Essentia Universal (EU)	GC, Japonya	Mikrohibrit	Matris: UDMA, BisEMA, BisGMA, TEGDMA Doldurucular: Hacimce %65 prepolimerize doldurucular, baryum cam, silika	81/na	2306231



Şekil 3.1. Kompozit Disk Örneklerinin Hazırlanması

Kompozit disk örneklerin polisajı için örneklerin her yüzeyine alüminyum oksit kaplı polisaj diskleri (Sof-Lex™ Bitim ve Cila Disk Seti; 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) üretici talimatı doğrultusunda sırasıyla koyu turuncu disk (yükseklik alma), turuncu disk (konturlama), açık turuncu disk (bitirme) ve sarı disk (cilalama) kullanılmıştır. Sonrasında elmas kaplı polisaj lastikleri (Sof-Lex™ Elmas Polisaj Sistemi; 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) ile yine üretici talimatları doğrultusunda örneklerin polisajı tamamlanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Hazırlanan rezin kompozit örnekler

Hazırlanan kompozit disk örnekler, otoklav cihazında 121 C°de 1 atmosfer basınçta ve 20 dakikalık basınçlı buhar ile sterilize edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Kullanılan otoklav cihazı (BioBase)

3.2. Hücrelerin Pasajlanması ve Çoğaltılması

Çalışmanın hücre kültürü deney aşamaları Yıldırım Beyazıt Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezinde tamamlanmıştır.

Hücre kültür çalışmalarında insan gingival fibroblast (HGF-1) hücreleri (CRL-2014, ATCC, ABD) kullanılmıştır. Hücreler fibroblast büyüme kiti bileşenleri ile desteklenmiş fibroblast bazal besiyerinde ve 37°C’de nemlendirilmiş %5 CO₂ inkübatöründe kültüre edilmiştir (Şekil 3.4.b).

HGF-1 hücrelerinin -186°C’de sıvı azot tankından alınarak oda sıcaklığında çözünmesi sağlanmıştır. Hücreler 3000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek dondurma solüsyonundan ayrılmıştır. Hücre pelleti 1 ml besiyerinde süspansiyon edildikten sonra 75 T plakada kültüre edilmiştir. Hücreler %80-90 doygunluğa eriştikten sonra pasajlanmıştır. Pasajlama işlemi için, fosfat tamponlu tuz ile yıkanan hücrelere 3 ml Tripsin-EDTA eklenmiştir. 37°C’de 2 dakika inkübe edilerek Tripsin-EDTA’nın hücreleri plaka yüzeyinden kaldırması sağlanmıştır. Tripsin-EDTA’yı inhibe etmek için besiyeri eklenmiş ve 15 ml’lik falkon tüpüne aktararak 3000 rpm’de 5 dakika

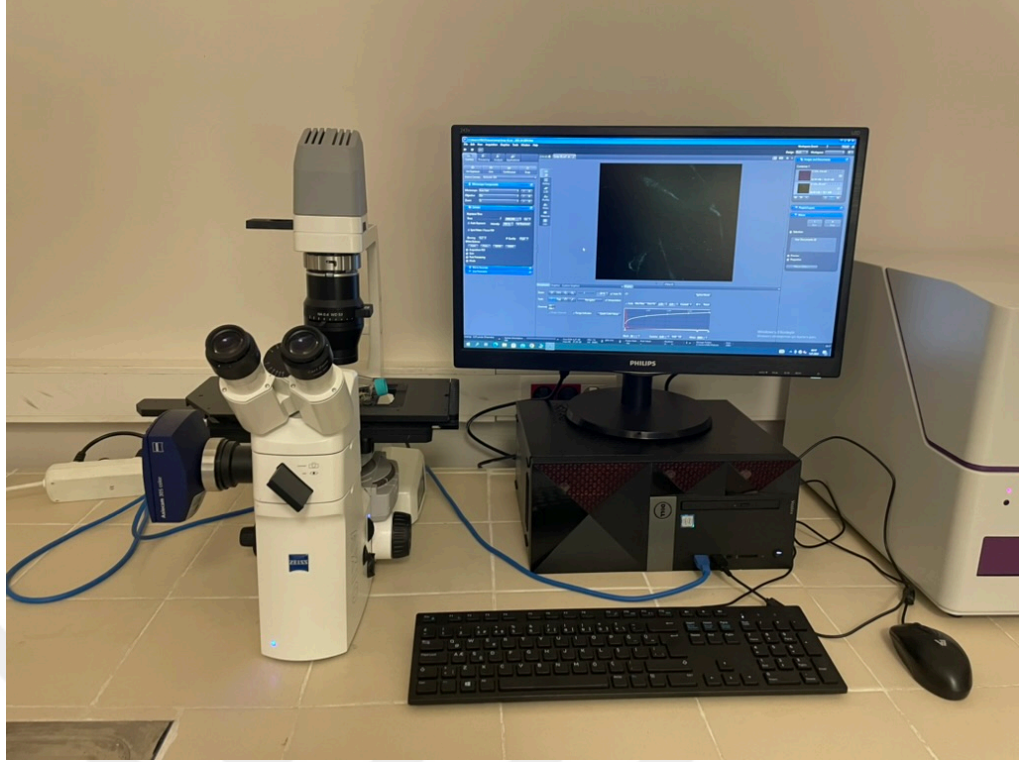
santrifüj edilmiştir. Hücre pelleti besiyeri ile süspanse edilerek yeni plakalara aktarılmış ve hücreler kültüre edilmiştir.



Şekil 3.4. a. Hücre kültür deneylerinin yapıldığı laminar flow cihazı b. CO₂ inkübatör

Canlı hücre sayısının belirlenmesi için tripan mavisini ile boyama yapılmış ve ışık mikroskopunda incelenmiştir (Şekil 3.5). Bunun için 10 µl hücre süspansiyonu ve 10 µl tripan mavisini karıştırılmıştır. Toma lamına hücre-tripan mavisini karışımının 10 µl'si konularak lamel ile kapatılmış ve ışık mikroskopunda canlı hücre sayımı yapılmıştır. Canlı hücreler boyaya geçirgen değildir ve ölü hücreler tripan mavisini ile boyanır. Dolayısıyla ölü hücreler ışık mikroskopunda mavi renkte gözükür. Aşağıdaki formüle göre ml'deki canlı hücre sayısı belirlenmiştir.

$$\text{Canlı hücre sayısı/ml} = \text{Ortalama canlı hücre sayısı} \times \text{seyreltme faktörü} \times 10^4$$

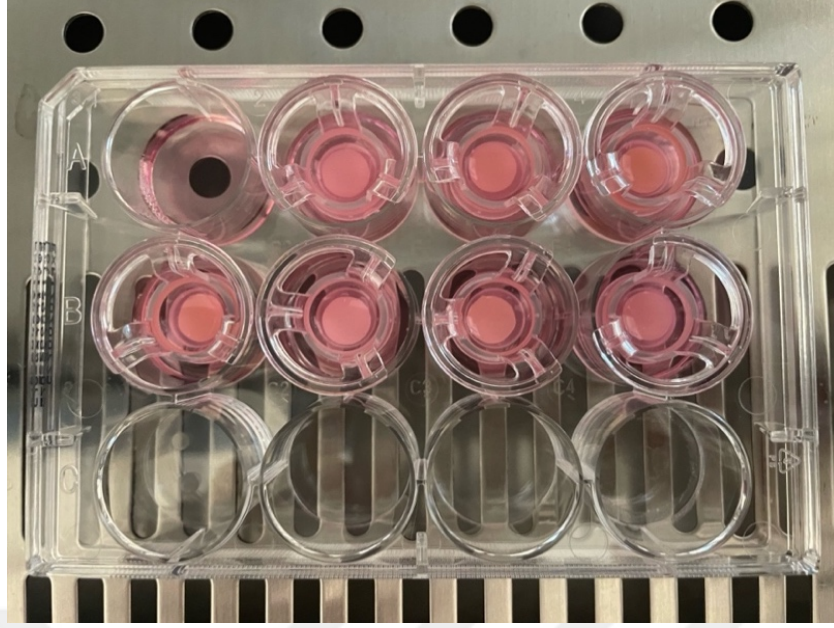


Şekil 3.5. Canlı hücre sayımının yapıldığı ışık mikroskobu

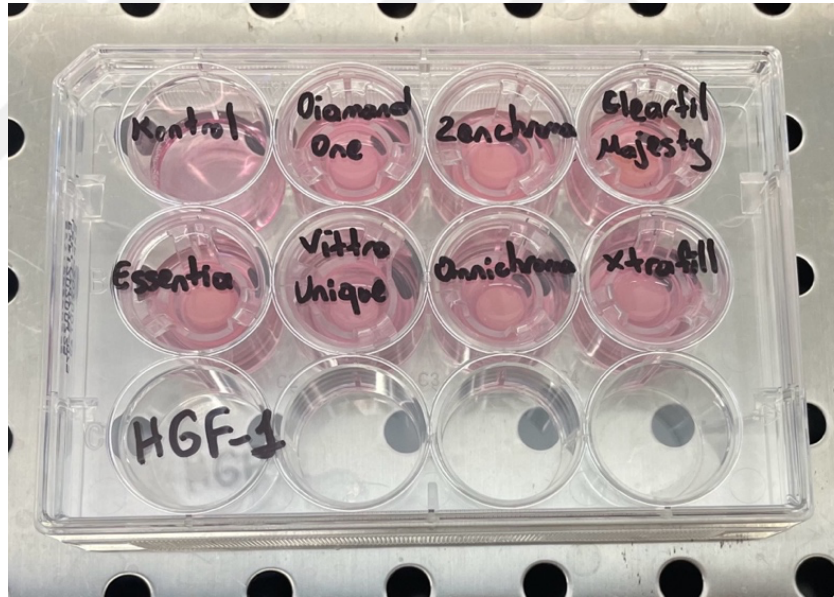
3.3. Rezin Kompozit Örneklerinin Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi

HGF-1 hücreleri bölüm 3.1’de anlatıldığı şekilde kültüre edilmiştir. 75 T plakada %80 doygunluğa eriştikten sonra tripsinize edilmiş, 3×10^4 konsantrasyonda 12 kuyucuklu plakalara aktarılmış ve gece boyu CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir. 12 kuyucuklu plakalara hücre kültürü insertleri yerleştirilerek 2 bölmeli bir sistem oluşturulmuştur. Alt bölümünde hücreler yer alırken üst bölüme test malzemeleri yerleştirilmiştir. 2 bölmeli sistemin alt haznesinde 1,5 ml, üst haznesinde 0,5 ml besiyeri yer almaktadır (Şekil 3.6).

12 kuyucuklu plakada 1. kuyucuk kontrol grubu olup sadece taze besiyeri ile inkübe edilmiştir. Her bir kuyucuğa farklı rezin kompozit eklenmiş ve hücreler ile kültüre edilmiştir (Şekil 3.7).



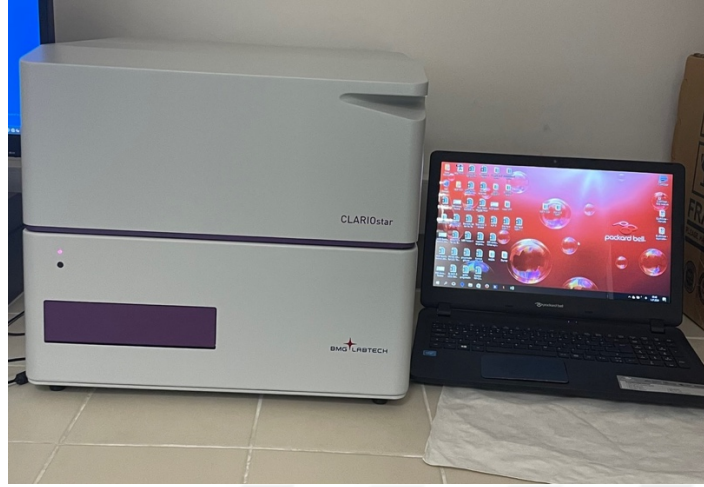
Şekil 3.6 Sitotoksosite deneyi için kullanılan iki bölmeli sistem



Şekil 3.7 HGF-1 hücreleri ve rezin kompozitlerin birlikte inkübe edildiği iki bölmeli sistem

Hücreler 1 ve 7 gün örnekler ile inkübe edildikten sonra besiyeri uzaklaştırılmış ve hücrelere 250 µl MTT solüsyonu (1 mg/ml) eklenmiştir. 4 saat inkübasyondan sonra oluşan formazan kristalleri 0,04 M HCl içeren izopropanol ile çözülerek 570 nm’de okutulmuştur (CLARIOstar, BMG Labtech, Almanya) (Şekil 3.8). Kontrol grubu olarak hücreler sadece besiyeri ile inkübe edilmiş ve kontrol kuyucuklarından alınan absorbanların ortalaması %100 kabul edilerek test kuyucuklarından alınan

absorbansların ortalamaları ile mukayese edilerek toksisite belirlenmiştir (Merck Protocol Guide).



Şekil 3.8. Hücre kültür kuyucuklarının absorbans değerlerinin belirlendiği mikrolaka okuyucu

3.4. Total Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

Hücrelerin total antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için HGF-1 hücreleri 12 kuyucuklu plakalarda 3×10^4 konsantrasyonda kültüre edilmiştir. Hücreler %90 doygunluğa ulaştıktan sonra sitotoksosite testinde olduğu gibi insertlerin yerleştirilmesi ile 2 odacıklı bir sistem oluşturulmuştur. Üst bölmeye test materyali yerleştirilerek hücreler ile 72 saat (37°C , %5 CO_2) inkübe edilmiştir. Inkübasyonun ardından besiyeri uzaklaştırılmış ve hücreler 3000 rpm'de 5 dakika boyunca 4°C 'de santrifüjleme yoluyla toplanmıştır. Hücreler soğuk PBS ile 2 kez yıkanmıştır. Hücre lizatının elde edilmesi ve antioksidanların serbest kalması için, hücreler önce sonikasyona tabi tutulmuş ve ardından 12000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir. Hücre süpernatantlarındaki total antioksidan seviyesi T-AOC kiti (Fine-test) kullanılarak ve normalizasyon yapılabilmesi amacıyla da her bir kuyucuktan alınan hücrelerin total protein miktarı belirlenmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Total antioksidan kapasite belirleme kiti

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

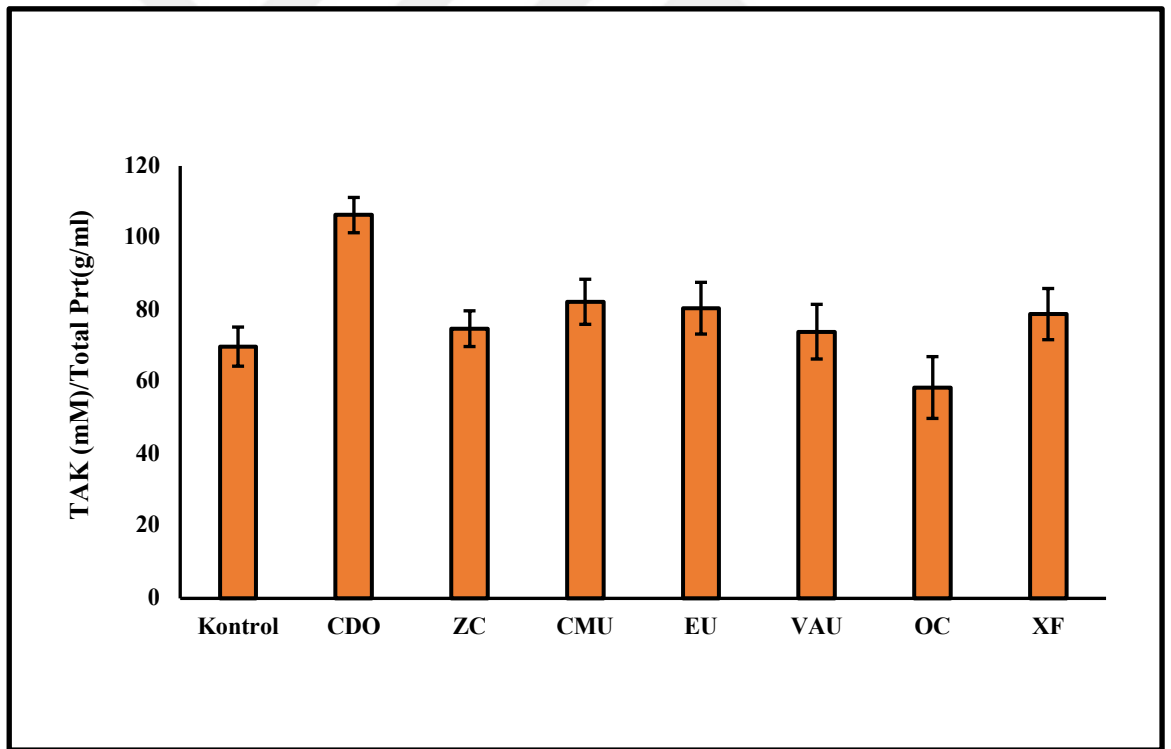
Bu çalışmada elde edilen veriler Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc., Version 21, Chicago, IL, USA) paket programı aracılığı ile analiz edildi. Verilerin Shapiro Wilk normallik testine göre normal dağılmamasından dolayı gruplar arası (farklı markalardaki rezin kompozitler) karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis H testi, grup içi (farklı zaman dilimlerinde değerlendirmesi) karşılaştırmalarda ise Wilcoxon işaret testi kullanılmış, p değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlı fark olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Yedi farklı tek renkli üniversal kompozit rezin ile inkübe edilen HGF-1 hücrelerinin total antioksidan kapasitesinin ve sitotoksitesinin *in-vitro* olarak incelendiği bu çalışmanın sonucunda elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4.1. Total Antioksidan Kapasite Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi

İnkübasyon periyotlarının ardından HGF-1 hücrelerinin gösterdiği total antioksidan kapasite (TAK) sonuçları Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Resin kompozitlerle inkübe edilen grupların total antioksidan kapasitesi

TAK değerleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık görülmektedir ($p<0,05$) (Tablo 4.1). Kontrol grubu $69,87\pm5,43$ mM/total protein total antioksidan değeri göstermiştir. CDO grubunun TAK kontrol grubuna göre %36 daha yüksek çıkmıştır. Aynı zamanda CDO grubunun TAK test edilen tüm gruplardan anlamlı derecede

yüksek çıkmıştır ($p<0,05$). ZC, CMU, EU, VAU, XF ile inkübe edilen hücrelerde TAK'ın kontrol grubuna göre %5-12 arttığı görülmüştür; ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Bununla birlikte OC ile inkübe edilen hücrelerde TAK değerinin kontrol grubuna göre yaklaşık %11 azaldığı belirlenmiştir; ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). OC ile muamele edilen hücrelerin TAK değerleri test edilen diğer kompozit rezinlerden anlamlı derecede düşük çıkmıştır ($p<0,05$).

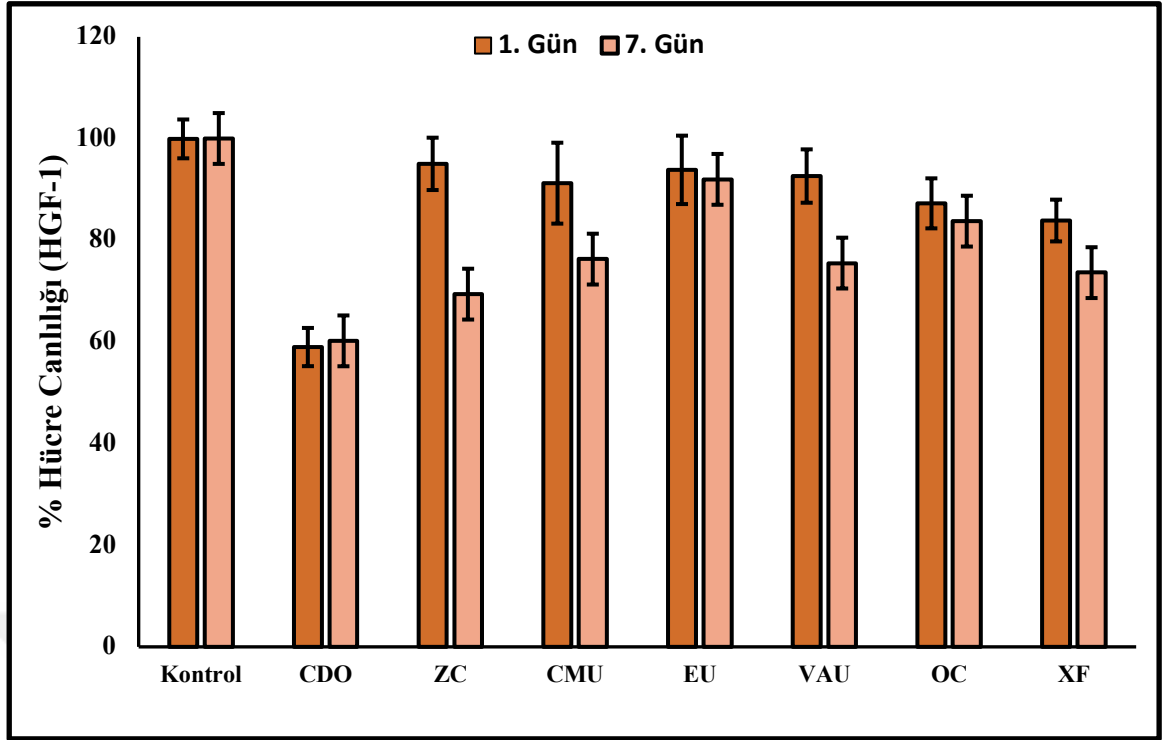
Tablo 4.1. Çalışma gruplarının total antioksidan kapasite değerleri
[Ortalama $\pm$ S.S-Min-Maks]

	Ortalama $\pm$ S.S	Min	Maks
Kontrol	69,87 $\pm$ 5,43 ^{ab}	61,67	76,85
CDO	106,37 $\pm$ 4,90 ^c	100,59	111,83
ZC	74,85 $\pm$ 4,96 ^a	66,07	77,45
CMU	82,31 $\pm$ 6,25 ^a	76,27	92,73
EU	80,53 $\pm$ 7,18 ^a	72,44	89,78
VAU	74,01 $\pm$ 7,59 ^a	67,50	86,73
OC	58,52 $\pm$ 8,57 ^b	46,60	64,61
XF	78,89 $\pm$ 7,10 ^a	70,86	70,86
	p=0,0001		

*Aynı harfler gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını gösterir ($p>0,05$).

4.2. Sitotoksikite Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi

İnkübasyon periyotlarının ardından yapılan 2 farklı ölçüm sonucu HGF-1 hücrelerinin canlılık oranı Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Grupların HGF-1 hücreleri üzerindeki yüzde canlılık etkileri

ISO 10993-5 standartlarına göre, hücre canlılığının %30'dan daha fazla azalması sitotoksik etki olarak kabul edilir. Sitotoksitenin belirlenmesinde sadece besiyeri ile inkübe edilen hücrelerin canlılığı %100 olarak kabul edilir ve test materyallerine maruz bırakılan hücrelerin canlılığı bu kuyucuklardan alınan absorbans ile oranlanarak belirlenir. Grupların inkübasyon periyoduna göre hücre canlılıkları değerlendirildiğinde 1. gün ve 7. gün sonundaki hücre canlılık değerleri anlamlı derecede farklıdır ($p<0,05$) (Tablo 4.2).

Test edilen 7 farklı rezin kompozit örneğinden 1. gün MTT sonuçları değerlendirildiğinde CDO sitotoksik etki göstermiştir ve hücre canlılığı ortalama % $58,98 \pm 3,76$ çıkmıştır. CDO'nun bu değeri test edilen diğer örneklerden ve kontrol grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p<0,05$). ZC, CMU, EU, VAU grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). OC, XF grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmezken ($p>0,05$), kontrol grubundan anlamlı derecede düşük sonuç vermiştir ($p<0,05$). ZC, CMU, EU, VAU, OC, grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). XF grubu ZC, CMU, EU grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük çıkmıştır ($p<0,05$).

Tablo 4.2. Çalışma gruplarının hücre canlılık değerleri (%)
[Ortalama $\pm$ S.S-Min-Maks]

	1. Gün			7. Gün			p değeri
	Ortalama $\pm$ S.S	Min	Maks	Ortalama $\pm$ S.S	Min	Maks	
Kontrol	99,93 $\pm$ 3,82 ^{Aa}	96,18	105,34	100,05 $\pm$ 5,17 ^{Aa}	95,42	109,90	0,753
CDO	58,98 $\pm$ 3,76 ^{Ab}	53,44	61,87	60,20 $\pm$ 9,63 ^{Ab}	48,53	70,75	0,917
ZC	95,02 $\pm$ 5,15 ^{Aac}	87,02	100,76	69,39 $\pm$ 6,94 ^{Bbc}	59,67	77,78	0,028
CMU	91,22 $\pm$ 7,96 ^{Aac}	81,68	103,47	76,28 $\pm$ 9,50 ^{Bc}	62,66	88,00	0,028
EU	93,84 $\pm$ 6,73 ^{Aac}	83,21	100,80	91,97 $\pm$ 4,75 ^{Ad}	83,33	97,22	0,345
VAU	92,62 $\pm$ 5,25 ^{Aacd}	84,73	99,24	73,51 $\pm$ 4,16 ^{Bc}	69,50	79,00	0,028
OC	87,25 $\pm$ 4,92 ^{Acd}	83,07	96,13	85,56 $\pm$ 8,27 ^{Ad}	78,25	97,22	0,601
XF	83,87 $\pm$ 4,11 ^{Ad}	78,27	88,55	73,62 $\pm$ 7,24 ^{Bc}	67,22	87,22	0,046
	p=0,0001			p=0,0001			

*Aynı büyük harfler aynı satırdaki gruplar arasında, aynı küçük harfler aynı sütundaki gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını gösterir (p>0,05).

Karşılaştırılan 7 farklı rezin kompozitin 7. gün MTT sonuçları değerlendirildiğinde CDO ve ZC sitotoksik etki göstermiştir (hücre canlılık değerleri sırasıyla; %60,20 $\pm$ 9,63 ve %69,39 $\pm$ 6,94). Test edilen bütün kompozitler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hücre canlılık değerleri anlamlı derecede düşük çıkmıştır (p<0,05). CDO grubunun hücre canlılık değerleri; ZC hariç test edilen diğer kompozitlerden anlamlı derecede düşük çıkmıştır (p<0,05), ZC grubu ile karşılaştırıldığında ise anlamlı bir farklılık çıkmamıştır (p>0,05). ZC grubunun hücre canlılığı; CMU, VAU, XF grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmezken (p>0,05), EU ve OC grubunun değerlerinden anlamlı derecede düşük çıkmıştır (p<0,05). OC ve EU gruplarının hücre canlılık değerleri kendi aralarında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark göstermezken (p>0,05) diğer test edilen kompozitlerden anlamlı derecede yüksek çıkmıştır (p<0,05). XF, VAU, CMU gruplarının hücre canlılık değerleri kendi aralarında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark göstermezken (p>0,05) EU, OC gruplarından anlamlı derecede düşük çıkmıştır (p<0,05).

Test edilen grupların zaman içindeki hücre canlılık değişimleri incelendiğinde; CDO, EU ve OC grupları anlamlı bir farklılık göstermezken (p>0,05), ZC, CMU, VAU ve XF gruplarının hücre canlılık değerleri anlamlı bir düşüş göstermiştir (p<0,05)

5.TARTIŞMA

Rezin kompozitler; diş hekimliğinde estetik ve mekanik özelliklerinden dolayı sıklıkla tercih edilen restoratif materyallerdir (Wiertelak-Makala vd., 2023). Tek renkli üniversal rezin kompozitler; renk seçimi aşamasını kaldıran, 16 VITA renk skalası renkleriyle uyumlu kompozitlerdir (Ahmed vd., 2022). Bu kompozitlerin güncel olması nedeniyle yapılan çalışma sayısı azdır.

Canlı dokularla etkileşim halinde olan materyaller hücreler üzerinde oksidatif etki göstererek sitotoksositeye neden olmaktadır. Rezin kompozitler ağız ortamında canlı dokularla temas halinde olduğundan materyallerin toksisitesi dişeti ve çevre dokuların sağlığı ve tedavinin başarısı açısından önem taşımaktadır (Kavuncu vd., 2020; Shahi vd., 2019). Bu tez çalışmasında OC, VAU, CMU, XF, ZC, CDO, EU tek renkli üniversal rezin kompozitlerin gingival fibroblastlar üzerindeki sitotoksitesi ve total antioksidan kapasitesi karşılaştırılmıştır.

Birinci boş hipotez olarak “Kullanılan kompozitler arasında sitotoksosite açısından fark yoktur.” hipotezi araştırılmıştır. Birinci gün MTT sonuçlarına göre CDO’ya maruz bırakılan hücrelerin canlılık seviyesi test edilen tüm kompozitlerden anlamlı derecede düşük; ZC, CMU ve EU ile inkübe edilen hücrelerin canlılığı XF grubundan anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. Yedinci gün MTT sonuçlarına göre CDO’nun toksisitesi CMU, EU, VAU, OC ve XF’e göre anlamlı derecede yüksek; EU ve OC’nin toksisitesi test edilen diğer kompozitlere göre anlamlı derecede düşük çıkmıştır. Bu sonuçlara göre birinci boş hipotez reddedilmiştir. Çalışmada ikinci boş hipotez olarak “Kompozitlerin zaman içerisinde sitotoksitesi değişmez.” hipotezi araştırılmıştır. Her iki zaman dilimindeki MTT değerleri karşılaştırıldığında CDO, EU, OC’nin hücre canlılığında anlamlı bir etkisi olmamış, diğer grupların canlılık seviyesinde anlamlı bir düşüş olmuştur. Bu sonuçlara göre ikinci boş hipotez kısmen kabul edilmiştir. Çalışmada üçüncü boş hipotez olarak “Kullanılan kompozitler farklı total antioksidan kapasitesine yol açmaz.” hipotezi araştırılmıştır. Total antioksidan kapasiteleri karşılaştırıldığında; CDO’ya maruz bırakılan hücrelerin total antioksidan kapasitesi

test edilen diğer gruplardan anlamlı derecede yüksek, OC ile inkübe edilen hücrelerin total antioksidan kapasitesi ise test edilen diğer gruplardan anlamlı derece düşük bulunmuştur. Bu sonuçlara göre üçüncü boş hipotez reddedilmiştir.

Sitotoksisite çalışmalarında çeşitli yöntemler tercih edilse de güvenilir, hızlı, tekrarlanabilir ve ekonomik bir yöntem olması dolayısıyla bu alanda sıklıkla MTT testi kullanılmaktadır (Kumar vd., 2018b; Mosmann, 1983). MTT testi *in-vitro* sitotoksisitenin belirlenmesinde ISO 10993-5 standartlarda önerilen bir yöntem olması sebebiyle çalışmamızda kullanılmıştır.

Sitotoksisite çalışmalarında, insan ve hayvan kaynaklı hücreler uzun yıllardır kullanılmaktadır (Geurtsen, 2000). Çalışmalar toksisitenin test edilen hücre hattına göre değişiklik gösterdiğini bildirmiştir (Wiertelak-Makala vd., 2023). Örneğin Kraus vd. (2017) yaptığı bir çalışmada rezin monomerlerin toksisitesine farklı osteoblast benzeri hücreler ile değerlendirmişlerdir. Kullanılan hücre hatları; osteosarkom kökenli hücre hatları olan MG-63 ve SAOS-2, non-tümör hücre hattı olan insan fetal osteoblastdır (HFOB 1.19). Çalışmanın sonucunda HFOB 1.19 hücre hattının tümöral hücre hatlarından daha hassas olduğu bulunmuştur. Kavuncu vd. (2020) farklı rezin kompozitlerin (Admira Fusion (AF), Charisma Topaz (CT), Estelite Quick Sigma (EQS)) HGF-1 ve insan periodontal ligament fibroblast (HPDLF) hücre hatları üzerindeki toksisitesini değerlendirmişlerdir. AF ve EQS'nın hem HGF-1 hem de HPDLF üzerinde toksik etkisi bulunmamıştır. CT'nin 24 saatlik bulgulara göre HGF-1 hücreleri üzerinde toksik etki göstermiş ancak HPDLF hücreleri üzerinde toksik etki göstermemiştir. MC3T3-E1 (fare osteoblast öncül hücre hattı) ve L929 fare fibroblastı gibi hücre hatları; oluşturdukları biyolojik cevabın uygun olması, kültürlerinin kolay elde edilebilmesi, üretilmelerindeki kolaylık nedeniyle tercih edilmektedir (Thonemann, Schmalz, Hiller ve Schweikl, 2002). Yapılan çalışmalar; hedef doku primer hücreleriyle çalışmanın, hücrelerin bölünme sayısının sınırlı olması, üremelerinin yavaş olması gibi bazı zorluklar içerse de klinikle ilişkilendirmek adına daha anlamlı sonuçlar ortaya koyduğunu göstermektedir (Geurtsen, 2000; Thonemann vd., 2002). *In-vivo* durumu daha iyi simüle etmesinden dolayı çalışmamızda standart hücre kültür hattı olan HGF-1 kullanılmıştır.

Monomer salımı ilk 24 saat en yüksek seviyede olacak şekilde sürekli devam etmektedir (Polydorou vd., 2009a). Ayrıca hücre kültürü testlerinde test ettiğimiz materyalin hücre hattı üzerinde etki göstermesi için en az 24 saat o materyale maruz

bırakılması önerilmektedir. Bu bilgiler ve referans makaleler (De Angelis vd., 2021; Kavuncu vd., 2020) doğrultusunda sitotoksosite testi deneyleri 1. gün ve 7. gün yapılmıştır.

ISO 10993-5 standartlarında hücre kültürü çalışmalarının en az n=3 örnek sayısı ile yapılması belirtilmiştir. Referans makalelerde 3, 5, 9 gibi çeşitli örnek sayısı kullanılmıştır (Beltrami vd., 2021; Celik, Binnetoğlu, Özakar Ilday, Hacimüftüoğlu ve Seven, 2021; Gonçalves vd., 2018; Kavuncu vd., 2020; Tunçel, Özdemir, Sümer, Hürmüzlü ve Polat, 2006). Çalışmamızda standart sapmayı düşürmek ve güvenilirliği arttırmak için deneylerde n=6 olarak belirlenmiştir.

Çalışmalar uygulanan materyal miktarının sitotoksositeyi etkilediğini göstermiştir (Wiertelak-Makala vd., 2023). Neves vd. (2019) periferik kan hücrelerinde 3 farklı monomeri (BisGMA, UDMA ve TEGDMA) test etmiştir. TC20 (hücre canlılığında %20 azalmaya neden olan konsantrasyon) ve TC50 (hücre canlılığında %50 azalmaya neden olan konsantrasyon) değerlerini karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda TC20 değerleri sırasıyla 50,5 µM, 167,0 µM, 2150,0 µM ve TC50 değerleri 69,0 mM, 505,0 mM, 3161,0 mM şeklinde bulunmuştur. Schneider, Hakami-Tafreshi, Tomasino-Perez, Tayebi ve Lobner (2019) yaptığı başka bir çalışmada ise monomerlerin pulpa hücresi üzerindeki sitotoksik etkinin bağlaması için gerekli konsantrasyonları BisGMA için 30 µm, UDMA için 100 µm şeklinde bulmuşlardır. Bu veriler doğrultusunda sonuçların materyalin boyutundan etkilenmemesi için örnekler önceki çalışmalar ve ISO standartları doğrultusunda 7 mm çapında ve 2 mm yükseklikte hazırlanmıştır (*International Standard ISO 10993-5*, Kavuncu vd., 2020).

Dureja, Acharya, Kini, Mayya ve Hedge (2024) belirttiği gibi rezin kompozite uygulanan ışık süresi ve ışık yoğunluğu dönüşüm derecesini, dönüşüm derecesi de sitotoksositeyi etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle çalışmamızda standardizasyonu sağlamak amacıyla uygun boyutta örnekleri hazırlayıp oksijenle temasını kesmek için şeffaf bant ve camla her iki tarafı kapatılarak her iki tarafından da 20 sn süreyle ve yine aynı makalede belirtildiği gibi ışık ucu ve yüzey arasındaki mesafe azaldıkça ışık yoğunluğu azaldığı için ışık cihazının ucu camla bitişik şekilde ışık uygulanmıştır.

Tek renkli universal rezin kompozitlerin kullanımındaki artışa rağmen bu materyallerle ilgili çalışmalar kısıtlıdır. Araştırmacılar çalışmalarında genellikle bu materyalin optik ve estetik özellikleri üzerine yoğunlaşmıştır (De Abreu vd., 2021;

Ersöz vd., 2022; Lucena vd., 2021). Yılmaz Atalı vd. (2022) yaptığı çalışmada tek renkli universal rezin kompozitlerin fiziksel ve mekanik özelliklerini incelemiştir. Çalışmanın sonucunda test edilen kompozitler ISO standartlarına uygun bulunmuştur. Araştırmacılar tek renkli universal rezin kompozitlerden birkaçının hücreler üzerindeki sitotoksitesini konvansiyonel rezin kompozitlerle karşılaştırsa da bu konudaki araştırmalar kısıtlıdır (Beltrami vd., 2021; Ilie, Ionescu ve Diegelmann, 2022). Çalışmamız piyasada mevcut olan 7 farklı tek renkli universal kompozitin gingival fibroblastlar üzerindeki sitotoksitesi ve total antioksidan kapasitesini değerlendirmek üzere yapılan ilk çalışmadır.

Beltrami vd. (2021) yaptığı çalışmada içlerinde OC'nın da bulunduğu 8 farklı kompozit rezinin HGF-1 hücreleri üzerindeki sitotoksitesini 48 saat ve 72 saatlik zaman diliminde MTT testi ile değerlendirmişlerdir. 48 saat sonunda OC hücreler üzerinde en düşük toksisiteyi göstermiştir (hücre canlılığı>%80). 72 saat sonunda OC ile inkübe edilen hücrelerin canlılık seviyesinde anlamlı bir düşüş olmuştur. Çalışmamızda 24 saatlik ve 7 günlük sitotoksite değerlendirmelerinde OC hücre canlılığını (ort. %87,25-%85,56) azaltsa da bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Ilie vd. (2022) yaptığı çalışmada içlerinde OC'nın da bulunduğu 3 farklı kompozit rezinin HGF-1 hücreleri üzerindeki sitotoksitesini 24 saat, 48 saat, 72 saat, 10 gün, 2 hafta ve 1 aylık zaman dilimlerinde WST-1 analizi ile incelemiştir. Kompozitlerden Kulzer firmasına ait Venus Diamond One'ın içeriği çalışmamızda kullandığımız aynı firmaya ait Charisma Diamond One ile benzerdir. Çalışmanın sonucunda kompozitler arası bir fark bulunmazken farklı zaman dilimlerinde anlamlı bir değişim mevcuttur. Ancak bizim çalışmamızda 24 saatlik sonuca göre OC'nın biyoyumluluğu CDO'dan anlamlı derecede yüksektir ve her iki kompozitin hücre canlılığını etkilemesi zaman içinde anlamlı bir değişim göstermemiştir.

Alharbi, Al Nahedh, Al-Saud, Shono ve Maawadh (2024) içlerinde OC, CDO, VAU'nun bulunduğu 4 kompozitin dönüşüm derecesini karşılaştırmıştır. Dönüşüm derecesinin biyoyumlulukla doğru orantılı olduğu bilinmektedir (Peutzfeldt, 1997). Alharbi vd. (2024) yaptığı çalışmanın sonucunda kompozitler arası dönüşüm derecesi anlamlı şekilde farklı çıkmıştır. VAU en yüksek dönüşüm derecesine sahipken onu OC, ardından CDO takip etmektedir. Bu bulgular çalışmamızın sonuçlarıyla uyumludur. 24 saatlik MTT testi sonuçlarına göre VAU, OC, CDO ile inkübe edilen hücrelerin canlılık

değerleri sırasıyla $92,62 \pm 5,25$; $87,25 \pm 4,92$ ve $58,98 \pm 3,76$ olarak belirlenmiştir. VAU ve OC'ye maruz bırakılan hücrelerin canlılık değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Ancak CDO'nun diğer iki kompozitten anlamlı derecede düşük hücre canlılığına neden olduğu görülmüştür.

Yılmaz Atalı vd. (2022) tek renkli üniversal rezin kompozitlerin fiziksel ve mekanik özelliklerini karşılaştırmıştır. Yılmaz Atalı vd. (2022) OC, ZC, EU'nun dönüşüm dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmamıştır. Bu sonuç bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uyumludur. Bu üç kompozitin 24 saatlik sitotoksiste analizi sonuçlarına baktığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Aynı çalışmada CDO, EU, ZC ve VAU'nun dönüşüm dereceleri arasında da bir fark bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda EU, ZC, VAU'nun 24 saatlik sitotoksiste analizi sonuçlarında anlamlı bir fark bulunamazken CDO bu kompozitlerden anlamlı derecede düşük çıkmıştır.

Fleming, Awan, Cooper ve Sloan (2008) yaptığı çalışmada içlerinde XF'in de olduğu 3 farklı kompozitin 1-2-4-7-14 günlük sitotoksitesine tripan mavisi analizi ile murin pulpa hücreleri üzerinde bakmışlardır. Çalışmanın sonucunda kompozitler arasında sitotoksiste açısından bir fark yokken, hücre canlılığı zaman içinde azalmıştır. Bu zaman içindeki değişim bizim çalışmamızın sonucuyla uyumludur. XF ile inkübe edilen hücrelerin canlılığında 1. ve 7. gün ($83,87 \pm 4,11$ -% $73,62 \pm 7,24$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe neden olmuştur.

De Angelis vd. (2021) yaptığı çalışmada Clearfil Majesty ES-2 Classic kompozit ve Venus Diamond kompozit de içinde olmak üzere 5 farklı kompozitin 24 saat ve 7 günlük zaman aralığında sitotoksitesine, genotoksitesine ve oluşturduğu ROT'a bakılmıştır. Venus Diamond kompozit, bizim çalışmamızda kullandığımız aynı firma olan Kulzer firmasının Charisma Diamond One'ı ve Clearfil Majesty ES-2 Classic yine aynı firma olan Kuraray firmasının Clearfil Majesty ES-2 Universal kompoziti ile benzer içeriklere sahiptir. De Angelis vd. (2021) MTT analizi sonuçlarına göre Clearfil Majesty ES-2 Classic kompozitinin hücre canlılığında önemli bir azalmaya neden olmadığını bulmuşlardır. Bu bizim çalışmamızla kısmen uyumludur. Bizim çalışmamızda da CMU kompozitin 1 günlük hücre canlılık değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir fark gözlenmemiş, ancak 7. gün sonuçlarına göre hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Zaman içerisinde gözlenen bu azalma Wiertelak-Makala vd. (2023) belirttiği gibi maruz kalma süresi

arttıkça sitotoksosite artar bilgisiyle uyumaktadır. De Angelis vd. (2021) çalışmasında Venus Diamond kompozitinin hücre canlılığında anlamlı derecede azalmaya neden olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuç bizim çalışmamızda kullandığımız CDO'nun MTT analizi sonucuyla uyumludur. Çalışmamızın sonuçlarına göre CDO her iki zaman aralığında da hücre canlılığında anlamlı bir düşüşe neden olmuştur.

Rezin kompozitlerin sitotoksik etkisinin içerdiği organik matrikse bağlı olduğu bilinmektedir (Atalayın vd., 2016). Rezin kompozitlerin organik matriks içeriğindeki monomerler polimerizasyon reaksiyonu ile polimere dönüşerek katı hale gelir (Riva ve Rahman, 2019). Ancak bu polimerizasyonun tam olarak tamamlanmadığı bilinmektedir. Polimerize olmayan monomerler artık monomer olarak adlandırılır ve kompozit restorasyondan ortama salınarak toksik etki gösterir (Wiertelak-Makala vd., 2023). Çalışmamızda kullandığımız rezin kompozitler farklı monomerler içermektedir, böylece hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi de farklıdır.

Araştırmacılar BisGMA'nın en toksik monomer olduğu ve toksisite sıralamasının BisGMA>UDMA>TEGDMA>HEMA olduğu konusunda fikir birliğine varmışlardır (Lee, Lim, Lee, Ahn ve Yang, 2006; Ratanasathien vd., 1995). Çalışmamızda kullandığımız OC, monomer içeriğinde BisGMA bulundurmayan bir rezin kompozittir. 7. Gün hücre canlılık analizine göre OC'nin neden olduğu canlılık oranı; BisGMA içeren CMU, XF, ZC'dan anlamlı derecede yüksek çıkmıştır.

Al-Hiyasat, Darmani ve Milhem (2005) geleneksel ve akışkan rezin kompozitlerin sitotoksisitelerini incelediği çalışmada kompozitin kimyasal yapısının, monomer oranının sitotoksosite üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu, organik matriks oranının arttıkça sitotoksitenin de arttığını belirtmiştir. Bu bağlamda çalışmamızda değerlendirdiğimiz kompozitlerden EU ve OC'nin (sırasıyla doldurucu oranı %81-na, %79-68 (ağırlık/hacim)) neden olduğu hücre canlılık oranı 7. Gün hücre canlılık analizine göre CMU ve ZC'dan (sırasıyla doldurucu oranı ağırlıkça %78-40, %75-53 (ağırlık/hacim)) anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. Aynı zamanda VAU'ya maruz bırakılan (doldurucu oranı %82-72 (ağırlık/hacim)) hücrelerin canlılık oranı 1. Gün MTT analizi sonucuna göre CDO'ya maruz bırakılan hücrelerden (doldurucu oranı %81-64 (ağırlık/hacim)) anlamlı derecede yüksek çıkmıştır.

Kavuncu vd. (2020) yaptığı çalışmada Estelite Quick Sigma, Admira Fusion ve Charisma Topaz markalı 3 farklı kompozitin HGF-1 ve HPDL üzerindeki

sitotoksitesini MTT analizi ile 1 günlük ve 1 haftalık zaman aralığında incelemişlerdir. Charisma Topaz monomer olarak yeni geliştirilmiş TCD monomerini içermekte ve en toksik monomer olduğu bilinen BisGMA türev monomerlerini içermemektedir (Lee vd., 2006; Ratanasathien vd., 1995). Bizim çalışmamızdan Kulzer firmasına ait CDO da aynı monomeri içermektedir. Kavuncu vd. (2020) yaptığı çalışmaya göre Charisma Topaz her iki hücre grubunda da en toksik materyal olarak bulunmuştur ve zaman içinde toksisitesi anlamlı şekilde artmıştır. Bizim çalışmamızda CDO 24 saatlik sonuçlara göre anlamlı derecede en toksik materyal çıkmıştır. 1 haftalık sonuçlara bakıldığında ortalama olarak en düşük hücre canlılığını vermesine rağmen ZC ile anlamlı bir farkı yoktur. Zaman içindeki değişime bakıldığında ise bizim çalışmamızda anlamlı bir değişim göstermemiştir. Her iki çalışmada da BisGMA içeren kompozitler bulunmasına rağmen CDO en toksik kompozit çıkmıştır.

Artık monomerler, restorasyonda zaman içinde oluşan bozunma ve degradasyon (bozulma) sonucu salınan komponentler ROT oluşturarak hücreler üzerinde oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres devam ederse; ROT protein, lipid ve nükleik asitlerde birikir ve bu durum hücrelerde gen ekspresyonu, hücre farklılaşması ve mutajenez gibi biyolojik farklılıklara neden olabilir (Żukowski, Maciejczyk ve Waszkiel, 2018). Çeşitli enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar reaktif molekülleri nötralize eder ve hücreleri sitotoksik etkilere karşı korur (Cheeseman ve Slater, 1993; Godic vd., 2014). Farklı antioksidanların aktiviteleri ve miktarları antioksidan durum açısından analiz edilmiştir. Antioksidanları ayrı ayrı ölçmek pahalı ve zor olduğundan biyolojik sıvılardaki total antioksidan kapasite (TAK) seviyeleri değerlendirilmiştir (Celik vd., 2021; Guler vd., 2015; Schweikl, Spagnuolo ve Schmalz, 2006). TAK ölçmek; oksidatif stres içeren hastalıkların patofizyolojisi ve endojen antioksidanlar yetersiz seviyede olduğunda uygun tedavi hakkında bilgi verdiği için ayrıca tedaviye yanıtı izlemek için kullanılabildiğinden önemlidir (Silvestrini vd., 2023).

TAK'ı değerlendirmek için birçok test yöntem var olsa da çalışmamızda kullanımı basit ve hızlı bir yöntem olan FRAP testi kullanılmıştır (Benzie ve Strain, 1996).

Literatürde kompozitlerin oluşturduğu TAK'ın değerlendirildiği çalışma sınırlıdır. Daha önce birkaç çalışmada tükürükteki TAK seviyesi değerlendirilmiştir (Celik vd., 2021; Guler vd., 2015). Güler ve vd. (2015) kompozit restorasyonlardan salınan komponentler sonucu tükürükteki TAK miktarının arttığını belirlemişlerdir.

Çalışmamızda farklı rezin kompozitlerle inkübe edilen HGF-1 hücrelerinin oluşturduğu TAK seviyesi belirlenmiştir. Güler ve vd. (2015) sonucuna benzer olarak CDO'nun hücrelerde neden olduğu TAK kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ZC, CMU, EU, VAU ve XF'e maruz bırakılan hücrelerin oluşturduğu TAK seviyesi kontrol grubuna göre yüksek çıkarken bu fark anlamlı değildir.

Çelik ve vd. (2021) farklı restoratif malzemelerin (amalgam, cam iyonomer siman, kompomer ve kompozit) HGF-1 üzerindeki sitotoksik ve oksidatif etkilerini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda tüm materyallerin kontrol grubuna göre hücre canlılığında anlamlı derecede azalmaya neden olduğu ve bu restoratif materyallerin 7 günlük inkübasyonu sonrasında hücrelerdeki TAK düzeyini önemli ölçüde arttırdığını belirlenmiştir. Bu durum bizim yaptığımız çalışmada; kontrol grubuna göre hücre canlılığında anlamlı bir düşüşe neden olan CDO'nun en yüksek TAK değeri vermesiyle uyumludur.

Gociu ve vd. (2013) dental materyallerden salınan monomerlerin hücrelerdeki ROT'ni arttırdığını belirtmiştir. ROT artması hücrede oksidan-antioksidan dengesizliğine neden olarak oksidatif strese neden olarak hücre ölümüyle sonuçlanabilir (Dröge, 2002). Çalışmamızda CDO'la inkübe edilen hücrelerin en yüksek TAK ürettiği ve sitotoksik etkisinin test edilen gruplar arasında en yüksek olduğu görülmüştür.

Çalışmamız klinik ortamı taklit etmek için HGF-1 hücre hattı üzerinde yapılmış ve *in-vitro* bir çalışmadır. Resin kompozitin yapısı ağız ortamındaki tükürük, sıcaklık değişimi, çiğneme kuvvetleri gibi nedenlerle değişime uğramaktadır. Çalışmamızda *in-vivo* etkiler ve sonuçlar tam anlamıyla taklit edilememiş, daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda 1 ve 7 günlük toksisite sonuçlarına ve tek zaman diliminde total antioksidan kapasitesine bakılmıştır. Yaptığımız restorasyonlarla beraber resin kompozitlerin ağızda kalma süresi uzamaktadır. Bu durumu taklit etme açısından farklı zaman diliminde ve daha uzun sürede yapılan ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Dönüşüm derecesinin sitotoksik etkiyi direkt olarak etkilediği bilinmektedir. Çalışmamızda sitotoksik etki değerlendirilse de dönüşüm derecesi değerlendirilmemiştir. Bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

Bu tez çalışmasında; 7 farklı tek renkli üniversal rezin kompozitin insan gingival fibroblast hücre hattı üzerindeki *in-vitro* sitotoksik etkisi ve hücrelerin total antioksidan kapasitesi incelenmiştir. Çalışmamızın kısıtlılıkları dahilinde,

- İncelenen rezin kompozitler HGF-1 üzerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı sitotoksik etkiye neden olmuştur.
- Test edilen rezin kompozitlere maruz bırakılan HGF-1 hücrelerinin total antioksidan seviyesi incelendiğinde gruplar arası anlamlı bir farklılık bulunmuştur.
- İncelenen kompozitler arasında EU ve OC en düşük, CDO ve ZC en yüksek sitotoksik etkiye sebep olmuştur. Dişetine yakın konumlanan restorasyonlarda hücreler üzerinde düşük toksik etki gösteren EU ve OC'nin kullanılması tercih edilebilir.

KAYNAKLAR

- Adan, A., Kiraz, Y., & Baran, Y. (2016). Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17(14), 1213-1221.
- Ahmed, M. A., Jouhar, R., & Khurshid, Z. (2022). Smart Monochromatic Composite: A Literature Review. *International Journal of Dentistry*, 2022, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2022/2445394>
- Alharbi, G., Al Nahedh, H. N., Al-Saud, L. M., Shono, N., & Maawadh, A. (2024). Flexural strength and degree of conversion of universal single shade resin-based composites. *Heliyon*, 10(11), e32557. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32557>
- Al-Hiyasat, A. S., Darmani, H., & Milhem, M. M. (2005). Cytotoxicity evaluation of dental resin composites and their flowable derivatives. *Clinical Oral Investigations*, 9(1), 21-25. <https://doi.org/10.1007/s00784-004-0293-0>
- Altun, D. C. (2005). Kompozit Dolgu Materyallerinde Son Gelişmeler. *Gülhane Tıp Dergisi*, 47(1), 77-82.
- Alzraikat, H., Burrow, M., Maghaireh, G., & Taha, N. (2018). Nanofilled Resin Composite Properties and Clinical Performance: A Review. *Operative Dentistry*, 43(4), E173-E190. <https://doi.org/10.2341/17-208-T>
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 2. Hydrogen Atom Transfer (HAT)-Based, Mixed-Mode (Electron Transfer (ET)/HAT), and Lipid Peroxidation Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 1028-1045. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04743>
- Arts, M. J. T. J., Haenen, G. R. M. M., Voss, H.-P., & Bast, A. (2004). Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) assay. *Food and Chemical Toxicology*, 42(1), 45-49. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2003.08.004>
- Aslantürk, Ö. S. (2018). İn-vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. İçinde M. L. Larramendy & S. Soloneski (Ed.), *Genotoxicity—A Predictable Risk to Our Actual World*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71923>
- Atalayın, Ç., Tezel, H., & Ergücü, Z. (2016). An Overview to the Cytotoxicity of Resin Based Dental Materials. *Journal of Ege University School of Dentistry*, 37(2), 47-53. <https://doi.org/10.5505/eudfd.2016.66487>
- Ates, G., Vanhaecke, T., Rogiers, V., & Rodrigues, R. M. (2017). Assaying Cellular Viability Using the Neutral Red Uptake Assay. İçinde D. F. Gilbert & O. Friedrich (Ed.), *Cell Viability Assays* (C. 1601, ss. 19-26). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6960-9_2
- Bakopoulou, A., Papadopoulos, T., & Garefis, P. (2009). Molecular toxicology of

substances released from resin-based dental restorative materials. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(9), 3861-3899.

<https://doi.org/10.3390/ijms10093861>

Bapat, R. A., Parolia, A., Chaubal, T., Dharamadhikari, S., Abdulla, A. M., Sakkir, N., Arora, S., Bapat, P., Sindi, A. M., & Kesharwani, P. (2021). Recent update on potential cytotoxicity, biocompatibility and preventive measures of biomaterials used in dentistry. *Biomaterials Science*, 9(9), 3244-3283.

<https://doi.org/10.1039/D1BM00233C>

Beltrami, R., Colombo, M., Rizzo, K., Di Cristofaro, A., Poggio, C., & Pietrocola, G. (2021). Cytotoxicity of Different Composite Resins on Human Gingival Fibroblast Cell Lines. *Biomimetics*, 6(2), 26. <https://doi.org/10.3390/biomimetics6020026>

Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>

Berry, J. M., Huebner, E., & Butler, M. (1996). The crystal violet nuclei staining technique leads to anomalous results in monitoring mammalian cell cultures. *Cytotechnology*, 21, 73-80. <https://doi.org/10.1007/BF00364838>

Bopp, S. K., & Lettieri, T. (2008). Comparison of four different colorimetric and fluorometric cytotoxicity assays in a zebrafish liver cell line. *BMC Pharmacology*, 8(1), 8. <https://doi.org/10.1186/1471-2210-8-8>

Bowen, R. L. (1962). Dental filling material comprising vinyl silane treated fused silica and a binder consisting of the reaction product of bis phenol and glycidyl acrylate. *United States Patent Office*.

Bowen, R. L. (1963). Properties of a silica-reinforced polymer for dental restorations. *The Journal of the American Dental Association*, 66(1), 57-64. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1963.0010>

Browne, R. M. (1988). The in-vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials—Does it have a role? *International Endodontic Journal*, 21(2), 50-58. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.1988.tb00955.x>

Bucuta, S., & Ilie, N. (2014). Light transmittance and micro-mechanical properties of bulk fill vs. Conventional resin based composites. *Clinical Oral Investigations*, 18(8), 1991-2000. <https://doi.org/10.1007/s00784-013-1177-y>

Buonocore, M. G. (1955). A Simple Method of Increasing the Adhesion of Acrylic Filling Materials to Enamel Surfaces. *Journal of Dental Research*, 34(6), 849-853. <https://doi.org/10.1177/00220345550340060801>

Burgess, J. O., Walker, R., & Davidson, J. M. (2002). Posterior resin-based composite: Review of the literature. *Pediatric Dentistry*, 24(5), 465-479.

Butterworth, C., Ellakwa, A. E., & Shortall, A. (2003). Fibre-Reinforced Composites in Restorative Dentistry. *Dental Update*, 30(6), 300-306. <https://doi.org/10.12968/denu.2003.30.6.300>

Cano, A., Maestre, A. B., Hernández-Ruiz, J., & Arnao, M. B. (2023). ABTS/TAC Methodology: Main Milestones and Recent Applications. *Processes*, 11(1), 185. <https://doi.org/10.3390/pr11010185>

Carrillo-Cotto, R., Etges, A., Jardim, P. S., Torre, E., Kaizer, M. R., Ferrúa, C. P.,

- Nedel, F., Cuevas-Suárez, C. E., & Moraes, R. R. (2020). Cytotoxicity of contemporary resin-based dental materials in contact with dentin. *European Journal of Oral Sciences*, 128(5), 436-443. <https://doi.org/10.1111/eos.12723>
- Celik, C. (2017). Güncel Kompozit Rezin Sistemler. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 3(3), 128-137.
- Celik, N., Binnetoglu, D., Ozakar Ilday, N., Hacimuftuoglu, A., & Seven, N. (2021). The cytotoxic and oxidative effects of restorative materials in cultured human gingival fibroblasts. *Drug and Chemical Toxicology*, 44(5), 502-507. <https://doi.org/10.1080/01480545.2019.1620265>
- Chang, C.-Y., Chiang, C.-Y., Chiang, Y.-W., Lee, M.-W., Lee, C.-Y., Chen, H.-Y., Lin, H.-W., & Kuan, Y.-H. (2020). Toxic Effects of Urethane Dimethacrylate on Macrophages Through Caspase Activation, Mitochondrial Dysfunction, and Reactive Oxygen Species Generation. *Polymers*, 12(6), 1398. <https://doi.org/10.3390/polym12061398>
- Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49(3), 481-493. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072625>
- Chesterman, J., Jowett, A., Gallacher, A., & Nixon, P. (2017). Bulk-fill resin-based composite restorative materials: A review. *British Dental Journal*, 222(5), 337-344. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2017.214>
- Dayangaç, B. (2000). *Kompozit Restorasyonlar*. Quintessence yayıncılık Ltd. Şti.
- De Abreu, J. L. B., Sampaio, C. S., Benalcázar Jalkh, E. B., & Hirata, R. (2021). Analysis of the color matching of universal resin composites in anterior restorations. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 33(2), 269-276. <https://doi.org/10.1111/jerd.12659>
- De Angelis, F., Mandatori, D., Schiavone, V., Melito, F. P., Valentinuzzi, S., Vadini, M., Di Tomo, P., Vanini, L., Pelusi, L., Pipino, C., Del Boccio, P., D'Arcangelo, C., & Pandolfi, A. (2021). Cytotoxic and Genotoxic Effects of Composite Resins on Cultured Human Gingival Fibroblasts. *Materials*, 14(18), 5225. <https://doi.org/10.3390/ma14185225>
- Del Giudice, C., Rengo, C., Maglito, M., Armogida, N. G., Iaculli, F., Rengo, S., Menale, C., & Spagnuolo, G. (2024). Cytotoxicity effects and differentiation potential of ormocer-based and nanohybrid composite resins on human dental pulp stem cells. *Dental Materials*, S010956412400109X. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2024.05.011>
- Demarco, F. F., Corrêa, M. B., Cenci, M. S., Moraes, R. R., & Opdam, N. J. M. (2012). Longevity of posterior composite restorations: Not only a matter of materials. *Dental Materials*, 28(1), 87-101. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2011.09.003>
- Dietschi, D., & Fahl, N. (2016). Shading concepts and layering techniques to master direct anterior composite restorations: An update. *British Dental Journal*, 221(12), 765-771. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.944>
- Dröge, W. (2002). Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47-95. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001>
- Duellman, S. J., Zhou, W., Meisenheimer, P., Vidugiris, G., Cali, J. J., Gautam, P., Wennerberg, K., & Vidugiriene, J. (2015). Bioluminescent, Nonlytic, Real-Time Cell

- Viability Assay and Use in Inhibitor Screening. *ASSAY and Drug Development Technologies*, 13(8), 456-465. <https://doi.org/10.1089/adt.2015.669>
- Dunnick, J. K., Brix, A., Sanders, J. M., & Travlos, G. S. (2014). *N, N*-Dimethyl-*p*-toluidine, a Component in Dental Materials, Causes Hematologic Toxic and Carcinogenic Responses in Rodent Model Systems. *Toxicologic Pathology*, 42(3), 603-615. <https://doi.org/10.1177/0192623313489604>
- Dureja, A., Acharya, S. R., Kini, S., Mayya, A., & Hedge, V. (2024). Biocompatibility and Performance of Dental Composite Restorations: A Narrative Review on Free Monomer Release, Concerns and Solutions. *RAiSE-2023*, 160. <https://doi.org/10.3390/engproc2023059160>
- Edinger, A. L., & Thompson, C. B. (2004). Death by design: Apoptosis, necrosis and autophagy. *Current Opinion in Cell Biology*, 16(6), 663-669. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2004.09.011>
- Eick, J. D., Robinson, S. J., Byerley, T. J., & Chappelow, C. C. (1993). Adhesives and nonshrinking dental resins of the future. *Quintessence International (Berlin, Germany: 1985)*, 24(9), 632-640.
- El-Damanhoury, H., & Platt, J. (2014). Polymerization Shrinkage Stress Kinetics and Related Properties of Bulk-fill Resin Composites. *Operative Dentistry*, 39(4), 374-382. <https://doi.org/10.2341/13-017-L>
- Eliezer, R., Devendra, C., Ravi, N., Tangutoori, T., & Yesh, S. (2020). Omnichroma: One Composite to Rule Them All. *International Journal of Medical Science*, 7(6), 6-8. <https://doi.org/10.14445/23939117/IJMS-V7I6P102>
- El-Safty, S., Silikas, N., & Watts, D. C. (2012). Creep deformation of restorative resin-composites intended for bulk-fill placement. *Dental Materials*, 28(8), 928-935. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2012.04.038>
- Erkekoğlu, P., & Baydar, T. (2021). Güncel İn-vitro Sitotoksikite Testleri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 41(1), 45-63.
- Ersöz, B., Karaoğlanoğlu, S., Oktay, E., & Aydin, N. (2022). Resistance of Single-shade Composites to Discoloration. *Operative Dentistry*, 47(6), 686-692. <https://doi.org/10.2341/21-156-L>
- Fahad, F., & Majeed, M. A. (2014). Fracture resistance of weakened premolars restored with sonically-activated composite, bulk-filled and incrementally-filled composites(A comparative in-vitro study). *Journal of Baghdad College of Dentistry*, 26(4), Article 4.
- Fahl, N. (2012). Single-shaded direct anterior composite restorations: A simplified technique for enhanced results. *Compendium of Continuing Education in Dentistry (Jamesburg, N.J.: 1995)*, 33(2), 150-154.
- Fan, F., & Wood, K. V. (2007). Bioluminescent Assays for High-Throughput Screening. *ASSAY and Drug Development Technologies*, 5(1), 127-136. <https://doi.org/10.1089/adt.2006.053>
- Fejér, J., Kron, I., Eliašová, A., Gruľová, D., Gajdošová, A., Lancíková, V., & Hricová, A. (2021). New Mutant Amaranth Varieties as a Potential Source of Biologically Active Substances. *Antioxidants*, 10(11), 1705. <https://doi.org/10.3390/antiox10111705>

- Feoktistova, M., Geserick, P., & Leverkus, M. (2016). Crystal Violet Assay for Determining Viability of Cultured Cells. *Cold Spring Harbor Protocols*. <https://doi.org/doi:10.1101/pdb.prot087379>
- Ferrari, C. K. B. (2012). Effects of xenobiotics on total antioxidant capacity. *Interdisciplinary Toxicology*, 5(3), 117-122. <https://doi.org/10.2478/v10102-012-0019-0>
- Fidan, M., Karaaslan, G., & Kutlu, İ. (2023). Tek Renk Üniversal Rezin Kompozitler. *Uşak Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2(1), Article 1.
- Fleming, G. J. P., Awan, M., Cooper, P. R., & Sloan, A. J. (2008). The potential of a resin-composite to be cured to a 4mm depth. *Dental Materials*, 24(4), 522-529. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2007.05.016>
- Gandhi, S., & Abramov, A. Y. (2012). Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 428010. <https://doi.org/10.1155/2012/428010>
- Garoushi, S., Gargoum, A., Vallittu, P. K., & Lassila, L. (2018). Short fiber-reinforced composite restorations: A review of the current literature. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 9(3), e12330. <https://doi.org/10.1111/jicd.12330>
- Garoushi, S., Säilynoja, E., Vallittu, P. K., & Lassila, L. (2013). Physical properties and depth of cure of a new short fiber reinforced composite. *Dental Materials*, 29(8), 835-841. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.04.016>
- Garoushi, S., Vallittu, P. K., & Lassila, L. (2017). Mechanical Properties and Wear of Five Commercial Fibre-Reinforced Filling Materials. *Chinese Journal of Dental Research*, 20(3), 137-143. <https://doi.org/10.3290/j.cjdr.a38768>
- Garoushi, S., Vallittu, P. K., & Lassila, L. V. J. (2007). Short glass fiber reinforced restorative composite resin with semi-inter penetrating polymer network matrix. *Dental Materials*, 23(11), 1356-1362. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2006.11.017>
- Geurtsen, W. (2000). Biocompatibility of Resin-Modified Filling Materials. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 11(3), 333-355. <https://doi.org/10.1177/10454411000110030401>
- Gociu, M., Pătroi, D., Prejmorean, C., Păstrăv, O., Boboia, S., Prodan, D., & Moldovan, M. (2013). Biology and cytotoxicity of dental materials: An in-vitro study. *Romanian Journal of Morphology and Embryology = Revue Roumaine De Morphologie Et Embryologie*, 54(2), 261-265.
- Godic, A., Poljšak, B., Adamic, M., & Dahmane, R. (2014). The Role of Antioxidants in Skin Cancer Prevention and Treatment. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1-6. <https://doi.org/10.1155/2014/860479>
- Goldberg, M. (2008). In-vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: A review. *Clinical Oral Investigations*, 12(1), 1-8. <https://doi.org/10.1007/s00784-007-0162-8>
- Gonçalves, F., Campos, L. M. D. P., Rodrigues-Júnior, E. C., Costa, F. V., Marques, P. A., Francci, C. E., Braga, R. R., & Boaro, L. C. C. (2018). A comparative study of bulk-fill composites: Degree of conversion, post-gel shrinkage and cytotoxicity. *Brazilian Oral Research*, 32(0). <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0017>

- Gorokhova, E., Mattsson, L., & Sundström, A. M. (2012). A comparison of TO-PRO-1 iodide and 5-CFDA-AM staining methods for assessing viability of planktonic algae with epifluorescence microscopy. *Journal of Microbiological Methods*, 89(3), 216-221. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.03.005>
- Graf, N., & Ilie, N. (2022). Long-term mechanical stability and light transmission characteristics of one shade resin-based composites. *Journal of Dentistry*, 116, 103915. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2021.103915>
- Green, S. J., Mellouk, S., Hoffman, S. L., Meltzer, M. S., & Nacy, C. A. (1990). Cellular mechanisms of nonspecific immunity to intracellular infection: Cytokine-induced synthesis of toxic nitrogen oxides from l-arginine by macrophages and hepatocytes. *Immunology Letters*, 25(1-3), 15-19. [https://doi.org/10.1016/0165-2478\(90\)90083-3](https://doi.org/10.1016/0165-2478(90)90083-3)
- Guler, C., Toy, E., Ozturk, F., Gunes, D., Karabulut, A. B., & Otlı, O. (2015). Evaluation of salivary total oxidant-antioxidant status and DNA damage of children undergoing fixed orthodontic therapy. *The Angle Orthodontist*, 85(2), 239-244. <https://doi.org/10.2319/110113-798.1>
- Gunwal, Mohit. K., Shenoi, P. R., Paranjape, T., Dhote, S., Tongya, R., Kumar, M., & Rastogi, S. (2018). Evaluation of fracture resistance and mode of failure of premolars restored with nanohybrid composite, ORMOCER and ceramic inlays. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 8(2), 134-139. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2017.08.004>
- Guo, X., Yu, Y., Gao, S., Zhang, Z., & Zhao, H. (2022). Biodegradation of Dental Resin-Based Composite-A Potential Factor Affecting the Bonding Effect: A Narrative Review. *Biomedicines*, 10(9), 2313. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10092313>
- Gupta, S., Finelli, R., Agarwal, A., & Henkel, R. (2021). Total antioxidant capacity—Relevance, methods and clinical implications. *Andrologia*, 53(2). <https://doi.org/10.1111/and.13624>
- Gutteridge, J. M. C. (1994). Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interactions*, 91(2-3), 133-140. [https://doi.org/10.1016/0009-2797\(94\)90033-7](https://doi.org/10.1016/0009-2797(94)90033-7)
- Hanks, C. T., Wataha, J. C., & Sun, Z. (1996). In-vitro models of biocompatibility: A review. *Dental Materials*, 12(3), 186-193. [https://doi.org/10.1016/S0109-5641\(96\)80020-0](https://doi.org/10.1016/S0109-5641(96)80020-0)
- Hatipoğlu, Ö., Par, M., & Pertek Hatipoğlu, F. (2024). Comparison of degree of conversion performance of bulk-fill resin composites: A systematic review and network meta-analysis of in-vitro studies. *Journal of Dentistry*, 149, 105289. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2024.105289>
- He, J., Lassila, L., Garoushi, S., & Vallittu, P. (2023). Tailoring the monomers to overcome the shortcomings of current dental resin composites – review. *Biomaterial Investigations in Dentistry*, 10(1), 2191621. <https://doi.org/10.1080/26415275.2023.2191621>
- Helvatjoglou-Antoniades, M., Papadogiannis, Y., Lakes, R. S., Dionysopoulos, P., & Papadogiannis, D. (2006). Dynamic and static elastic moduli of packable and flowable composite resins and their development after initial photo curing. *Dental*

- Materials*, 22(5), 450-459. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2005.04.038>
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Ilie, N. (2022). Resin-Based Bulk-Fill Composites: Tried and Tested, New Trends, and Evaluation Compared to Human Dentin. *Materials*, 15(22), 8095. <https://doi.org/10.3390/ma15228095>
- Ilie, N., & Hickel, R. (2009). Investigations on mechanical behaviour of dental composites. *Clinical Oral Investigations*, 13(4), 427-438. <https://doi.org/10.1007/s00784-009-0258-4>
- Ilie, N., & Hickel, R. (2011). Resin composite restorative materials. *Australian Dental Journal*, 56(s1), 59-66. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2010.01296.x>
- Ilie, N., Ionescu, A. C., & Diegelmann, J. (2022). Characterization of universal chromatic resin-based composites in terms of cell toxicity and viscoelastic behavior. *Dental Materials*, 38(4), 700-708. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2022.02.012>
- Jung, Y. S., Ro, S. T., Kang, S. W., Lee, H., Lee, J. S., Chae, Y. K., Lee, K. E., Lee, H.-S., Kwack, K. H., Kim, S. K., Choi, S. C., & Nam, O. H. (2023). Bisphenol A release from commercially available 3-dimensionally printed resins and human cell apoptosis to bisphenol A: An in-vitro study. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. <https://doi.org/10.22514/jocpd.2023.027>
- Karabela, M., & Sideridou, I. (2008). Effect of the structure of silane coupling agent on sorption characteristics of solvents by dental resin-nanocomposites. *Dental Materials*, 24(12), 1631-1639. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2008.02.021>
- Kavuncu, G., Yilmaz, A. M., Karademir Yilmaz, B., Yilmaz Atali, P., Altunok, E. C., Kuru, L., & Agrali, O. B. (2020). Cytotoxicity of Different Nano Composite Resins on Human Gingival and Periodontal Ligament Fibroblast Cell Lines: An In-vitro Study. *Biomedicines*, 8(3), 48. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8030048>
- Khan, A. A., Zafar, M. S., Fareed, M. A., AlMufareh, N. A., Alshehri, F., AlSunbul, H., Lassila, L., Garoushi, S., & Vallittu, P. K. (2023). Fiber-reinforced composites in dentistry – An insight into adhesion aspects of the material and the restored tooth construct. *Dental Materials*, 39(2), 141-151. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2022.12.003>
- Khatri, C. A., Stansbury, J. W., Schultheisz, C. R., & Antonucci, J. M. (2003). Synthesis, characterization and evaluation of urethane derivatives of Bis-GMA. *Dental Materials*, 19(7), 584-588. [https://doi.org/10.1016/S0109-5641\(02\)00108-2](https://doi.org/10.1016/S0109-5641(02)00108-2)
- Kirkpatrick, C. J., F Bittinger, M Wagner, H Köhler, T G van Kooten, C L Klein, & M Otto. (1998). *Current trends in biocompatibility testing*. https://journals.sagepub.com/doi/10.1243/0954411981533845?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed
- Klapdohr, S., & Moszner, N. (2005). New Inorganic Components for Dental Filling Composites. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, 136(1), 21-45. <https://doi.org/10.1007/s00706-004-0254-y>
- Klauer, E., Belli, R., Petschelt, A., & Lohbauer, U. (2019). Mechanical and hydrolytic degradation of an Ormocer®-based Bis-GMA-free resin composite. *Clinical Oral Investigations*, 23(5), 2113-2121. <https://doi.org/10.1007/s00784-018->

- Kohen, R., & Nyska, A. (2002). Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicologic Pathology*, 30(6), 620-650. <https://doi.org/10.1080/01926230290166724>
- Kowalska, A., Sokolowski, J., & Bociong, K. (2021). The Photoinitiators Used in Resin Based Dental Composite—A Review and Future Perspectives. *Polymers*, 13(3), 470. <https://doi.org/10.3390/polym13030470>
- Kraus, D., Wolfgarten, M., Enkling, N., Helfgen, E.-H., Frentzen, M., Probstmeier, R., Winter, J., & Stark, H. (2017). In-vitro cytocompatibility of dental resin monomers on osteoblast-like cells. *Journal of Dentistry*, 65, 76-82. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2017.07.008>
- Kumar, P., Nagarajan, A., & Uchil, P. D. (2018a). Analysis of Cell Viability by the Lactate Dehydrogenase Assay. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(6), pdb.prot095497. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095497>
- Kumar, P., Nagarajan, A., & Uchil, P. D. (2018b). Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(6), pdb.prot095505. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095505>
- Kumar, S. R., Patnaik, A., & Bhat, I. (2016). Physical and thermo-mechanical characterizations of resin-based dental composite reinforced with silane-modified nanoalumina filler particle. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part L: Journal of Materials: Design and Applications*, 230(2), 504-514. <https://doi.org/10.1177/1464420715581004>
- Lee, C.-Y., Ho, Y.-C., Lee, S.-S., Li, Y.-C., Lai, M.-Y., & Kuan, Y.-H. (2022). Cytotoxicity and Apoptotic Mechanism of 2-Hydroxyethyl Methacrylate via Genotoxicity and the Mitochondrial-Dependent Intrinsic Caspase Pathway and Intracellular Reactive Oxygen Species Accumulation in Macrophages. *Polymers*, 14(16), 3378. <https://doi.org/10.3390/polym14163378>
- Lee, D. H., Lim, B.-S., Lee, Y.-K., Ahn, S.-J., & Yang, H.-C. (2006). Involvement of oxidative stress in mutagenicity and apoptosis caused by dental resin monomers in cell cultures. *Dental Materials*, 22(12), 1086-1092. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2005.09.002>
- Locatelli, F., Canaud, B., Eckardt, K.-U., Stenvinkel, P., Wanner, C., & Zoccali, C. (2003). Oxidative stress in end-stage renal disease: An emerging threat to patient outcome. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 18(7), 1272-1280. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfg074>
- López-Alarcón, C., & Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*, 763, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.11.051>
- Lovász, B. V., Berta, G., Lempel, E., Sétáló, G., Vecsernyés, M., & Szalma, J. (2021). TEGDMA (Triethylene Glycol Dimethacrylate) Induces Both Caspase-Dependent and Caspase-Independent Apoptotic Pathways in Pulp Cells. *Polymers*, 13(5), 699. <https://doi.org/10.3390/polym13050699>
- Lovász, B. V., Lempel, E., Szalma, J., Sétáló, G., Vecsernyés, M., & Berta, G. (2021). Influence of TEGDMA monomer on MMP-2, MMP-8, and MMP-9 production and collagenase activity in pulp cells. *Clinical Oral Investigations*, 25(4),

2269-2279. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03545-5>

Lucena, C., Ruiz-López, J., Pulgar, R., Della Bona, A., & Pérez, M. M. (2021). Optical behavior of one-shaded resin-based composites. *Dental Materials*, 37(5), 840-848. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2021.02.011>

Maehara, Y., Anai, H., Tamada, R., & Sugimachi, K. (1987). The ATP assay is more sensitive than the succinate dehydrogenase inhibition test for predicting cell viability. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 23(3), 273-276. [https://doi.org/10.1016/0277-5379\(87\)90070-8](https://doi.org/10.1016/0277-5379(87)90070-8)

Magne, P., & Belser, U. (2023). Ultrakonservatif Tedavi Seçenekleri içinde *Biyomimetik Restoratif Diş Hekimliği* (ss. 233-378). Quintessence yayıncılık Ltd. Şti.

Magno, M. B., Nascimento, G. C. R., Rocha, Y. S. P. da, Ribeiro, B. d'Paula G., Loretto, S. C., & Maia, L. C. (2016). Silorane-based Composite Resin Restorations Are Not Better than Conventional Composites—A Meta-Analysis of Clinical Studies. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 18(5), 375-386. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a36916>

Mancini, A., Leone, E., Festa, R., Grande, G., Di Donna, V., De Marinis, L., Pontecorvi, A., Tacchino, R. M., Littarru, G. P., Silvestrini, A., & Meucci, E. (2008). Evaluation of antioxidant systems (coenzyme Q10 and total antioxidant capacity) in morbid obesity before and after biliopancreatic diversion. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 57(10), 1384-1389. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2008.05.007>

Maxwell, S. R. J., & Lip, G. Y. H. (1997). Free radicals and antioxidants in cardiovascular disease. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 44(4), 307-317. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.1997.t01-1-00594.x>

Miao, L., & St Clair, D. K. (2009). Regulation of superoxide dismutase genes: Implications in disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 47(4), 344-356. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.018>

Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. *Clinical Science*, 84(4), 407-412. <https://doi.org/10.1042/cs0840407>

Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)

Moszner, N., Gianasmidis, A., Klapdohr, S., Fischer, U. K., & Rheinberger, V. (2008). Sol-gel materials. *Dental Materials*, 24(6), 851-856. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2007.10.004>

Moszner, N., & Salz, U. (2001). New developments of polymeric dental composites. *Progress in Polymer Science*, 26(4), 535-576. [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(01\)00005-3](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(01)00005-3)

Mueller, H., Kassack, M. U., & Wiese, M. (2004). Comparison of the Usefulness of the MTT, ATP, and Calcein Assays to Predict the Potency of Cytotoxic Agents in Various Human Cancer Cell Lines. *SLAS Discovery*, 9(6), 506-515. <https://doi.org/10.1177/1087057104265386>

Mulligan, S., Hatton, P. V., & Martin, N. (2022). Resin-based composite materials: Elution and pollution. *British Dental Journal*, 232(9), 644-652.

<https://doi.org/10.1038/s41415-022-4241-7>

Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

Neves, S. O., Magalhães, L. M. D., Corrêa, J. D., Dutra, W. O., Gollob, K. J., Silva, T. A., Horta, M. C. R., & Souza, P. E. A. (2019). Composite-derived monomers affect cell viability and cytokine expression in human leukocytes stimulated with *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Applied Oral Science*, 27, e20180529. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2018-0529>

Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., & Yönden, Z. (2015). Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3). <https://doi.org/10.5799/ahinjs.01.2015.03.0545>

Paravina, R. D., Westland, S., Kimura, M., Powers, J. M., & Imai, F. H. (2006). Color interaction of dental materials: Blending effect of layered composites. *Dental Materials*, 22(10), 903-908. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2005.11.018>

Persson, T., Popescu, B. O., & Cedazo-Minguez, A. (2014). Oxidative Stress in Alzheimer's Disease: Why Did Antioxidant Therapy Fail? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2014/427318>

Peutzfeldt, A. (1997). Resin composites in dentistry: The monomer systems. *European Journal of Oral Sciences*, 105(2), 97-116. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1997.tb00188.x>

Pillay, C. S., Eagling, B. D., Driscoll, S. R. E., & Rohwer, J. M. (2016). Quantitative measures for redox signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 96, 290-303. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.199>

Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>

Pizzichini, M., Fonzi, M., Sugherini, L., Fonzi, L., Gasparoni, A., Comporti, M., & Pompella, A. (2002). Release of mercury from dental amalgam and its influence on salivary antioxidant activity. *Science of The Total Environment*, 284(1-3), 19-25. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)00853-1](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00853-1)

Poljšak, B., Jamnik, P., Raspor, P., & Pesti, M. (2011). Oxidation-antioxidation-reduction processes in the cell: Impacts of environmental pollution. *Încinde Encyclopedia of Environmental Health* (ss. 300-306). Elsevier.

Poljsak, B., Šuput, D., & Milisav, I. (2013). Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2013/956792>

Polydorou, O., König, A., Hellwig, E., & Kümmerer, K. (2009a). Long-term release of monomers from modern dental-composite materials. *European Journal of Oral Sciences*, 117(1), 68-75. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2008.00594.x>

Polydorou, O., König, A., Hellwig, E., & Kümmerer, K. (2009b). Uthethane dimethacrylate: A molecule that may cause confusion in dental research. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 91B(1), 1-4. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31383>

- Pratap, B., Gupta, R. K., Bhardwaj, B., & Nag, M. (2019a). Resin based restorative dental materials: Characteristics and future perspectives. *Japanese Dental Science Review*, 55(1), 126-138. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2019.09.004>
- Pratap, B., Gupta, R. K., Bhardwaj, B., & Nag, M. (2019b). Resin based restorative dental materials: Characteristics and future perspectives. *Japanese Dental Science Review*, 55(1), 126-138. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2019.09.004>
- Puckett, A. D., Fitchie, J. G., Kirk, P. C., & Gamblin, J. (2007). Direct Composite Restorative Materials. *Dental Clinics of North America*, 51(3), 659-675. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2007.04.003>
- Ramezani, G., Moghadam, M., Saghir, M., Garcia-Godoy, F., Asatourian, A., Aminsobhani, M., Scarbecz, M., & Sheibani, N. (2016). Effect of dental restorative materials on total antioxidant capacity and calcium concentration of unstimulated saliva. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 0-0. <https://doi.org/10.4317/jced.53272>
- Ratanasathien, S., Wataha, J. C., Hanks, C. T., & Dennison, J. B. (1995). Cytotoxic Interactive Effects of Dentin Bonding Components on Mouse Fibroblasts. *Journal of Dental Research*, 74(9), 1602-1606. <https://doi.org/10.1177/00220345950740091601>
- Repetto, G., Del Peso, A., & Zurita, J. L. (2008). Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. *Nature Protocols*, 3(7), 1125-1131. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.75>
- Rice-Evans, C. A., & Diplock, A. T. (1993). Current status of antioxidant therapy. *Free Radical Biology and Medicine*, 15(1), 77-96. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90127-G](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90127-G)
- Rice-Evans, C., & Miller, N. J. (1994). Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods in Enzymology*, 234, 279-293. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(94\)34095-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(94)34095-1)
- Riley, P. A. (1994). Free Radicals in Biology: Oxidative Stress and the Effects of Ionizing Radiation. *International Journal of Radiation Biology*, 65(1), 27-33. <https://doi.org/10.1080/09553009414550041>
- Riva, Y. R., & Rahman, S. F. (2019). *Dental composite resin: A review*. 020011. <https://doi.org/10.1063/1.5139331>
- Rizzante, F. A. P., Duque, J. A., Duarte, M. A. H., Mondelli, R. F. L., Mendonça, G., & Ishikiriyama, S. K. (2019). Polymerization shrinkage, microhardness and depth of cure of bulk fill resin composites. *Dental Materials Journal*, 38(3), 403-410. <https://doi.org/10.4012/dmj.2018-063>
- Saw, T. Y., Cao, T., Yap, A. U. J., & Lee Ng, M. M. (2005). Tooth slice organ culture and established cell line culture models for cytotoxicity assessment of dental materials. *Toxicology in-vitro*, 19(1), 145-154. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2004.08.006>
- Schäfer, H., Schäfer, A., Kiderlen, A. F., Masihi, K. N., & Burger, R. (1997). A highly sensitive cytotoxicity assay based on the release of reporter enzymes, from stably transfected cell lines. *Journal of Immunological Methods*, 204(1), 89-98. [https://doi.org/10.1016/S0022-1759\(97\)00040-9](https://doi.org/10.1016/S0022-1759(97)00040-9)
- Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V., & Bitsch, R. (2002). Assessment of Antioxidant Activity by Using Different In-vitro Methods. *Free Radical Research*,

36(2), 177-187. <https://doi.org/10.1080/10715760290006411>

Schmalz, G. (1998). Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clinical Oral Investigations*, 1(4), 154-162. <https://doi.org/10.1007/s007840050027>

Schmalz, G., & Arenholt-Bindsle, D. (2009). *Biocompatibility of Dental Materials*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-77782-3>

Schmalz, G., & Galler, K. M. (2017). Biocompatibility of biomaterials – Lessons learned and considerations for the design of novel materials. *Dental Materials*, 33(4), 382-393. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.01.011>

Schneider, T. R., Hakami-Tafreshi, R., Tomasino-Perez, A., Tayebi, L., & Lobner, D. (2019). Effects of dental composite resin monomers on dental pulp cells. *Dental Materials Journal*, 38(4), 579-583. <https://doi.org/10.4012/dmj.2018-163>

Schweikl, H., Spagnuolo, G., & Schmalz, G. (2006). Genetic and Cellular Toxicology of Dental Resin Monomers. *Journal of Dental Research*, 85(10), 870-877. <https://doi.org/10.1177/154405910608501001>

Shahi, S., Özcan, M., Solmaz Maleki Dizaj, Simin Sharifi, Al-, N., Husain, H., & Ahmadian, A. E. & E. (2019). A review on potential toxicity of dental material and screening their biocompatibility. *TOXICOLOGY MECHANISMS AND METHODS*, 368-377.

Sies, H. (1991). Oxidative stress: From basic research to clinical application. *The American Journal of Medicine*, 91(3), S31-S38. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(91\)90281-2](https://doi.org/10.1016/0002-9343(91)90281-2)

Silva, E. J. N. L., Rollemberg, C. B., Coutinho-Filho, T. de S., Krebs, R. L., & Zaia, A. A. (2013). A multiparametric assay to compare the cytotoxicity of different storage media for avulsed teeth. *Brazilian Journal of Oral Sciences*, 12(2), 90-94. <https://doi.org/10.1590/S1677-32252013000200004>

Silvestrini, A., Meucci, E., Ricerca, B. M., & Mancini, A. (2023). Total Antioxidant Capacity: Biochemical Aspects and Clinical Significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 10978. <https://doi.org/10.3390/ijms241310978>

Smith, L., Ali, M., Agrissais, M., Mulligan, S., Koh, L., & Martin, N. (2023). A comparative life cycle assessment of dental restorative materials. *Dental Materials*, 39(1), 13-24. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2022.11.007>

Sonkaya, E., Kürklü, Z. G. B., & Bakır, Ş. (2021). Effect of Polymerization Time on Residual Monomer Release in Dental Composite: İn-vitro Study. *International Journal of Polymer Science*, 2021, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2021/8101075>

Stansbury, J. W. (2000). Curing dental resins and composites by photopolymerization. *Journal of Esthetic Dentistry*, 12(6), 300-308. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8240.2000.tb00239.x>

Stansbury, J. W., & Dickens, S. H. (2001). Network formation and compositional drift during photo-initiated copolymerization of dimethacrylate monomers. *Polymer*, 42(15), 6363-6369. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(01\)00106-9](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(01)00106-9)

Strober, W. (2015). Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. *Current Protocols in Immunology*, A3.B.1-A3.B.3.

Sulek, J., Luczaj-Cepowicz, E., Marczuk-Kolada, G., Roslan, M., & Holownia, A.

- (2022). Cytotoxicity of Methacrylate Dental Resins to Human Gingival Fibroblasts. *Journal of Functional Biomaterials*, 13(2), 56. <https://doi.org/10.3390/jfb13020056>
- Sun, S., Wang, G. -l., Huang, Y., Diwu, H. -l., Luo, Y. -c., Su, J., & Xiao, Y. -h. (2018). The effects of 2-hydroxyethyl methacrylate on matrix metalloproteinases 2 and 9 in human pulp cells and odontoblast-like cells *in-vitro*. *International Endodontic Journal*, 51(S2). <https://doi.org/10.1111/iej.12812>
- Szalewski, L., Wójcik, D., Sofińska-Chmiel, W., Kuśmierz, M., & Różyło-Kalinowska, I. (2022). How the Duration and Mode of Photopolymerization Affect the Mechanical Properties of a Dental Composite Resin. *Materials*, 16(1), 113. <https://doi.org/10.3390/ma16010113>
- Thonemann, B., Schmalz, G., Hiller, K.-A., & Schweikl, H. (2002). Responses of L929 mouse fibroblasts, primary and immortalized bovine dental papilla-derived cell lines to dental resin components. *Dental Materials*, 18(4), 318-323. [https://doi.org/10.1016/S0109-5641\(01\)00056-2](https://doi.org/10.1016/S0109-5641(01)00056-2)
- Tokur, O., & Aksoy, A. (2017). İn-vitro Sitotoksiste Testleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(1).
- Tunçel, A., Özdemir, A. K., Sümer, Z., Hürmüzlü, F., & Polat, Z. (2006). Cytotoxicity Evaluation of Two Different Composites with/without Fibers and One Nanohybrid Composite. *Dental Materials Journal*, 25(2), 267-271.
- Uluakay, M., İnan, H., Yamanel, K., & Arhun, N. (2011). Kompozit Rezinler Ve Polimerizasyon Büzülmesi. *ADO Klinik Bilimleri Dergisi*, 5(2), 895-902.
- Uzun, İ. H., & Bayindir, F. (2011). Dental Materyallerin Biyouyumluluk Test Yöntemleri. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 28(2), Article 2.
- Vandewalker, J. P., Casey, J. A., Lincoln, T. A., & Vandewalle, K. S. (2016). Properties of dual-cure, bulk-fill composite resin restorative materials. *General Dentistry*, 64(2), 68-73.
- Wataha, J. C. (2001). Principles of biocompatibility for dental practitioners. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 86(2), 203-209. <https://doi.org/10.1067/mpr.2001.117056>
- Wataha, J. C. (2003). Biocompatibility of Dental Materials. İçinde *Phillips' Science of Dental Materials* (11. bs, ss. 171-202). Saunders.
- Weinmann, W., Thalacker, C., & Guggenberger, R. (2005). Siloranes in dental composites. *Dental Materials*, 21(1), 68-74. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2004.10.007>
- Wiertelak-Makala, K., Szymczak-Pajor, I., Bociong, K., & Śliwińska, A. (2023). Considerations about Cytotoxicity of Resin-Based Composite Dental Materials: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(1), 152. <https://doi.org/10.3390/ijms25010152>
- Williams, D. F. (1999). The Williams dictionary of biomaterials. *Materials Today - MATER TODAY*, 2, 29-29. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(99\)80066-2](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(99)80066-2)
- Windle, C. B., Hill, A. E., Tantbirojn, D., & Versluis, A. (2022). Dual-cure dental composites: Can light curing interfere with conversion? *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 132, 105289. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2022.105289>

- Yang, L.-C., Chang, Y.-C., Yeh, K.-L., Huang, F.-M., Su, N.-Y., & Kuan, Y.-H. (2022). Protective Effect of Rutin on Triethylene Glycol Dimethacrylate-Induced Toxicity through the Inhibition of Caspase Activation and Reactive Oxygen Species Generation in Macrophages. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11773. <https://doi.org/10.3390/ijms231911773>
- Yılmaz Atalı, P., Doğu Kaya, B., Manav Özen, A., Tarçın, B., Şenol, A. A., Tüter Bayraktar, E., Korkut, B., Bilgin Göçmen, G., Tağtekin, D., & Türkmen, C. (2022). Assessment of Micro-Hardness, Degree of Conversion, and Flexural Strength for Single-Shade Universal Resin Composites. *Polymers*, 14(22), 4987. <https://doi.org/10.3390/polym14224987>
- Yoshinaga, K., Yoshihara, K., & Yoshida, Y. (2021). Development of new diacrylate monomers as substitutes for Bis-GMA and UDMA. *Dental Materials*, 37(6), e391-e398. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2021.02.023>
- Young, I. S. (2001). Measurement of total antioxidant capacity. *Journal of Clinical Pathology*, 54(5), 339-339. <https://doi.org/10.1136/jcp.54.5.339>
- Zhang, X., Zhang, Q., Meng, X., Ye, Y., Feng, D., Xue, J., Wang, H., Huang, H., Wang, M., & Wang, J. (2021). Rheological and Mechanical Properties of Resin-Based Materials Applied in Dental Restorations. *Polymers*, 13(17), 2975. <https://doi.org/10.3390/polym13172975>
- Zimmerli, B., Strub, M., Jeger, F., Stadler, O., & Lussi, A. (2010). Composite materials: Composition, properties and clinical applications. A literature review. *Schweizer Monatsschrift Fur Zahnmedizin = Revue Mensuelle Suisse D'odonto-Stomatologie = Rivista Mensile Svizzera Di Odontologia E Stomatologia*, 120(11), 972-986.
- Zuang, V. (2001). The neutral red release assay: A review. *Alternatives to Laboratory Animals*, 29, 575-599.
- Żukowski, P., Maciejczyk, M., & Waszkiel, D. (2018). Sources of free radicals and oxidative stress in the oral cavity. *Archives of Oral Biology*, 92, 8-17. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.04.018>

ÖZGEÇMİŞ

BİREYSEL BİLGİLER

Adı- Soyadı: Betül Erdal

Doğum Yeri:

Uyruğu:

Yabancı Dili:

EĞİTİM BİLGİLERİ

Temmuz 2021- Kasım 2024: Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı

Uzmanlık Eğitimi

Ekim 2015- Temmuz 2020: Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Lisans Eğitimi

ÜYE OLDUĞU KURULUSLAR

Restoratif Diş Hekimliği Derneği

ARAŞTIRMA ALANLARI

Sağlık Bilimleri, Diş Hekimliği, Klinik Bilimler, Diş Hastalıkları ve Tedavisi,

Konservatif Diş Tedavisi, Restoratif Diş Tedavisi

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

Erdal, B., Erdal, E., Kesikbaş ZE., Ayhan, B., Karadağ, G. Cytotoxicity of Composite

Materials on Gingival Fibroblast Cells-IAD2023

Betül Erdal, Yusuf Bayraktar, Aşırı Madde Kaybı Olan Dişlerin İndirekt Kompozit

Rezin Restorasyonlarla Tedavisi- 27. TÜRK DİŞ HEKİMLERİ BİRLİĞİ

ULUSLARARASI DİŞHEKİMLİĞİ KONGRESİ

Betül Erdal, Ulaş Bora Aktaş, Gökhan KARADAĞ, Aşırı Kron Harabiyeti Olan
Endodontik Tedavili Dişlere Tedavi Yaklaşımı: Endokron-27. TÜRK DİŞ
HEKİMLERİ BİRLİĞİ ULUSLARARASI DİŞHEKİMLİĞİ KONGRESİ

