

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

(DOKTORA TEZİ)

**PROTEZ KAİDE POLİMERLERİNDE
MONOMERİN POLİMERE DÖNÜŞÜM ORANININ
İN VİTRO SİTOTOKSİSİTE İLE
İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

H. CANAN BURAL

**DANIŞMAN
PROF. DR. BELKIS GÜLSEN BAYRAKTAR**

**İÜ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI**

İSTANBUL-2006

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Diş Hekimliği Fakültesi

Programın Seviyesi : Yüksek Lisans () Doktora (X)

Anabilim Dalı : Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı

Tez Sahibi : H. Canan Bural

Tez Başlığı : Protez Kaide Polimerlerinde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranının
In Vitro Sitotoksinite İle İlişkisinin İncelenmesi

Sınav Yeri : İÜ Diş Hekimliği Fakültesi, Total-Parsiyel Protez BD, Seminer Salonu

Sınav Tarihi : 23.11.2008

Tez Sınav Jürisi

1. Prof. Dr. Gülşen Bayraktar (Tez Danışmanı), İÜ Diş Hekimliği Fakültesi, Protetik Diş Tedavisi ABD, Total-Parsiyel Protez BD.

2. Prof. Dr. Necatı Tuncer (Tez İzleme Komitesi Üyesi), İÜ Diş Hekimliği Fakültesi, Protetik Diş Tedavisi AD, Total-Parsiyel Protez BD.

3. Prof. Dr. Günnur Deniz (Tez İzleme Komitesi Üyesi), İÜ Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji AD.

4. Prof. Dr. Tayfun Bilgin (Tez İzleme Komitesi Üyesi), İÜ Diş Hekimliği Fakültesi, Protetik Diş Tedavisi AD, Total-Parsiyel Protez BD.

5. Doç. Dr. Nilgün Kızılcın (Tez İzleme Komitesi Üyesi), İTÜ Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Arş.Gör. H. Canan BURAL

İTHAF

'Anneme, babama ve kardeşime ithaf ediyorum'

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca ve doktora tezimin tüm aşamaları süresince değerli bilimsel ve mesleki tecrübesinden yararlandığım, sevgili hocam, danışmanım **Sayın Prof. Dr. Gülsen Bayraktar'a** değerli yardımları, önerileri, katkıları ve bana her zaman göstermiş olduğu anlayış, hoşgörü ve desteğinden ötürü teşekkürlerimi sunuyorum.

Doktora tezimin tamamlanması aşamalarında değerli fikirlerine başvurduğum İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Total-Parsiyel Protez Bilim Dalı Başkanı **Sayın Prof. Dr. Necat Tuncer'e** yardımları ve desteğinden ötürü,

Doktora eğitimim ve çalışmalarım boyunca her konuda verdiği destekten ötürü İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Total-Parsiyel Protez Bilim Dalı'nın değerli öğretim üyesi **Sayın Prof. Dr. Tayfun Bilgin'e**,

Doktora eğitimimde emeği geçen kürsümüzün diğer değerli öğretim üyelerine,

Hücre kültürü çalışmalarını yapabileceğime beni inandıran İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmunoloji Bilim Dalı değerli öğretim üyesi **Sayın Prof. Dr. Günnur Deniz'e**, çalışmalarım sırasında sağladığı imkanlar ve desteğinden ötürü,

Hücre kültürü deneylerinin tüm aşamalarında sonsuz yardımını ve anlayışını gördüğüm, İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmunoloji Bilim Dalı'nda görevli değerli arkadaşım **Sayın Dr. Esin Aktaş'a** ve aynı bilim dalında emeği geçen diğer çalışanlarına,

Artık monomer miktarının belirlenebilmesi için HPLC analizlerinin yapılmasında İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı değerli öğretim üyesi **Sayın Doç. Dr. Yeşim Ünlüçerçi'ye** çok değerli yardımından ve çalışma imkanı sağladığından ötürü,

Doktora tez çalışmamın planlanması sırasında spektroskopik analizler ile ilgili verdiği değerli fikirler ve yardımlarından ötürü İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya bölümü değerli öğretim üyesi **Sayın Doç. Dr. Nilgün Kızılcan'a**

Doktora eğitimimin her aşamasında çok değerli desteklerini ve yardımlarını hiçbir zaman benden esirgemeyen sevgili asistan arkadaşlarım **Arş. Gör. Şebnem Sarioğlu Kurt, Dr. Hanefi Kurt, Arş. Gör. Onur Geçkili, Arş. Gör. Ahmet Yılmaz ve Arş. Gör. Ezel Yılmaz** ve diğer arkadaşlarıma,

Eğitim hayatım boyunca beni her konuda destekleyerek yanımda olan, zorluklar karşısında yılmamayı öğreten, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan **annem, babam ve kardeşime** her zaman göstermiş oldukları sonsuz anlayış, hoşgörü ve desteklerinden ötürü,

teşekkürlerimi sunmayı borç bilirim.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **T-412/08032004** no'lu proje olarak desteklemiştir.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	iii
BEYAN	ii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiv
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xvii
ÖZET	xviii
ABSTRACT	xix
GİRİŞ VE AMAÇ (BÖLÜM 1)	1
GENEL BİLGİLER (BÖLÜM 2)	6
2.1 Protez Kaide Polimerleri	7
2.1.1 Polimer ve Polimerizasyon	8
2.2 Protez Kaide Polimerlerinin Polimerizasyonunda Kullanılan Yöntemler	12
2.2.1 Isı ile Polimerizasyon Yöntemi	12
2.2.2 Mikrodalga Enerjisi ile Polimerizasyon Yöntemi	15
2.2.3 Kimyasal Yolla Polimerizasyon (Otopolimerizasyon) Yöntemi	17
2.3 Protez Kaide Polimerlerinde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı ve Artık Monomer	19
2.3.1 Protez Kaide Polimerlerinde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı (Polimerizasyon Derecesi)	19
2.3.1.1 Spektroskopi ve Spektroskopik Analiz Cihazları	20
2.3.1.2 Kırmızı Ötesi (Infrared-IR) Spektrometresi	21
2.3.1.3 Kırmızı ötesi (IR) Spektroskopisi	22
2.3.2 Protez Kaide Polimerlerinde Artık Monomer	23
2.3.2.1 Protez Kaide Polimerlerinde Artık Monomer Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	26
2.3.2.2. Kromatografi ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	27
2.4 Biyolojik Uyum (Biyokompatibilite)	29
2.4.1 Biyolojik Uyumun Değerlendirilmesinde Kullanılan Test Yöntemleri	30
2.4.1.1 Başlangıç (Öncül) Testleri	31

2.4.1.2 İkincil Testler	38
2.4.1.3 Kullanım Testleri	38
2.4.2 Protez Kaide Polimerlerinin Biyolojik Uyumu.....	39
GEREÇ VE YÖNTEM (BÖLÜM 3).....	43
3.1 Deney Örneklerinin Hazırlanması	44
3.2 Deney Gruplarının Oluşturulması	49
3.2.1 Isı ile Polimerizasyon Yöntemiyle Örnek Hazırlanması	49
3.2.2 Mikrodalga Enerjisi ile Polimerizasyon Yöntemiyle Örnek Hazırlanması	54
3.2.3 Kimyasal Yolla Polimerizasyon (Otopolimerizasyon) Yöntemiyle Örnek Hazırlanması	57
3.3 Monomerin Polimere Dönüşüm Oranının Belirlenmesi.....	61
3.4. Ekstraksiyon İşlemi ve Ekstraksiyon Ortamının Hazırlanması.....	68
3.5 Artık MMA Konsantrasyonunun ([MMA] _a) Belirlenmesi.....	71
3.6 İn Vitro Sitotoksitenin Hücre Proliferasyonu Ölçümü İle Belirlenmesi	74
3.6.1 Hücre Kültürünün Hazırlanması	75
3.6.2 Hücre Proliferasyonunun Ölçümü	77
3.7 İstatistiksel Değerlendirme Yöntemi.....	80
BULGULAR (BÖLÜM 4)	83
4.1 Farklı Yöntemlerle Polimerize Olan Protez Kaide Polimerlerinde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı Bulguları	84
4.1.1 Isı İle Polimerizasyon Yönteminde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı Bulguları	84
4.1.2 Mikrodalga Enerjisi ile Polimerizasyon Yönteminde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı Bulguları	87
4.1.3 Kimyasal Yolla Polimerizasyon Yönteminde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı Bulguları	89
4.2 Farklı Yöntemlerle Polimerize Olan Protez Kaide Polimerlerinde Ekstraksiyon Ortamında Saptanan [MMA] _a Bulguları	92
4.2.1 Isı ile Polimerizasyon Yönteminde Ekstraksiyon Ortamında Saptanan [MMA] _a Bulguları.....	93
4.2.2 Mikrodalga Enerjisi ile Polimerizasyon Yönteminde Ekstraksiyon Ortamında Saptanan [MMA] _a Bulguları.....	96
4.2.3 Kimyasal Yolla Polimerizasyon Yönteminde Ekstraksiyon Ortamında Saptanan [MMA] _a Bulguları.....	101
4.3 Farklı Yöntemlerle Polimerize Olan Protez Kaide Polimerlerinin Hücre Proliferasyonu Değerleri	107

4.3.1 Isı ile Polimerizasyon Yönteminde Hücre Proliferasyonu Bulguları	108
4.3.2 Mikrodalga Enerjisi ile Polimerizasyon Yönteminde Hücre Proliferasyonu Bulguları	111
4.3.3 Kimyasal Yolla Polimerizasyon Yönteminde Hücre Proliferasyonu Bulguları	115
4.4 Isı ile, Mikrodalga Enerjisi ile ve Kimyasal Yolla Polimerize Olan Akrilik Reçinelerde Ekstraksiyon Ortamında Saptanan [MMA] _a Bulguları ile Hücre Proliferasyonu Bulguları Arasındaki İlişki	120
TARTIŞMA (BÖLÜM 5)	123
SONUÇ (BÖLÜM 6).....	150
KAYNAKLAR	154
ÖZGEÇMİŞ	171

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Protez kaide materyallerinin polimerizasyon yöntemleri, üretici firma, lot numaraları ve içerikleri	52
Tablo 3.2. Isı ile polimerizasyon yöntemiyle hazırlanan deney örneklerine uygulanan polimerizasyon siklusları	53
Tablo 3.3. Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yöntemiyle hazırlanan deney örneklerine uygulanan polimerizasyon siklusları	56
Tablo 3.4. Kimyasal yolla polimerizasyon yöntemiyle hazırlanan deney örneklerine uygulanan polimerizasyon siklusları	60
Tablo 3.5. Deneyleerde kullanılan malzemelerin ve cihazların listesi	81
Tablo 4.1. Isı ile polimerize olan ve farklı sikluslar uygulanarak polimerize edilen deney gruplarında monomerin polimere dönüşüm oranı (%) değerleri	85
Tablo 4.2. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarında monomerin polimere dönüşüm oranı (%) değerleri	87
Tablo 4.3. Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarında monomerin polimere dönüşüm oranı (%) değerleri	90
Tablo 4.4. Farklı yöntemlerle polimerize olan protez kaide polimerlerinin I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan $[MMA]_a$ değerleri ($\mu\text{mol/L}$) ($AO \pm SS$) ve istatistiksel karşılaştırması	92
Tablo 4.5. Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan $[MMA]_a$ değerleri ($\mu\text{mol/L}$) ($AO \pm SS$) ve istatistiksel karşılaştırması	93
Tablo 4.6. Isı ile polimerize olan deney grupları arasında I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan $[MMA]_a$ değerlerinin istatistiksel karşılaştırması	95
Tablo 4.7. I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasında H1 ve H3 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerindeki değişimlerin istatistiksel karşılaştırması	95

Tablo 4.8. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan [MMA] _a değerleri (μmol/L) (AO± SS) ve istatistiksel karşılaştırması	96
Tablo 4.9. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney grupları arasında I., II., III. ve IV ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan [MMA] _a değerlerinin istatistiksel karşılaştırması	98
Tablo 4.10. I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasında M1, M3 ve M5 deney gruplarının [MMA] _a değerlerindeki değişimlerin istatistiksel karşılaştırması	99
Tablo 4.11. Aynı polimerizasyon siklusları uygulanarak mikrodalga enerjisi ile polimerize edildikten sonra suda bekletilmeyen veya ilave olarak 60°C sıcaklıktaki suda bekletilen deney gruplarının [MMA] _a değerlerinin istatistiksel karşılaştırması	100
Tablo 4.12. Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan [MMA] _a değerleri (μmol/L) (AO±SS) ve istatistiksel karşılaştırması	101
Tablo 4.13. Kimyasal yolla polimerize olan deney grupları arasında I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan [MMA] _a değerlerinin istatistiksel karşılaştırması	104
Tablo 4.14. I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasında O1,O2,O3,O4,O6 ve O7 deney gruplarının [MMA] _a değerlerindeki değişimlerin istatistiksel karşılaştırması	105
Tablo 4.15. Kimyasal yolla polimerize olan ve aynı polimerizasyon siklusları ile oda sıcaklığında veya basınçlı tencerede polimerize edilen deney gruplarının [MMA] _a değerlerinin istatistiksel karşılaştırması	106
Tablo 4.16. Farklı yöntemlerle polimerize olan protez kaide polimerlerinin I.,II.,III.ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu (AO±SS) değerleri (%) ve istatistiksel karşılaştırması	107
Tablo 4.17. Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları	

sonunda saptanan hücre proliferasyonu ($AO \pm SS$) değerleri (%) ve istatistiksel karşılaştırması.....	108
Tablo 4.18. Isı ile polimerize olan deney grupları arasında I. ve II. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırması.....	110
Tablo 4.19. I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasında H3 deney grubunun hücre proliferasyonu değerlerindeki değişimlerin istatistiksel karşılaştırması.....	111
Tablo 4.20. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda saptanan hücre proliferasyonu ($AO \pm SS$) değerleri (%) ve istatistiksel karşılaştırması	112
Tablo 4.21. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney grupları arasında II. ve III. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırması.....	113
Tablo 4.22. Aynı polimerizasyon siklusları uygulanarak mikrodalga enerjisi ile polimerize edildikten sonra suda bekletilmeyen veya ilave olarak 60°C sıcaklıktaki suda bekletilen deney gruplarının hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırması	114
Tablo 4.23. Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu ($AO \pm SS$) değerleri (%) ve istatistiksel karşılaştırması	115
Tablo 4.24. Kimyasal yolla polimerize olan deney grupları arasında I., II. ve III. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırması	117
Tablo 4.25. I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasında O2, O6 ve O8 deney gruplarının hücre proliferasyonu değerlerindeki değişimlerin istatistiksel karşılaştırması.....	118
Tablo 4.26. Kimyasal yolla polimerize olan ve aynı polimerizasyon siklusları uygulanarak oda sıcaklığında veya basınçlı tencerede polimerize edilen deney gruplarının hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırması.	119

Tablo 4.27. Isı ile polimerizasyon yönteminde ekstraksiyon ortamında saptanan [MMA] _a ve hücre proliferasyonu değerleri arasındaki ilişkinin istatistiksel karşılaştırması	120
Tablo 4.28. Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde ekstraksiyon ortamında saptanan [MMA] _a ve hücre proliferasyonu değerleri arasındaki ilişkinin istatistiksel karşılaştırması	121
Tablo 4.29. Kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde ekstraksiyon ortamında saptanan [MMA] _a ve hücre proliferasyonu değerleri arasındaki ilişkinin istatistiksel karşılaştırması	122

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. PMMA'nın kimyasal formülü.....	9
Şekil 2.2. HPLC sisteminin şematik görünümü.	28
Şekil 3.1. Kalıp boşluklarının oluşturulmasında kullanılan disk şeklindeki paslanmaz çelik örnekler.....	45
Şekil 3.2. Deney örneklerinin hazırlanmasında kullanılan pirinç muflaların görünümü.....	45
Şekil 3.3. Deney örneklerin hazırlanmasında kullanılan pirinç muflaların parçalarının görünümü.....	46
Şekil 3.4. Kalıp boşluklarının oluşturulması için paslanmaz çelik disklerin mufladaki görünümü.....	48
Şekil 3.5. Akrilik reçine örneklerin hazırlanmasında kullanılan hidrolik pres.....	48
Şekil 3.6. Isı ile polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyalinin ambalaj görünümü.....	50
Şekil 3.7. Pirinç muflaların kendi bünyesinde bulunan yaylı britler.....	50
Şekil 3.8. Termostatik olarak kontrol edilebilen su banyosu.....	51
Şekil 3.9. Kalıp boşluklarının oluşturulması için paslanmaz çelik disklerin fiberle güçlendirilmiş plastik mufla içindeki görünümü.....	55
Şekil 3.10. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyalinin ambalaj görünümü.....	56
Şekil 3.11. Kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyalinin ambalaj görünümü.....	57
Şekil 3.12. Kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine örneklerin polimerizasyonunda kullanılan basınçlı tencerenin yandan ve üstten görünümü.....	59
Şekil 3.13. Polimerizasyon işlemleri sonrasında mekanik yolla öğütülen akrilik reçine örneklerin toz haldeki görüntüsü.....	62
Şekil 3.14. Monomerin polimere dönüşüm oranının belirlenmesinde kullanılan FTIR spektrometresi cihazının genel görünümü.....	63

Şekil 3.15. Monomerin polimere dönüşüm oranının belirlenmesinde kullanılan FTIR spektrometresi cihazının yakın görünümü.....	63
Şekil 3.16. Akrilik reçine deney örneklerinden elde edilen tozun KBr ile karıştırıldıktan sonra KBr pellet kiti içine yerleştirilmesi.....	64
Şekil 3.17. KBr pellet kitinin hidrolik pres altında bekletilmesi.....	64
Şekil 3.18. KBr ile karıştırılan akrilik reçine deney örneklerinden elde edilen tozdan hazırlanan 13 mm çapındaki pelletler.....	65
Şekil 3.19. FTIR spektrometresine yerleştirilen pellet.....	65
Şekil 3.20. Deney örneğinden elde edilen FTIR spektrumunun bilgisayara aktarıldıktan sonra görünümü ve 1637 cm^{-1} ve 2952 cm^{-1} dalgasayılarındaki pikler (okla işaretli)	66
Şekil 3.21. FTIR spektrumunda alifatik karbon çift bağlarına (C=C) ait absorpsiyon pikinin 1637 cm^{-1} dalgasayısında okunan absorbans yoğunluğu.....	67
Şekil 3.22. FTIR spektrumunda alifatik karbon bağlarına (C-C) ait absorpsiyon pikinin 2952 cm^{-1} dalgasayısında okunan absorbans yoğunluğu.....	67
Şekil 3.23. Laminer akımlı kabin.....	68
Şekil 3.24. Akrilik reçine örneklerin ekstrakte edildiği tüpler ve içindeki ekstraksiyon sıvısının görünümü.....	69
Şekil 3.25. Artık MMA'nın belirlenmesinde kullanılan yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazı (HPLC)	71
Şekil 3.26. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi yönteminde kullanılan paslanmaz çelik analitik kolon.....	71
Şekil 3.27. Standart kalibrasyon eğrisi.....	72
Şekil 3.28. Örneklerden elde edilen kromatogramda 10.22 dk 'da elde edilen MMA piki ve pik altında kalan alan değerlerine ait tablo.....	73
Şekil 3.29. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan plastik materyaller.....	74
Şekil 3.30. Hücre kültürlerinin incelendiği faz kontrast invert mikroskop.....	76
Şekil 3.31. L-929 hücrelerinin invert mikroskop altındaki görünümü.....	77
Şekil 3.32. Hücre proliferasyonunun ölçümünde kullanılan XTT Cell Proliferation Kit.....	78
Şekil 3.33. XTT solüsyonunun 96 kuyucuklu mikropipler içinde bulunan hücrelerin üzerine pipetleme yoluyla ilave edilmesi.....	79

Şekil 3.34. Elisa mikropkaka okuyucusuna yerleştirilen 96 kuyucuklu mikropkalkalar.....	79
Şekil 4.1. Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçine protez kaide materyallerinden elde edilen FTIR spektrumları.....	86
Şekil 4.2. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçine protez kaide materyallerinden elde edilen FTIR spektrumları.....	88
Şekil 4.3. Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçine protez kaide materyallerinden elde edilen FTIR spektrumları.....	91
Şekil 4.4. Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan [MMA] _a değerlerinin karşılaştırılması.....	94
Şekil 4.5. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan [MMA] _a değerlerinin karşılaştırılması.....	97
Şekil 4.6. Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı sikluslar uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan [MMA] _a değerlerinin karşılaştırılması.....	102
Şekil 4.7. Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin karşılaştırılması.....	109
Şekil 4.8. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin karşılaştırılması.....	112
Şekil 4.9. Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin karşılaştırılması.....	116

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

PMMA	: Polimetil metakrilat
MMA	: Metil metakrilat
EGDMA	: Etilen glikol dimetakrilat
DMPT	: N,N,dimetil-para- toluidin
IR	: Infrared (Kırmızı ötesi)
FTIR	: Fourier Transform Kırmızı Ötesi
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
ISO	: Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu
ADA	: American Dental Association
C=C	: Çift karbon bağları
C-C	: Tek karbon bağları
[MMA]	: MMA konsantrasyonu
[MMA]_a	: Artık MMA konsantrasyonu
XTT	: Sodyum 3'-[1-[(fenilamino)-karbonil]-3, 4-tetrazolyum]-bis (4-metoksi-6-nitro)benzen-sulfonik asit hidrat

ÖZET

Bural HC. Protez Kaide Polimerlerinde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranının *in vitro* Sitotoksosite İle İlişkisinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Protetik Diş Tedavisi AD. Total-Parsiyel Protezler BD. Doktora Tezi. İstanbul. 2006.

Protez kaidesi yapımında farklı polimerizasyon yöntemlerinin uygulanmasına rağmen; akrilik reçinelerde monomerin polimere dönüşümünün (polimerizasyon derecesinin) tam olmadığı ve polimer yapı içerisinde reaksiyona girmemiş artık monomerin ve özellikle metil metakrilat (MMA)'ın ağız mukozasında doku reaksiyonları oluşturabilme potansiyeli bulunmaktadır. Bu çalışmada, ısı, mikrodalga enerjisi ve kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları ile polimerize edilen protez kaide polimerlerinde monomerin polimere dönüşüm oranı (MPD), sıvı ortama salınan artık MMA konsantrasyonu ($[MMA]_a$) ve *in vitro* sitotoksosite ile ilişkileri incelenmiştir. Toplam 756 adet deney örneğinde, MPD Fourier Transform Kırmızı Ötesi spektrometresi ile; deney gruplarının 1, 2, 5 ve 7 gün süreyle ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstrakt sıvılarında $[MMA]_a$ Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile; ekstrakt sıvılarının L-929 hücrelerinin proliferasyonuna etkisi XTT kolorimetrik yöntemi ile belirlenmiştir. En yüksek MPD ısı ile, en düşük MPD ise kimyasal yolla polimerizasyon yöntemlerinde saptanmıştır. En düşük $[MMA]$ değerleri ısı ile polimerize olan gruplarda saptanmıştır ($p<0.001$). En yüksek $[MMA]_a$ mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarında ve en yüksek sitotoksik değerler ise kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarında saptanmıştır ($p<0.001$). Ekstrakt sıvılarında farklı polimerizasyon sikluslarında değişen $[MMA]_a$ ve hücre proliferasyonu değerleri arasında genel olarak negatif korelasyon ($p<0.05$) ve 2 günlük ekstraksiyon periyodu sonunda genel olarak $[MMA]_a$ ve sitotoksik etkide belirgin azalma kaydedilmiştir. Klinik uygulamalarda en yüksek MPD ve en düşük MMA salınımı ve sitotoksik etkinin sağlanabilmesi için ısı ile polimerizasyon yönteminde terminal kaynatmanın uygulanması; kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde basınçlı tencerenin kullanımı, mikrodalga enerjisi ve kimyasal yolla polimerizasyon yöntemlerinde polimerizasyon işleminden sonra ilave ısısal işlemlerin uygulanması yararlı olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Akrilik reçineler, Polimerleşme, Polimerleşme Derecesi, Sitotoksosite, Artık metilmetakrilat.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından T-412/08032004 no'lu proje olarak desteklemiştir.

ABSTRACT

Bural HC. Evaluation of the Degree of Monomer Conversion and *in vitro* Cytotoxicity in Denture Base Polymers. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Prosthodontics. İstanbul. 2006.

Despite the various methods of polymerization, degree of conversion (polymerization degree) is not complete in acrylic resins resulting, in residual monomers dominantly MMA that may potentially cause adverse reactions in the oral mucosa. Thus, this study aimed to evaluate and compare the degree of monomer conversion, residual MMA concentration ($[MMA]_a$) and *in vitro* cytotoxicity of denture base polymers polymerized with various methods and cycles. A total of 756 denture base samples were prepared using various polymerization methods and cycles. Degree of monomer conversion (DMC) and $[MMA]_a$ were analyzed using Fourier Transform Infrared spectroscopy and High Performance Liquid Chromatography, respectively. *In vitro* cell proliferation of L-929 fibroblasts was evaluated using XTT method after extraction of samples were eluted for 1,2,5 and 7 days. DMC and cell proliferation were highest in heat-cured and were lowest in chemically-cured samples. Highest $[MMA]_a$ was detected in microwave-cured samples; however highest cytotoxicity was obtained in chemically-cured samples. Generally, there was a negative correlation ($p < 0.05$) between the $[MMA]_a$ of the eluate medium and *in vitro* cytotoxicity that were obviously observed after 2 days of extraction period. For clinical applications use of terminally boiling when heat-curing; use of hydroflask when chemically curing is suggested. It may be also clinically beneficial to use post-curing procedures including thermal applications for microwave and chemically curing methods to provide maximum DMC results together with minimum $[MMA]_a$ and greater biocompatibility.

Key Words: Acrylic resins, Polymerization, Polymerization degree, Cytotoxicity, Residual methylmethacrylate.

This study was supported by The Research Support Unit of Istanbul University as the project no T-412/08032004.

GİRİŞ VE AMAÇ (BÖLÜM 1)

Polimerler, diş hekimliğinde protetik apareylerin yapımında sıklıkla kullanılan materyallerdir. Protetik diş hekimliğinde kullanılan polimer esaslı materyallerin % 95'ini akrilik reçine polimerlerinin oluşturduğu bildirilmektedir (26). En yaygın olarak kullanılan akrilik reçine polimeri ise polimetil metakrilat (PMMA)'tır (5,10,14,24,29,53,70,87,92,105,139,157).

Kimyasal olarak ana bir molekülün tekrarlanmasıyla oluşan ve zincir yapı gösteren **polimerler**, tek bir monomer molekülünün birbirini tekrar etmesi ve birbirine bağlanması sonucunda oluşan büyük molekül yapısındaki materyallerdir. Monomerin polimere dönüşümünün gerçekleştiği reaksiyona da **polimerizasyon** adı verilmektedir (27,28,60).

Protez kaide maddesi olarak 1937 yılında kullanıma sunulan akrilik reçinelerin (5,14,27,28,66,165,171,173) polimerizasyon yöntemlerinin geliştirilmesi, polimerizasyon işlemlerinin basitleştirilmesi, polimerize olmuş yapının iyileştirilmesi gibi konulara yönelik olarak süregelen çalışmalar halen günümüzde de devam etmektedir.

Akrilik reçine esaslı protez kaide maddelerinin polimerizasyonunda en yaygın ve geleneksel olarak kullanılan yöntem su banyosu içerisinde ısı uygulaması ile polimerizasyondur (5,26-28,53,58,87,11,151,171,177). Protez kaidesi yapımında PMMA'ın ısı ile polimerizasyonuna alternatif olarak ayrıca kimyasal yolla (otopolimerizasyon) (5,20,26-29,55,58,114,151,171,177) ve mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon (1, 5, 20, 26-29, 55, 58, 82, 113, 114,150, 165,171) yöntemleri de uygulanmaktadır. İlave olarak, protez kaidesi yapımında görünür ışıkla aktive olan üreandimetakrilat (UDMA) esaslı protez kaide polimerleri de kullanılmaktadır (5,20,26-28,58,114,119,171).

Farklı polimerizasyon yöntemleri uygulanarak hazırlanan protez kaide materyallerin birbirlerine göre kimyasal, fiziksel, mekanik, veya biyolojik özellikleri açısından farklılıkları bulunmaktadır (5, 9, 12, 14, 17, 24, 25, 27, 28, 35, 46, 52, 53, 74, 78, 80, 87, 94, 100, 105, 112, 114, 118, 121, 127, 131, 135, 137, 139, 148, 163, 167, 168, 171, 179)

Farklı polimerizasyon yöntemleri uygulamalarına rağmen; monomerin polimere dönüşümünün tam olmadığı ve yapı içerisinde reaksiyona girmeyen

artık monomerin kaldığı birçok araştırmacı (6, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 20, 26-28, 30, 31, 50, 53, 66-68, 74, 78, 88, 89, 92, 100, 104, 107, 114, 117, 127, 131, 133, 135, 136, 149, 151-154, 163, 167-169, 171,182) tarafından bildirilmektedir.

Monomerin polimere dönüşüm oranının (polimerizasyon derecesi)

polimerize olmuş materyallerin fiziksel, mekanik ve biyolojik özelliklerinin belirlenmesinde büyük önem taşıdığı bildirilmektedir (7,13,14,20,32,36,123,132,142). Özellikle polimer yapı içerisinde reaksiyona girmeden kalan artık monomer miktarını etkilediğinden, monomerin polimere dönüşüm oranı polimer yapı açısından en önemli kimyasal nitelik olarak düşünülmektedir (10). Monomerin polimere dönüşüm oranı, polimer yapı içerisinde bulunan karbon çift bağlarının (C=C) karbon tek bağlarına (C-C) dönüşüm miktarıdır (7,10,13,14,32,36,60,123,131). Monomerin polimere dönüşüm oranı materyalin biyolojik özelliklerini de etkileyebildiğinden (78,84,104,148); dönüşüm oranı düşük olduğu takdirde, polimer yapı içerisindeki fazla miktardaki artık monomer salınarak dokular üzerinde etkili olabilir (37,104,145,168,181). Bu nedenle, monomerin polimere dönüşüm oranı ile ilişkili olarak artık monomerin sıvı ortama salınım karakteristiğinin ve bu salınımın canlı doku üzerindeki etkilerinin incelenmesi önem taşımaktadır.

Polimerize olmuş protez kaidesi materyallerinden su veya tükürük gibi sıvı ortama salınan ve biyolojik olarak aktif olabilen artık monomer protez kaidesine komşu ağız mukozasında yan etkilere sebep olabilmektedirler. En sık bildirilen klinik semptomlar ise ağız mukozasında eritem, erozyon, yanma ve alerjik reaksiyonlardır (16,31,37,43,69,104,107,111,155,164,176). PMMA esaslı akrilik reçine protez kaide polimerlerinde reaksiyona girmeyen artık monomerin büyük bölümünün esas olarak metil metakrilat (MMA)'ın olduğu belirtilmektedir (87,92,107,168). Polimerize olmuş akrilik reçine içinde kalan artık MMA konsantrasyonu ($[MMA]_a$) polimerizasyon yöntemlerine veya polimerizasyon sikluslarına bağlı olarak değişebilmektedir (10,14,15,17,27,31,53,55,66-68,74,87,92,100,167,168,169,171). Oda sıcaklığında polar yapılı bir sıvı olan MMA (99), diffüze olabilme gücü nedeniyle protez kaidesinden diffüzyon yoluyla suya (27,74,84,92,131,167,168,169), yapay tükürüğe (85) ve tükürüğe (9,12,101,163) salınarak dokular üzerinde etkili olabilmektedir.

Diş hekimliğinde kullanılan polimer esaslı materyallerin dokulara toksik etkileri klinik çalışmalarda (43,101,104,107,163,164), hayvan modellerinde (21,56,75,83,122) ve *in vitro* sitotoksikite testleriyle hücre kültürü aracılığıyla (19,22,24,25,35,48,52,54,70,71,77,78,93,94,110,127,145,148,159,174) incelenmektedir. Hücre kültürü testlerinin; kontrol edilemeyen birçok faktörü içeren, yüksek maliyetli ve tartışmalı hayvan deneylerinden daha uygun olduğu bildirilmektedir. Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin hücre kültürü yöntemleriyle test edilmesinin göreceli olarak basit, kontrollü, ve uygun maliyetli olduğu ve tekrarlanabildiği öne sürülmektedir (21,23,27,33,45,95,143,146,174).

Tıbbi gereçlerin *in vitro* sitotoksikitesinin değerlendirilmesinde kullanılan test yöntemlerinin düzenlemelerinin yer aldığı dökümanda (**International Organization for Standardization-ISO 10993-5**) (57); materyalin kendisinin hücre kültürü üzerine direkt olarak uygulanmasıyla ya da materyalin uygun bir sıvı içerisinde en az 24 saat bekletilmesiyle (**ekstraksiyon**) elde edilen ekstrakt sıvılarının indirekt olarak hücre kültürüne uygulanmasıyla gerçekleştirilmesi tavsiye edilmektedir. Protez kaide materyallerinin *in vitro* sitotoksik etkileri birçok çalışmada bildirilmektedir (22,24,25,35,48,52,70,71,78,93,94,95,127,145,163). Literatürde ısı ile, mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yöntemleri uygulanarak hazırlanan akrilik reçine protez kaide polimerlerinin *in vitro* sitotoksik etkilerinin en fazla 5 gün süreli ekstraksiyon periyodu sonunda incelendiği belirlenmiştir (52,163). Ancak; ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan ve farklı sikluslar uygulanarak polimerize edilen protez kaide polimerlerinin 1 günden fazla ekstraksiyon periyotları sonunda *in vitro* sitotoksikitesinin aynı araştırmada değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. İlave olarak, protez kaide materyallerinin *in vitro* sitotoksik etkilerinin ekstraksiyon sıvısına salınan çeşitli bileşiklere bağlı olduğu öne sürülmektedir (22, 24, 25, 70, 71, 78, 93, 94, 95,127,163). Ancak, literatürde farklı polimerizasyon yöntemleri ve siklusları uygulanarak polimerize edilen protez kaide maddelerinden 7 gün süreyle elde edilen ekstraktlara salınan **[MMA]_a** ile *in vitro* sitotoksikite arasındaki ilişkinin birlikte incelendiği herhangi bir çalışmaya da rastlanmamıştır.

Bu nedenlerle bu tez konusunun amacı; ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçine protez kaide polimerlerinde:

- 1) Monomerin polimere dönüşüm oranının saptanması,
- 2) 1, 2, 5 ve 7 gün süreyle ekstraksiyondan sonra ekstrakt sıvısına salınan [MMA]_a belirlenmesi,
- 3) 1, 2, 5 ve 7 gün süreyle ekstraksiyondan sonra *in vitro* sitotoksitenin belirlenmesi,
- 4) Monomerin polimere dönüşüm oranı, [MMA]_a ve *in vitro* sitotoksitate arasındaki ilişkinin karşılaştırılması ve incelenmesidir.

GENEL BİLGİLER (BÖLÜM 2)

2.1 Protez Kaide Polimerleri

Protetik diş hekimliğinde '**polimerler**' olarak adlandırılan reçine esaslı materyaller öncelikle protez kaidesi yapımında olmak üzere protetik apareylerin yapımında sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca, yapay dişlerde, kuron-köprü restorasyonlarında, ölçü kaşıklarında ve ölçü materyallerinde, geçici kuronlarda, ortodontik yer tutucularda, simanlarda, endodontik dolgularda, inley dolgularda da esas olarak polimer yapılı materyaller kullanılmaktadır (5,20,26-28,92,114,171).

Diş hekimliğinde kullanılan polimer yapıdaki en önemli materyal akrilik reçine adı verilen polimerlerdir. Protetik diş hekimliği uygulamalarında kullanılan polimer yapıdaki materyallerin % 95'ini akrilik reçine polimerlerinin oluşturduğu tahmin edilmektedir (5,20,26,27,114,171). En yaygın olarak kullanılan akrilik reçine ise PMMA'tır (5,10,14,24,29,70,87,92,101,105,139,152,157). Öte yandan; vinil akrilikler, polistiren, epoksi reçineler, polikarbonatlar, polisülfidler, silikonlar, polieterler, poliakrilik asitler, Bisfenol Glisidildimetakrilat (Bis-GMA) ve UDMA gibi polimer yapıdaki materyaller de restoratif diş hekimliğinde uygulama alanı bulmuştur (5,20,27,28,58,105,114).

Akrilik reçineler, protez kaide maddesi olarak 1937 yılında kullanıma sunulmuştur (5,14,17,66,165,173). Bu tarihten önce protez kaidesi yapımında vulkanit, nitrosellülöz, fenol formaldehit, vinil plastikleri ve porselen gibi materyaller kullanılmıştır (20,27,28,120,151). Akrilik reçine polimerlerinin bulunması ile protetik diş hekimliğinde büyük bir atılım gerçekleşmiş ve bu reçine kısa süre içerisinde benimsenmiştir. 1946 yılından sonra ise diş hekimliğinde protez kaide maddesi olarak MMA polimerleri veya kopolimerleri yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Akrilik reçinelerin kullanıma sunulmasından günümüze kadar geçen süre içerisinde fiziksel ve kimyasal özellikleri büyük oranda geliştirilmiş ve çapraz-bağlantılı reçineler, kopolimerler, oda-sıcaklığında polimerize olan reçineler, tamir reçineleri, fiberle karakterize edilmiş reçineler, radyopak reçineler, high-

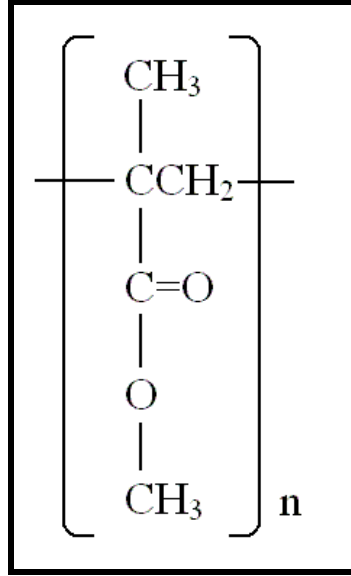
impact reçineler de kullanıma sunulmuştur (20,27,28,53,65,87,105,114,177). Ancak, bütün gelişmelere karşın ideal bir protez kaide maddesinin keşfedilmiş olduğu söylenemez (28). Bununla birlikte, günümüze kadar akrilik reçinelerin özelliklerine sahip daha ideal bir materyalin geliştirilmesi de söz konusu olmamıştır (179).

Klinik olarak kabul edilebilir bir protez kaide materyali uygun mukavemet değerlerine, yeterli ısıl özelliklere sahip olmalı; boyutsal açıdan stabil, kimyasal açıdan inert ve stabil olmalı; ağız sıvılarında çözünmemeli ve ağız sıvılarını absorbe etmemelidir. Protez kaide materyalleri doğal görünüme sahip olmalı ve rengi de stabil olmalıdır. Koku ve tattan yoksun olmasının yanı sıra, çevre dokular üzerinde herhangi bir biyolojik etki de yaratmamalıdır. Ayrıca, plastik materyallere, metallere ve porselene bağlanabilmeli, yapımı ve tamiri kolay olmalı ve düşük maliyetli olması da gerekmektedir (5,27,28,114,151,171).

2.1.1 Polimer ve Polimerizasyon

Kimyasal olarak bir ana molekülün tekrarlanmasıyla oluşan zincir yapı gösteren **polimerler**, tek bir monomer molekülünün birbirini tekrar etmesi ve birbirine bağlanması sonucunda oluşan büyük molekül yapısındaki materyallerdir. Monomerin polimere dönüşümünün gerçekleştiği reaksiyona da **polimerizasyon** adı verilmektedir (27,28,60). Materyale polimer denilebilmesi için tekrarlayan monomerlerin sayısının en az 100 olması gerekmektedir. Bu sayı için üst sınır yoktur ve sonsuza kadar devam edebilmektedir. PMMA, MMA'tan türeyen yapısal ünitelerden oluşmuş bir polimerdir (27) (Şekil 1.1).

Diş hekimliğinde protez kaide polimerleri genellikle toz-likit veya jel şeklinde kullanıma sunulmaktadır (5,26,27).



Şekil 2.1. PMMA'nın kimyasal formülü

Toz-likit tipte kullanıma sunulan akrilik reçine protez kaide maddelerinde toz komponenti genel olarak prepolimerize PMMA taneciklerinden; likit komponent ise polimerize olmamış MMA esaslı monomerden oluşmaktadır (5,27,171). Darbeye karşı daha dirençli bir yapı elde edilmesi amacıyla ticari kullanımda bulunan bu materyallerin toz komponentine düşük oranlarda etil, bütil veya diğer alkil metakrilatları ile güçlendirilmiş PMMA ile beraber; monomer likidi ile karıştırma sonrasında polimerizasyon reaksiyonunu başlatacak olan benzoil peroksit veya diisobütilazonitril gibi inisiyatörler (başlatıcılar) de ilave edilmektedir (5,20,26-28,92,171,173). Peroksit yapılı başlatıcıların polimer tozu içerisindeki miktarı % 0,2 ile % 2 arasında değişmekte ve karışımdaki monomerin polimerizasyon hızını etkileyebilmektedir (53). Başlatıcı maddeler polimerizasyon reaksiyonu sonrasında % 0,5 ile % 1,5 oranında artık olarak da kalabilmektedir (27). Peroksit yapının dekompoze edilmesi için ısı enerjisinin kullanılmasının yanı sıra monomerin polimerizasyonunun oda ısısında gerçekleşmesi istenildiğinde likide bir akselaratör madde ilave edilmektedir. Bu akselaratörler; tersiyer aminler, sülfirik asitler veya sülfirik asitlerin daha stabil olan tuzlarıdır. Çoğunlukla kullanılan aminler N,N,dimetil-para- toluidin (DMPT) ve N, N-dihidroksietil-para-toluidindir (20,26,27). Monomer ısı, ışık veya eser miktardaki oksijen ile polimerize olabileceğinden, materyalin raf ömrünün uzatılması amacıyla likide inhibitör maddeler ilave edilmektedir. Erken polimerizasyonun önlenmesi için en sık kullanılan inhibitör hidrokinondur ve %

0,003 ile % 0,1 konsantrasyonlarında kullanılabilir (5,20,27,171). Bazen daha yumuşak ve daha rezilient polimerlerin elde edilmesi amacıyla toza veya likide plastikleştirici maddeler ilave edilmektedir. Bunlar genellikle, dibütil fitalat gibi nispeten daha düşük moleküler ağırlıklı esterlerdir (27,180). Plastikleştirici materyallerin molekülleri polimerizasyon reaksiyonuna girmezler; ancak polimerize olmuş kütle içerisine dağılarak, polimer molekülleri arasındaki etkileşime müdahale ederler. Sonuç olarak, plastikleşmiş polimer saf polimere göre oldukça yumuşak hale gelir. Plastizörlerin kullanılmasının dezavantajı bu maddelerin yavaşça ağız sıvılarına salınarak protez kaidesinin sertleşmesine neden olmasıdır. Bir polimer aynı zamanda MMA, bütil veya oktil metakrilat gibi daha yüksek esterlerin eklenmesi ile de plastikleştirilebilir. Esterler polimerize olurlar ve daha fleksibl yapıda bir plastik meydana gelir. Bu tip internal plastikleştirme ağız sıvıları içine salınmaz ve materyal fleksibl olarak kalır. Çapraz-bağlantılı yapının oluşturulmasında glikol dimetakrilat gibi organik bileşikler hacimce % 1-2 oranında likide ilave edilmektedir (5,171). Likit esasen MMA esaslı monomer olmak üzere etilen glikol dimetakrilat veya 1,4-butadienol dimetakrilat gibi çapraz bağlantı ajanı karışımından oluşmaktadır (5,26,49,133,134,168,171). Çapraz-bağlayıcı bileşikler moleküllerin zıt uçlarındaki reaktif -CR=CH- grupları ile karakterize edilirler ve iki uzun polimer molekülünü bir arada tutmaya yararlar (26-28).

Saf PMMA şeffaf renktedir ve dokuya benzeyen renkleri oluşturmak amacıyla birçok pigmentle beraber kullanılabilir. Bu pigmentler merkürük sülfid, kadmiyum sülfid, kadmiyum selenit, demir oksit veya karbon siyahıdır. Ancak kadmiyumun toksik özellikleri olduğu gösterilmiştir (20,28). Pigmentler, materyalin üretimi sırasında gerçekleşen polimerizasyon işleminde polimer tanecikleri içerisine hapsolmakta veya polimerizasyon sonrasında mekanik yolla polimerlere karıştırılmaktadır (27). Çoğunlukla mekanik yolla karıştırma işlemi uygulanmakta ve pigmentin protez içerisindeki eşit olmayan dağılımı doğal bir görünüm oluşmasını sağlamaktadır. Boyalar da çoğu zaman pigmentler kadar kullanılmakta ancak genellikle çok tatminkâr değildirler çünkü ağız sıvılarının etkisi ile plastikten ağız ortamına salınabildiklerinden renkte bozulma meydana getirebilmektedirler. Renk verici ajanlara ilave olarak, çinko veya titanyum oksitleri opaklaştırıcı olarak kullanılmaktadır (20,26-28,171). Titanyum oksit en

yaygın olarak kullanılan opaklaştırıcı maddedir. Boyanmış sentetik lifler çoğunlukla naylon veya akrilik yapıdadır ve ağız mukozasının altında bulunan kılcal damarların görünümünün elde edilmesi amacıyla kullanılmaktadırlar.

Toz komponente cam fiberler, tanecikler veya zirkonyum silikat gibi inorganik partiküller de ilave edilebilmektedir. Partiküller çoğunlukla doymamış trietoksisilan gibi bir ıslatma ajanı ile işleme tabi tutularak inorganik partiküller ile reçinelerin ıslanabilirliğini ve bağlanmasını arttırmak amacıyla kullanılmaktadır (27,171).

Protez kaidesi, prepolimerize PMMA taneciklerinden oluşan toz komponentin MMA monomeri ağırlıklı likit komponent ile karıştırılmasıyla elde edilen doygun bir fiziksel karışımın özel hamur tekniği kullanılması ile hazırlanmaktadır (5,20,27,28,114,171). MMA polimerize olduğu zaman % 21 oranında hacimsel büzölmeye uğramaktadır; ancak hamur tekniği kullanıldığı takdirde bu oran yaklaşık olarak % 7'ye düşmektedir (5,20). Toz / likit oranı genel olarak hacimce 3/1 veya ağırlıkça 2,5/1 olarak kullanılmaktadır (5,27). Ayrıca, literatürde hacimce 1/1, 1,5/1, 2/1, 1/2,5, 4,5/1 gibi farklı toz:likit oranlarının kullanımının fiziksel (178), mekanik (67,156) ve kimyasal (67,98) özelliklere etkisini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Karıştırma ve hamurlaşma periyodu süresince, monomerler toz partiküllerine penetre olmakta ve partiküller çözünmektedir (20,168).

PMMA'nın polimerizasyonu benzoil peroksit gibi bir başlatıcının aktivasyonu ile serbest köklerin (radikallerin) oluştuğu ilave tipte bir reaksiyondur (5,14,20,27,28,173). Akrilik reçine esaslı protez kaide polimerlerinde polimerizasyon benzoil peroksitin 60°C'nin üzerindeki ısıda serbest kökler oluşturarak ayrılması (dekompoze olması) ile başlamaktadır (5). Bu serbest köklerden biri monomer molekülü ile reaksiyona girerek yeni bir serbest kök oluşmasını sağlar ve yeni serbest kök diğer bir monomer molekülüne yapışır. Polimerizasyon reaksiyonu zincirleme olarak bu şekilde devam eder. Polimerizasyon reaksiyonu hiçbir zaman tamamlanamaz, kütle içerisinde daima reaksiyona girmemiş bir miktar artık monomer kalmaktadır. Polimerize olmuş akrilik reçine yapısı içerisinde kalan artık monomerin

materyalin mekanik ve fiziksel özelliklerini değiştirdiği bildirilmektedir (13,34,36,182).

Fazla yaygın olmamakla birlikte, protez kaide maddelerinin jel halinde uygulanması da mümkündür. Jel tipindeki plastik genellikle toz/likit komponentli materyallere benzer bileşenlere sahiptir. Farkı ise, ince tabakalar veya pasta halinde bulunmasıdır. Kimyasal hızlandırıcılar jel tipinde kullanılmazlar. Çünkü başlatıcılar, hızlandırıcılar ve monomerin temasta olmaması gerekir (28).

PMMA'ın polimerizasyonu polimer-monomer karışımının bir su banyosu içerisinde ısıtılmasıyla, bir kimyasal aktivatör aracılığıyla oda ısısında veya polimerizasyon reaksiyonunun mikrodalga enerjisi ile aktive edilmesiyle gerçekleştirilebilmektedir. Bununla birlikte, protez kaidesi yapımında kullanılan PMMA esaslı materyallerden başka görünür ışık kullanılarak aktive olan UDMA esaslı materyaller de kullanılabilir (5,14,20,27,28,113,114,119,171).

2.2 Protez Kaide Polimerlerinin Polimerizasyonunda Kullanılan Yöntemler

2.2.1 Isı ile Polimerizasyon Yöntemi

Akrilik reçine protez kaide materyalleri genel olarak toz ve likit komponentin üretici firma tarafından bildirilen uygun oranlarda karıştırılması sonucunda monomerin fiziksel olarak polimerle reaksiyona girmesi ve hamur kıvamında bir karışımın elde edilmesiyle hazırlanmaktadır. **Basınçla kalıplama tekniği** (5,20,27,28) olarak adlandırılan yöntemle, toz-likit karışımının muflaya tepilmesinden sonra dışarıdan basınç ve ısı uygulanarak polimerizasyon işlemi gerçekleştirilmektedir.

Isı ile polimerizasyon yöntemi, protez kaidesi yapımında akrilik reçinelerin polimerizasyonunda halen en sık olarak kullanılanı tercih edilen yöntemdir (5,27,28,50,87,96,138). Bu yöntemde ısı kaynağı olarak ısıtmalı bir su banyosunun yaygın olarak kullanımının yanı sıra kuru hava fırını (179), buhar (179), kırmızı ötesi (infrared-IR), indüksiyon ve dielektrik ısıtma gibi yöntemlerin de kullanımının polimerizasyon işlemlerinde başarılı olduğu bildirilmektedir (27).

PMMA'nın polimerizasyon reaksiyonu ekzotermiktir ve monomer polimerize olurken karbon çift bağlarının (C=C) karbon tek bağlarına (C-C) dönüşümü sırasında 80 kJ/mol miktarında ısı enerjisi açığa çıkar (5,27,171). Bu nedenle, ısı ile polimerizasyon yönteminde polimerizasyon ısısının kontrol altında tutulması gerekmektedir. Kontrol edilmeyen ısı artışının neden olabileceği monomer kaynaması ve protez kaidesinde porozite oluşumu gibi istenmeyen sonuçların önlenmesi amacıyla polimerizasyon işleminin kontrollü olarak gerçekleştirilmesi gerekmektedir (5,28,151). Plastik kıvamdaki hamurun sıcaklığı 70°C'ye yaklaştıktan sonra, muflanın değişik bölgelerindeki ısı her yerde yaklaşık olarak aynı oranda artmaya devam eder (27). Bu noktada materyal oldukça sıvı bir hal kazanır ve benzoil peroksit başlatıcısının dekompoze olma oranı polimerizasyon reaksiyonunu başlatacak kadar hızlıdır (5,27). Dışardan gelen ısının etkisiyle ve diğer moleküllerden kaynaklanan ısıl şoklar yardımıyla monomer molekülleri hareket ettirilir veya pasif olarak hareket ederler. Reçine polimerize olurken monomer miktarında giderek azalma olur ve ısı arttıkça moleküllerdeki hareketlilik de artarak monomerin polimere dönüşümü artar ve polimerizasyon reaksiyonu devam eder (14,29).

Kalıp içerisinde polimerizasyon reaksiyonunun kontrol edilmesi amacıyla polimerize edilecek materyale uygulanan işlemin koşulları ve süresi **polimerizasyon siklusu** olarak tanımlanmaktadır (5,66).

Geleneksel olarak kabul edilen polimerizasyon siklusu, akrilik reçine hamurunun ısıtılmalı bir su banyosu ünitesi içerisinde 74°C'de 9 saat süre ile polimerize edilmesidir (5,14,173). Ayrıca, akrilik reçinenin 74°C'de polimerizasyonundan sonra ilave olarak ısının 100°C'ye çıkarılarak (*terminal kaynatma*) 30 dakika (dk) gibi kısa veya 1 saatten fazla olan uzun terminal kaynatmalı polimerizasyon sikluslarının da kullanımı bildirilmektedir (50,53,66,168). Bununla birlikte, uygulamada toplam 2 saatten daha kısa süreli polimerizasyon sikluslarının uzun polimerizasyon sikluslarına göre çok daha fazla oranda tercih edildiği bildirilmektedir (8). İlave olarak, akrilik reçine protez kaide materyallerinin ısı ile polimerizasyonunda polimerizasyon ısısı ve süresi açısından oldukça çeşitlilik gösteren alternatif polimerizasyon sikluslarının

kullanımını bildirmekte olan çalışmalar literatürde mevcuttur (8,9,15,17,31,46,50,53,66-68,104,149,153,167,168,178,179).

Polimerizasyon ısı ve polimerizasyon süresine bağlı olarak, polimerize olmuş akrilik reçine protez kaidesinin mekanik (5,20,27,31,50,66,114,171), fiziksel (5, 20, 27, 31, 50, 66, 114, 171, 179) ve kimyasal (5, 20, 27, 31, 46, 50, 53, 66, 68, 78, 114, 153, 168, 171) özelliklerinin değişebileceği bildirilmektedir.

Akrilik reçinelerin fiziksel, mekanik ve kimyasal özelliklerinin modifikasyonunu konu alan çalışmalara ilave olarak, laboratuvarında akrilik reçinelerle çalışma özelliklerinin de iyileştirilmesine yönelik teknikler de geliştirilmiştir. İlk olarak *Pryor* (124) tarafından bildirilen, daha sonra 1970'li yıllarda Ivoclar firması tarafından protez kaidesi yapımında alternatif bir teknik olarak SR-Ivocap sistemi adıyla kullanıma sunulan enjeksiyonla kalıplama tekniği de bu tekniklerden biridir (4,27,28,79,105,118,121). Özel muflaların kullanıldığı ve vinil akrilik reçinenin mufla içerisine enjekte edildiği bu yöntemde ısı kaynağı olarak sıcak su kullanılmakta, polimerizasyon işlemi devamlı basınç altında gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemin sağladığı en önemli avantajları daha az polimerizasyon büzülmesi nedeniyle protez kaidelerinde daha az boyutsal değişikliklerin elde edilmesi olduğu bildirilmektedir (4,40).

PMMA esaslı akrilik reçinelerin basınçla kalıplama işleminden sonra su banyosu içerisinde ısı ile polimerizasyon uygulamasının uzun yıllardır kabul görmesine karşılık, polimerizasyon işlemlerinin basitleştirilmesi ve protez yapımı için harcanan zamanın azaltılabilmesi amaçlanarak mikrodalga enerjisi ile, (5,17,20,26-28,82,113,114,121,137,171), oda sıcaklığında kimyasal yolla (5,17,20,26-28,114,137,171) polimerizasyon yöntemleri diş hekimliğinde rutin olarak uygulanmaktadır.

2.2.2 Mikrodalga Enerjisi ile Polimerizasyon Yöntemi

Akrilik reçinenin ısı ile polimerizasyonunda ısı kaynağı olarak ısıtılmalı su banyosunun yerine önerilen diğer bir yöntem ise mikrodalgaların kullanımınıdır (5,20,27-29,82,114,171).

İlk olarak *Nishii* (113) adlı araştırmacı tarafından 1968 yılında önerilen mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde, özel olarak formüle edilmiş bir akrilik reçine ve metal olmayan bir muflanın kullanımı gerekmektedir (5,82).

Bu yöntemde magnetron adı verilen bir jeneratör yardımıyla oluşturulan elektromanyetik dalgalardan olan mikrodalgalar 300-300.000 megahertz (MHz) frekans aralığında kullanılmakta ve tipik bir mikrodalga fırını ile 2450 MHz ile 12 cm dalga boyunda mikrodalgalar elde edilmektedir (20,29,87). Magnetron ile oluşturulan mikrodalgalar aynı zamanda mikrodalga enerjisi ile ısıtmanın yapıldığı bölümde bulunan muflaya iletilmektedir. Mikrodalga ışımaya maruz kalan nesne mikrodalgaları bünyesine soğurur (absorbe eder) ve nesne içerisinde anında ısınma başlar. Buna **dielektrik ısınma** denmektedir. Su banyosu içerisinde gerçekleşen kondüksiyon (ısı iletimi) ısıtması ile dielektrik ısınma arasındaki temel fark dielektrik ısınmada materyalin içinin ve dışının aynı anda eşit olarak ısınması ve sıcaklığın çok daha hızlı olarak artmasıdır (29,173). Mikrodalga enerjisi ile ısıtma ısısal iletkenliğe bağlı olmadığından, yüksek ekzotermik ısı oluşmadan ani ısı artışını da içeren çeşitli polimerizasyon sikluları uygulanabilmektedir (10,20,79,87,182). Elektromanyetik olarak oluşturulan ve vibrasyon yapan bir alan içerisinde ortaya çıkan iç ısıya bağlı olarak monomer molekülleri yaklaşık olarak saniyede 5 milyon kez (38) hareket ederek yön değiştirmektedir (14,20). Birçok molekül arası çarpışmaya bağlı olarak ısı oluşmakta (20) ve ısı hızla artarken polimerizasyon reaksiyonu devam eden kütle içerisindeki monomer miktarı azalmakta, aynı miktardaki enerji giderek azalan miktardaki monomer tarafından absorbe edilmektedir (14,20,29). Teorik olarak mikrodalga enerjisi ile monomerin polimere dönüşümünün diğer polimerizasyon yöntemlerine göre daha fazla olmasının sağlanabileceği bildirilmektedir (20).

Mikrodalgalar metalik nesnelere tarafından yansıtıldıkları için, mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yöntemlerinde kullanımı ilk olarak *Kimura ve Teraoka* (82) tarafından bildirilen fiberle güçlendirilmiş plastikten hazırlanan muflaların kullanımı gerekmektedir (1,20). Bu yöntemin sağladığı esas avantaj olan kısa polimerizasyon süresinin yanı sıra; plastik fazın daha kısa sürede oluşturulması, karışımın daha fazla homojen olması, iyi adapte olan protetik materyal sağlanabilmesi, materyalin içinin ve dışının hemen hemen eşit olarak ısıtılması, ısının hızlı artışı, laboratuvar işlemlerinin daha temiz bir ortamda yapılabilmesi, daha kullanışlı ekipman gereksinimi gibi diğer avantajları da bulunmaktadır (5,10,11,29,41,87,96,137,138,140,150,165,173). Ayrıca, son yıllarda kullanıma sunulan mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve enjeksiyonla kalıplanabilen akrilik reçinelerin (79,105,121) hem enjeksiyonla kalıplama hem de mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yöntemlerinin sağladığı avantajları birarada bulundurduğu bildirilmektedir.

Bununla birlikte, bu yöntemde kullanılan plastik muflaların göreceli olarak daha pahalı olması ve birden çok tepme işleminden sonra kırılmaya yatkın olmasının yöntemin dezavantajları arasında olduğu bildirilmektedir (96). Ancak, eski yıllarda kullanılan polikarbon vidalar yerine son yıllarda silikon bronza kaplı metal vidalar kullanılmakta ve muflaların dayanıklılığının daha arttırıldığı belirtilmektedir (1).

Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yöntemiyle protez kaidesi yapımına ilave olarak protez kaidesi tamiri, röbezaj ve astarlama işlemlerinin de başarıyla gerçekleştirilebileceği bildirilmektedir (165).

Genel olarak, mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde 500 W güç altında ortalama 3 dk süren bir polimerizasyon siklusu uygulanmaktadır (5,10,11,14,17,20,22,27,30,35,70,71,87,105,113,125,150,160,165,171-173, 182). Ancak, akrilik reçinenin fiziksel, mekanik ve kimyasal özelliklerinin iyileştirilmesine yönelik alternatif güç ve zaman faktörlerinden ve bunların kombinasyonlarından oluşan polimerizasyon sikluslarının etkisinin incelendiği birçok çalışma (10,55,87,96,112,117,160) bulunmaktadır.

Literatürde, mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinelerin mekanik özelliklerinin ısı ile polimerize edilerek hazırlanan akrilik reçinelere

yakın (96,105,150,160), daha düşük (87) veya daha yüksek (41,121) değerler gösterdiğini belirten çalışmalar bulunmaktadır. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan reçinelerin boyutsal stabilitelerinin geleneksel ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerin boyutsal stabilite özelliklerine benzer (79,138) veya daha üstün (112,173); adaptasyon özelliklerinin benzer (5,139) veya daha üstün (121) ve su emiliminin ise benzer (160) olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinelerin sertlik değerleri geleneksel ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerle karşılaştırıldığında daha yüksek (121) veya benzer sertlik değerleri gösterdiğini (87,96,150,160); porozite oluşumu açısından ise benzer (96,150) veya daha fazla (11,87,140) poröz yapıya sahip olduklarını açıklayan araştırmalar bildirilmektedir.

2.2.3 Kimyasal Yolla Polimerizasyon (Otopolimerizasyon) Yöntemi

Isı ve mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yöntemlerinde açığa çıkan ısı enerjisi başlatıcı madde olan benzoil peroksitin dekompoze olması sonucunda serbest radikallerin oluşumuna yol açmakta; sonuç olarak açığa çıkan serbest radikaller de polimerizasyon reaksiyonunu başlatmaktadırlar (5,27,28). İlave olarak, benzoil peroksitin kimyasal aktivatörler aracılığıyla dekompoze edilmesiyle de polimerizasyon reaksiyonunun başlaması sağlanabilmektedir (27,92). Isı enerjisinin uygulandığı polimerizasyon yöntemleri ile kimyasal yolla polimerizasyon yöntemi arasındaki temel fark benzoil peroksitin bir kimyasal aktivator aracılığıyla dekompoze olmasıdır (5,124). Likit komponente ilave edilen tersiyer aminler, sülfirik asit gibi kimyasal akseleratörler (hızlandırıcılar) arasında DMPT ve N,N-dihidroksietil-para-toluidin gibi tersiyer aminler sıklıkla kullanılmaktadır (5,27,32). Polimerizasyon reaksiyonunun kalan kısmı ve diğer etkili faktörler ısı ve mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yöntemleri ile benzerdir (5,27,92).

Kimyasal aktivatörlerin kullanıldığı kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde aktivasyon için dışarıdan ısı enerjisinin uygulanmasına gerek olmadığından polimerizasyon reaksiyonu oda sıcaklığında gerçekleşebilmektedir. Bu nedenle kimyasal yolla polimerize olan akrilik

reçinelere ***soğuk akrilik reçineler, kendiliğinden sertleşen akrilik reçineler veya otopolimerizan akrilik reçineler*** adları da verilmektedir (5,20,27,28).

Kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçineler, protez kaidesi yapımının yanı sıra ortodontik apareylerin yapımında, direkt post ölçüsünün alınmasında, interoklüzal kayıt işlemlerinde, bireysel ölçü kaşığı ve splint yapımında, protez kaidesi tamirlerinde de sıklıkla kullanılmaktadırlar (5,20,26-28,114,171,177).

Literatürde, kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine protez kaide maddelerinin genellikle oda sıcaklığında (5,17,26-28,114,115,156,168,171,182) ya da 40-60°C sıcaklıkta su içeren basınçlı tencerede (5,27,92,115,167,182) veya basınç uygulamadan 10-80°C arasında değişiklik gösteren sıcaklıklardaki kuru hava veya su içinde (17,115) gibi çeşitli polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edildiğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Açık ortamda kimyasal yolla polimerizasyon sırasında havadaki oksijenin serbest radikal polimerizasyonu üzerindeki inhibe edici etkisi nedeniyle kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerin polimerizasyonunun basınçlı tencerede gerçekleştirilmesi önerilmektedir (27).

Kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyalleri ısı ile ve mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinelerden fiziksel, mekanik ve kimyasal özellikler açısından genel olarak daha düşük değerlere sahiptir (5,27,114,171). Ayrıca, kimyasal yolla polimerize olan reçinelerde monomerin polimere dönüşüm oranının genellikle ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerden daha az olduğu belirtilmektedir (5,167,169). Literatürde, kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerde ısı ve mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinelere oranla daha fazla miktarda reaksiyona girmemiş artık monomer olduğunu gösteren çalışmalar (12, 17, 38, 39, 46, 50, 67, 74, 78, 131, 154, 163, 167,168) bildirilmektedir. Artık monomer, bir plastizör rolü oynayarak akrilik reçinenin mekanik özelliklerini zayıflatmaktadır (5). Ancak, fiziksel özellikler açısından, kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerde monomerin polimere dönüşümünün daha az olmasına bağlı olarak, ısı ile polimerize olan akrilik reçinelere göre daha az miktarda büzülme görülmektedir. Bu özellik de kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerde boyutsal stabilitenin daha iyi olmasına neden olmaktadır (5,27).

Öte yandan, oda sıcaklığında ortalama olarak 15 dk sonunda tamamlanan kimyasal yolla polimerizasyondan sonra mikrodalga enerjisine tabi tutma (18,70,172,182), sıcak suda bekletme (17,89,149,163) gibi ilave işlemlerin kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerin fiziksel, mekanik, kimyasal ve biyolojik özelliklerine olumlu etkisinin olabileceği bildirilmektedir.

2.3 Protez Kaide Polimerlerinde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı ve Artık Monomer

2.3.1 Protez Kaide Polimerlerinde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı (Polimerizasyon Derecesi)

PMMA'ın ilave tip polimerizasyon reaksiyonu esasen benzoil peroksit başlatıcının aktive olarak serbest köklerin açığa çıkmasına ve serbest köklerin de MMA monomerindeki karbon çift bağlarını ($C=C$) açarak monomerin polimer köklere bağlanmasına dayanmaktadır (14). Polimer yapılı materyallerde monomerin polimere dönüşüm oranı veya polimerizasyon derecesi, yapıdaki karbon çift bağlarının ($C=C$) karbon tek bağlarına ($C-C$) dönüşüm miktarı olduğu bildirilmektedir (13).

Protez kaide materyallerinin yapımında akrilik reçinelerin polimerizasyonu için önerilen çeşitli yöntemlere rağmen, monomerin polimere dönüşümünün genellikle tam olmadığı ve yapı içerisinde reaksiyona girmemiş halde kalan karbon çift bağlarının olduğu belirtilmektedir (7,10). İlave olarak, kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerde monomerin polimere dönüşüm oranının, ısı ve mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinelerden daha da düşük olduğu bildirilmektedir (5,167-169). Isı ve mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon sırasında açığa çıkan ısı enerjisinin yol açtığı monomer moleküllerindeki hareketliliğin (14) ve cam transisyon ısısının (T_g°) (168) kimyasal yolla polimerizasyon yöntemine göre daha fazla olması gibi faktörlerin daha fazla monomer dönüşümünde etkili olabileceği bildirilmektedir.

Isı ile polimerizasyon yönteminde terminal kaynatma noktasına erişildiği takdirde; kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde ise polimerizasyon

sıcaklığının 60°C'ye kadar yükseltilmesinin daha fazla monomerin polimere dönüşüm oranına neden olacağı ileri sürülmektedir (17,48,50,53,102,168).

Polimer esaslı materyallerde monomerin polimere dönüşüm oranı spektroskopik analizlerle ve kantitatif olarak belirlenebilmektedir (7,10,13,14,32,34,36,117,131-133).

2.3.1.1 Spektroskopi ve Spektroskopik Analiz Cihazları

Elektromagnetik ışımının madde ile etkileşmesini konu alan bilim dalı **spektroskopi** olarak adlandırılır ve bu bilim dalında ışımının madde (atomlar veya moleküller) tarafından soğurulması (absorpsiyonu) veya yayılması (emisyonu) incelenmektedir (34).

Elektromagnetik ışımının organik moleküller tarafından absorpsiyonu; moleküldeki atomların türü, düzenlenmesi, moleküllerin şekli, büyüklüğü gibi faktörlere bağlı olduğundan organik kimyada spektroskopik yöntemler organik maddelerin kalitatif ve kantitatif analizi, yapılarının aydınlatılması, stereokimyasal özelliklerinin bulunması ve saflık kontrolünün belirlenmesi gibi birçok alanda uygulanmaktadır (34).

Organik maddelerin spektroskopik analizi, absorbe edilen ışımının frekansının ve şiddetinin ölçülmesinden ibarettir. Bir spektroskopi cihazı

- 1) Elektromagnetik ışımaya kaynağı
- 2) Işıma şiddetinin kontrolü
- 3) Işımanın dalga boyunun kontrolü
- 4) Örneğin yerleştirildiği hücre
- 5) Örnekten çıkan ışımının çeşitli dalga boylarında toplanması ve soğurma şiddetinin ölçümü
- 6) Çeşitli dalga boylarındaki soğurmanın ve şiddetinin kaydedilerek spektrumun elde edilmesinden oluşmaktadır.

Absorbans spektrumlarının elde edilmesinde kullanılan cihazlar **spektrofotometre** (spektrometre) olarak adlandırılmaktadır.

2.3.1.2 Kırmızı Ötesi (Infrared-IR) Spektrometresi

Bir kırmızı ötesi (Infrared-IR) spektrometresi *ışık kaynağı, monokromatör ve detektör* adı verilen üç temel kısımdan oluşmaktadır.

IR spektrometresi, ışık kaynağından çıkan ışımının aynalar tarafından yansıtılıp biri örnekten, diğeri de referanstan geçen iki demete ayrılıp monokromatör üzerine düşürüldükten sonra, her iki ışık şiddeti arasındaki farkın detektör üzerinde sinyal olarak kaydedilmesi prensibine dayanarak çalışmaktadır (34).

Günümüzde, IR spektrumunun kaydının hızlı yapılabilmesi amacıyla, spektrometrede iki ışımının dalga boyları arasındaki farkın oluşturduğu sinyaller interferogram olarak kaydedildikten sonra, spektrometreye bağlanmış bir bilgisayarda interferograma Fourier transformasyonu dönüşümü yapılarak absorpsiyon dijital olarak kaydedilir. Bu yöntem **Fourier Transform Infrared (FTIR) (Fourier Transform Kırmızı Ötesi)** Spektrometresi olarak adlandırılmaktadır (34).

Diş hekimliğinde kullanılan reçine esaslı materyallerde monomerin polimere dönüşümünün incelenmesinde günümüzde FTIR spektrometresinin kullanımı analiz işlemlerinin kolay olması ve kısa sürede gerçekleştirilebilmesi nedeniyle popülerlik kazanmıştır (7,10,14,32,36,123,130-132).

Literatürde, akrilik reçine protez kaide materyallerinde monomerin polimere dönüşüm oranını FTIR analizi ile değerlendiren çalışmalar (10,13,14,32) bildirilmektedir. Isı ile (14), mikrodalga enerjisi ile (10,14), ve kimyasal yolla (32) polimerizasyon yöntemleri ile elde edilen monomerin polimere dönüşüm oranı farklı çalışmalarda incelenmiştir. *Azzari ve ark.* (10), mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçinelerde monomerin polimere dönüşüm oranını FTIR spektrometresi ile incelemiştir. Ancak literatürde; farklı polimerizasyon yöntemleri ve siklusları kullanılarak hazırlanan protez kaide polimerlerinde monomerin polimere dönüşüm oranının aynı koşullarda

hazırlanmış örneklerle aynı çalışma içinde inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2.3.1.3 Kırmızı ötesi (IR) Spektroskopisi

IR ışınması, elektromagnetik spektrumda görünür bölge ile mikrodalgalar arasında bulunur ve dalga boyu 0.8-500 μ (dalga sayısı 12500-20 cm^{-1}) olan ışımadır. Elektromagnetik ışınmanın dalga boyu 2.5-25 μ (dalga sayısı 4000-400 cm^{-1}) olan bölgesine IR bölgesi denir ve IR spektroskopisi organik yapı analizinde kullanımı yararlıdır (34).

IR spektrumları, organik bileşiğin yapısındaki fonksiyonel grupların bulunmasında ve iki organik bileşiğin kimyasal olarak benzerliğinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (34).

Organik moleküllerin yapısında bulunan karbon tek bağları (C-C), karbon çift (C=C) veya üçlü bağlarının (C \equiv C) gerilme titreşimlerinin frekansları sırasıyla 800-1300 cm^{-1} , 1400-1800 cm^{-1} ve 2100-2300 cm^{-1} dalgasayılarında saptanabilir.

PMMA'nın karakteristik gerilme titreşimi frekanslarına ait pikler 2992 cm^{-1} , 2951 cm^{-1} , 1732 cm^{-1} , 1440 cm^{-1} ve 1165 cm^{-1} dalgasayılarındaki absorpsiyon bantlarında görülür. MMA'nın gerilme titreşimi frekanslarına ait pikler ise 3107 cm^{-1} , 2988 cm^{-1} , 2955 cm^{-1} , 2931 cm^{-1} , 2848 cm^{-1} , 1725 cm^{-1} , 1639 cm^{-1} , 1402 cm^{-1} ve 1021 cm^{-1} dalgasayılarında görülür (10,73).

Diş hekimliğinde kullanılan toz/likit sistemden oluşan polimerize olmuş akrilik reçinelerde, ilave tip polimerizasyon reaksiyonu monomerdeki alifatik karbon çift bağları (C=C) boyunca gerçekleşen serbest radikal ilavesi ve sonuçta polimerde meydana gelen karbon tek bağları (C-C) ile oluşmaktadır. Polimerizasyon reaksiyonu ilerlerken, alifatik karbon çift bağlarının (C=C) miktarı azalmaktadır. Spektroskopik olarak, alifatik karbon çift bağlarının miktarındaki azalma, incelenen bağ ile ilgili dalgasayılarındaki absorpsiyonun da orantılı olarak azalmasına neden olur. MMA için bu frekans 1639 cm^{-1} dalgasayıları etrafındaki absorpsiyon bandında görülmektedir (32,73).

Monomerin polimere dönüşüm oranı, materyalin ne kadar polimerize olduğunu veya polimerizasyon derecesini açıklamakta ve bu değerlerin birçok açıklanma şekli bulunmaktadır (13,66). Bu açıklamalardan biri, polimerizasyon reaksiyonu sonrasında reaksiyona girmemiş olarak bulunan artık monomer ünitelerinin sayısı ile ölçümü yöntemidir (152). Reçine esaslı materyallerden salınabilen artık monomerin miktarının en aza indirgenmesi için, reçinelerde monomerin polimere dönüşümünün yüksek olması gerekmektedir. Zira, monomerin polimere dönüşüm oranı materyalin mekanik, fiziksel ve kimyasal özelliklerini etkilemesinin yanı sıra materyalin biyolojik özelliklerini de etkileyebilme potansiyeline sahiptir (78,84,104,148). Dönüşüm oranı düşük olduğu takdirde, polimer yapı içindeki fazla miktarda bulunan artık monomer salınarak dokular üzerinde etkili olabilir (37,104,145,168,181). Dolayısıyla, monomerin polimere dönüşüm oranı ile ilişkili olarak artık monomerin sıvı ortama salınım karakteristiğinin ve bu salınımın biyolojik sistem üzerindeki etkilerinin incelenmesi çok önemlidir.

2.3.2 Protez Kaide Polimerlerinde Artık Monomer

Literatürde farklı yöntemlerle polimerize edilerek hazırlanmış akrilik reçine protez kaide materyallerinde, polimerizasyon reaksiyonu sonrasında reaksiyona girmemiş artık monomerin gerek materyalin içinde gerekse materyalin bulunduğu sıvı ortamda belirlendiğini bildiren birçok çalışma yapılmıştır (6,8,9,12,14,15,17,20,26-28,30,31,50,53,66-68,74,78,88,89,92,100,104,107,114,117,127,131,133,135,136,149,151-154,163,167-169,171,182). Bu çalışmalardan elde edilen bulgulara dayanarak, artık monomerin materyalin mekanik (5, 10, 20, 27, 31, 66, 67, 114, 133, 182), fiziksel (5, 6, 10, 20, 27, 31, 50,92,114,117) ve biyolojik (5,12,20,27,78,104,114,127,163) özelliklerinde önemli bir role sahip olduğu belirtilmektedir.

Akrilik reçine protez kaidesinde bulunan artık monomer bir plastizör rolü oynayarak polimer matriks yapısındaki zincirler arası çekim kuvvetini azaltıp, çiğneme yükleri altında protez kaidesinin daha kolay deformasyonuna neden olarak mekanik özelliklerini etkilediği bildirilmektedir (5,50,66,67,182).

Fiziksel özellikler açısından; akrilik reçine protez kaide materyallerindeki artık monomer miktarı başlıca yüzey sertliği (10,50,92,117) olmak üzere su emilimi (66), porozite (117), renk değişimi (6) gibi özellikleri de olumsuz etkilemektedir.

Artık monomer miktarı, akrilik reçine protez kaide materyallerinin biyolojik özelliklerinde en önemli rolü oynamaktadır. Suya (27,74,84,92,131,167-169) yapay tükürüğe (85) ve tükürüğe (9,12,101,163) difüzyon yoluyla salındığı bildirilen polimer yapı içerisindeki artık monomer dokular üzerinde etkili olabilmektedir (5,12,20,27,78,104,114,127). Artık monomer özellikle protez kaidelerinin yüzeyindeki tükürük filmi içinde depolanarak (163) protezin ölçü yüzeyi ile temasta olan dokuları etkileyebilmektedir.

Akrilik reçinelerde artık monomer miktarını polimerize olmuş reçinenin toz/likit oranının (67), kalınlığının (38,135), polimerizasyon yönteminin (5,17,27,38,39,131,135,154,163,167,168) ve polimerizasyon sikluslarının (8,10,17,50,53,66,67,92,168,182), suda bekletmenin (17,30,163,167) etkilediği bildirilmektedir.

Polimerizasyon reaksiyonu sonrasında yapı içerisinde reaksiyona girmeden kalan artık monomerin büyük bölümünü esas olarak MMA oluşturmaktadır (87,92,107,168). Ayrıca, akrilik reçineden hazırlanmış protez kaidelerinde dibütilfitalat (101), hidrokinon (107), formaldehit (107,133,134,163), benzoil peroksit (27,107,133), benzoik asit (85,107), metakrilik asit (84,85) ve metil benzoat (101,107) gibi kimyasal maddelerin çok düşük oranlarda kaldığı veya salındığı da bildirilmektedir.

Kalın hazırlanan akrilik reçine örneklerin ince hazırlanan örneklere göre daha az oranda artık MMA içerdiği deneysel çalışmalarda gösterilmektedir (38,135).

Isı ile polimerize olan akrilik reçine protez kaidelerinde saptanan artık MMA miktarının kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine protez kaidelerine göre daha az olduğu bildirilmektedir (17,38,39,50,131,135,154). Polimerizasyon işleminden 5 gün sonra, kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyallerinde artık MMA miktarının ağırlıkça % 3-5 oranında olduğu; ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerde ise bu oranın ortalama

% 1 oranında olduğu bildirilmektedir (131). Bu duruma kimyasal yolla polimerizasyonu sağlayan aktivatörün oluşturduğu monomer dönüşümünün, ısı ile aktivasyonun sağladığı dönüşüm kadar yüksek olmamasının neden olduğu belirtilmektedir (5,167-169). Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinelerde ise artık MMA miktarının ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerden daha yüksek (18), benzer (150) veya daha düşük (29) olduğunu belirten çalışmalar bildirilmektedir .

Isı ile polimerize olan akrilik reçine protez kaide maddelerinde, polimerizasyon sikluslarında terminal kaynatma (100°C'de kaynatma) uygulanmasının artık monomer miktarını azalttığı belirtilmektedir (5,8,17,27,31,46,50,53,66,67,68,74,102,153,167,168).

Kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerde, artık monomer miktarının azaltılmasına yönelik bildirilen yöntemler arasında reçinenin polimerizasyonunun sıcak su içerisinde gerçekleştirilmesi önerilmektedir (17,92). Bununla birlikte; oda sıcaklığında polimerize olan otopolimerizan akrilik reçine tamir materyaline polimerizasyon işlemi sonrasında ilave olarak mikrodalga enerjisi uygulandığında artık monomer miktarının, basınçlı tencerede veya normal koşullar altında polimerize edilen örneklerin artık monomer miktarlarından daha az olduğu; bu durumun mikrodalga enerjisinin daha fazla monomer dönüşümü sağlamasına bağlı olabileceği bildirilmektedir (182).

Akrilik reçineden hazırlanan örneklerin suda bekletilmesi sonucunda artık monomer oranındaki azalma *in vitro* olarak gösterilmektedir (9,15,17,53,167). Normal koşullarda açıkta bekletilen akrilik reçinelerde artık monomer miktarındaki azalma, suda bekletilen reçinedeki artık monomer azalmasına göre daha yavaş hızda gerçekleşmektedir (15). Bununla birlikte kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerden suya salınan artık MMA miktarının da ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerden daha fazla olduğu bildirilmektedir (9,12,88,152,163,167). *Vallittu ve ark.* (167), protezlerin 37°C sıcaklıktaki suda 1 veya 2 gün süreyle bekletilmesinin protez kaidesindeki artık MMA'yı ve dolayısıyla da tükürüğe salınacak artık MMA miktarını azaltabileceğini bildirmektedirler. Bunun yanı sıra, *Lamb ve ark.* (88) artık monomer miktarındaki

azalmanın polimerizasyon sonrasındaki ilave dönüşüm sonucunda gerçekleştiğini bildirmektedirler. Aynı şekilde, *Stafford ve Brooks* (154), ortodontik reçinelerde artık monomer miktarındaki azalmada salınım mekanizmasının düşük oranda etkili olduğunu ve bu miktarın çoğunluğunun da ilk 24 saat içerisinde salındığını göstermektedirler. Araştırmacılar (154), ortodontik reçinelerde artık monomer azalmasının büyük oranda polimer yapı içerisindeki monomerin polimerize olmasına bağlı olabileceğini bildirmektedirler. Ancak, *in vivo* koşulların *in vitro* koşullarda gözlemlenen diffüzyondan farklılık gösterdiği de düşünülmektedir (12,88,154). *Sadamori ve ark.* (136), 1 ile 17 yıl arasında değişen sürelerde kullanılan akrilik reçine protezlerde yaptıkları çalışmada, 17 yıl süreyle kullanımda olan protezlerde 17 yıl sonunda dahi; *Mikai ve ark.* (107) ise 6 ay ile 29 yıl arasında kullanımda olan protezlerde 29 yıl sonunda dahi artık monomer saptandığını, bununla birlikte artık monomerin büyük kısmının ilk 5 yıl sonunda kaybolduğunu, artık monomerin tamamen yok olması için uzun süre gerektiğini bildirmektedirler.

2.3.2.1 Protez Kaide Polimerlerinde Artık Monomer Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Akrilik reçine esaslı protez kaide polimerlerinde artık monomer miktarı birçok çalışmada incelenmiştir.

Artık monomerin kantitatif olarak belirlenmesinde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (*HPLC*) (17,74,92,127,133,149,163,167,169), gaz kromatografisi (9,67,68,98-100,104,107,131,136,160,168,182), gaz-likit kromatografisi (6,12,38,46,53,135,136), jel-permeasyon kromatografisi (66,87), ıslak-kimyasal analiz (152), bromin titrasyonu (32,104,153) halojenasyon (50,152), UV spektrofotometresi (30,117) yöntemlerinin kullanımı bildirilmektedir.

2.3.2.2. Kromatografi ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

'**Kromatografi**' bir karışımdaki maddelerin biri sabit diğeri hareketli (mobil) iki ayrı çözücüye karşı olan fizikokimyasal özelliklerinden faydalanılarak birbirlerinden ayrılmaları esasına dayanan bir yöntemdir (61,64). Her türlü kromatografik incelemede iki farklı sistem kullanılabilir.

a) Mobil faz: sıvı veya gaz

b) Sabit faz: sıvı, katı veya katı-sıvı karışımı

Bileşiklerin kromatografik sistemden geçiş hızı mobil fazdaki akışları ve sabit fazda tutunmalarına bağlıdır.

Sıvı kromatografisi mobil fazın sıvı olarak kullanıldığı bir ayırma tekniğidir ve ayırma bir kolon içerisinde veya bir düzlem üzerinde gerçekleştirilmektedir (62).

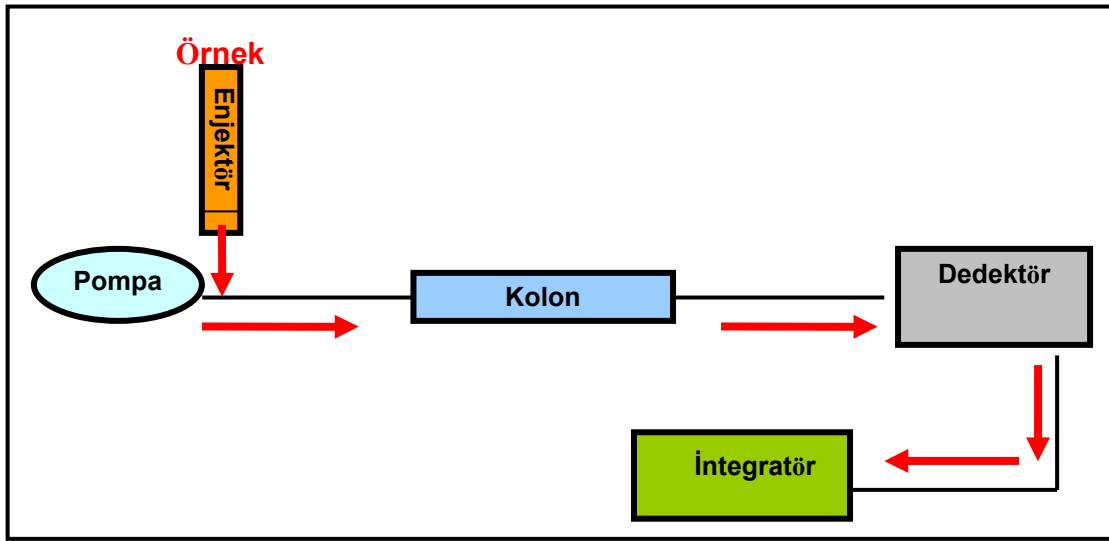
Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography) (HPLC) normalde kolonda yapılan kromatografik işlemlerin yüksek basınç altında gerçekleştirilmesidir. Dar çaplı ince çelik tüplere (kolon) sabit faz konularak mobil faz kolondan basınçla pompalanarak geçirilir. Bir örnekteki maddeler polarite, moleküler ağırlık veya yük gibi kendi özelliklerine göre iki fazın arasında dağılım gösterir. Değişik moleküller bir fazı diğerine tercih ettiği için ayırım sağlanabilmektedir.

HPLC cihazı şu kısımlardan oluşur (Şekil 1.2):

- 1) Pompa
- 2) Enjektör
- 3) Kolon
- 4) Dedektör
- 5) İntegratör

İyi bir ayırım sağlayabilmek için incelenecek örneğin bir enjektör yardımıyla ince bir tabaka oluşturacak şekilde kolona uygulanması gerekir. Kolon yaklaşık 10 µm boyutlarındaki küçük taneciklerden oluşan silika bazlı

dolgu materyalleri içermektedir (44). Daha sonra kolondan mobil faz geçirilerek örneğin ayrışması sağlanır. Dedektör kolon çıkışına bağlanır ve kolondan çıkan maddeleri kaydeder. Örneğin yapısına göre UV, floresan veya elektrokimyasal dedektör seçilir. Ayırım sonucunu gösteren alet integratördür ve dedektörün çıkışına bağlanır. Kalitatif ve kantitatif sonuç verir ve kromatogramı çizer, alıkonma zamanını (retansiyon zamanını) kayıt eder ve pik alanlarını hesaplar (182).



Şekil 1.1. HPLC sisteminin şematik görünümü

Çözelti içerisindeki bileşikleri hassas olarak ayırabildiğinden HPLC ve gaz kromatografisi günümüzde analitik kimyada kullanılan en önemli analiz cihazlarından (44). Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin sıvı ortama salındıkları düşük konsantrasyonlarda dahi sitotoksik etki gösterebileceği belirtilmektedir. Artık monomerin kantitatif olarak tayininde kullanılan UV dedektörlü HPLC sistemleri yaklaşık olarak 1 µg/mL oranında belirlenebilen çok düşük konsantrasyonlarda bile dedeksiyon limitine sahiptirler (149,174). Ayrıca, HPLC yönteminde tüm işlemler oda sıcaklığında gerçekleştirilebildiğinden artık monomer miktarının belirlenmesinde daha doğru sonuçlar elde edilebileceği de bildirilmektedir (2).

2.4 Biyolojik Uyum (Biyokompatibilite)

İnsan vücuduna temasta olacak şekilde yerleştirilen materyaller genellikle **biyomateryal** olarak adlandırılmaktadır (171). Vücut dokuları ve sıvıları ile temasta olacak şekilde vücuda yerleştirildiğinde, biyomateryal ile biyolojik sistem arasında oluşabilen etkileşimler biyolojik uyumun konusunu oluşturmaktadır (171).

Genel olarak "Canlı dokularla temasta bulunan ideal bir restoratif veya implant materyalinin konak sisteme tepkisiz (inert) olarak kalabilmesi" olarak ifade edilen **biyolojik uyum; European Society of Biomaterials** tarafından 1987 yılında 'Bir materyalin spesifik bir uygulama karşısında uygun bir konak cevabını sağlama kapasitesi' olarak tanımlanmıştır (33,143). Diğer bir deyişle, biyolojik uyum biyomateryallerin ve vücuda yerleştirilen aygıtların dokular ve vücut sıvıları ile uyumluluğu olarak da ifade edilebilmektedir (27). Biyolojik uyum, bir biyomateryalin herhangi bir olumsuz konak cevabını oluşturmamasını, materyalden herhangi bir ürünün salınmamasını, yeni bir ürünün oluşmamasını veya materyalin lokal veya sistemik olarak karsinojenik olmamasını gerektirmektedir (33).

Diş hekimliğinde kullanılan bir materyalin geliştirilmesinde materyalin mekanik, fiziksel, fonksiyonel ve estetik gibi önemli özelliklerinin yanı sıra biyolojik uyum özellikleri de mutlak biçimde göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle biyolojik uyum konusu hem üretici firmalar açısından hem de malzeme bilimi ile uğraşan araştırmacılar açısından da önem taşımaktadır (27). Ancak, biyolojik uyum bir materyalin mutlak ve statik bir özelliği değil; dinamik olarak devam eden bir özelliğidir (23,175). Bir biyomateryalin biyolojik olarak uyumlu olabilmesi için konağın, materyalin ve materyalden beklenen fonksiyonun uyum içerisinde olması gerekmektedir (175).

Biyolojik uyum ve toksisite doza bağlıdır. Materyallerin toksik etkileri de doza ve zamana bağlı olarak gelişebilmektedir. İstenmeyen etkilerin ortaya çıkması için, ajanın hedef doku üzerinde mevcut olması gerekmektedir (154). Diş hekimliğinde kullanılan materyaller ise düşük dozlarda ve kısa aralıklarla uygulanmaktadırlar (23). Diş hekimleri protetik tedavi sırasında da çoğu zaman

diş hekimliğinde kullanılan biyomateryallerden sıklıkla yararlanmaktadır. Bu durum biyolojik uyumun özellikle prostodontistler olmak üzere tüm diş hekimlerini ilgilendiren bir konu olmasına yol açmaktadır (175).

Diş hekimliğinde kullanılan biyomateryaller doku ile temas ederek etkileşime geçtiğinde uygulandıkları dokunun biyolojik aktivitesini değiştirebilme kapasitesine sahiptirler. Bir biyomateryalin toksik olarak kabul edilebilmesi için biyolojik yönden dokularla uyum göstermemesi yeterli bir neden olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle de diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyolojik uyumlarının incelenmesi ve materyalin biyolojik uyum özelliği hakkında bilgi sahibi olunması gerekmektedir (27,114,144).

2.4.1 Biyolojik Uyumun Değerlendirilmesinde Kullanılan Test Yöntemleri

Son yıllarda diş hekimliğinde biyolojik uyum konusunda büyük ölçüde artış gösteren çalışmalarda farklı deneysel yöntemler uygulanmaktadır (12, 18, 21,22,25,35,48,52,70,71,75,78,93-95,106,110,122,127,142,145,157,159,174).

Biyolojik uyum geniş kapsamda incelenmekte ve araştırılmaktadır. Araştırma konuları yeni test yöntemlerinin araştırılması ve geliştirilmesi, değişik biyolojik ortamlarda biyomateryallerin potansiyel biyolojik uyumluluklarının *in vitro* olarak değerlendirilmesi ve materyallerin klinik olarak test edilmesini içermektedir (23,27). Biyolojik uyumluluk günümüzde çoğunlukla uygulanan *in vitro* testler yoluyla potansiyel biyolojik bir ajana karşı oluşan hücresel cevabın incelendiği test serileriyle ölçülmektedir. Bu nedenle materyallerin potansiyel toksisitelerinin ve etkilerinin incelenmesi ve değerlendirilmesinde *in vitro* test yöntemleri önemli rol oynamaktadır (23).

Uluslararası Dişhekimliği Birliği (FDI), Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu (ISO) ve American Dental Association (ADA)'nın biyolojik uyumun değerlendirilmesi konusundaki ortak bildirisi **ADA'nın 41 no'lu** spesifikasyonunda yayınlanmıştır Buna göre biyolojik uyum 3 esas kategori altında toplanan biyolojik testler ile değerlendirilmektedir (3,27). Bu testler

- a) Başlangıç (öncül) testler,
- b) İkincil testler,
- c) Kullanım testleri olarak sınıflanmıştır.

2.4.1.1 Başlangıç (Öncül) Testleri

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyolojik uyumunun değerlendirilmesinde LD50 ağız içi testi ve LD50 karın içi testi, soluma testi, hemoliz testi, mutageniz testleri, dominant letal test ve sitotoksikite testlerinin kullanımı önerilmektedir (3,27,35,45,57,59).

LD50 ağız içi ve LD50 karın içi testlerinde toksik olduğu düşünülen materyalin seçilen deney hayvanların ağız içine veya karın içine enjekte edilmesiyle yapılmaktadır. Test sonucunda seçilen deney hayvanlarının ağırlıklarına göre her 1 kilogramı için gerekli toksik materyal miktarı esas alınarak 2 hafta süre ile günlük olarak kaydedilen toksik değerlere göre deney hayvanlarının oluşturduğu grubun % 50'sini öldürmeye yeterli olan doz hesaplanmaktadır (27,59).

Soluma testinde, aerosol olarak adlandırılan gaz halindeki materyallerin deney hayvanlarına solunum yoluyla uygulanması sonucunda toksisite belirlenmektedir (59).

Hemoliz testi, test edilecek materyalin kanda oluşturduğu hemoliz değerlerine bakılarak akut toksisite indeksi oluşturulması esasına dayanmakta ve aynı zamanda test materyalinin hücre membranı üzerindeki yıkıcı etkilerinin gösterilmesinde de kullanılabilir (27,59).

Mutageniz testlerinde, materyalin *Salmonella typhimurium* bakterilerinde mutasyon oluşturma etkisi incelenir ve potansiyel karsinojenik özellikleri değerlendirilmektedir (27)

Dominant Letal test fareler üzerinde gerçekleştirilen ve mutajenik materyalin üreme üzerine etkilerinin incelenmesi esasına dayanmaktadır (3,59).

2.4.1.1.1 Sitotoksisite Testleri

Biyomateryallerin güvenli bir şekilde kullanılabilmesi için, *in vitro* sitotoksisite testleri biyolojik uyumun değerlendirilmesinde kullanılan testlerde başlangıç testi olarak geliştirilmiştir (3,27,57).

Başlangıç testleri olarak belirtilen testler arasında en yaygın olarak kullanılan sitotoksisite testleri (45) materyallere karşı oluşan başlangıç hücresel reaksiyonların ölçümünde uygundur (27). Aslında, hücrelerin materyallere karşı *in vitro* koşullar altında gösterdiği sitotoksik reaksiyonlar *in vivo* koşullarda gelişen erken sitotoksik reaksiyonları (dejenerasyon veya nekroz) mümkün olabildiğince taklit etmelidir (27,143).

In vitro sitotoksisite testlerinin avantajları:

- a) Hücre metabolizmasının spesifik bir fonksiyonunun diğer etkenlerden izole edilerek test edilebilmesi,
- b) Fazla sayıdaki örneklemin hızlı ve düşük maliyetli olarak incelenebilmesine olanak tanınması,
- c) Bulguların kantitatif olarak elde edilebilmesi,
- d) Kullanım testlerine göre toksik materyallere karşı daha hassas sonuçların elde edilmesi,
- e) Test yöntemlerinin standardize edilebilmesi potansiyeline sahip olmasıdır (27).

In vitro sitotoksisite testlerinin dezavantajları:

- a) Test sırasında sadece tek tip hücrelerin kullanımı ile sınırlıdır,
- b) Test hücrelerinin konak hücreleri ile arasında benzerlik olmayabilir,
- c) Hücre kültürü ortamı inflamatuvar ve diğer koruyucu mekanizmalardan yoksundur,
- d) Uzun dönemde oluşan reaksiyonları veya inflamasyon, immun cevap, mutagenез veya karsinogenezin etkisini ölçemezler,

Eğer bir materyal yüksek derecede sitotoksik ise, bunu iyileştirmenin birçok yolu vardır:

- Salınan toksik maddelerin miktarının indirgenmesi (azaltılması)
- Materyalden salınan ürünlerin bireye zarar vermeyecek şekilde kullanımının geliştirilmesi
- Materyal için değişik bir formülasyon kullanılmasıdır (27).

Bir materyalin sitotoksisite etkileri genel olarak hücre sayısı veya büyüme hızının, hücre membranlarının bütünlüğünün, hücrenin biyosentez veya hücrenin enzimatik ve metabolik aktivitesinin, hücresel fonksiyonların veya hücrenin genetik materyaline etkilerinin *in vitro* ölçümü ile belirlenmektedir (27,175).

In vitro sitotoksisite testlerinde kullanılan deneysel yöntemlerde 2 esas öge bulunmaktadır (175):

- 1) Testin gerçekleştirildiği biyolojik sistem
- 2) Hücre-materyal teması ve test materyalinin biyolojik sistem üzerindeki biyolojik etkileri ve bu etkilerin saptanmasına yönelik yöntemlerdir.

2.4.1.1.1.1 *In Vitro* Sitotoksosite Testlerinin Gerçekleştirildiği Biyolojik Sistem

In vitro sitotoksosite testlerinde testin gerçekleştirildiği biyolojik sistemler arasında başlıca hücre kültürleri olmak üzere; hücre organelleri, doku ve organ kültürleri aracılığıyla değerlendirme yapılabilmektedir (54,103).

Genel anlamda doku kültürü ve hücre kültürü deyim olarak birbirinden farklılıklar içermekle beraber, uygulamada birbirinden ayrılmaz ve birbiri içine geçmiş iki önemli yaklaşımı belirtmektedirler (166).

Doku kültüründe amaç; canlıdan alınan doku örneklerinin bir bütün olarak canlının dışında *in vitro* ortamlarda yaşatılması veya hücrelerin canlıdan tek veya gruplar halinde alınması ile *in vitro* ortamlarda üretilmesidir (47,103,166). Doku ve hücre kültürünün kullanım alanları ve sağladığı yararlar arasında aşı-antikor üretimi, ilaçların sitotoksik ve sitostatik etkilerinin ölçümü, hücre içi metabolizma olaylarının ve hücre sinyal mekanizmalarının araştırılması, genetik çalışmalar, hücrelerin beslenme özelliklerinin araştırılması, enfeksiyonun hücresel düzeyde incelenmesi, hücresel farklılaşma ve yaşlanma çalışmaları, kök hücre araştırmaları, hücre ve doku mühendisliği ile ilgili yapılan çalışmalar bulunmaktadır (47,103,166).

Dokuların veya hücrelerin canlı organizmalardan alınarak canlı dışındaki ortamlarda üretilmeye başlanmasından günümüze kadar hücre kültürü tekniklerinde önemli gelişmeler olmuştur (166). Terminolojik olarak, canlı organizmadan alınan doku örneğinin hücrelere ayrıştırılmasından sonra *in vitro* koşullar altında üretilmesi işlemine **primer kültür** adı verilmektedir (27,47,103,166). Primer kültür hücreleri doğrudan dokulardan elde edilmektedir. Dokunun birçok hücre grubunu içermesi nedeniyle, primer hücre kültürleri heterojen hücre popülasyonlarından oluşmaktadır. Primer kültürler, ana dokunun karakterine çok yakın özellikler göstermelerine rağmen; ilerleyen günlerde orijinal özelliklerini kaybederek farklılaşırlar (166). Sekiz ile on pasaj sonunda hücreler yaşlanmaya bağlı olarak elde edildikleri dokunun özelliklerini kaybederler ve kültür koşullarında üreyemez duruma gelirler. Primer kültürlerin

üretildikleri ortamdan alınıp başka bir hücre kültür kabına ekilmesi (pasajlanması) sonucunda ise **sekonder kültürler** elde edilmektedir. Sekonder kültürler de değişik hücre gruplarını içermesine rağmen, saf hücre soylarının oluşturulmasının ilk aşaması olarak kabul edilirler. Sekonder kültürlerin kapsamında birçok ticari laboratuvar tarafından pek çok doku tipinden üretilen sürekli hücre soyları da bulunmaktadır. Kültür ortamında üretilmiş ve özellikleri iyi tanımlanmış olan homojen hücre popülasyonlarına **hücre soyları** denilmektedir. Bir hücre popülasyonundan yalıtılan tek bir hücreden türetilen kültürler **klonal hücre soyları** adı verilmektedir (166).

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin sitotoksik özelliklerinin incelenmesinde **3T3** (19,106,174) veya **L-929** (54,70,71,106,127,141,146,157,159) fare fibroblastları gibi devamlı klonal hücre soyları hücre kültürü koşullarının kontrolündeki kolaylık, tekrarlanabilen büyüme hızları ve verdikleri istikrarlı biyolojik cevaplar gibi nedenlerden ötürü birçok yıldır rutin olarak kullanılmakta ve **FDI, ISO ve ADA** gibi uluslararası standardizasyon kuruluşları tarafından da önerilmektedirler (57,59). Sürekli hücre soyları hücre kültür bankalarından veya çeşitli laboratuvarlardan temin edilebilmektedir (103).

Ayrıca, diş hekimliğinde kullanılan materyallerin sitotoksik özelliklerini inceleyen çalışmalarda insan monoblastoid (24,25), mast (141), hamster yanak cebi fibroblast (97,145), tavuk embriyonal (86), ağız epitel (52,93,94) hücreleri gibi sürekli hücre soylarından oluşan hücre kültürlerinin veya dişeti veya ağız mukozası hücrelerinden izole edilen epitel veya fibroblast hücrelerinden oluşan primer kültürlerin (35,52,97,141,146) de kullanıldığı bildirilmektedir.

2.4.1.1.1.2 Hücre-Materyal Teması ve Test Materyalinin Biyolojik Sistem Üzerindeki Biyolojik Etkileri

Hücre-materyal teması deney örneklerinin kendisinin direkt olarak (25,57) ya da deney örneklerinden elde edilen ekstrakt sıvılarının uygulanmasıyla indirekt olarak (19, 22, 24, 25, 35, 52-54, 57, 70, 71, 75, 92, 94,

97, 127, 142, 144,145,148,157,158,159,163,181) biyolojik sistem üzerine uygulanmasıyla gerçekleştirilmektedir.

Deney örneklerinin biyolojik sisteme uygulanmasından önce örneklerin hücre kültür medyumunu sıvısı, distile su veya yapay tükürük gibi sıvı ortamlarda belirli süreler ve koşullar altında bekletilmesi işlemine **ekstraksiyon**, bu işlem sonucunda elde edilen çözeltiye de **ekstrakt** adı verilmektedir (57). **ISO 10993-5'de** (57) *in vitro* sitotoksosite testlerinde kullanılacak deney numunesinin tipi, fiziksel hali ve kalınlığına göre testlerde standardizasyon sağlanması açısından gerekli ekstraksiyon koşulları belirtilmektedir. Ağız mukozası aslında daha çok restoratif materyallerden tükürüğe salınan komponentlerin hedefi halindedir. *In vitro* sitotoksosite testlerinde sadece materyalin son ürün hali değil aynı zamanda materyalden salınan komponentlerin de test edilebilmesi bakımından ekstraktların da test edilmesinin uygun olabileceği **ISO 10993-5'de** (57) belirtilmektedir.

In vitro deney modellerinin oluşturulmasında *in vivo* koşullardaki hedef dokuyla ilişkinin simüle edilmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır (57,155). Genel olarak reçine esaslı materyallere karşı oluşan *in vivo* etkileşim hem direkt hem de indirekt olarak gerçekleşmektedir. Direkt doku-materyal teması açık pulpa, ağız mukozası, deri hücreleri ve kan hücreleri gibi dokularda olmaktadır. İndirekt reçine-doku teması ise ağız mukozasının tükürüğe salınan kimyasal materyallerle etkileşimde olduğu lokal bölge gibi dokunun reçine materyalden salınan komponentlerle etkileşimde olduğu durumlarda gerçekleşmektedir (158).

In vitro sitotoksosite testlerinde hücre sayısı ve büyüme hızı, hücre zararının geçirgenliği ve hücrelerin biyosentetik veya enzimatik aktivitesi değerlendirilir (27,47,103,166).

Hücre sayısı ve büyüme hızını değerlendiren *in vitro* sitotoksosite testlerinde test materyali ile etkileşime bırakılan kültür ortamındaki hücrelerin sayısı veya büyüme hızı değerlendirilmektedir (27,47,103,166). Test yöntemi; ilk olarak kültürize edilen hücrelerin bir hücre kültür kabına yapışması sağlandıktan sonra ortama test materyalinin ilave edilmesinden itibaren geçen belirli bir süre içerisinde hücrelerin proliferasyonunun değerlendirilmesi esasına

dayanmaktadır. Hücrelerin kültür kabında yapışması ve zamanla proliferasyonu devam ederse test materyalinin sitotoksik olmadığı; büyüme durursa sitotoksik olduğu sonucu elde edilmektedir (27,35,45).

Hücre zarının geçirgenliğinin incelendiği *in vitro* sitotoksosite testleri hücresel durumun hücre zarının geçirgenliği ile ölçümü esasına dayanmaktadır. Hücre zarının geçirgenliği hücre zarından geçen bir boya yardımıyla ölçülmekte ve esas olarak vital ve non-vital olmak üzere iki tip boya kullanılmaktadır.

Vital boyalar aktif olarak canlı hücrelere transport edilirler ve sitotoksik etkilere bağlı olarak hücre zarının geçirgenliği artmadığında hücre dışında tutulurlar (97,103,146). Nonvital boyalar ise aktif olarak transport edilmezler ve sitotoksik etkilere bağlı olarak hücre zarının geçirgenliği arttığında hücrede tutulurlar (24,25,27,103).

Hücrelerin biyosentetik aktivitesini değerlendiren *in vitro* sitotoksosite testlerine örnek olarak DNA veya protein sentezi örnek verilebilir (27). Hücrelerde DNA veya protein sentezinin analizi hücre kültür medyumuna radyoizotop ile işaretlenmiş prekürsörlerin eklenmesinden sonra radyoizotopun (örneğin ³H-timidin veya ³H-lösin) kantitatif olarak ölçülmesiyle gerçekleştirilmektedir (27,103).

Hücrelerin enzimatik ve metabolik aktivitesini değerlendirerek yapılan *in vitro* sitotoksosite deneylerinde en sık kullanılan test yöntemi 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolyum bromid (MTT) kullanımıdır (6,42,52,70,71,93,97,109,127,146,157,159). İlk olarak *Mosman* (109) tarafından bildirilen bu test yönteminde bir tetrazolyum tuzu olan MTT'yi mavi çözünemez formazan bileşiklerine indirgeyen mitokondriyal dehidrogenaz enzimlerinin aktivitesi ölçülerek hücre canlılığı diğer yöntemlere oranla daha hassas bir şekilde belirlenmektedir. Sitotoksik etkilere bağlı olarak ölü hücrelerde dehidrogenazlar aktif olmadığından formazan bileşikleri de oluşmamaktadır (27,103,109). Canlı (metabolik olarak aktif) hücrelerdeki mitokondriyal dehidrogenazlar sarı renkteki MTT tetrazolyum tuzunu mavi renkteki MTT formazana indirgerler ve mavi MTT formazan hücre içerisinde tutulur. Oluşan formazan miktarı solüsyonunun çözüldükten sonra elde edilen optik yaygınlığının ve yoğunluğunun kolorimetrik olarak ölçümü ile

değerlendirilmektedir (6,157). Test materyali ile etkileşime sokulan hücrelerdeki formazan üretiminin kontrol örneklerine kıyaslanması test materyalinin bağlı toksisitesinin belirlenmesini sağlamaktadır (27,47,103,166).

Hücrelerin enzimatik ve metabolik aktivitesinin değerlendirilmesinde kullanılan MTT'nin yanı sıra diğer bir tetrazolyum tuzu olan sodyum 3'-[1-[(fenilamino)-karbonil]-3, 4-tetrazolyum]-bis (4-methoksi-6-nitro)benzen-sulfonik asit hidrat (**XTT**) (103,126) kullanımı ilk olarak 1988 yılında *Scudiero ve ark.* (147) tarafından bildirilmektedir. XTT'nin metabolik olarak aktif hücrelerdeki mitokondriyal dehidrogenazlar tarafından indirgenmesi sonucunda suda çözünen yoğun renkli formazan oluşur. XTT kullanılarak gerçekleştirilen *in vitro* sitotoksite deneyleri de MTT yöntemi gibi kolorimetrik olarak değerlendirilmektedir. İlave olarak, XTT yönteminin MTT yöntemine göre deney süresini kısaltması, uygulama kolaylığı ve hassasiyet gibi önemli avantajlar sağladığı belirtilmektedir (103,126).

2.4.1.2 İkincil Testler

In vitro olarak gerçekleştirilen birincil testlerde biyolojik uyumu belirlenen materyaller daha sonra hayvanlar üzerinde kemik implantasyon testi, oral muköz membran irritasyon testi ve sensitizasyon testi gibi testlere tabi tutulurlar. Bu testler daha çok endodontik materyaller ve implant materyalleri için kullanılabilir (27,75).

2.4.1.3 Kullanım Testleri

Kullanım testlerinin ikincil testlerden farkı test materyalinin hem hayvanlarda hem de insanlarda uygulanmasının yanı sıra materyalin aynı zamanda fonksiyon altındayken test edilmesidir (27).

FDI (3) kullanım testlerinin direkt olarak insanlar üzerinde veya insana yakın yüksek memeli hayvanlar üzerinde yapılmasını önermektedir.

Biyomateryallerin biyolojik uyumunun değerlendirilmesinde kullanılacak olan ideal denek insanlar olsa da, modern yaşamın etik ve güvenilirlik standartlarına olan ihtiyacı insanların bilimsel çalışmalarda denek olarak kullanılabilirliğini kısıtlamakta, bu durum da hayvanların denek olarak kullanımını zorunlu kılmaktadır (21,56,83). Hayvanların bilimsel çalışmalarda denek olarak kullanımının avantajları arasında deneyin kontrollü laboratuvar koşulları altında gerçekleştirilmesi, biyomateryallerin biyolojik uyumunun insanlardan önce canlı üzerinde denenebilmesi; etik açıdan deneylerin hayvanlarda yapılmasının istenmemesi, pahalı ve zaman gerektirmesi gibi nedenler de dezavantajlar arasında yer almaktadır (21,27,95).

Kullanım testleri diş hekimliğinde kullanılan materyallerin yerleştirilecekleri dokular üzerinde oluşturabileceği etkilerin belirlenmesinde kullanılmaktadırlar. Diş hekimliğinde kullanılan materyaller pulpa, periodonsiyum, gingiva ve mukoza gibi dokularla temasta olduğundan bu dokular primer hedef dokular olarak düşünülebilir ve bu dokular üzerinde oluşan etkiler kullanım testleriyle değerlendirilebilmektedir (27,143).

2.4.2 Protez Kaide Polimerlerinin Biyolojik Uyumu

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyolojik uyumunun araştırıldığı çalışmalarda özellikle kompozit reçineler olmak üzere ağırlıklı olarak restoratif diş hekimliğinde kullanılan dolgu materyalleri incelenmiştir. Protetik diş hekimliği pratiğinde ise kullanılan çeşitli materyallerin biyolojik uyumunun araştırıldığı çalışmalarda ağırlıklı olarak metal alaşımları ve protez kaide polimerlerinin incelenmiş olmasına rağmen dolgu materyalleri kadar kapsamlı çalışmalar yapılmamıştır.

Akrilik reçinelerin polimerizasyonu sonucunda monomerin polimere dönüşümünün tam olmaması nedeniyle açığa çıkan ve esas olarak MMA'dan oluşan artık monomerin akrilik reçine protez kaidelerinin biyolojik uyumunda etkili en önemli faktör olduğu bildirilmektedir (20,23,27,52,69,84). Artık monomerlerin suya (74,84,131,168), tükürüğe (9,12,101,163) veya yapay tükürüğe (85) salınımı bildirilmektedir. Sıvı ortama salınan artık monomer konsantrasyonlarının ağız mukozasında irritasyon, enflamasyon ve hatta allerji

gibi doku reaksiyonlarına yol açabilecek yeterlilikte olduğu belirtilmektedir (16,43,75,104,111,155,164,176).

Protez kaidesinden salınan artık monomerin dokulara etkisi klinik olarak (16,43,104,111,155,164,176) ve hayvan modellerinde (75); ağırlıklı olarak da *in vitro* sitotoksosite çalışmalarında (22, 24, 25, 35, 48, 52, 70, 71, 78, 102, 103, 110, 127,145,148,163) incelenmiştir.

In vitro hücre çalışmalarında akrilik reçine protez kaide materyallerinin hazırlanmasında kullanılan toz/likit oranının (24,78), polimerizasyon yöntemi (24,25,35,48,52,70,78,93-95,110,127,145,148,163) ve sikluslarının (22,70) ve akrilik reçine protez kaidesinin suda bekletilmesinin *in vitro* sitotoksitesini etkilediği belirtilmektedir.

Kedjarune ve ark. (78) ve *Cimpan ve ark.* (24) akrilik reçine protez kaide materyallerinde artık monomer oranının artmasının sitotoksisiteyi arttırabileceğini ifade etmektedirler.

Cimpan ve ark. (25) ısı ve kimyasal yolla polimerize olan protez kaide materyallerinden hazırlanan deney örneklerini direkt olarak L-929 fibroblast hücrelerinden oluşan hücre kültürüne uygulayarak 1.ve 2. gün sonunda elde edilen ekstraktların L-929 fibroblast hücrelerine sitotoksik etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar hücre kültürü üzerine direkt olarak uygulanan örneklerin ve ekstrakt sıvılarının L-929 hücreleri üzerinde apoptoz ve nekroza yol açtığını ve kimyasal yolla polimerize olan protez kaide polimerlerinde bu etkinin ısı ile polimerize olan protez kaide polimerlerine göre daha fazla olduğunu bildirmektedirler.

Schuster ve ark. (145), protez kaide polimerlerinden salınan komponentlerin hücre lipid metabolizmasını etkileyebileceğini; dolayısıyla hücre membranlarının yapısını değiştirebileceğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu değişikliklerin klinik olarak gözlemlenen bazı sitotoksik ve alerjik reaksiyonların temeli olabileceğini de öne sürmektedirler.

Huang ve ark. (52), ısı ve kimyasal yolla polimerize olan protez kaide polimerlerinden 1., 3. ve 5 gün sonunda elde edilen ekstraktların oral epitel KB hücre soyu ve primer oral fibroblast hücrelerine *in vitro* sitotoksik etkilerini

incelemişlerdir. Araştırmacılar elde edilen *in vitro* sitotoksikite değerlerinin materyallere ve kullanılan hücre kültürlerinin çeşidine bağlı olarak değişiklik göstermesinin yanı sıra, en fazla sitotoksik etkininin kimyasal yolla polimerize olan protez kaide polimerlerinde elde edildiğini bildirmektedirler.

Lefebvre ve ark. (94), 5 gün süreyle hücre kültür medyumunda ekstraksiyon yapılan ısı ve kimyasal yolla polimerize edilen protez kaide polimerlerinden salınan ekstraktların pH'ının oral epitelyal hücrelerinde oluşturduğu *in vitro* sitotoksik etkilerini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, sitotoksik etkiler oluşturan komponentlerin protez kaide polimerlerinden değişik hızlarda ve miktarlarda salındığını, bu salınımın da ekstraksiyon ortamının pH'sına bağlı olarak değiştiğini ileri sürmektedirler.

Nakamura ve Kawahara (110), uzun süre ekstrakte edilen ısı ve kimyasal yolla polimerize olan protez kaide polimerlerinin HeLa-S3 hücreleri üzerinde *in vitro* sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, deney süresinin sonunda her iki polimerizasyon yöntemiyle hazırlanan kaide polimerlerinin oluşturduğu *in vitro* sitotoksik etkinin düşük olduğunu, klinik açıdan test edilen materyallerin biyolojik olarak uyumlu olduğunu bildirmektedirler.

Rose ve ark. (127), ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerin L-929 hücrelerine kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerden daha az *in vitro* sitotoksik etki oluşturduğunu belirtmektedirler.

Ergün (35), ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyallerinde agar overlay, milipore filtre ve ³H-timidin testleri kullanarak *in vitro* sitotoksikiteyi değerlendirmiştir. Araştırmacı çalışmasının sonuçlarında en yüksek sitotoksik bulgunun kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerde; en düşük sitotoksik bulgunun ise mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ısı ile polimerizasyon işlemi için üretilmiş akrilik reçinelerde elde edildiğini bildirmektedir.

Jorge ve ark. (70), ısı ile, kimyasal yolla ve mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyallerinin polimerizasyonundan sonra ilave olarak sıcak su banyosu içerisinde bekletilen ve mikrodalga enerjisi uygulanan örneklerden elde edilen ekstraktların L-929 hücrelerine sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, polimerizasyon sonrasında ısı ve

mikrodalga enerjisi uygulanan polimerizasyon sikluslarının protez kaidesi akrilik reçinelerinde sitotoksik değerler açısından fark oluşturmadığını, ancak protez kaidesi akrilik reçinelerinden salınan bileşenlerin L-929 hücreleri üzerinde sitotoksik etki oluşturduğunu bildirmektedirler.

Jorge ve ark (71), ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerin polimerizasyonundan sonra sıcak suda bekletilen veya mikrodalga enerjisi ile ilave olarak polimerize edilen akrilik reçinelerin 2 gün sonunda elde edilen ekstraktların L-929 hücrelerine sitotoksik etkilerini incelemiştir. Araştırmacılar, ısı ile polimerizasyondan sonra sıcak suda bekletmenin akrilik reçinelerde *in vitro* sitotoksikiteyi azalttığını; mikrodalga enerjisi ile ilave polimerizasyonun ise sitotoksikiteyi değiştirmediğini bildirmektedirler.

Campanha ve ark. (22), kimyasal yolla polimerizasyon sonrasında 55°C sıcaklıktaki suda bekletilen veya mikrodalga enerjisi ile ilave olarak polimerize edilen yumuşak astar materyallerinden 1 gün sonunda elde edilen ekstraktların L-929 hücrelerine sitotoksik etkilerini incelemiştir. Araştırmacılar, polimerizasyon işleminden sonra uygulanan ilave olarak 55°C sıcaklıktaki suda bekletme veya mikrodalga enerjisi uygulamalarının *in vitro* sitotoksik özellikleri etkilemediğini belirtmektedirler.

Tsuchiya ve ark. (163) ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine örneklerin tükürük içinde ekstrakte edildikten sonra akrilik reçineden salınan MMA ve formaldehit konsantrasyonları inceledikleri çalışmalarında hem MMA hem de formaldehitin L-soyu hücreleri üzerine sitotoksik etki oluşturduğunu bildirmektedirler.

Protetik restorasyonların yapımında kullanılan protez kaide polimerleri ağız mukozasının büyük bölümü ile sürekli temas halindedir. Potansiyel toksik etki gösterebilecek artık monomerin protezle temastaki ağız mukozasında özellikle enfeksiyon, enflamasyon veya irritasyonların sonucunda ince ve alıngan bir epitele sahip hastalarda problem oluşturabileceği göz önünde bulundurularak protez kaide polimerlerinden salınan artık monomer konsantrasyonlarının etkisinin incelenmesi önemlidir (52,95).

GEREÇ VE YÖNTEM (BÖLÜM 3)

Isı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan ve farklı sikluslar ile polimerize edilen akrilik reçine örnekler İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Klinik Öncesi Simülasyon Laboratuvarında hazırlanmıştır.

Hazırlanan örneklerde monomerin polimere dönüşüm oranının incelenmesinde kullanılan FTIR spektrometrik analizi İstanbul Üniversitesi İleri Analizler Laboratuvarında, artık MMA miktarının Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemi ile analizi İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Biyokimya Bilim Dalı'nda, hücre kültürü ve *in vitro* sitotoksosite deneyleri İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, Hücre Kültürü Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1 Deney Örneklerinin Hazırlanması

Örneklerin hazırlanabilmesi için kalıp boşluklarının oluşturulmasında 1 cm çapında, 1 mm kalınlığında (13,19,70,93,94,145,174) disk şeklindeki paslanmaz çelikten hazırlanan metal örnekler kullanılmıştır (Şekil 3.1). Örnek boyutlarının 1 cm çapında ve 1 mm kalınlığında seçilmesinin nedenleri:

- a) 1 mm kalınlığın tam veya hareketli bölümlü protezde oluşturulabilecek minimum kalınlık olması,
- b) Bu boyutlarda etkin polimerizasyon sağlanabilmesi,
- c) Sitotoksosite deneylerinin düzeneğinde kullanılabilmesine olanak sağlamasıdır (93,94).



Şekil 3.1. Kalıp boşluklarının oluşturulmasında kullanılan disk şeklindeki paslanmaz çelik örnekler



Şekil 3.2. Deney örneklerinin hazırlanmasında kullanılan pirinç muflarının görünümü



Şekil 3.3. Deney örneklerin hazırlanmasında kullanılan pirinç muflaların parçalarının görünümü

Disk şeklindeki metal örneklerin hazırlanmasında geleneksel kalıplama yöntemi ve bu çalışma için oluşturulmuş, kendi bünyesinde yaylı britlere sahip pirinç muflalar kullanılmıştır (Şekil 3.2 ve 3.3). Tip II sert alçı (Moldano, Heraus Kulzer, Ltd, Germany) üretici firma talimatlarına uygun olarak 100 g toz / 30 mL su oranında 1 dk süreyle vibratörde (Kavo EWL Typ 5442, Kavo Elektronisches Werk GmbH, Allgäu, Germany) vibrasyonla karıştırıldıktan sonra muflaların alt parçasına doldurulmuş ve daha sonra disk şeklindeki paslanmaz çelik örnekler alçı üzerine yerleştirilmiştir (Şekil 3.4). Alçının sertleşmesi için 45 dk beklendikten sonra, alçı yüzeyi aljinat esaslı izolasyon maddesi (Isolant Separating Solution, Dentsply Corp., Dentsply, DeTrey, UK) kullanılarak izole edilmiştir. Muflalama işlemlerinin tamamlanması için muflanın üst parçası da kapatılıp sert alçı ile doldurulduktan sonra muflalar 45 dk süreyle hidrolik preste (Kavo Elektrotechnisches Werk GmbH, Germany) (Şekil 3.5) 2 atm basınç altında bekletilmiştir. Muflalama işlemleri tamamlandıktan sonra kalıp boşluklarının deforme olmaması için disk şeklinde metal örnekler alçı içinden

dikkatli bir şekilde steril bir spatül yardımıyla çıkarılmış ve deneylerde kullanılacak olan örneklerin oluşturulması için kalıp boşlukları elde edilmiştir.

Sitotoksisite deneyleri sırasında aseptik koşulların mümkün olduğunca sağlanabilmesi ve sürdürülebilmesi için (22,24,25,35,52,57,70,71,93,94,145) deney örneklerinin hazırlanması sırasında kullanılan tüm gereçler önceden aşağıda açıklanan şekilde sterilize edilmiştir:

- a) Deneylerde kullanılan pirinç muflalar, fırça yardımıyla yıkanıp kurulandıktan sonra kuru hava sterilizatöründe 180°C'de 1 saat süreyle sterilize edildikten sonra kullanılmıştır.
- b) Kalıp boşluklarının oluşturulmasında kullanılan disk şeklindeki metal örnekler, cam ölçekler, bol kaşığı, spatüller vb. gereçler ise paketlenip otoklavda 121°C'de, 1.5 atm basınç altında, 15 dk süreyle sterilize edildikten sonra kullanılmıştır.
- c) Isıya dayanıklı olmayan bol, bol kaşığı gibi plastik gereçler etilen oksit fırınında 58°C'de, % 40 reaktif nem altında 6 saat süreyle sterilize edildikten sonra kullanılmıştır.
- d) Sitotoksisite deneylerinde kullanılan tek kullanımlık plastik sarf malzemeleri steril halde temin edilmiştir. Steril olmayan plastik malzemeler ise etilen oksit fırınında 58°C'de, % 40 reaktif nem altında 6 saat süreyle sterilize edildikten sonra deneylerde kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Kalıp boşluklarının oluşturulması için paslanmaz çelik disklerin mufladaki görünümü



Şekil 3.5. Akrilik reçine örneklerin hazırlanmasında kullanılan hidrolik pres

3.2 Deney Gruplarının Oluşturulması

Araştırmamızda ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan PMMA esaslı akrilik reçine protez kaide materyalleri ile ilgili ağıklamalı bilgiler Tablo 3.1'de gösterilmektedir.

3.2.1 Isı ile Polimerizasyon Yöntemiyle rnek Hazırlanması

Isı ile polimerize olan, kadmiyum içermeyen çapraz bağlantılı PMMA esaslı akrilik reçine esaslı protez kaide polimeri (Meliodent Heat-cure Denture Base Material, Heraus Kulzer GmbH&Co. Hanau, Germany) (Tablo 3.1, Şekil 3.6) retici firma talimatlarına uygun olarak 23.4 g/ 10 mL toz/likit oranında; oda sıcaklığında ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$) 60 saniye (sn) karıştırıldıktan sonra yaklaşık 5 dk hamurlaşma süresinin ardından steril bir spatül kullanılarak muflalara tepilmiştir. Tepme işleminin ardından muflalar 45 dk süreyle hidrolik preste (Kavo Elektrotechnisches Werk GmbH, Germany) (Şekil 3.5) 2 atm basınç altında bekletilmiştir. Hidrolik presten çıkarıldıktan ve pirinç muflaların kendi bünyesinde bulunan vidalar ve yaylar (Şekil 3.7) sıkıştırıldıktan sonra muflalar termostatik olarak kontrol edilebilen su banyosu (Kavo EWL Typ 5506, Kavo Elektronisches Werk GmbH, Allgäu, Germany) (Şekil 3.8) içerisine yerleştirilmiştir.



Şekil 3.6. Isı ile polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyalinin ambalaj görünümü



Şekil 3.7. Pirinç muflarının kendi bünyesinde bulunan yaylı britler



Şekil 3.8. Termostatik olarak kontrol edilebilen su banyosu

Tablo 3.1. Protez kaide materyallerinin polimerizasyon yöntemleri, üretici firma, lot numaraları ve içerikleri

Protez Kaide Materyali	Polimerizasyon Yöntemi	Üretici Firma	İçerik	
			Toz	Likit
Meliodent Heat-cure Denture Base Material	Isı ile polimerizasyon	Heraus Kulzer GmBH&Co. Hanau,Germany	PMMA	MMA EDMA DMPT
Acron MC	Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon	GC Corp, Tokyo, Japan	PMMA PEMA	MMA EDMA DMPT
Meliodent Rapid Repair Self-Cure Denture Base Material	Kimyasal yolla polimerizasyon	Heraus Kulzer GmBH&Co. Hanau,Germany	PMMA	MMA EDMA DMPT

PMMA = Poli(metil metakrilat)

MMA = Metil metakrilat

EDMA = Etilenglikol Dimetakrilat

PEMA = Poli(etil metakrilat)

DMPT = Dimetil para toluidin

Isı ile polimerizasyon işlemine önce oda sıcaklığındaki suyun sıcaklığının 30 dk içerisinde 74°C'ye yükseltilmesiyle başlanmış ve su sıcaklığı bu ısıda 30 dk süreyle sabit tutulmuştur. Daha sonra ısı ile polimerizasyon yönteminde 4 farklı polimerizasyon siklusu uygulanmıştır (Tablo 3.2):

- 1) 74°C sıcaklıkta 9 saat süreyle polimerizasyon (geleneksel) **(H1)**,
- 2) 74°C sıcaklıkta 9 saat süreyle polimerizasyondan sonra 100°C sıcaklıkta 30 dk süreyle kaynatma (kısa süreli terminal kaynatma) **(H2)**,
- 3) 74°C sıcaklıkta 9 saat süreyle polimerizasyondan sonra 100°C sıcaklıkta 3 saat süreyle kaynatma (uzun süreli terminal kaynatma) **(H3)**,
- 4) 74°C sıcaklıkta 30 dk süreyle polimerizasyondan sonra 100°C sıcaklıkta 30 dk süreyle kaynatma (üretici firma tarafından önerilen kısa süreli terminal kaynatma) **(H4)**.

Polimerizasyon işleminden sonra muflalar sudan çıkarılmış ve 2 saat oda sıcaklığında ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$) bekletilerek tamamen soğuduktan sonra açılmıştır.

Her polimerizasyon siklusu için 42 adet olmak üzere, toplam 168 adet ısı ile polimerize olan akrilik reçine deney örneği hazırlanmıştır.

Tablo 3.2. Isı ile polimerizasyon yöntemiyle hazırlanan deney örneklerine uygulanan polimerizasyon siklusları

Grup kodu	Polimerizasyon Siklusu
H1	74°C 9 saat
H2	74°C 9 saat + 100°C 30 dk
H3	74°C 9 saat + 100°C 3 saat
H4	74°C 30 dk + 100°C 30 dk

3.2.2 Mikrodalga Enerjisi ile Polimerizasyon Yöntemiyle Örnek Hazırlanması

Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde metal yüzeyin mikrodalgaları yansıtması nedeniyle pirinçten yapılmış muflaların kullanımı uygun olmadığı için polimerizasyon işlemlerinde fiber ile güçlendirilmiş plastik muflalarda (Acron MC Microwavable Flask, GC Lab Technologies, Inc. Alsip, IL, USA) (Tablo 3.1, Şekil 3.9) kalıp boşlukları oluşturulmuştur. Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon için üretilmiş çapraz bağlantılı PMMA esaslı akrilik reçine (Acron MC, GC Corp, Tokyo, Japan) (Şekil 3.10) üretici firma talimatlarına uygun olarak 30 cc / 7 mL toz/likit oranında oda sıcaklığında ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$) karıştırıldıktan sonra 15 dk hamurlaşma süresinin ardından fiber ile güçlendirilmiş muflalara steril bir spatül kullanılarak tepilmiştir. Muflalar hidrolik preste (Kavo Elektrotechnisches Werk GmbH, Germany) 2 atm basınç altında 45 dk süreyle bekletilmiştir. Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde döner tablalı ev tipi 2450 MHz frekansta, 1000 Watt (W) güç çıkışlı mikrodalga fırın (Arçelik, MD 581, İsviçre) kullanılmıştır. Polimerizasyon işlemleri öncesinde mikrodalga fırının güç ayarları üretici firma tarafından kalibre edilmiştir.

Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde 6 farklı polimerizasyon siklusu uygulanmıştır (Tablo 3.3):

- 1) 90 W güç altında 13 dk süreyle polimerizasyon **(M1)**,
- 2) 90 W güç altında 13 dk süreyle polimerizasyondan sonra mufladan çıkarılan örnekleri aseptik koşullar altında steril santrifüj tüplerine aktarıp 60°C sıcaklıktaki distile suda 30 dk süreyle bekletme **(M2)**,
- 3) 500 W güç altında 3 dk süreyle polimerizasyon **(M3)**,
- 4) 500 W güç altında 3 dk süreyle polimerizasyondan sonra mufladan çıkarılan örnekleri aseptik koşullar altında steril santrifüj tüplerine aktarıp 60°C sıcaklığındaki distile suda 30 dk süreyle bekletme **(M4)**,
- 5) 500 W güç altında 3 dk süreyle polimerizasyondan sonra 90 W güç altında 3 dk süreyle ilave olarak polimerizasyon **(M5)**,

- 6) 500 W güç altında 3 dk süreyle polimerizasyondan sonra 90 W güç altında 3 dk süreyle ilave polimerizasyondan sonra mufladan çıkarılan örnekleri aseptik koşullar altında steril santrifüj tüplerine aktarıp 60°C sıcaklığındaki distile suda 30 dk süreyle bekletme **(M6)**.

Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçine örneklerin polimerizasyonundan sonra 60°C sıcaklıktaki distile su içeren tüplerde 30 dk bekletilmesi şeklinde uygulanan polimerizasyon sikluslarında tüpler termostatik olarak kontrol edilebilen su banyosu (Şekil 3.8) içerisinde bekletilmişlerdir.

Polimerizasyon işleminden sonra muflalar üretici firma talimatlarına uygun olarak önce oda sıcaklığında 30 dk, daha sonra da musluk suyu altında 30 dk daha bekletilerek tamamen soğutulduktan sonra açılmıştır.

Her polimerizasyon siklusu için 42 adet olmak üzere, toplam 252 adet mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçine deney örneği hazırlanmıştır.



Şekil 3.9. Kalıp boşluklarının oluşturulması için paslanmaz çelik disklerin fiberle güçlendirilmiş plastik mufla içindeki görünümü



Şekil 3.10. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyalinin ambalaj görünümü

Tablo 3.3. Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yöntemiyle hazırlanan deney örneklerine uygulanan polimerizasyon siklusları

Grup kodu	Polimerizasyon Siklusu
M1	90 W, 13 dk
M2	90 W, 13 dk + örnekleri 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletme
M3	500 W, 3 dk
M4	500 W, 3 dk + örnekleri 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletme
M5	500 W, 3 dk + 90 W, 3 dk
M6	500 W, 3 dk + 90 W, 3 dk + örnekleri 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletme

3.2.3 Kimyasal Yolla Polimerizasyon (Otopolimerizasyon) Yöntemiyle Örnek Hazırlanması

Kimyasal yolla polimerize olan kadmiyum içermeyen çapraz bağlantılı PMMA esaslı akrilik reçine (Meliodent Rapid Repair, Self cure Denture Base Material, Heraeus Kulzer GmbH&Co. Hanau, Germany) (Tablo 3.1, Şekil 3.11) üretici firma talimatlarına uygun olarak ağırlıkça 5 / 3,5 toz/likit oranında oda sıcaklığında ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$) 30 sn karıştırıldıktan sonra 5 dk çalışma süresini takiben steril bir spatül kullanılarak muflalara tepilmiştir.



Şekil 3.11. Kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyalinin ambalaj görünümü

Kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde 8 farklı polimerizasyon siklusu uygulanmıştır (Tablo 3.4):

- 1) Oda sıcaklığında ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$) 15 dk süreyle polimerizasyon **(O1)**,
- 2) Oda sıcaklığında 15 dk süreyle polimerizasyondan sonra mufladan çıkarılan ve aseptik koşullar altında steril santrifüj tüplerine aktarılan örnekleri 60°C sıcaklıktaki distile suda 30 dk bekletme **(O2)**,
- 3) Oda sıcaklığında 15 dk süreyle polimerizasyondan sonra mufladan çıkarılan örneklerin 25 mL distile suda ve 500 (W) güç altında 3 dk süreyle mikrodalga enerjisi ile ilave olarak polimerizasyonu **(O3)**,
- 4) Oda sıcaklığında 15 dk süreyle polimerizasyondan sonra mufladan çıkarılan örneklerin önce 25 mL distile su içinde 500 W güç altında 3 dk süreyle mikrodalga enerjisi ile ilave olarak polimerizasyonundan sonra aseptik koşullar altında steril santrifüj tüplerine aktarılıp 60°C sıcaklıktaki distile suda 30 dk bekletme **(O4)**
- 5) Basınçlı tencerede (Kavo Elektrotechnisches Werk GmbH, Germany) (Şekil 3.12), 15 dk süreyle polimerizasyon **(O5)**,
- 6) Basınçlı tencerede 15 dk polimerizasyondan sonra mufladan çıkarılan örnekleri aseptik koşullar altında steril santrifüj tüplerine aktarılıp 60°C sıcaklıktaki distile suda 30 dk bekletme **(O6)**,
- 7) Basınçlı tencerede 15 dk polimerizasyondan sonra mufladan çıkarılan örneklerin 25 mL distile suda ve 500 W güç altında 3 dk süreyle mikrodalga enerjisi ile ilave olarak polimerizasyonu **(O7)**,
- 8) Basınçlı tencerede 15 dk polimerizasyondan sonra mufladan çıkarılan örnekleri önce 25 mL distile su içinde 500 W güç altında 3 dk süreyle mikrodalga enerjisi ile ilave olarak polimerizasyonundan sonra aseptik koşullar altında steril santrifüj tüplerine aktardıktan sonra 60°C sıcaklıktaki distile suda 30 dk bekletme **(O8)**

Oda sıcaklığında polimerize edilen deney gruplarının polimerizasyonu için (O1,O2,O3,O4) kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine muflalara tepildikten sonra muflalara hidrolik pres (Kavo Elektrotechnisches Werk GmbH, Germany) (Şekil 3.5) altında 2.5 atm basınç uygulanmıştır. Basınçlı tencerede polimerize edilen deney

gruplarının (O5,O6,O7,O8) polimerizasyonu için kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine muflalara tepildikten sonra muflalar basınçlı tencerede 40°C sıcaklıkta su içerisinde yerleştirilip 2.5 bar basınç uygulanmıştır.

Kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine örneklerin polimerizasyonundan sonra 60°C sıcaklıktaki distile su içeren tüplerde 30 dk bekletilmesi şeklinde uygulanan polimerizasyon sikluslarında tüpler termostatik olarak kontrol edilebilen su banyosu (Şekil 3.8) içerisinde bekletilmişlerdir.

Her polimerizasyon siklusu için 42 adet olmak üzere, toplam 336 adet kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine deney örneği hazırlanmıştır.



Şekil 3.12. Kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine örneklerin polimerizasyonunda kullanılan basınçlı tencerenin yandan ve üstten görünümü

Tablo 3.4. Kimyasal yolla polimerizasyon yöntemiyle hazırlanan deney örneklerine uygulanan polimerizasyon siklusları

Grup kodu	Polimerizasyon Siklusu		
O1	Oda sıcaklığında 15 dk		
O2	Oda sıcaklığında 15 dk	+	örnekleri 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletme
O3	Oda sıcaklığında 15 dk	+	örneklere 500 W, 3 dk mikrodalga enerjisi uygulama
O4	Oda sıcaklığında 15 dk	+	örneklere 500 W, 3 dk mikrodalga enerjisi uygulama + örnekleri 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletme
O5	Basınçlı tencerede 15 dk		
O6	Basınçlı tencerede 15 dk	+	örnekleri 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletme
O7	Basınçlı tencerede 15 dk	+	örneklere 500 W, 3 dk mikrodalga enerjisi uygulama
O8	Basınçlı tencerede 15 dk	+	örneklere 500 W, 3 dk mikrodalga enerjisi uygulama + örnekleri 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletme

Isı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyallerinden toplam 756 adet deney örneği hazırlanmıştır.

Farklı yöntem ve siklusların uygulanmasıyla yapılan polimerizasyon işlemlerinin tamamlanmasından sonra mufladan çıkarılan örneklerin fazlalıkları (çapakları) steril bir frez ve piyasemen yardımıyla tesviye edilmiştir. Her polimerizasyon siklusu için hazırlanan 42 adet disk şeklindeki akrilik reçine deney örneğinin arasından rastgele seçilen 6 adet akrilik reçine deney örneği monomerin polimere dönüşüm oranının belirlenmesinde kullanılmak üzere ayrılmıştır.

Her siklus uygulamasından geriye kalan 36 adet deney örneğinden 18 adet deney örneği artık MMA konsantrasyonu ($[MMA]_a$)'un belirlenmesinde, 18 adet deney örneği ise *in vitro* sitotoksosite testlerinde kullanılmak üzere ekstraksiyon işlemleri için ayrılmış ve oda sıcaklığında ($23\pm 2^\circ\text{C}$) distile su içeren 50 mL hacimli steril tüplere (TPP Centrifuge Tubes, Switzerland) aktarılmışlardır. Tüp içinde bulunan örnekler 5 dk süreyle (Metu Elektromekanik, Ultrasonic Cleaner, İstanbul, Türkiye) ultrasonik olarak temizlenmiştir (22,70,71). Bu işlemin ardından tüplerin içindeki distile su boşaltılıp, tekrar oda sıcaklığındaki distile su doldurulduktan sonra örnekler polimerizasyon işleminin tamamlanmasından sonraki 1 saat içinde ekstraksiyon işleminin yapılacağı laboratuvara transfer edilmiş ve ekstraksiyon ortamına aktarılmışlardır.

3.3 Monomerin Polimere Dönüşüm Oranının Belirlenmesi

Monomerin polimere dönüşüm oranının belirlenmesinde, deney örneklerinin analiz edilebilmesi için örnekler toz haline getirilmiştir. Disk şeklindeki toplam 6 adet deney örneği 28.000 rpm rotasyon hızına sahip kahve öğütücüsünde (Siemens MC23200, Siemens-Electrogeräte GmbH, Germany) (Şekil 3.13) standart koşullar altında 1 dk süreyle ince yapılı toz haline getirilmiştir. Akrilik reçine yapısının mekanik olarak öğütme işlemi sırasında

oluşan ısıdan etkilenmemesi ve standardizasyonun sağlanması için öğütme işlemi 15 sn yapıldıktan sonra 30 sn ara verilerek toplam 4 turda tamamlanmıştır. Her deney grubunun öğütme işlemi tamamlandıktan sonra öğütücünün haznesi farklı deney gruplarına ait tozların karışmaması açısından ıslak gazlı bez yardımıyla temizlenmiş ve hava spreyi ile kurutulmuştur.



Şekil 3.13. Polimerizasyon işlemleri sonrasında mekanik yolla öğütülen akrilik reçine örneklerin toz haldeki görüntüsü

Akrilik reçine örneklerde monomerin polimere dönüşüm oranı potasyum bromide (KBr) pellet transmisyonu yöntemi kullanılarak FTIR Spektrometresi (Perkin Elmer Precisely Spectrum One FT-IR, Perkin Elmer, Inc., UK) ile ölçülmüştür (Şekil 3.14 ve 3.15) Çalışmamızda kullanılan FTIR spektrometresi ışın kaynağı, monokromatör ve alıcı olmak üzere başlıca 3 kısımdan oluşmakta ve kaynaktan çıkan ışının yarısının örnekten, diğer yarısının ise referanstan geçmesi sonucunda monokromatörden geçen ışının dalga boylarına ayrılıp dedektör üzerine düşerek elektrik sinyaline çevrilmesi prensibine dayanarak çalışmaktadır (34).



Şekil 3.14. Monomerin polimere dönüşüm oranının belirlenmesinde kullanılan FTIR spektrometresi cihazının genel görünümü



Şekil 3.15. Monomerin polimere dönüşüm oranının belirlenmesinde kullanılan FTIR spektrometresi cihazının yakın görünümü

Akrilik reçine örneklerden elde edilen 1 g ağırlığında tartılan toz IR-grade KBr ile uniform olarak havanda 1dk süreyle karıştırıldıktan sonra (Şekil 3.16), manuel olarak kullanılan bir hidrolik preste (OL 57-Flli,Manfredi 10060-San Secondo di Piner, Olo, Italy) (Şekil 3.17) 3.000 psi basınç altında 3 dk bekletilen KBr pellet kiti içinde sıkıştırılarak 13 mm çapında pelletler haline getirilmişlerdir (Şekil 3.18). Daha sonra, oluşturulan pelletler analiz için FTIR spektrometresine

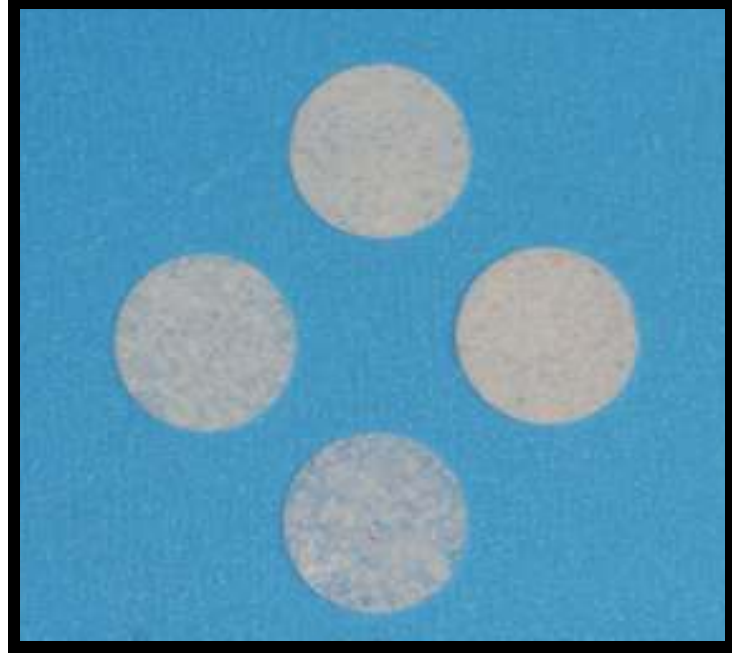
yerleştirilmiş (Şekil 3.19) ve cihazda taramalar 3 kez tekrarlandıktan sonra taramaların ortalama değerleri belirlenerek FTIR spektrumları elde edilmiştir.



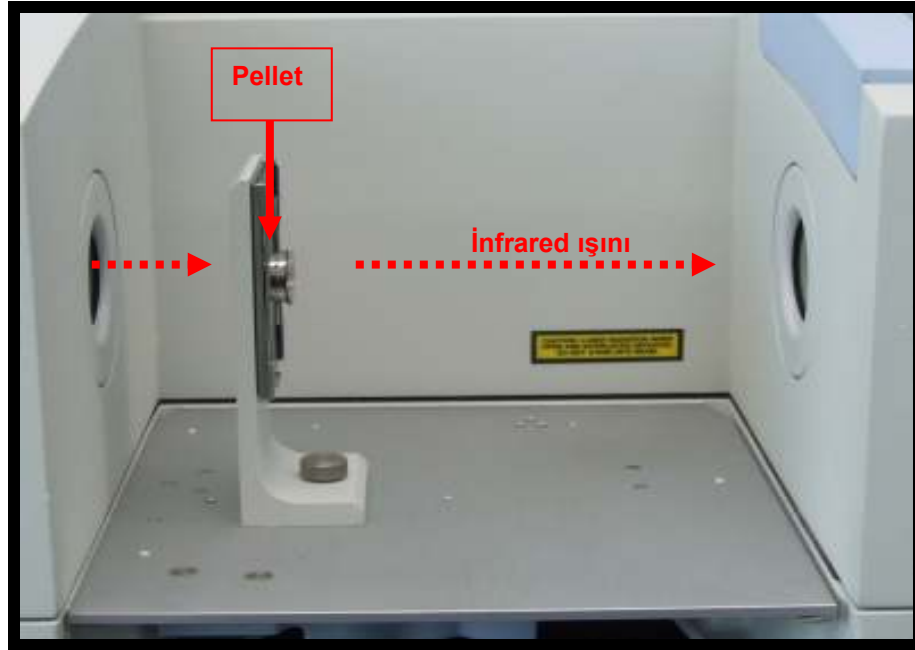
Şekil 3.16. Akrilik reçine deney örneklerinden elde edilen tozun KBr ile karıştırıldıktan sonra KBr pellet kiti içine yerleştirilmesi



Şekil 3.17. KBr pellet kitinin hidrolik pres altında bekletilmesi



Şekil 3.18. KBr ile karıştırılan akrilik reçine deney örneklerinden elde edilen tozdan hazırlanan 13 mm çapındaki pelletler

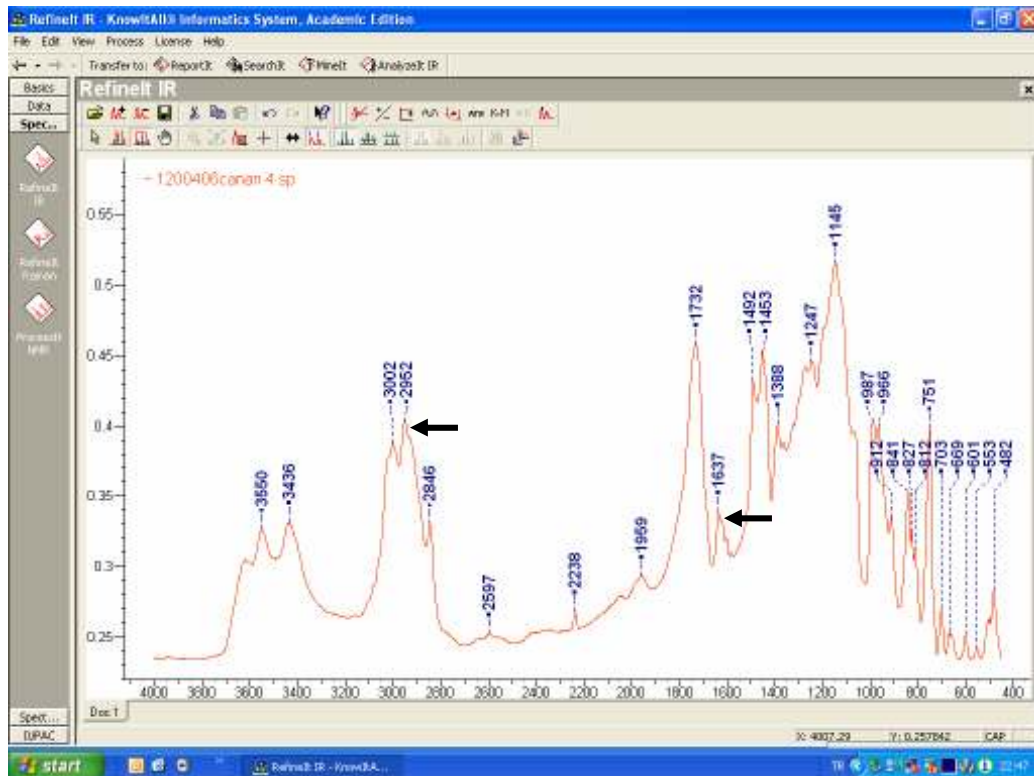


Şekil 3.19. FTIR spektrometresine yerleştirilen pellet

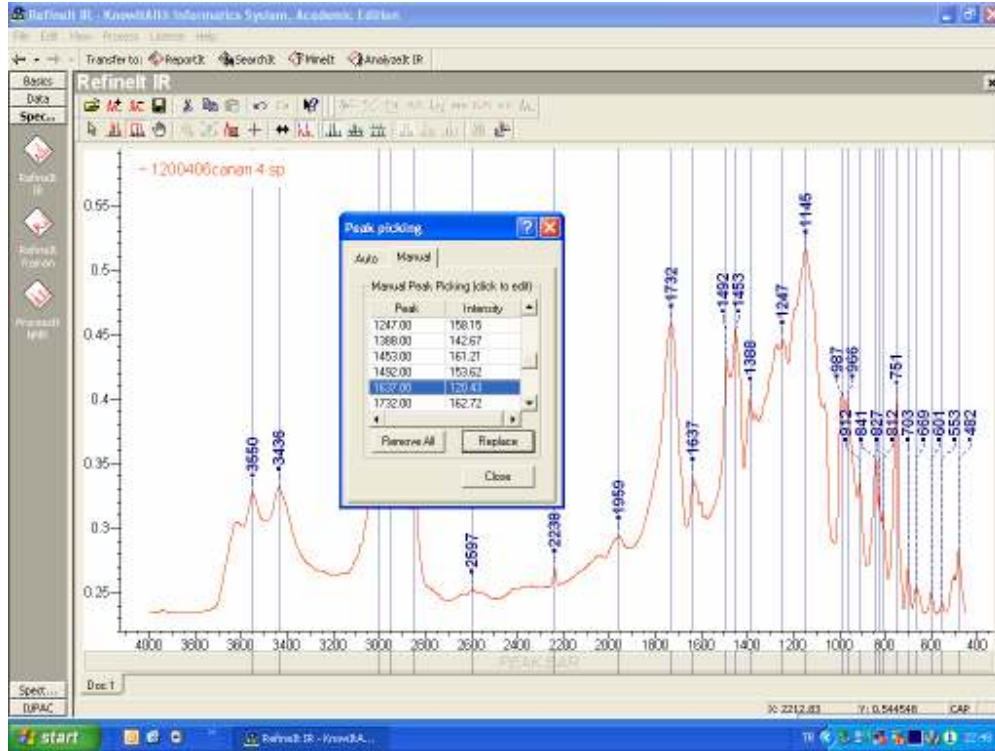
Her örneğe ait elde edilen FTIR spektrumlarında, monomerin polimere dönüşüm oranı spektrum üzerinde 1637 cm^{-1} dalgasayısındaki alifatik C=C absorbands pikinin yoğunluğu ile 2952 cm^{-1} dalgasayısı bölgesindeki alifatik C-C referans pikinin yoğunluğu ölçülmüştür (Şekil 3.20). Absorbans piklerinin

yoğunluğu FTIR spektrumlarının incelenmesinde kullanılan bir bilgisayar programı (Analyzelt IR-KnowItAll Academic Edition, Sürüm 5.0, Bio-Rad Laboratories, Inc., Informatics Division) yardımıyla hesaplanmıştır. FTIR spektrumu üzerinde 1637 cm^{-1} dalgasayısındaki alifatik C=C absorbans piki ve 2952 cm^{-1} dalgasayısındaki alifatik C-C referans piklerinin yoğunlukları hesaplanmıştır (Şekil 3.21 ve 3.22).

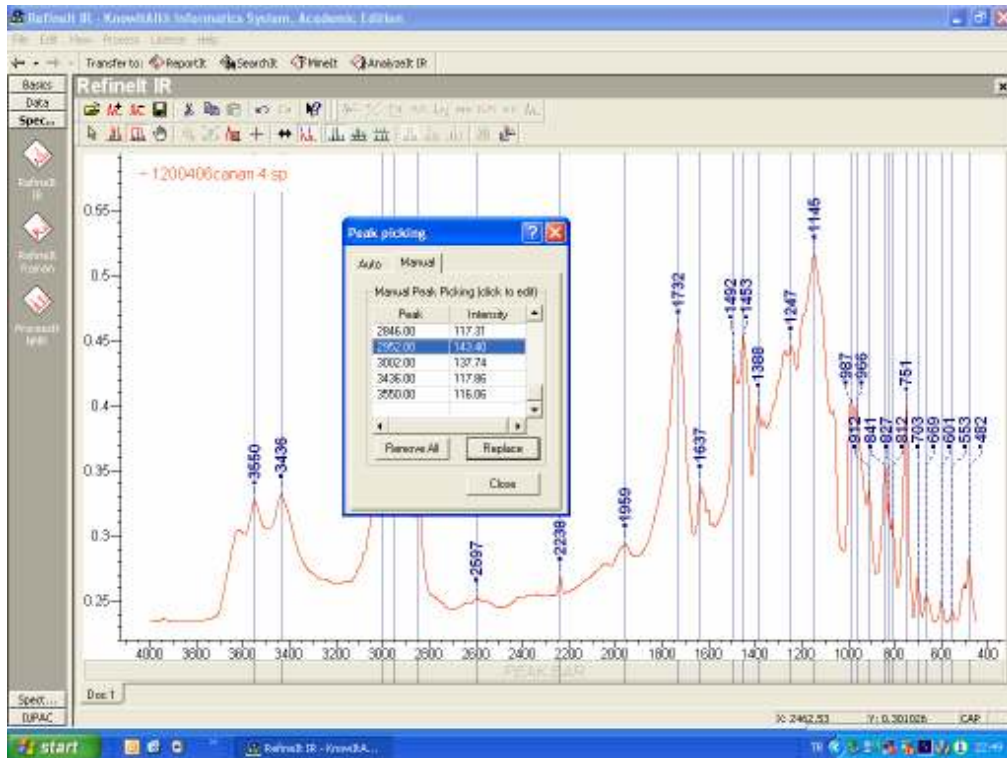
Her polimerizasyon siklusu için hazırlanan deney örneklerinin FTIR spektrumlarının yanı sıra; üretici firma talimatlarında bildirilen uygun toz-likit oranlarında karıştırılan ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerin fiziksel karışımlarının (*H*, *M*, *O*) da polimerizasyon işlemi öncesinde FTIR spektrumları alınmıştır. Polimerizasyon işlemi öncesinde ve sonrasında elde edilen FTIR spektrumlarında 1637 cm^{-1} ve 2952 cm^{-1} dalgasayısındaki piklerin absorbans yoğunlukları birbirlerine oranlanarak akrilik reçine deney örneklerinde monomerin polimere dönüşüm oranı % olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.20. Deney örneğinden elde edilen FTIR spektrumunun bilgisayara aktarıldıktan sonra görünümü ve 1637 cm^{-1} ve 2952 cm^{-1} dalgasayılarındaki pikler (okla işaretli)



Şekil 3.21. FTIR spektrumunda alifatik karbon çift bağlarına (C=C) ait absorpsiyon pikinin 1637 cm⁻¹ dalgasayısında okunan absorpsiyon yoğunluğu



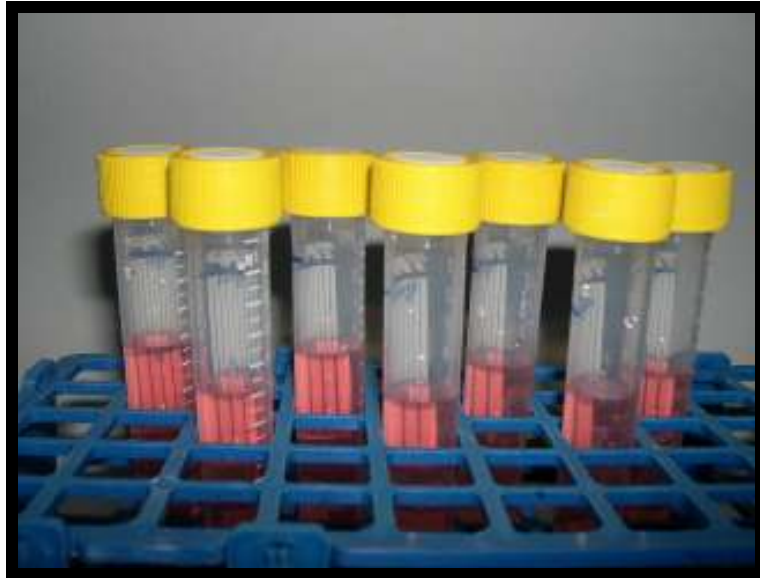
Şekil 3.22. FTIR spektrumunda alifatik karbon bağlarına (C-C) ait absorpsiyon pikinin 2922 cm⁻¹ dalgasayısında okunan absorpsiyon yoğunluğu

3.4. Ekstraksiyon İşlemi ve Ekstraksiyon Ortamının Hazırlanması

Ekstraksiyon işlemlerinde her polimerizasyon siklusu için hazırlanan toplam 42 adet deney örneğinden 36 adet deney örneği steril tüpler içinde laboratuvar ortamına aktarıldıktan sonra, hücre kültürü laboratuvarı bünyesinde bulunan laminar akımlı kabin içinde açılmış ve ekstraksiyon ortamına alınmıştır. Ekstraksiyon işlemleri sonunda elde edilecek ekstrakt sıvıları hücre kültürüne uygulanacağından sitotoksisite deneylerinin aseptik koşullar altında yürütülebilmesi için tüm işlemler UV ışıkla sterilize edilen laminar akımlı kabin içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.23).



Şekil 3.23. Laminar akımlı kabin



Şekil 3.24. Akrilik reçine örneklerin ekstrakte edildiği tüpler ve içindeki ekstraksiyon sıvısının görünümü

Ekstraksiyon sıvısı olarak serum içermeyen complete hücre kültür medyumu kullanılmıştır (52,181). Ekstraksiyon ortamının hazırlanması için fenol kırmızı ve L-Glutamine içermeyen hücre kültür medyumuna (DMEM/ F-12 (HAM) 1X, Biological Industries, Haemek, Israel) % 1 oranında antibiyotik solüsyonu (100 IU/mL penicillin, 100 µg/mL streptomisin, 25 µg/mL Amfoterisin-B, Biological Industries, Haemek, Israel), % 1 vitamin solüsyonu (MEM-Vitamins Solution 100X, Biological Industries, Haemek, Israel), % 2 non-esansiyel amino asit içeren solüsyon (MEM-Eagle nonessential amino acid solution 100X, Biological Industries, Haemek, Israel), % 1 L-Glutamine (L-Glutamine Solution, 200 mM, Biological Industries, Haemek, Israel) ilave edilmiştir. Daha sonra çözeltiye 25 mM HEPES tampon çözelti (HEPES BUFFER, Biological Industries, Haemek, Israel) eklenerek pH 7,34 olarak ayarlanmıştır.

Ekstraksiyon işlemlerinin yapılacağı 15 mL hacimli steril plastik santrifüj tüplerinin (TPP Centrifuge Tubes, Switzerland) her birine 3 adet deney örneği aseptik koşullar altında yerleştirilmiş ve üzerine 9 mL complete hücre kültür medyumu ilave edilmiştir (Şekil 3.24) (22,52,70,71,145). Deneylerde kullanılan her örneğin toplam yüzey alanı 1.88 cm²'dir ve ekstraksiyon oranı 0,626 cm²/mL'dir. Bu oranlar **ISO 10993-5'de** (57) ekstraksiyon oranları için belirtilen 0.5-6.0 cm²/mL aralığında yer almaktadır.

Deney örnekleri tüplere yerleştirildikten sonra ilk olarak 24 saat (**I. periyot**) süreyle 37°C'de % 5 CO₂, % 95 hava içeren nemli inkübasyon ortamında bekletilerek ekstrakte edilmişlerdir. Ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen ekstrakt sıvıları tüplere aktarılıp taze medyum eklendikten sonra örnekler tekrar ikinci 24 saat (**II. periyot**) süreyle ekstrakte edilmişlerdir. Bu ekstraksiyon periyodundan sonra örnekler 72 saat (**III. periyot**) süreyle ekstraksiyon ortamında bekletilmişler ve elde edilen ekstraktlar tüplere aktarılmıştır. Son olarak örnekler 48 saat (**IV. periyot**) daha ekstrakte edilmiş ve böylece polimerizasyon işleminden sonra örnekler toplam 7 gün süreyle bekletilerek ekstraksiyon işlemi tamamlanmıştır.

Her bir polimerizasyon siklusu için toplam 12 ayrı tüpte ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.24).

Deneylede negatif kontrol grubu olarak oluşturulan ve ekstraksiyon sıvısını içeren fakat içlerine deney örneklerinin yerleştirilmediği tüpler, deney örneklerini içeren tüplerle birlikte 37°C'de % 5 CO₂, % 95 hava içeren nemli inkübasyon ortamında ve aynı ekstraksiyon periyotları süresince bekletilmişlerdir (52,70,71,145).

Her ekstraksiyon periyodu sonunda elde edilen ekstraktlar 10 mL hacimli enjektörlerle aspire edildikten sonra 0.22 µm çaplı porları olan enjektör filtreler (Millipore) yardımıyla süzülüp filtrasyon yöntemi ile sterilize edilerek tekrar yeni steril tüplere aktarılmıştır. Bir sonraki ekstraksiyon periyodu için akrilik reçine örnekler yeni steril santrifüj tüplerine aktarılıp üzerlerine taze serum içermeyen 9 mL hücre kültür medyumunu ve diğer bileşikleri içeren taze ekstraksiyon sıvısı tekrar ilave edilmiştir (19,52,93,94).

Elde edilen ekstraktlara % 10 oranında foetal calf serum (FCS, Heat-inactivated, Biological Industries, Haemek, Israel) eklenmiştir. Ekstraktlar [MMA]_a belirlenmesi ve hücre proliferasyonunun ölçümü işlemlerine kadar -20°C'de dondurularak bekletilmiştir.

3.5 Artık MMA Konsantrasyonunun ([MMA]a) Belirlenmesi

Elde edilen ekstraktlarda sıvı ortama salınan artık MMA'nın kantitatif analizi Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile yapılmıştır. HPLC sistemi Waters 600 Controller, Waters 717 plus Autosampler ve Waters 486 Tunable Absorbans Detektöründen oluşmaktadır (Şekil 3.25).



Şekil 3.25. Artık MMA'nın belirlenmesinde kullanılan yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazı (HPLC)

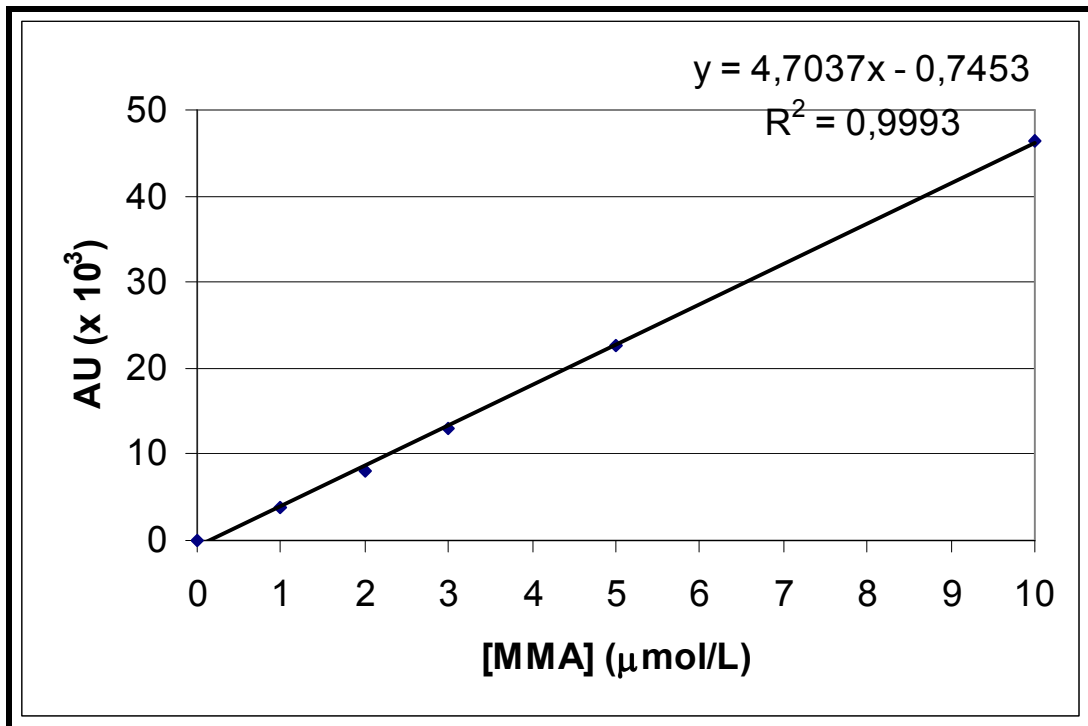


Şekil 3.26. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi yönteminde kullanılan paslanmaz çelik analitik kolon

Analizler, C18 sentry guard kolon ile korunmakta olan paslanmaz çelik analitik kolon (μ Bondapak C18 10μ 125 A° 3.9X300 mm) kullanılarak oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.26).

Mobil faz olarak kromatografik saflıkta metanol (E. Merck) hacimce (v/v) 1:1 oranında distile su ile karıştırılmış ve akış hızı 0.8 mL/dk olarak ayarlanmıştır.

Standart kalibrasyon eğrisinin hazırlanması için, saf MMA metanolde 1, 2, 3, 5 ve 10 μ mol/L konsantrasyonlarında çözdürülerek seri çözeltiler hazırlanmış ve kontrol olarak kullanılmıştır. Seri çözeltilere ait kromatogramlarda MMA'ya ait alıkonma zamanı (retention time) 10.22 dk olarak belirlenmiş ve seri çözeltilerde her MMA konsantrasyonuna ([MMA]) ait pik alanları kullanılarak bir standart kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir (Şekil 3.27).

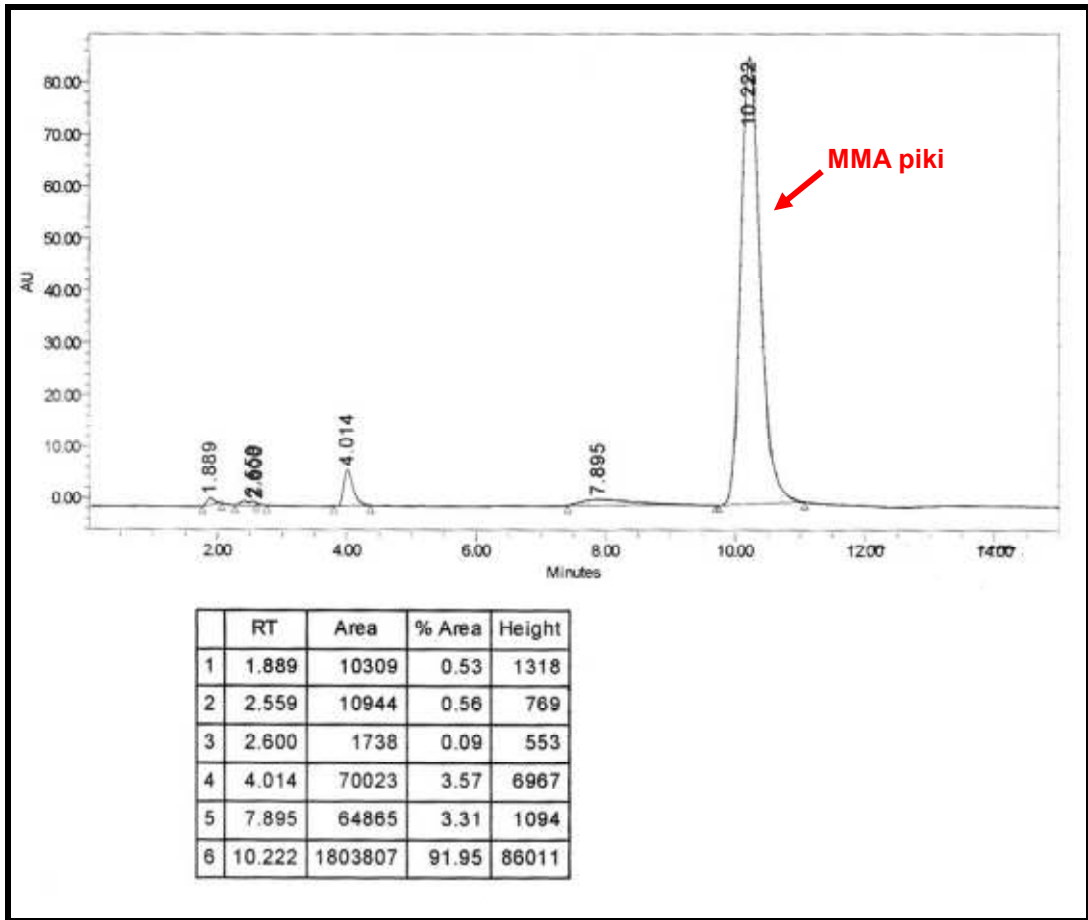


Şekil 3.27. Standart kalibrasyon eğrisi

[MMA] = MMA konsantrasyonu

AU = Absorbans

Deney örneklerinden ekstraksiyon sıvısına salınan artık MMA'nın belirlenmesi için ekstraktlar 1:5 (v/v) oranında metanolde sulandırıldıktan sonra 0,45 µm gözenek çaplı Millex-HV (Millipore, Bedford, USA) filtrelerle süzölmüş ve autosampler'a yerleştirilerek 10 µL hacimlerde kolona enjekte edilmiştir. 220 nm dalga boyunda UV dedektörde bileşenler tespit edildikten sonra elde edilen kromatogramlar cihaza ait yazılım (Empower Pro Software, Waters Corporation, 2002) kullanılarak bilgisayara kaydedilmiştir (Şekil 3.28).



Şekil 3.28. Örneklerden elde edilen kromatogramda 10.22 dk'da elde edilen MMA piki ve pik altında kalan alan değerlerine ait tablo

RT = Alınma zamanı %Area = %Alan
Area = Pik alanı Height = Pik yüksekliği

Ekstraktlardan elde edilen kromatogramlarda, MMA çözeltileri ile aynı alıkonma zamanına (10.22 dk) sahip piklerin altında kalan alanların değerleri standart kalibrasyon eğrisinden elde edilen formül (Şekil 3.27) kullanılarak hesaplanmış ve elde edilen $[MMA]_a$ $\mu\text{mol/L}$ olarak kaydedilmiştir.

Her ekstraksiyon süresi için 6 adet olmak üzere her polimerizasyon siklusu için toplam 24 ölçüm yapılmıştır. HPLC yöntemi ile $[MMA]_a$ belirlenmesi için deneylerde uygulanan tüm polimerizasyon siklusları için toplam 432 ölçüm yapılmıştır.

3.6 *In Vitro* Sitotoksitenin Hücre Proliferasyonu Ölçümü İle Belirlenmesi

Hücre kültürü çalışmalarında kullanılmak üzere üretilmiş ve bu çalışmadaki deneylerde kullanılan plastik tüpler, hücre kültür kapları, petri kapları, pipetler, enjektör filtresi gibi malzemeler Şekil 3.29'da gösterilmektedir.



Şekil 3.29. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan plastik materyaller

3.6.1 Hücre Kültürünün Hazırlanması

Elde edilen ekstrakt sıvılarının *in vitro* sitotoksosite ile ilişkisinin incelenmesi için toksisite testlerinde kullanılan fare deri altı bağ dokusundan elde edilen fibroblast kökenli olan L Strain hücrelerinden türetilen L-929 fare fibroblastlarından oluşan (American Type Culture Collection, CCL 1 fibroblast, NCTC clone 929) klonal hücre soyu kullanılmıştır. Bu hücre soyu devamlı olarak pasaj yapılan Tübitak Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü'nden 12. pasajı yapılmış olarak temin edilmiştir. Sitotoksosite deneylerinde 12. ile 20. pasajlar arasında üretilen L-929 hücreleri kullanılmıştır.

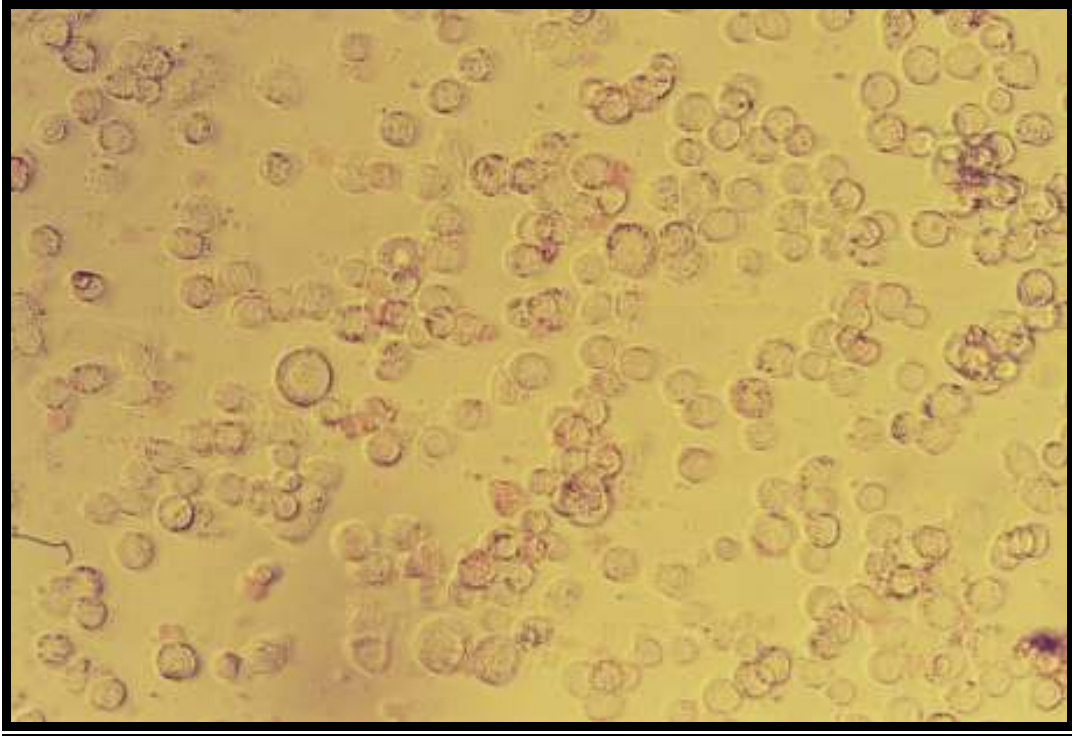
L-929 hücreleri, 75 cm²lik kültür kabında (TPP, Tissue Culture Dish, Switzerland) DMEM F-12 hücre kültür medyumuna içerisinde % 10 oranında FCS (FCS, Heat-inactivated, Biological Industries, Haemek, Israel), % 1 oranında antibiyotik solüsyonu (100 IU/mL penicillin, 100 µg/mL streptomisin, 25 µg/mL Amfoterisin-B, Biological Industries, Haemek, Israel), %1 oranında L-Glutamine (L-Glutamine Solution, 200 mM, Biological Industries, Haemek, Israel), % 1 oranında vitamin solüsyonu (MEM-Vitamins Solution 100X, Biological Industries, Haemek, Israel), % 2 oranında non-esansiyel amino asit içeren solüsyon (MEM-Eagle nonessential amino acid solution 100X, Biological Industries, Haemek, Israel) ilave edilerek 37°C'de 1 atm basınç altında % 5 CO₂, % 95 hava içeren % 95 bağıl nemli ortamda inkübe edilerek üretilmiştir.

Hücre kültürleri haftada 3 gün Leitz Wetzlar kamera ile desteklenmiş Leitz invert faz-kontrast mikroskop (Şekil 3.30) altında kontrol edilmiştir. Hücreler monolayer (tek tabaka) olarak üretildikten ve kültür kabının tabanındaki yüzeyi tamamen kapladıktan sonra pasajlanmıştır.



Şekil 3.30. Hücre kültürlerinin incelendiği faz kontrast invert mikroskop

Hücre pasajı yapılmadan önce 25 cm²lik kültür kabına (TPP, Tissue Culture Dish, Switzerland) Trypsin-EDTA Solüsyonu [Trypsin-EDTA Solution C in DPBS %0.05 Tripsin& EDTA (1:5000), Biological Industries, Israel] 5 mL ilave edilmiş ve 5 dk beklenmiştir. Tripsinin proteolitik etkisinin ortadan kaldırılması amacıyla kültür kaplarına 10 mL serum içeren complete medyum ilave edilmiştir. Invert mikroskop altında hücrelerin kültür kaplarının tutunma yüzeyinden ve birbirlerinden ayrıldıklarından emin olunduktan sonra, hücreler steril pipet yardımıyla kültür kaplarından toplanmış ve konik tabanlı 15 mL hacimli hücre kültüründe kullanılan steril santrifüj tüplerine (TPP Centrifuge Tubes, Switzerland) aktarılmıştır. Tüpler 1.500 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra supernatan atılmış ve tüpün dibine çökmüş hücrelerin üzerine 5 mL medyum ilave edilerek hücreler süspansiyon haline getirilmiştir. Daha sonra, 500 µL hacimdeki hücre süspansiyonu 25 cm²lik yeni hücre kültür kaplarına ekilerek 20 mL complete hücre kültür medyumunu ilave edilmiştir. Kültür kaplarının kapakları inkübatör havasının gireceği şekilde aralık bırakılarak inkübasyon sağlanmıştır. Kültür kapları her gün düzenli olarak kontrol edilmiş ve medyumlar 2 günde bir tazelenmiştir (Şekil 3.31).



Şekil 3.31. L-929 hücrelerinin invert mikroskop altındaki görünümü.

3.6.2 Hücre Proliferasyonunun Ölçümü

Farklı polimerizasyon yöntemleri ve polimerizasyon siklusları uygulanarak hazırlanan akrilik reçine örneklerden elde edilen ekstraktların L-929 fare fibroblast hücrelerinin proliferasyonuna etkisinin ölçülmesi için XTT Cell Proliferation Kit (Biological Industries, Haemek, Israel) kullanılmıştır. Bu kit XTT reagent ve aktivasyon reagent olmak üzere 2 komponentten oluşmaktadır (Şekil 3.32).

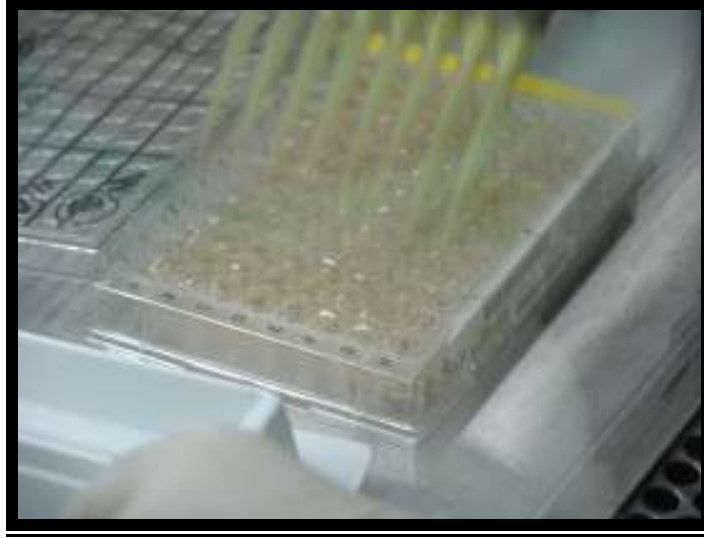


Şekil 3.32. Hücre proliferasyonunun ölçümünde kullanılan XTT Cell Proliferation Kit

Hücre proliferasyonunun ölçümü için 96-kuyucuklu düz tabanlı mikropalakalar kullanılmıştır (Şekil 3.29 ve 3.33).

XTT kitinin uygulanmasından önce her kuyucuğa 5.000 adet hücre ekilmiş ve 24 saat süreyle 37°C'de 1 atm basınç altında % 5 CO₂, % 95 hava içeren, % 95 bağıl nemli ortamda inkübe edilmişlerdir. Ekstraktları içeren tüpler derin dondurucudan çıkarılıp 37°C deki inkübatörde 24 saat bekletilerek çözdürülmüştür. Hücrelerin mikropalakalarda 24 saat inkübasyonundan sonra, ekstrakt sıvıları kuyucuklara 100 µL hacimde eklenmiş ve tekrar 37°C'de 1 atm basınç altında % 5 CO₂, % 95 hava içeren, % 95 bağıl nemli ortamda 24 saat daha inkübe edilerek ekstrakt sıvıları ile etkileşime sokulmuştur.

XTT kitinin kullanılmadığı durumlarda -20°C'de saklanması gerektiği üretici firma tarafından belirtilmektedir. XTT reagent ve aktivasyon solüsyonu derin dondurucudan çıkarıldıktan sonra kullanımdan hemen önce 37°C'deki su banyosunda ısıtılmış ve kristal içermeyen berrak bir solüsyon elde edilene kadar çalkalanmıştır. Üretici firma talimatlarına uygun olarak, 5 mL XTT reagent 0.1 mL aktivasyon solüsyonu ile karıştırılmış ve 24 saat sonunda her bir kuyucuğa 50 µL reaksiyon solüsyonu ilave edilmiştir (Şekil 3.32). Daha sonra 96 kuyucuklu plaklar tekrar 37°C de 1 atm basınç altında % 5 CO₂, % 95 hava içeren % 95 bağıl nemli ortamda 2,5 saat daha inkübe edilmişlerdir.



Şekil 3.33. XTT solüsyonunun 96 kuyucuklu mikrolaklar içinde bulunan hücrelerin üzerine pipetleme yoluyla ilave edilmesi

İnkübasyon sonrasında, mikrolaklardaki XTT'nin kolorimetrik değerlendirmesi (absorbansı) ELISA mikrolaka okuyucusunda (Universal Microplate Reader, ELX 800, Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT) 450 nm dalga boyunda ölçülmüş ve sonuçlar kaydedilmiştir (Şekil 3.34).



Şekil 3.34. Elisa mikrolaka okuyucusuna yerleştirilen 96 kuyucuklu mikrolakalar

Hücre proliferasyonu değerleri ELISA mikropilaka okuyucusunda negatif kontrollerden elde edilen absorban değerlerinin deney gruplarına ait absorban değerlerine % olarak oranlanmasıyla elde edilmiştir (22,52,70,71,78,127).

3.7 İstatistiksel Değerlendirme Yöntemi

Bu çalışmada istatistiksel analizler GraphPad Prisma V.3 paket programı ile yapılmıştır.

Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) belirlenmesinin yanı sıra ekstraksiyon periyotları (I, II, III ve IV) sonunda polimerizasyon yöntemlerinin [MMA]_a ve hücre proliferasyonu değerlerinin karşılaştırılmasında ve aynı zamanda ekstraksiyon periyotları arasında deney gruplarının [MMA]_a ve hücre proliferasyonu değerlerindeki değişimlerin karşılaştırılmasında *Friedman testi*; ekstraksiyon periyotları sonunda deney grupları arasındaki [MMA]_a ve hücre proliferasyonu değerlerinin karşılaştırılmasında *Kruskal Wallis testi*, Kruskal Wallis ve Friedman testlerinde anlamlılık saptanan deney gruplarının karşılaştırılmasında *Dunn's çoklu karşılaştırma testi* kullanılmıştır. Deney grupları içerisinde oluşturulan alt grupların [MMA]_a ve hücre proliferasyonu değerlerinin ikili karşılaştırmalarında *Mann-Whitney-U testi*, deney gruplarının [MMA]_a ve hücre proliferasyonu değerlerinin arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde ise *Pearson korelasyon testi* kullanılmıştır. Sonuçlar $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Tablo 3.5. Deneylerde kullanılan malzemelerin ve cihazların listesi

Deney tipi	Sarf malzeme	Aletler	Cihazlar
Deney Örneklerinin Hazırlanması	Sert alçı	Paslanmaz çelik disk örnekler	Vakumlu alçı karıştırıcısı
	Lak	Pirinç mufla	Alçı vibratörü
	Selefon kağıdı	Fiberle güçlendirilmiş plastik mufla	Hidrolik pres
	Isı ile polimerize olan akrilik reçine	Steril spatül, alçı kaşığı, bol, ölçekler, cam bardak	Kuru hava sterilizatörü, Otoklav, Etilen-oksit fırını
	Kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine	Hassas terazi	Termostatik kontrollü polimerizasyon cihazı
	Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçine	Cam pipet	Basıncılı tencere
		Piyasemen, Tur motoru	Ev tipi mikrodalga fırın
			Ultrasonik temizleme cihazı
Dönüşüm Oranının Belirlenmesi	KBr	KBr pellet kiti	Kahve öğütücüsü
		Hassas Terazi	FTIR spektrometresi ve bilgisayar destekli data istasyonu
		Havan, spatül, ölçek	Hidrolik pres

Sitotoksitenin Belirlenmesi	Steril santrifüj tüpleri (15 mL ve 50 mL)	Enjektör (10 mL)	Laminer akımlı kabin
	Hücre kültür kapları (25 cm ² ve 75 cm ²)	Steril enjektör filtre (0,22 µm)	Derin dondurucu (-20°C)
	Hücre kültür medyum (DMEM F-12)	Steril pastör pipetleri	Buzdolabı
	Foetal calf serum (%10)	Otomatik pipet ve steril pipet uçları	İnkübatör (%5 CO ₂ , %95 hava)
	Antibiyotik solüsyonu	İspirto ocağı	Vortex karıştırıcı su banyosu
	Vitamin solüsyonu		Hemositometre
	Amino asit solüsyonu		Faz-kontrast invert mikroskop
	L-Glutamine		Santrifüj cihazı
	HEPES tampon çözelti		ELISA mikroplaka okuyucusu
	Trypsin EDTA solüsyonu		
	96 kuyulu düz tabanlı mikroplaka		
	XTT Cell proliferation kit		
Artık MMA Ölçümü	HPLC grade saf metanol	Enjektör (5 mL)	Buzdolabı
	Saf MMA (standart)	Enjektör filtre	HPLC cihazı ve bilgisayar destekli data istasyonu
	Cam tüpler	Otomatik pipet ve steril pipet uçları	
		Kolon (C18 10 µ 3.9X300mm)	

BULGULAR (BÖLÜM 4)

4.1 Farklı Yöntemlerle Polimerize Olan Protez Kaide Polimerlerinde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı Bulguları

Isı ile polimerize olan deney gruplarında monomerin polimere dönüşüm oranı ortalaması % 90,36, mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarında % 87,79, kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarında ise % 85,71 olarak saptanmıştır.

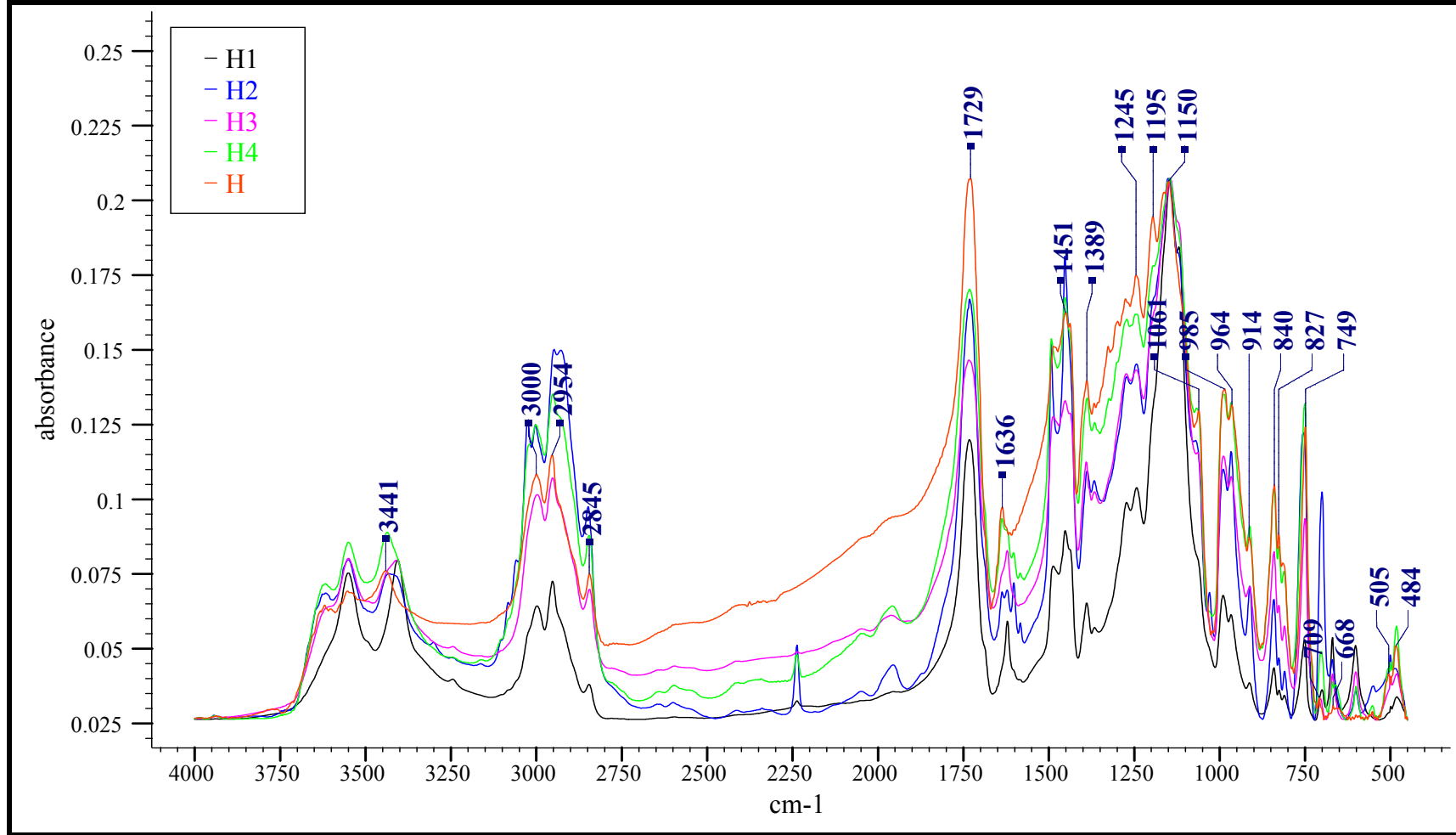
4.1.1 Isı İle Polimerizasyon Yönteminde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı Bulguları

Isı ile polimerize olan akrilik reçine protez kaide maddesinin toz likit komponentleri karıştırıldıktan sonra elde edilen fiziksel karışımın (*H*) polimerize olmamış halde alınan FTIR spektrumunda 2954 cm^{-1} ve 1636 cm^{-1} dalgasayısında titreşim gerilmelerine ait pikler gözlenmiştir. Ayrıca, ısı ile polimerize olan ve farklı sikluslar uygulanarak polimerize edilen tüm deney gruplarında (H1, H2, H3 ve H4) da aynı dalgasayılarında pikler gözlenmiştir (Şekil 4.1).

Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının FTIR spektrumunda 2952 cm^{-1} ve 1636 cm^{-1} dalgasayısındaki piklerin absorbans şiddeti değerlerinden hesaplanan dönüşüm oranı ortalama değerleri Tablo 4.1' de sunulmuştur. En yüksek monomerin polimere dönüşüm oranı ortalama değeri uzun terminal kaynatmalı polimerizasyon siklusunun uygulandığı deney grubunda (H3); en düşük ise terminal kaynatma uygulanmayan deney grubunda (H1) saptanmıştır.

Tablo 4.1. Isı ile polimerize olan ve farklı sikluslar uygulanarak polimerize edilen deney gruplarında monomerin polimere dönüşüm oranı (%) değerleri

Grup kodu	Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı (%)
H1	84,11
H2	92,07
H3	97,45
H4	87,82



Şekil 4.1. Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçine protez kaide materyallerinden elde edilen FTIR spektrumları

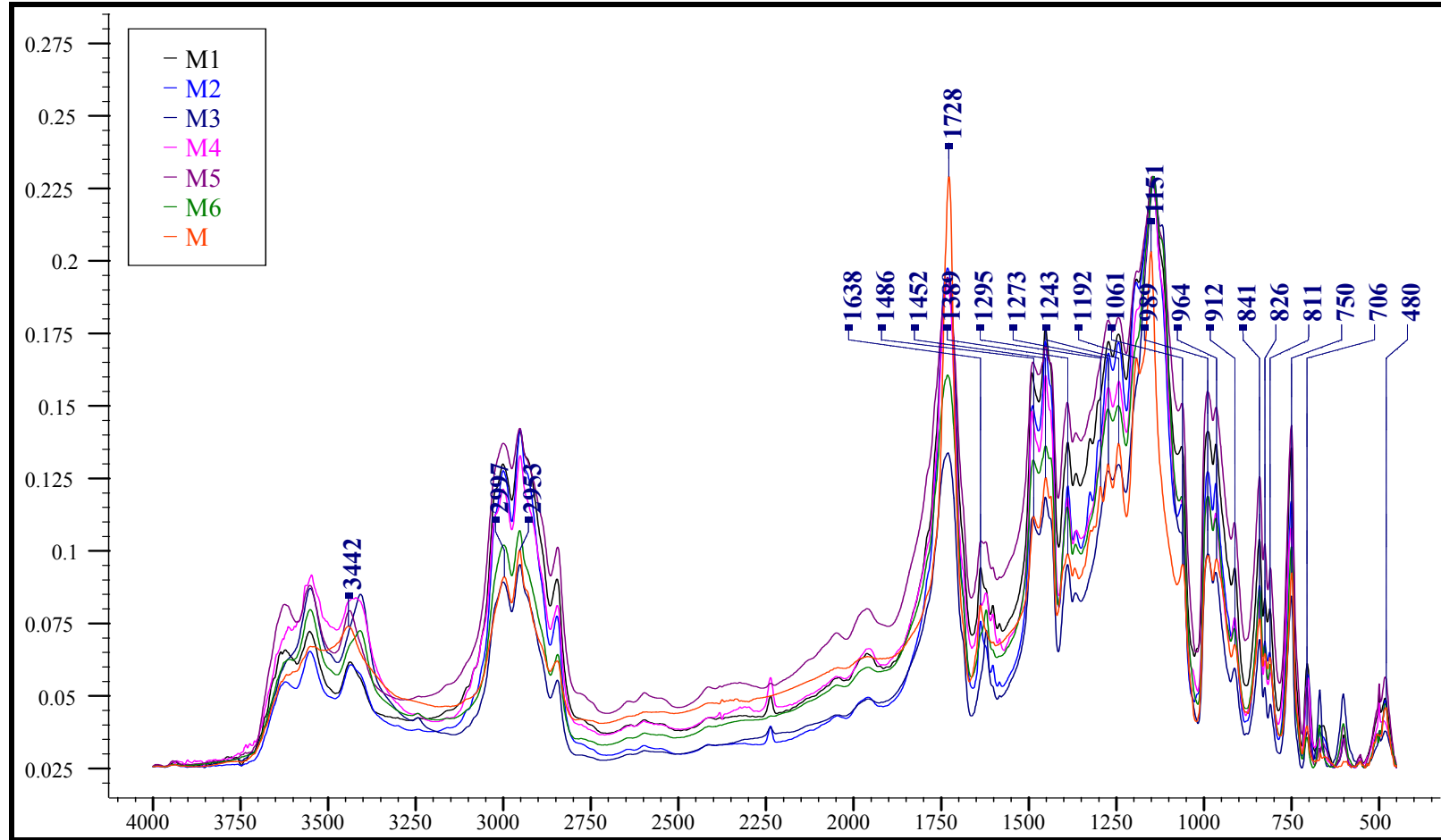
4.1.2 Mikrodalga Enerjisi ile Polimerizasyon Yönteminde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı Bulguları

Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçine protez kaide maddesinin toz likit komponentleri karıştırıldıktan sonra elde edilen fiziksel karışımın (M) polimerize olmamış halde alınan FTIR spektrumunda 2953 cm^{-1} ve 1638 cm^{-1} dalgasayısında titreşim gerilmelerine ait pikler gözlenmiştir. Ayrıca, mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı sikluslar uygulanarak polimerize edilen tüm deney gruplarında (M1, M2, M3, M4, M5, M6) da aynı dalgasayılarında pikler gözlenmiştir (Şekil 4.2).

Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı sikluslar uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının FTIR spektrumunda 2953 cm^{-1} ve 1638 cm^{-1} dalgasayılarında piklerin absorbanans şiddeti değerlerinden hesaplanan monomer dönüşüm oranı ortalama değerleri Tablo 4.2'de sunulmuştur. En yüksek monomerin polimere dönüşüm oranı 500 W güç altında 3 dk süreyle polimerize edildikten sonra ilave olarak 90 W güç altında 3 dk polimerize edilen deney grubunda (M5); en düşük monomerin polimere dönüşüm oranı ise 90 W güç altında 13 dk süreyle polimerize edildikten sonra ilave olarak 30 dk suda bekletilen deney grubunda (M2) saptanmıştır.

Tablo 4.2. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarında monomerin polimere dönüşüm oranı (%) değerleri

Grup kodu	Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı (%)
M1	88,44
M2	72,23
M3	93,70
M4	79,58
M5	96,98
M6	95,83



Şekil 4.2. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçine protez kaide materyallerinden elde edilen FTIR spektrumları

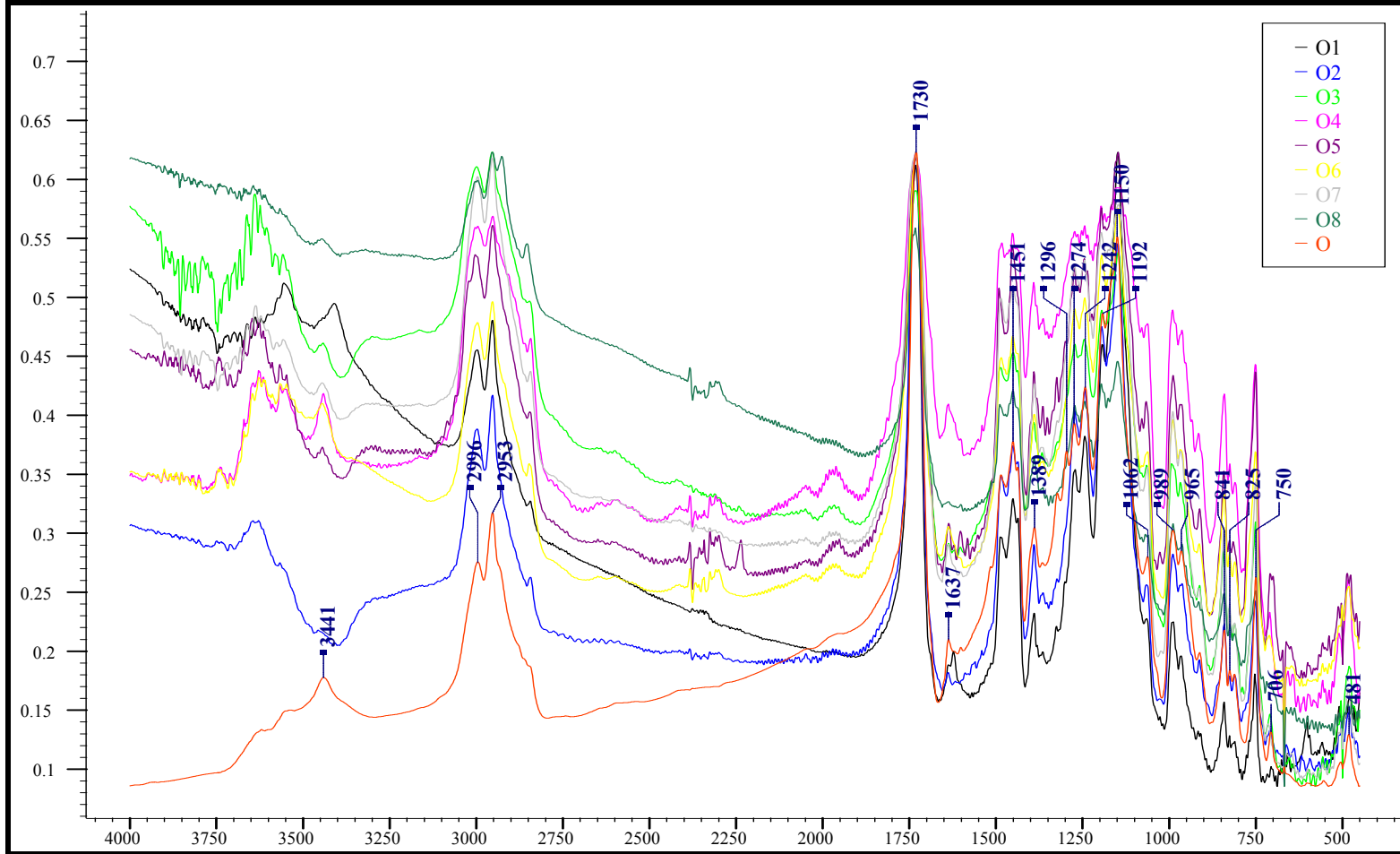
4.1.3 Kimyasal Yolla Polimerizasyon Yönteminde Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı Bulguları

Kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine protez kaide maddesinin toz likit komponentleri karıştırıldıktan sonra elde edilen fiziksel karışımın (O) polimerize olmamış halde alınan FTIR spektrumunda 2953 cm^{-1} ve 1637 cm^{-1} dalgasayısında titreşim gerilmelerine ait pikler gözlenmiştir. Ayrıca, kimyasal yolla polimerize olan ve farklı sikluslar uygulanarak polimerize edilen O1, O3, O4, O5 ve O7 deney gruplarında da aynı dalgasayılarında pikler gözlenmiştir. Ancak; O2, O6 ve O8 deney gruplarında 1637 cm^{-1} dalgasayısında pikler saptanmamıştır (Şekil 4.3).

Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının FTIR spektrumunda piklerin absorbanş şiddeti değerlerinden hesaplanan monomerin polimere dönüşüm oranı ortalama değerleri Tablo 4.3'de sunulmuştur. O2, O6 ve O8 deney gruplarında 1637 cm^{-1} dalgasayısında pik belirlenmediğinden en yüksek monomerin polimere dönüşüm oranı ortalama değeri oda sıcaklığında polimerize edildikten sonra ilave olarak 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletilen deney grubunda (O2), basınçlı tencerede polimerize edildikten sonra 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletilen deney grubunda (O6) ve basınçlı tencerede polimerizasyon sonrasında ilave olarak 500 W güç altında 3 dk süreyle polimerize edildikten sonra 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletilen deney grubunda (O8); en düşük monomerin polimere dönüşüm oranı ortalama değeri ise oda sıcaklığında polimerize edilen deney grubunda (O1) saptanmıştır.

Tablo 4.3. Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarında monomerin polimere dönüşüm oranı (%) değerleri

Grup kodu	Monomerin Polimere Dönüşüm Oranı (%)
O1	55,18
O2	99,90
O3	90,60
O4	73,48
O5	96,25
O6	99,90
O7	70,50
O8	99,90



Şekil 4.3. Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçine protez kaide materyallerinden elde edilen FTIR spektrumları

4.2 Farklı Yöntemlerle Polimerize Olan Protez Kaide Polimerlerinde Ekstraksiyon Ortamında Saptanan [MMA]_a Bulguları

Isı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan protez kaide polimerlerinin polimerizasyon yöntemine bağlı olarak I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda ekstraksiyon ortamında saptanan [MMA]_a değerlerinin aritmetik ortalama (AO) ve standart sapma (SS) değerleri Tablo 4.4' de sunulmuştur.

Tüm ekstraksiyon periyotları sonunda en yüksek ortalama [MMA]_a değerleri mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde; en düşük ortalama [MMA]_a değerleri ise ısı ile polimerizasyon yönteminde saptanmış ve grupların [MMA]_a değerleri arasında istatistiksel olarak çok ileri derecede ($p < 0,001$) anlamlı farklılık belirlenmiştir (*Friedman testi*).

Tablo 4.4. Farklı yöntemlerle polimerize olan protez kaide polimerlerinin I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan [MMA]_a değerleri ($\mu\text{mol/L}$) (AO \pm SS) ve istatistiksel karşılaştırması

Polimerizasyon Yöntemi	Ekstraksiyon Periyodu			
	I.	II.	III.	IV.
Isı ile polimerizasyon	3,51 \pm 2,55	1,93 \pm 1,14	2,90 \pm 2,56	4,24 \pm 2,13
Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon	142,92 \pm 379,71	40,41 \pm 95,10	32,20 \pm 76,54	15,77 \pm 33,82
Kimyasal yolla polimerizasyon	24,18 \pm 36,19	14,26 \pm 10,14	15,31 \pm 11,01	10,86 \pm 7,09
Fr	98,91	103,72	97,78	92,31
<i>p</i>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

$p < 0.001$: çok ileri derecede anlamlı

Fr : Friedman testi

4.2.1 Isı ile Polimerizasyon Yönteminde Ekstraksiyon Ortamında Saptanan [MMA]_a Bulguları

Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının (H1, H2, H3 ve H4) I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda elde edilen [MMA]_a değerleri arasında I. ve II. ekstraksiyon periyotları sonunda terminal kaynatma uygulanmayan H1 deney grubunda en yüksek [MMA]_a değerleri belirlenirken; III. ekstraksiyon periyodu sonunda kısa süreli terminal kaynatma uygulanan H4 deney grubunda ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise uzun süreli terminal kaynatma uygulanan H3 deney grubunda en yüksek [MMA]_a değerleri saptanmıştır. I. ve II. ekstraksiyon periyodu sonunda H3 deney grubunda en düşük [MMA]_a değerleri saptanırken; III. ve IV. ekstraksiyon periyodunda ise H2 deney grubunda en düşük [MMA]_a değerleri belirlenmiştir (Tablo 4.5 ve Şekil 4.4.).

Tablo 4.5. Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan [MMA]_a değerleri (µmol/L) (AO±SS) ve istatistiksel karşılaştırması

Grup Kodu	Ekstraksiyon Periyodu				Fr	p
	I.	II.	III.	IV.		
H1	6,45±2,27	3,23±1,16	3,41±1,04	4,04±1,19	12,2	≤0.01
H2	2,29±0,89	1,69±0,55	2,02±3,66	2,38±2,02	5,2	>0.05
H3	0,92±0,40	0,71±0,39	2,66±3,62	5,87±2,56	10,4	≤0.05
H4	4,39±1,66	2,12±0,51	3,54±0,96	4,70±1,13	7	>0.05
KW	18,22	16,93	8,02	8,74		
p	≤0.001	≤0.001	≤0.05	≤0.05		

p≤0.001 : çok ileri derecede anlamlı

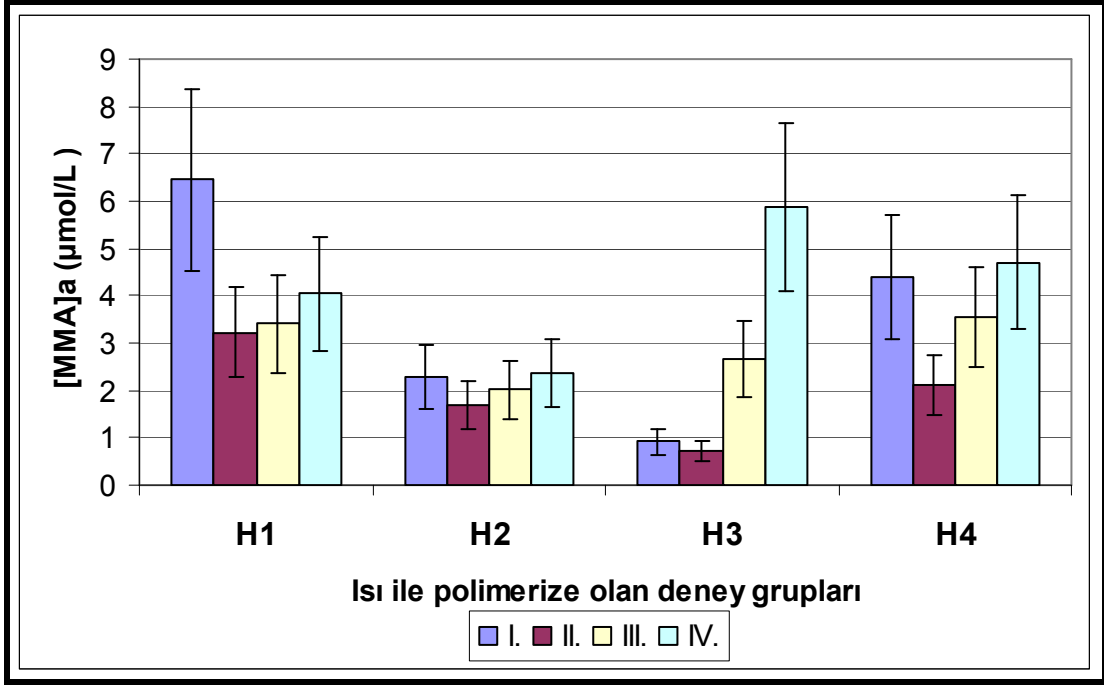
p≤0.01 : ileri derecede anlamlı

p≤0.05 : anlamlı

p>0.05 : anlamlı değil

KW : Kruskal-Wallis testi

Fr : Friedman testi



Şekil 4.4. Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan $[MMA]_a$ değerlerinin karşılaştırılması

Isı ile polimerize olan deney gruplarının her ekstraksiyon periyodu sonunda $[MMA]_a$ değerlerinin istatistiksel karşılaştırılmasında; deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında I. ve II. ekstraksiyon periyotları sonunda çok ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.001$); III. ve IV. periyotlar sonunda ise anlamlı ($p \leq 0.05$) farklılıklar belirlenmiştir (*Kruskal Wallis testi*) (Tablo 4.5). I. ve II. ekstraksiyon periyotları sonunda H1/H3 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında çok ileri derecede anlamlı farklılık ($p \leq 0.001$); H3/H4 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında ise anlamlı farklılık ($p \leq 0.05$) belirlenmiştir. III. ekstraksiyon periyodu sonunda H1/H2 deney grupları arasında; IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise H2/H3 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında anlamlı farklılık ($p \leq 0.05$) saptanmıştır (*Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi*) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Isı ile polimerize olan deney grupları arasında I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan $[MMA]_a$ değerlerinin istatistiksel karşılaştırması

<i>Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi</i>	Ekstraksiyon Periyodu			
Deney Grupları	I.	II.	III.	IV.
H1 / H2	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P \leq 0.05$	$P > 0.05$
H1 / H3	$P \leq 0.001$	$P \leq 0.001$	$P > 0.05$	$P > 0.05$
H1 / H4	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$
H2 / H3	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P \leq 0.05$
H2 / H4	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$
H3 / H4	$P \leq 0.05$	$P \leq 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$

$p \leq 0.001$: çok ileri derecede anlamlı

$p \leq 0.05$: anlamlı

$p > 0.05$: anlamlı değil

Isı ile polimerize olan deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerinde ekstraksiyon periyotları arasındaki değişimlerinin istatistiksel karşılaştırmasında H1 ve H3 deney gruplarında anlamlı değişimler belirlenmiştir (*Friedman Testi*) (Tablo 4.5). H1 deney grubunun $[MMA]_a$ değerlerinde I.-II. ekstraksiyon periyotları arasında anlamlı azalma ($p < 0.01$) belirlenirken; H3 deney grubunun $[MMA]_a$ değerlerinde ise II.-IV. ekstraksiyon periyotları arasında anlamlı ($p < 0.05$) artış saptanmıştır (Tablo 4.7, Şekil 4.4).

Tablo 4.7. I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasında H1 ve H3 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerindeki değişimlerin istatistiksel karşılaştırması

<i>Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi</i>	Deney Grupları	
Ekstraksiyon Periyodu	H1	H3
I.-II.	$P < 0.01$	$P > 0.05$
I.-III.	$P > 0.05$	$P > 0.05$
I.-IV.	$P > 0.05$	$P > 0.05$
II.-III.	$P > 0.05$	$P > 0.05$
II.-IV.	$P > 0.05$	$P < 0.05$
III.-IV.	$P > 0.05$	$P > 0.05$

$p < 0.01$: ileri derecede anlamlı $p > 0.05$: anlamlı değil

$p < 0.05$: anlamlı

4.2.2 Mikrodalga Enerjisi ile Polimerizasyon Yönteminde Ekstraksiyon Ortamında Saptanan [MMA]_a Bulguları

Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının (M1, M2, M3, M4, M5 ve M6) I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda elde edilen [MMA]_a değerleri arasında en yüksek [MMA]_a değeri M1 deney grubunda belirlenmiştir. En düşük [MMA]_a değeri I. ekstraksiyon periyodunda M6 deney grubunda saptanmıştır. Ayrıca, M4 ve M6 deney gruplarında I. ekstraksiyon periyodundan sonra, M5 deney grubunda ise II. ekstraksiyon periyodun sonra ekstraksiyon ortamında HPLC sistemi tarafından artık MMA detekte edilememiştir (Tablo 4.8 ve Şekil 4.5).

Tablo 4.8. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan [MMA]_a değerleri (µmol/L) (AO± SS) ve istatistiksel karşılaştırması

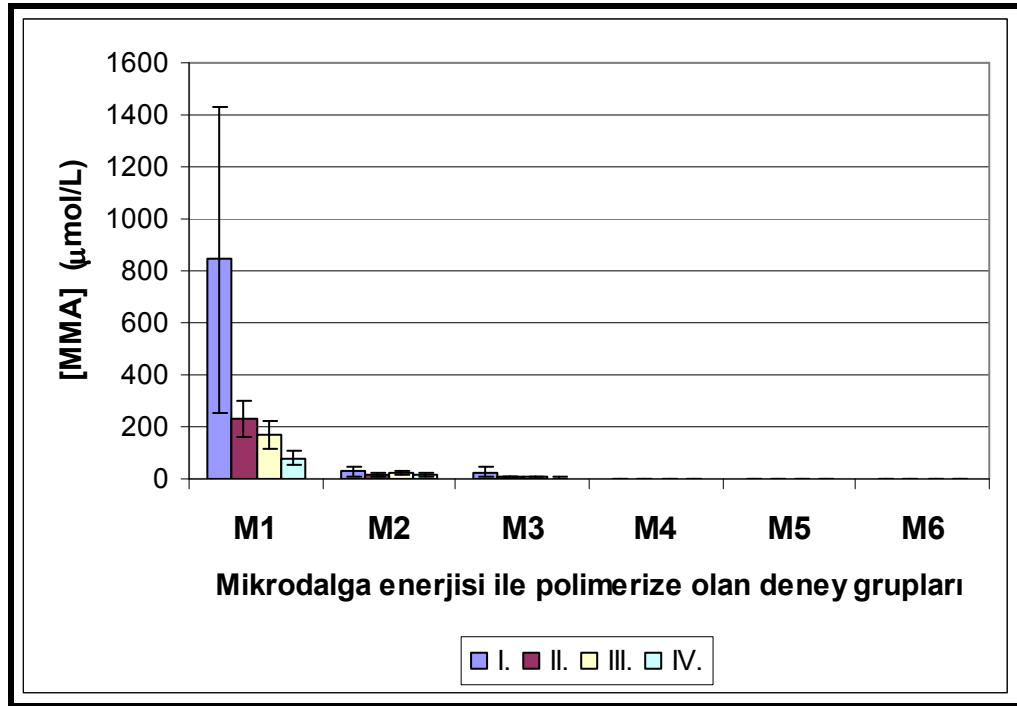
Grup Kodu	Ekstraksiyon Periyodu				Fr	p
	I.	II.	III.	IV.		
M1	842,92±605,64	230,52±122,96	169,92±120,36	80,01±48,04	17	≤0.001
M2	28,75±10,86	15,9±4,19	22,39±6,90	16,15±5,81	6,6	>0.05
M3	26,8±23,14	7,82±6,61	5,41±5,14	3,21±2,60	17,91	≤0.001
M4	0,25±0,42	0	0	0	6	>0.05
M5	1,87±0,55	0,41±0,63	0	0	16,29	≤0.001
M6	0,06±0,16	0	0	0	3	>0.05
KW	34,58	34,77	36,30	36,20		
p	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001		

p≤0.001 : çok ileri derecede anlamlı

p>0.05 : anlamlı değil

KW : Kruskal-Wallis testi

Fr : Friedman testi



Şekil 4.5. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan $[MMA]_a$ değerlerinin karşılaştırılması

Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarının her ekstraksiyon periyodu sonundaki $[MMA]_a$ değerlerinin istatistiksel karşılaştırılmasında, deney grupları arasında I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda çok ileri derecede anlamlı farklılıklar ($p \leq 0.001$) belirlenmiştir (*Kruskal Wallis testi*) (Tablo 4.8). Tüm ekstraksiyon periyotları sonunda en yüksek $[MMA]_a$ değerleri belirlenen M1 deney grubunun $[MMA]_a$ değerleri M4 ve M6 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri I., II. ve III. ekstraksiyon periyotları sonunda çok ileri derecede ($p < 0.001$); IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise ileri derecede ($p < 0.01$) anlamlı farklılık saptanmıştır. Ayrıca, M1/M5 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında II. ekstraksiyon periyodu sonunda anlamlı ($p < 0.05$); III. ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise ileri derecede anlamlı farklılık ($p < 0.01$) gözlenmiştir. İlave olarak, M2/M4 ve M2/M6 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar ($p < 0.05$) belirlenmiştir (*Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi*) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney grupları arasında I., II., III. ve IV ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan $[MMA]_a$ değerlerinin istatistiksel karşılaştırması

Dunn's Çoklu Karşılaştırma testi	Ekstraksiyon Periyodu			
	I.	II.	III.	IV.
M1 / M2	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
M1 / M3	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
M1 / M4	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.01
M1 / M5	P > 0.05	P < 0.05	P < 0.01	P < 0.01
M1 / M6	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.01
M2 / M3	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
M2 / M4	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05
M2 / M5	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
M2 / M6	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05
M3 / M4	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
M3 / M5	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
M3 / M6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
M4 / M5	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
M4 / M6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
M5 / M6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

p<0.001 : çok ileri derecede anlamlı

p<0.05 : anlamlı

p<0.01 : ileri derecede anlamlı

p>0.05 : anlamlı değil

Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerinde ekstraksiyon periyotları arasındaki değişimlerin istatistiksel karşılaştırmasında; M1, M3 ve M5 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerinde anlamlı değişimler belirlenmiştir (*Friedman Testi*) (Tablo 4.8). M1 deney grubunun $[MMA]_a$ değerleri I.-IV. ekstraksiyon periyotları arasında çok ileri derecede ($p<0.001$); M3 deney grubunun $[MMA]_a$ değerlerinde I.-III. ekstraksiyon periyotları arasında anlamlı ($p<0.05$) ve I.-IV. periyotlar arasında ileri derecede anlamlı ($p<0.01$); M5 deney grubunun $[MMA]_a$ değerlerinde ise I.-III. ve I.-IV. ekstraksiyon periyotları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$)

değişimler saptanmıştır (*Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi*) (Tablo 4.10, Şekil 4.5).

Tablo 4.10. I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasında M1, M3 ve M5 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerindeki değişimlerin istatistiksel karşılaştırması

<i>Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi</i>	Deney Grupları		
Ekstraksiyon Periyotları	M1	M3	M5
I.-II.	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
I.-III.	P > 0.05	P < 0.05	P < 0.05
I.-IV.	P < 0.001	P < 0.01	P < 0.05
II.-III.	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
II.-IV.	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
III.-IV.	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

p<0.001 : çok ileri derecede anlamlı

p≤0.05 : anlamlı

p>0.05 : anlamlı değil

Aynı mikrodalga enerjisi gücü ve polimerizasyon süreleri uygulanarak mikrodalga enerjisi ile polimerize edildikten sonra suda bekletilmeyen deney grupları (M1, M3 ve M5) ile bu sıkluslara ilave olarak 60°C sıcaklıktaki suda bekletme işlemi uygulanan deney gruplarının (M2, M4 ve M6) $[MMA]_a$ değerlerinin ikili karşılaştırılmalarında (M1/M2, M3/M4, M5/M6) I., II., III. ve IV ekstraksiyon periyotları sonunda M1/M2 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında ileri derecede ($p \leq 0.01$); M3/M4 deney grupları arasında çok ileri derecede ($p \leq 0.001$) anlamlı farklılık belirlenmiştir. M5/M6 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında ise sadece I. ekstraksiyon periyodu sonunda istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.01$) farklılık saptanmıştır (*Mann-Whitney-U testi*) (Tablo 4.11).

Tablo 4.11. Aynı polimerizasyon siklusları uygulanarak mikrodalga enerjisi ile polimerize edildikten sonra suda bekletilmeyen veya ilave olarak 60°C sıcaklıktaki suda bekletilen deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerinin istatistiksel karşılaştırması

	Ekstraksiyon Periyodu							
	I.		II.		III.		IV.	
	MW	<i>p</i>	MW	<i>p</i>	MW	<i>p</i>	MW	<i>p</i>
M1 / M2	0	≤ 0.01	0	≤ 0.01	0	≤ 0.01	2	≤ 0.01
M3 / M4	0	≤ 0.001	0	≤ 0.001	0	≤ 0.001	0	≤ 0.001
M5 / M6	0	≤ 0.01	12	> 0.05	18	> 0.05	18	> 0.05

$p \leq 0.001$: çok ileri derecede anlamlı

$p \leq 0.01$: ileri derecede anlamlı

$p > 0.05$: anlamlı değil

MW : Mann-Whitney-U testi

4.2.3 Kimyasal Yolla Polimerizasyon Yönteminde Ekstraksiyon Ortamında Saptanan [MMA]_a Bulguları

Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının (O1, O2, O3, O4, O5, O6, O7, O8) I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda elde edilen [MMA]_a değerleri arasında en yüksek [MMA]_a değeri O1 deney grubunda; en düşük [MMA]_a değerleri ise sırasıyla O4, O7, O5 ve O8 deney gruplarında saptanmıştır (Tablo 4.12, Şekil 4.6).

Tablo 4.12. Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan [MMA]_a değerleri (µmol/L) (AO±SS) ve istatistiksel karşılaştırması

Grup Kodu	Ekstraksiyon Periyodu				Fr	p
	I	II	III	IV		
O1	109,56±41,14	35,97±3,9	38,38±9,31	23,02±6,39	16,2	≤0.001
O2	12,59±2,37	7,46±1,83	8,12±1,35	11,63±8,91	11,6	<0.01
O3	23,56±13,62	18,45±6,2	18,99±3,13	12,47±5,62	7,8	≤0.05
O4	6,05±3,71	19,27±3,43	18,26±3,48	14,1±4,1	15	<0.01
O5	7,09±2,69	8,23±2,32	7,28±1,52	6,76±1,8	4,4	>0.05
O6	18,32±8,21	11,55±1,51	13,2±10,67	6,29±1,75	9,8	≤0.05
O7	6,48±2,23	4,14±1,15	8,61±1,48	6,88±2,26	9,8	≤0.05
O8	9,82±4,4	9,08±3,08	9,69±3,26	5,79±2,12	3,4	>0.05
KW	31,18	41,97	34,05	29,25		
p	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001		

p≤0.001 : çok ileri derecede anlamlı

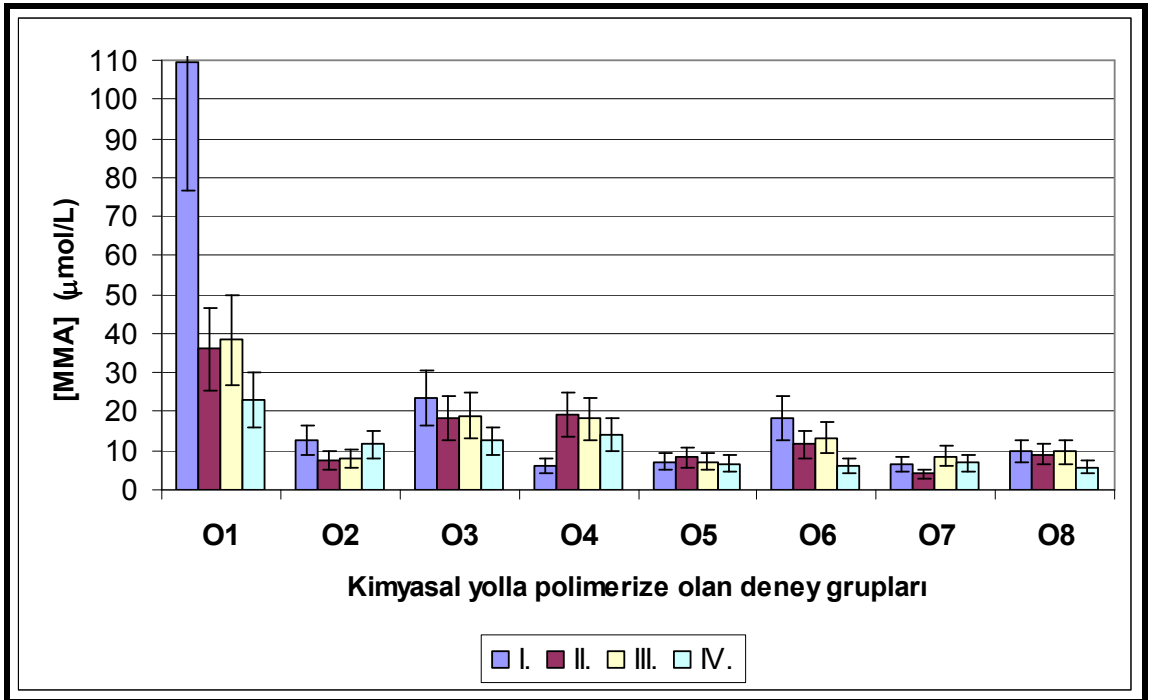
p≤0.05 : anlamlı

p<0.01 : ileri derecede anlamlı

p>0.05 : anlamlı değil

KW : Kruskal-Wallis testi

Fr : Friedman testi



Şekil 4.6. Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı sikluslar uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan $[MMA]_a$ değerlerinin karşılaştırılması.

Kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarının her ekstraksiyon periyodu sonundaki $[MMA]_a$ değerlerinin istatistiksel karşılaştırmasında, I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında çok ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.001$) farklılıklar saptanmıştır (*Kruskal Wallis testi*) (Tablo 4.12). I. ekstraksiyon periyodu sonunda O1/O4 ve O1/O7 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında çok ileri derecede ($p < 0.001$), O1/O5 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.01$) farklılık belirlenmiştir. II. ekstraksiyon periyodu sonunda O1/O7 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında çok ileri derecede ($p < 0.001$), O1/O2, O1/O5, O3/O7 ve O4/O7 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında ileri derecede ($p < 0.01$), O1/O8 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında ise anlamlı ($p < 0.05$) farklılıklar gözlenmiştir. III. ekstraksiyon periyodu sonunda O1/O5 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında çok ileri derecede ($p < 0.001$), O1/O2, O1/O7 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında ileri derecede ($p < 0.01$), O3/O5 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında anlamlı ($p < 0.05$) farklılık belirlenmiştir. IV. ekstraksiyon periyodu sonunda O1/O6, O1/O8 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında ileri derecede ($p < 0.01$),

O1/O5 ve O1/O7 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında anlamlı ($p < 0.05$) farklılık gözlenmiştir (*Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi*) (Tablo 4.13).

Kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerinde ekstraksiyon periyotları arasındaki değişimlerinin istatistiksel karşılaştırmasında; O5 ve O8 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri dışındaki tüm grupların $[MMA]_a$ değerlerinde anlamlı değişimler ($p \leq 0.05$) belirlenmiştir (*Friedman Testi*) (Tablo 4.12). I.-II. ekstraksiyon periyotları arasında O2 ve O3 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) yönde azalmışken; O4 deney grubunda ise ileri derecede ($p < 0.01$) anlamlı yönde artış saptanmıştır. Aynı zamanda O4 deney grubunun I.-III. ekstraksiyon periyodu arasındaki $[MMA]_a$ değerlerindeki artış da istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). I.-IV. ekstraksiyon periyotları arasında ise, O6 deney grubunun $[MMA]_a$ değerlerinde anlamlı ($p < 0.05$); O1 deney grubunun $[MMA]_a$ değerlerinde ise çok ileri derecede ($p < 0.001$) anlamlı yönde azalma saptanmıştır. II.-III. ekstraksiyon periyotları arasında anlamlı ($p < 0.05$) yönde $[MMA]_a$ azalması ise sadece O7 deney grubunda belirlenmiştir (*Dunn's Çoklu Karşılaştırma testi*) (Tablo 4.14, Şekil 4.6).

Tablo 4.13. Kimyasal yolla polimerize olan deney grupları arasında I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan $[MMA]_a$ değerlerinin istatistiksel karşılaştırması

Dunn's Çoklu Karşılaştırma testi	Ekstraksiyon Periyodu			
	I.	II.	III.	IV.
O1 / O2	P > 0.05	P < 0.01	P < 0.01	P > 0.05
O1 / O3	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O1 / O4	P < 0.001	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O1 / O5	P < 0.01	P < 0.01	P < 0.001	P < 0.05
O1 / O6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P < 0.01
O1 / O7	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.01	P < 0.05
O1 / O8	P > 0.05	P < 0.05	P > 0.05	P < 0.01
O2 / O3	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O2 / O4	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O2 / O5	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O2 / O6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O2 / O7	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O2 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O3 / O4	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O3 / O5	P > 0.05	P > 0.05	P < 0.05	P > 0.05
O3 / O6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O3 / O7	P > 0.05	P < 0.01	P > 0.05	P > 0.05
O3 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O4 / O5	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O4 / O6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O4 / O7	P > 0.05	P < 0.01	P > 0.05	P > 0.05
O4 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O5 / O6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O5 / O7	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O5 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O6 / O7	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O6 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O7 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

p<0.001 : çok ileri derecede anlamlı

p<0.05 : anlamlı

p<0.01 : ileri derecede anlamlı

p>0.05 : anlamlı değil

Tablo 4.14. I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasında O1,O2,O3,O4,O6 ve O7 deney gruplarının [MMA]_a değerlerindeki değişimlerin istatistiksel karşılaştırması.

<i>Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi</i>	Deney Grupları					
Ekstraksiyon Periyodu	O1	O2	O3	O4	O6	O7
I.-II.	P > 0.05	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.01	P > 0.05	P > 0.05
I.-III.	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P < 0.05	P > 0.05	P > 0.05
I.-IV.	P < 0.001	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P < 0.05	P > 0.05
II.-III.	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P < 0.05
II.-IV.	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
III.-IV.	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

p<0.001 : çok ileri derecede anlamlı

p<0.01 : ileri derecede anlamlı

p<0.05 : anlamlı

p>0.05 : anlamlı değil

Kimyasal yolla polimerize olan ve aynı polimerizasyon siklusları uygulanarak oda sıcaklığında (O1, O2, O3 ve O4) veya basınçlı tencerede (O5, O6, O7 ve O8) polimerize edilen deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerinin istatistiksel olarak ikili karşılaştırmalarında (O1/O5, O2/O6, O3/O7, O4/O8) I.,II.,III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda O1/O5 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.001$) farklılık saptanmıştır. O2/O6 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında sadece II. ekstraksiyon periyodu sonunda ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.01$) farklılık gözlenmiştir. O3/O7 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri II. ve III. ekstraksiyon periyotları sonunda ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.01$) I. ve IV. ekstraksiyon periyodunda anlamlı ($p \leq 0.05$) farklılık göstermiştir. O4/O8 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında ise II., III. ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.01$) farklılık belirlenmiştir (*Mann-Whitney-U testi*) (Tablo 4.15).

Tablo 4.15. Kimyasal yolla polimerize olan ve aynı polimerizasyon siklusları ile oda sıcaklığında veya basınçlı tencerede polimerize edilen deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerinin istatistiksel karşılaştırması

	Ekstraksiyon Periyodu							
	I.		II.		III.		IV.	
	MW	p	MW	p	MW	p	MW	p
O1 / O5	0	≤ 0.01	0	≤ 0.01	0	≤ 0.01	0	≤ 0.01
O2 / O6	12	0,337	1	≤ 0.01	10	0,200	8	0,109
O3 / O7	4	≤ 0.05	0	≤ 0.01	0	≤ 0.01	4	≤ 0.05
O4 / O8	7	0,078	0	≤ 0.01	2	≤ 0.01	0	≤ 0.01

$p \leq 0.01$: ileri derecede anlamlı

$p \leq 0.05$: anlamlı

$p > 0.05$: anlamlı değil

MW : Mann-Whitney-U testi

4.3 Farklı Yöntemlerle Polimerize Olan Protez Kaide Polimerlerinin Hücre Proliferasyonu Değerleri

Isı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan protez kaide polimerlerinin polimerizasyon yöntemlerine bağlı olarak I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin AO ve SS değerleri Tablo 4.16' da sunulmuştur. Tüm ekstraksiyon periyotları sonunda en yüksek hücre proliferasyonu değerleri ısı ile polimerizasyon yönteminde; en düşük hücre proliferasyonu değerleri ise I., II. ve III. ekstraksiyon periyodu sonunda mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde, IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde belirlenmiştir.

Isı ve kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde I. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasında hücre proliferasyonu değerlerinde azalma gözlenirken; mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde belirgin değişimler saptanmamıştır. Ancak, ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan deney grupları arasında I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda hücre proliferasyonu değerlerinde istatistiksel olarak çok ileri derecede anlamlı farklılık ($p < 0.001$) saptanmıştır (*Friedman testi*).

Tablo 4.16. Farklı yöntemlerle polimerize olan protez kaide polimerlerinin I.,II.,III.ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu ($AO \pm SS$) değerleri (%) ve istatistiksel karşılaştırması

Polimerizasyon Yöntemi	Ekstraksiyon Periyodu			
	I.	II.	III.	IV.
Isı ile polimerizasyon	74,58±6,14	80,28±7,91	75,27±7,78	70,68±7,43
Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon	68,76±8,04	68,92±5,10	68,47±9,25	68,43±7,89
Kimyasal yolla polimerizasyon	71,48±10,28	72,32±11,37	69,80±12,02	65,18±10,78
Fr	98,91	103,72	97,78	92,31
p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

$p < 0.001$: çok ileri derecede anlamlı

Fr : Friedman testi

4.3.1 Isı İle Polimerizasyon Yönteminde Hücre Proliferasyonu Bulguları

Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının (H1, H2, H3 ve H4) I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda elde edilen hücre proliferasyonu değerleri arasında; I. ve II. ekstraksiyon periyodu sonunda en yüksek hücre proliferasyonu değerleri H3 deney grubunda; en düşük hücre proliferasyonu değerleri ise H1 deney grubunda saptanmıştır. III. ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda en yüksek hücre proliferasyonu değerleri H2 deney grubunda saptanırken en düşük değerler ise sırasıyla H4 ve H3 deney gruplarında belirlenmiştir (Tablo 4.17 ve Şekil 4.7).

Tablo 4.17. Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu (AO±SS) değerleri (%) ve istatistiksel karşılaştırması

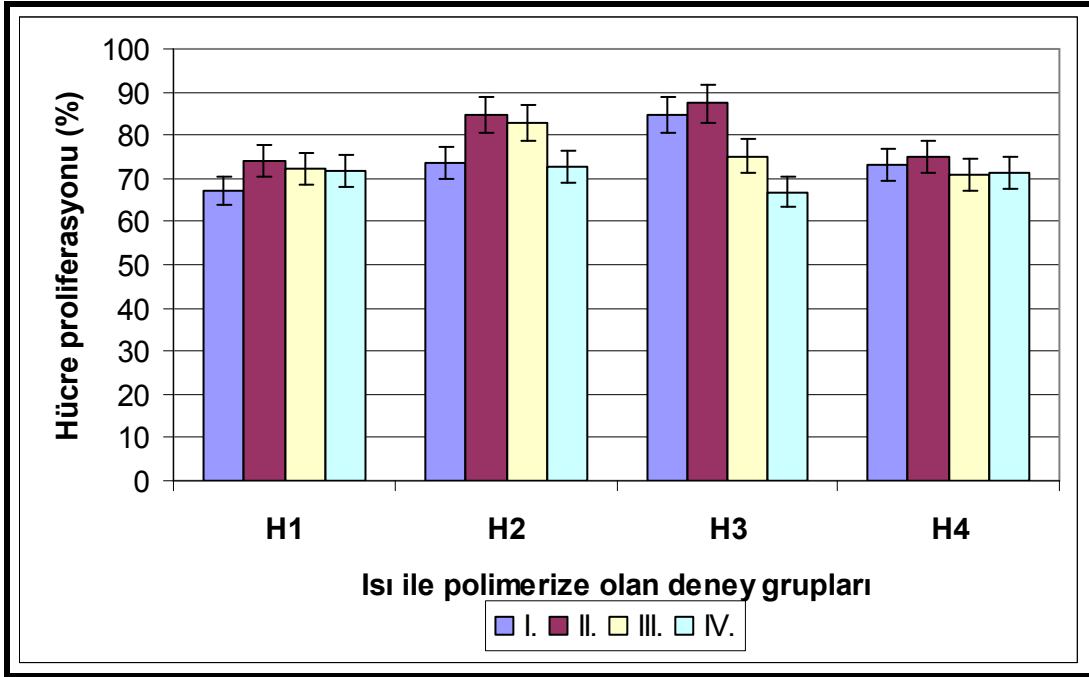
Grup Kodu	Ekstraksiyon Periyodu				Fr	p
	I.	II.	III.	IV.		
H1	67,03±3,18	74,26±8,7	72,26±6,13	71,88±10,39	4,932	>0.05
H2	73,67±7,99	84,56±5,71	82,88±10,36	72,73±9,96	6,2	>0.05
H3	84,67±9,17	87,31±15,3	75,2±10,63	66,84±6,56	8	<0.05
H4	72,99±4,23	75,04±1,96	70,77±4,04	71,29±2,84	7,271	>0.05
KW	10,97	8,393	6,85	2,621		
p	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05		

p<0.05 : anlamlı

p>0.05 : anlamlı değil

KW : Kruskal-Wallis testi

Fr : Friedman testi



Şekil 4.7. Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin karşılaştırılması.

Isı ile polimerize olan deney gruplarının her ekstraksiyon periyodu sonundaki hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırılmasında; deney gruplarının arasında I. ve II. ekstraksiyon periyodu sonunda anlamlı farklılıklar ($p < 0.05$) saptanırken; III. ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise deney grupları arasında anlamlı farklılıklar belirlenmemiştir (*Kruskal Wallis testi*) (Tablo 4.17). I. ve II. ekstraksiyon periyotları sonunda sırasıyla H1/H3 ($p < 0.01$) ve H3/H4 ($p < 0.05$) deney gruplarının hücre proliferasyonu değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir (*Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi*) (Tablo 4.18).

Tablo 4.18. Isı ile polimerize olan deney grupları arasında I. ve II. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırması.

<i>Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi</i>	Ekstraksiyon Periyodu	
Deney Grupları	I	II
H1 / H2	P > 0.05	P > 0.05
H1 / H3	P < 0.01	P > 0.05
H1 / H4	P > 0.05	P > 0.05
H2 / H3	P > 0.05	P > 0.05
H2 / H4	P > 0.05	P > 0.05
H3 / H4	P > 0.05	P < 0.05

p<0.01 : ileri derecede anlamlı
p<0.05 : anlamlı
p>0.05 : anlamlı değil

Isı ile polimerize olan deney gruplarının hücre proliferasyonu değerlerinde ekstraksiyon periyotları arasındaki değişimlerinin istatistiksel karşılaştırmasında sadece H3 deney grubunun hücre proliferasyonu değerlerinde anlamlı ($p<0.05$) değişim belirlenmiştir (*Friedman Testi*) (Tablo 4.17). H3 deney grubunun I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasındaki hücre proliferasyonu değerleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılığın II.-IV. ekstraksiyon periyotları arasındaki azalma sonucunda meydana geldiği belirlenmiştir (Tablo 4.19, Şekil 4.7).

Tablo 4.19. I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasında H3 deney grubunun hücre proliferasyonu değerlerindeki değişimlerin istatistiksel karşılaştırması

<i>Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi</i>	H3
I.-II.	P > 0.05
I.-III.	P > 0.05
I.-IV.	P > 0.05
II.-III.	P > 0.05
II.-IV.	P < 0.05
III.-IV.	P > 0.05

p<0.05 : anlamlı

p>0.05 : anlamlı değil

4.3.2 Mikrodalga Enerjisi İle Polimerizasyon Yönteminde Hücre Proliferasyonu Bulguları

Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının (M1, M2, M3, M4, M5 ve M6) . I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda elde edilen hücre proliferasyonu değerleri karşılaştırıldığında; I. ekstraksiyon periyodu sonunda en yüksek hücre proliferasyonu değeri M1 deney grubunda en düşük değer ise M2 deney grubunda saptanmıştır. II. ekstraksiyon periyodu sonunda en yüksek hücre proliferasyonu değeri M6 deney grubunda en düşük M5 deney grubunda gözlenmiştir. III. ekstraksiyon periyodu sonunda en yüksek hücre proliferasyonu değeri M1 deney grubunda en düşük ise M5 deney grubunda saptanırken; IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise en yüksek hücre proliferasyonu değeri M4 deney grubunda en düşük ise M2 deney grubunda belirlenmiştir (Tablo 4.20, Şekil 4.8).

Tablo 4.20. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda saptanan hücre proliferasyonu ($AO \pm SS$) değerleri (%) ve istatistiksel karşılaştırması

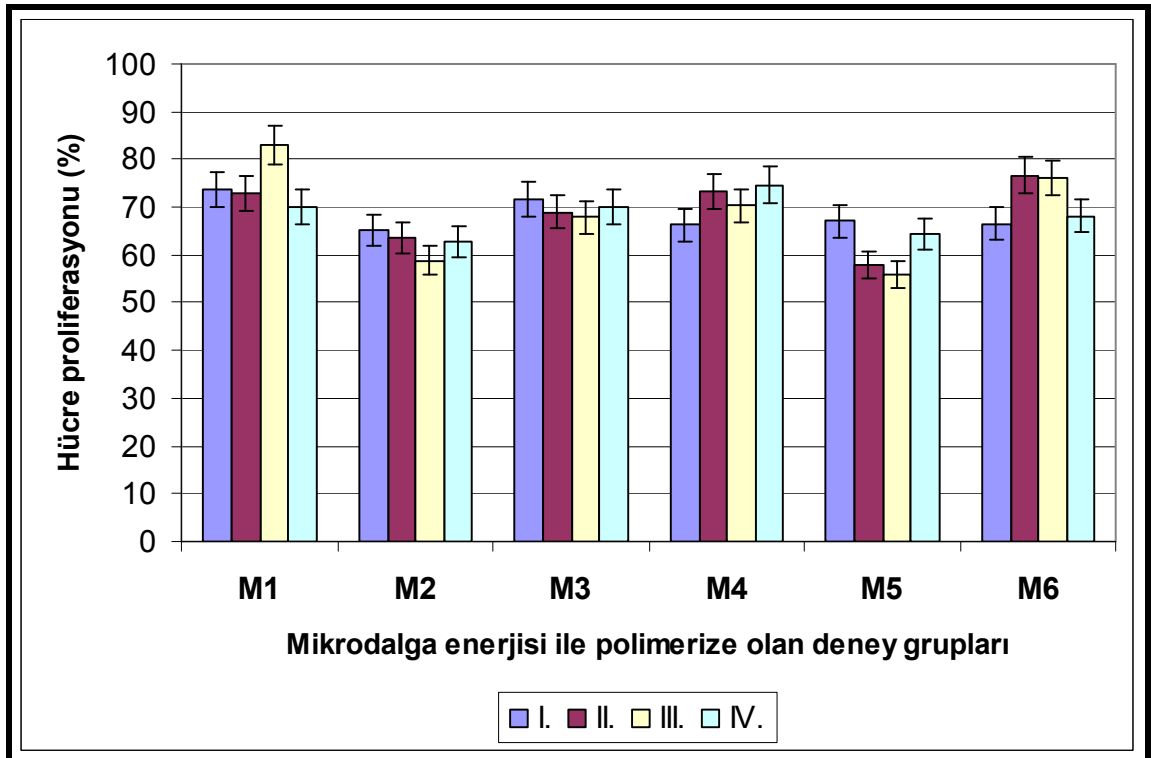
Grup Kodu	Ekstraksiyon Periyodu				Fr	p
	I.	II.	III.	IV.		
M1	73,68±6,90	72,92±3,83	82,94±15,16	70,05±10,93	1,4	>0.05
M2	65,03±8,20	63,61±2,89	58,81±4,70	62,67±7,72	4,22	>0.05
M3	71,55±4,03	68,95±8,55	67,97±8,65	70,00±4,46	0,6	>0.05
M4	66,20±12,29	73,35±9,82	70,25±9,36	74,65±7,55	5,8	>0.05
M5	67,12±11,49	57,89±4,52	56,04±7,42	64,47±9,82	3	>0.05
M6	66,55±11,42	76,64±6,76	76,14±11,59	68,07±5,31	5,4	>0.05
KW	7,62	19,06	19,16	8,41		
p	>0.05	≤0.01	≤0.01	>0.05		

$p \leq 0.01$: ileri derecede anlamlı

KW : Kruskal-Wallis testi

$p > 0.05$: anlamlı değil

Fr : Friedman testi



Şekil 4.8. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin karşılaştırılması

Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarının her ekstraksiyon periyodu sonundaki hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırmasında II. ve III. ekstraksiyon periyodu sonunda ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.01$) farklılıklar saptanmış; I.-IV. ekstraksiyon periyotları sonunda ise gruplar arasında anlamlı farklılıklar belirlenmemiştir (*Kruskal Wallis testi*) (Tablo 4.20). II. ekstraksiyon periyodu sonunda M5/M6 ($p < 0.05$); III. ekstraksiyon periyodu sonunda ise M1/M2 ($p < 0.05$) ve M1/M5 ($p < 0.01$) deney gruplarının hücre proliferasyonu değerleri arasında anlamlı farklılık belirlenmiştir (*Dunn's Çoklu Karşılaştırma testi*) (Tablo 4.21).

Tablo 4.21. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney grupları arasında II. ve III. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırması

<i>Dunn's Çoklu Karşılaştırma testi</i>	Ekstraksiyon Periyodu	
	II.	III.
Deney grupları		
M1 / M2	P > 0.05	P < 0.05
M1 / M3	P > 0.05	P > 0.05
M1 / M4	P > 0.05	P > 0.05
M1 / M5	P > 0.05	P < 0.01
M1 / M6	P > 0.05	P > 0.05
M2 / M3	P > 0.05	P > 0.05
M2 / M4	P > 0.05	P > 0.05
M2 / M5	P > 0.05	P > 0.05
M2 / M6	P > 0.05	P > 0.05
M3 / M4	P > 0.05	P > 0.05
M3 / M5	P > 0.05	P > 0.05
M3 / M6	P > 0.05	P > 0.05
M4 / M5	P > 0.05	P > 0.05
M4 / M6	P > 0.05	P > 0.05
M5 / M6	P < 0.05	P > 0.05

$p < 0.01$: ileri derecede anlamlı

$p > 0.05$: anlamlı değil

$p < 0.05$: anlamlı

Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarının hücre proliferasyonu değerlerinde ekstraksiyon periyotları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişimler belirlenmemiştir (*Friedman Testi*) (Tablo 4.20, Şekil 4.8).

Aynı mikrodalga enerjisi gücü ve polimerizasyon süreleri uygulanarak polimerize edildikten sonra suda bekletilmeyen deney grupları (M1, M3 ve M5) ile bu sıkluslara ilave olarak 60°C sıcaklıktaki suda bekletme işlemi uygulanan deney gruplarının (M2, M4 ve M6) hücre proliferasyonu değerlerinin ikili karşılaştırmalarında (M1/M2, M3/M4, M5/M6) I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda M1/M2 deney grupları arasında I. ekstraksiyon periyodu sonunda anlamlı ($p \leq 0.05$), II. ve III. ekstraksiyon periyodu sonunda ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.01$); M3/M4 deney grupları arasında I. ekstraksiyon periyodu sonunda anlamlı ($p \leq 0.05$), M5/M6 deney grupları arasında ise II. ve III. ekstraksiyon periyotları sonunda hücre proliferasyonu değerleri arasında ileri derecede ($p \leq 0.01$) anlamlı farklılıklar saptanmıştır (*Mann-Whitney-U testi*) (Tablo 4.22).

Tablo 4.22. Aynı polimerizasyon sıklusları uygulanarak mikrodalga enerjisi ile polimerize edildikten sonra suda bekletilmeyen veya ilave olarak 60°C sıcaklıktaki suda bekletilen deney gruplarının hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırması

	Ekstraksiyon Periyodu							
	I.		II.		III.		IV.	
	MW	<i>p</i>	MW	<i>p</i>	MW	<i>p</i>	MW	<i>p</i>
M1 / M2	6	≤ 0.05	0	≤ 0.01	0	≤ 0.01	9	>0.05
M3 / M4	6	≤ 0.05	15	>0.05	15	>0.05	9	>0.05
M5 / M6	16	>0.05	0	≤ 0.01	2	≤ 0.01	12	>0.05

$p \leq 0.01$: ileri derecede anlamlı

$p \leq 0.05$: anlamlı

$p > 0.05$: anlamlı değil

MW : Mann-Whitney-U testi

4.3.3 Kimyasal Yolla Polimerizasyon Yönteminde Hücre Proliferasyonu Bulguları

Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının (O1, O2, O3, O4, O5, O6, O7, O8) I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda hücre proliferasyonu değerleri arasında O6 deney grubunda en yüksek hücre proliferasyonu değerleri saptanmıştır. I., II. ve III. ekstraksiyon periyodu sonunda ise en düşük hücre proliferasyonu değerleri O7 deney grubunda gözlenirken; IV. ekstraksiyon periyodu sonunda en düşük hücre proliferasyonu değeri O4 deney grubunda belirlenmiştir. (Tablo 4.23, Şekil 4.9).

Tablo 4.23. Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu (AO±SS) değerleri (%) ve istatistiksel karşılaştırması

Grup Kodu	Ekstraksiyon Periyodu				Fr	p
	I.	II.	III.	IV.		
O1	72,59±12,39	73,05±13,82	64,67±10,39	65,92±7,44	2,4	>0.05
O2	77,95±3,21	79,12±6,66	73,02±6,73	67,34±5,01	8,2	<0.05
O3	66,40±4,92	68,27±3,29	67,04±5,84	64,28±5,77	0,2	>0.05
O4	67,34±11,56	74,77±13,09	75,07±16,43	60,63±6,39	4,6	>0.05
O5	73,39±10,8	72,55±7,40	76,81±11,98	64,77±12,43	1,8	>0.05
O6	79,63±8,09	87,17±7,39	81,54±4,52	68,85±8,49	8,17	<0.05
O7	60,33±4,90	58,71±8,36	53,8±11,81	63,74±12,75	3,61	>0.05
O8	74,25±5,83	72,09±5,56	66,51±4,43	65,92±6,44	10	<0.05
KW	19,99	21,81	21,46	4,29		
p	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05		

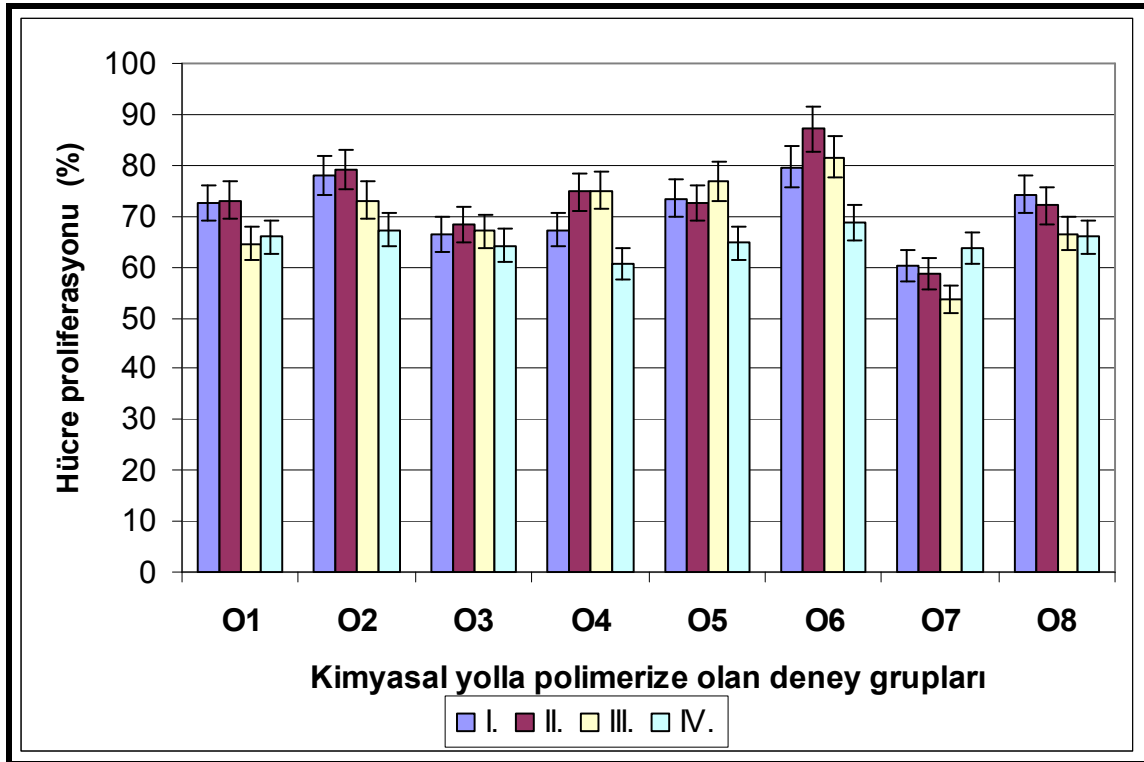
p<0.01 : ileri derecede anlamlı

KW : Kruskal-Wallis testi

p<0.05 : anlamlı

Fr : Friedman testi

p>0.05 : anlamlı değil



Şekil 4.9. Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarının I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin karşılaştırılması

Kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarının her ekstraksiyon periyodu sonundaki hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırmasında; deney grupları arasında I., II. ve III. ekstraksiyon periyotları sonunda ileri derecede anlamlı farklılık ($p < 0.01$) saptanırken; IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise gruplar arasında anlamlı farklılık belirlenmemiştir (*Kruskal Wallis testi*) (Tablo 4.23). I. ekstraksiyon periyodu sonunda O2/O7 ve O6/O7 deney gruplarının hücre proliferasyonu değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) farklılık saptanmıştır. II. ekstraksiyon periyodu sonunda O2/O7 deney gruplarının hücre proliferasyonu değerleri arasında anlamlı ($p < 0.05$); O6/O7 deney gruplarının değerleri arasında ise çok ileri derecede anlamlı farklılık ($p < 0.001$) saptanırken; III. ekstraksiyon periyodu sonunda sadece O6/O7 deney gruplarının değerleri arasında ileri derecede anlamlı farklılık ($p < 0.01$) belirlenmiştir (*Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi*) (Tablo 4.24)

Tablo 4.24. Kimyasal yolla polimerize olan deney grupları arasında I., II. ve III. ekstraksiyon periyotları sonunda saptanan hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırması

<i>Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi</i>	Ekstraksiyon Periyodu		
	I.	II.	III.
O1 / O2	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O1 / O3	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O1 / O4	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O1 / O5	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O1 / O6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O1 / O7	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O1 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O2 / O3	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O2 / O4	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O2 / O5	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O2 / O6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O2 / O7	P < 0.05	P < 0.05	P > 0.05
O2 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O3 / O4	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O3 / O5	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O3 / O6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O3 / O7	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O3 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O4 / O5	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O4 / O6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O4 / O7	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O4 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O5 / O6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O5 / O7	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O5 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O6 / O7	P < 0.05	P < 0.001	P < 0.01
O6 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
O7 / O8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

Kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarının hücre proliferasyonu değerlerinde ekstraksiyon periyotları arasındaki değişimlerin istatistiksel karşılaştırmasında O2, O6 ve O8 deney gruplarının değerlerinde anlamlı farklılıklar ($p < 0.05$) belirlenmiştir (*Friedman Testi*) (Tablo 4.23). O2 ve O8 deney gruplarının hücre proliferasyonu değerlerindeki anlamlı ($p < 0.05$) değişimlerin I.-IV. ve II.-IV. ekstraksiyon periyotları arasında olduğu; O6 deney grubundaki anlamlı ($p < 0.05$) değişimin ise II.-IV. ekstraksiyon periyotları arasında olduğu belirlenmiştir (*Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi*) (Tablo 4.25, Şekil 4.9).

Tablo 4.25. I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasında O2, O6 ve O8 deney gruplarının hücre proliferasyonu değerlerindeki değişimlerin istatistiksel karşılaştırması.

<i>Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi</i>	Deney Grupları		
Ekstraksiyon Periyodu	O2	O6	O8
I.-II.	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
I.-III.	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
I.-IV.	P < 0.05	P > 0.05	P < 0.05
II.-III.	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
II.-IV.	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05
III.-IV.	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

$p < 0.05$: anlamlı

$p > 0.05$: anlamlı değil

Kimyasal yolla polimerize olan ve aynı polimerizasyon siklusları uygulanarak oda sıcaklığında (O1, O2, O3 ve O4) veya basınçlı tencerede (O5, O6, O7 ve O8) polimerize edilen deney gruplarının hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel olarak ikili karşılaştırmalarında (O1/O5, O2/O6, O3/O7, O4/O8), O1/O5 deney gruplarının hücre proliferasyonu değerleri arasında tüm ekstraksiyon periyotları sonunda ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.01$); O2/O6 deney grupları arasında sadece II. ekstraksiyon periyodu sonunda ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.01$); O3/O7 deney grupları arasında I. ve IV. ekstraksiyon periyotlarında anlamlı ($p \leq 0.05$) II. ve III. ekstraksiyon periyotları sonunda ise ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.01$); O4/O8 deney gruplarının hücre proliferasyonu değerleri arasında ise II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda ileri derecede ($p \leq 0.01$); anlamlı farklılıklar belirlenmiştir (*Mann-Whitney-U testi*) (Tablo 4.26).

Tablo 4.26. Kimyasal yolla polimerize olan ve aynı polimerizasyon siklusları uygulanarak oda sıcaklığında veya basınçlı tencerede polimerize edilen deney gruplarının hücre proliferasyonu değerlerinin istatistiksel karşılaştırması.

	Ekstraksiyon Periyodu							
	I.		II.		III.		IV.	
	MW	<i>p</i>	MW	<i>p</i>	MW	<i>p</i>	MW	<i>p</i>
O1 / O5	0	≤ 0.01	0	≤ 0.01	0	≤ 0.01	0	≤ 0.01
O2 / O6	12	> 0.05	1	≤ 0.01	10	> 0.05	8	> 0.05
O3 / O7	4	≤ 0.05	0	≤ 0.01	0	≤ 0.01	4	≤ 0.05
O4 / O8	7	> 0.05	0	≤ 0.01	2	≤ 0.01	0	≤ 0.01

$p \leq 0.01$: ileri derecede anlamlı

$p \leq 0.05$: anlamlı

$p > 0.05$: anlamlı değil

MW : Mann-Whitney-U testi

4.4 Isı ile, Mikrodalga Enerjisi ile ve Kimyasal Yolla Polimerize Olan Akrilik Reçinelerde Ekstraksiyon Ortamında Saptanan [MMA]_a Bulguları ile Hücre Proliferasyonu Bulguları Arasındaki İlişki

Isı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçinelerde genel olarak I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda ekstraksiyon ortamında saptanan [MMA]_a değerleri ile *in vitro* hücre proliferasyonu değerlerinin arasında negatif korelasyon saptanmıştır.

Isı ile polimerizasyon yönteminde hücre proliferasyonu değerleri ile [MMA]_a değerleri arasında I. ekstraksiyon periyodu sonunda ileri derecede anlamlı ($r=-0,573$, $p<0.01$) ve II. ekstraksiyon periyodu sonunda anlamlı ($r=-0,491$, $p\leq 0.05$) yönde negatif korelasyon belirlenmiştir. III. ve IV. periyotlar sonunda ısı ile polimerize olan deney gruplarının [MMA]_a değerleri ve hücre proliferasyonu değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) korelasyon saptanmamıştır ($r=-0,116$, $p>0.05$; $r=-0,339$, $p>0.05$) (*Pearson korelasyon testi* (Tablo 4.27)).

Tablo 4.27. Isı ile polimerizasyon yönteminde ekstraksiyon ortamında saptanan [MMA]_a ve hücre proliferasyonu değerleri arasındaki ilişkinin istatistiksel karşılaştırması

		Ekstraksiyon Periyodu			
		I.	II.	III.	IV.
Isı ile polimerizasyon	I.	r	-0,573		
		p	<0.01		
	II.	r		-0,491	
		p		≤0.05	
	III.	r			-0,116
		p			>0.05
	IV.	r			-0,339
		p			>0.05

$p<0.01$: ileri derecede anlamlı

$p>0.05$: anlamlı değil

$p\leq 0.05$: anlamlı

Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde I. ekstraksiyon periyodu dışında tüm periyotlarda $[MMA]_a$ değerleri ile hücre proliferasyonu değerleri arasında negatif korelasyon saptanmıştır. II. ($r=-0,561$) ve III. ($r=-0,626$) ekstraksiyon periyodunda ileri derecede anlamlı ($p<0.01$); IV. ekstraksiyon periyodunda ise anlamlı ($r=-0,044$, $p<0.05$) olarak $[MMA]_a$ değerleri artarken hücre proliferasyonu değerlerinde azalma belirlenmiştir (*Pearson korelasyon testi*) (Tablo 4.28).

Tablo 4.28. Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde ekstraksiyon ortamında saptanan $[MMA]_a$ ve hücre proliferasyonu değerleri arasındaki ilişkinin istatistiksel karşılaştırması

		Ekstraksiyon Periyodu			
		I.	II.	III.	IV.
Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon	I.	r	0,233		
		p	>0.05		
	II.	r		-0,561	
		p		≤0,01	
	III.	r			-0,667
		p			≤0,01
	IV.	r			-0,044
		p			<0.05

$p \leq 0.01$: ileri derecede anlamlı

$p \leq 0.05$: anlamlı

$p > 0.05$: anlamlı değil

Kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde $[MMA]_a$ değerleri ile hücre proliferasyonu değerleri arasında I. ($r=-0,333$), II. ($r=-0,286$) ve III. ($r=-0,391$) ekstraksiyon periyodu sonunda negatif yönde korelasyon belirlenmiştir; ancak $[MMA]_a$ değerleri artarken hücre proliferasyonu değerlerinde azalma sadece III. ekstraksiyon periyodu sonunda istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise $[MMA]_a$ değerleri ile hücre proliferasyonu değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p>0.05$) pozitif yönde korelasyon saptanmıştır (*Pearson korelasyon testi*) (Tablo 4.29)

Tablo 4.29. Kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde ekstraksiyon ortamında saptanan $[MMA]_a$ ve hücre proliferasyonu değerleri arasındaki ilişkinin istatistiksel karşılaştırması

		Ekstraksiyon Periyodu			
		I	II	III	IV
Kimyasal yolla polimerizasyon	I	r	-0,333		
		p	>0.05		
	II	r		-0,286	
		p		>0.05	
	III	r			-0,391
		p			<0.05
	IV	r			0,164
		p			>0.05

$p \leq 0.05$: anlamlı

$p > 0.05$: anlamlı değil

TARTIŞMA (BÖLÜM 5)

Akrilik reçine esaslı protez kaide polimerleri uygun fiziksel ve estetik özellikleri, düşük maliyet ve manipülasyonundaki kolaylık gibi nedenlerden dolayı yaklaşık 60 yıldan daha uzun süredir sıklıkla kullanılan protez kaide materyalidir.

Akrilik reçine protez kaidelerinin polimerizasyonunda uygulanan birçok yöntem olmasına rağmen, monomerin polimere dönüşümünün tam olmadığı (30,32,100,167) ve protez kaidesi içerisinde kalan reaksiyona girmemiş artık monomerin suya (27,74,84,92,131,167-169), yapay tükürüğe (85) veya tükürüğe (9,12,101,163) salınarak biyolojik açıdan etkili olabileceği bildirilmektedir. Ağız mukozasının büyük bir bölümü protez kaidesi ile yakın temas halindedir. Aynı zamanda epitel tabakası ağız mukozasında ağız kuruluğu (xerostomia) gibi nedenlerden ötürü kuru ve alıngan bir hale gelebilir (95). Özellikle mukozanın direncinin düştüğü durumlarda, protez kaidesinden ağız ortamına salınan bir veya birkaç komponent (84,95,133,163) mukoza üzerinde istenmeyen etkilere neden olabilir.

Literatürde akrilik reçine protez kaidelerinin yapımında uygulanan değişik polimerizasyon yöntemlerinin *in vitro* sitotoksitesinin incelendiği birçok çalışma (24,25,35,48,52,70,78,93-95,110,127,145,148,163) yer almaktadır. Ayrıca, ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerde ve kimyasal yolla polimerize olan ve protezin astarlanmasında kullanılan akrilik reçinelerde polimerizasyon işlemleri sırasında veya sonrasında uygulanan ısıl işlemlerin *in vitro* sitotoksik etkisinin değerlendirildiği araştırmalar (22,70,71) da mevcuttur. Ancak, bu çalışmalarda ağırlıklı olarak 1 veya 2 gün ekstraksiyon süresi sonunda *in vitro* sitotoksik etkiler belirlenmiştir. İlave olarak, literatür taramamızda özellikle mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon için üretilmiş akrilik reçinenin 1 günden fazla ekstraksiyonu sonunda elde edilen sitotoksik etkilerinin incelendiği bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Monomerin polimere dönüşümünün materyalin hem artık monomer miktarı hem de biyolojik özelliklerinde etkili olabildiği belirtilmektedir (24,69,94,111,169). Ancak, literatürde *in vitro* sitotoksitesinin deney örneklerinden salınan ekstraktlar elde edilerek belirlendiği çalışmalarda önce ekstrakt sıvısına salınan artık MMA'nın kantitatif değerlerinin ölçümünün

yapıldığı ve daha sonra bu değerlerin sitotoksik etkiyle ilişkilendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin monomerin polimere dönüşüm oranının incelendiği çalışmalar; başta kompozitler olmak üzere polimer matriks yapısı UDMA olan görünür ışıkla polimerize olan akrilat esaslı materyaller konusunda yoğunlaşmıştır (13,42,123,129,130,132). Literatürde, protetik diş hekimliğinde kullanılan PMMA esaslı materyallerde monomerin polimere dönüşümünü inceleyen çalışmalar da mevcuttur (10,14,32,131). Ancak, aynı çalışma içinde ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerizasyon yöntemlerinin ve alternatif siklusların monomerin polimere dönüşüm oranına etkisini spektroskopik olarak bir arada inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Akrilik reçine protez kaide polimerlerinde monomerin polimere dönüşümünün tam olmaması sonucunda açığa çıkan ve esas olarak MMA'dan oluşan artık monomerin akrilik reçinelerin biyolojik uyumunu etkileyen en önemli faktör olduğu bildirilmektedir (20,23,27,52,70,84). Bu nedenlerle; bu çalışmada ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçinelerde monomerin polimere dönüşüm oranı, ekstraktlara salınan [MMA]_a, *in vitro* sitotoksosite ve belirlenen [MMA]_a ile *in vitro* sitotoksosite ilişkisi bir arada incelenmiştir.

ISO 10993-5 (57)'de sitotoksosite testi uygulanacak materyalin klinik kullanımının mümkün olduğunca simüle edilmesi gerekliliği belirtilmektedir. Bu nedenle *in vitro* sitotoksosite testlerinin ya materyalin kendisinin hücre kültürü üzerine direkt olarak uygulanmasıyla ya da materyalden elde edilen ekstraktların hücre kültürüne uygulanmasıyla indirekt olarak gerçekleştirilmesi tavsiye edilmektedir (57). Akrilik reçine protez kaide materyallerinin *in vitro* sitotoksitesinin hücre kültürleri aracılığıyla ve değişik hücresel parametreler kullanılarak incelendiği önceki çalışmalarda direkt (25) veya indirekt (22,24,25,52,70,71,93-95) yöntemlerin kullanımı bildirilmekte ve direkt yöntemde sitotoksik etkinin daha fazla olduğu bildirilmektedir. Öte yandan, suya (27,74,84,92,131,167-169), tükürüğe (9,12,101,163) veya yapay tükürüğe (85) salınımı bildirilen artık monomerin salınan konsantrasyonlarının ağız mukozasında irritasyon, enflamasyon ve hatta allerji gibi doku reaksiyonlarına yol açabilecek nitelikte olduğu belirtilmektedir (16, 43, 72, 75, 104, 111, 155,

164, 176). Dolayısıyla, bu çalışmada sitotoksisite testlerinde materyalin ekstraktlarının yani artık MMA'nın salındığı sıvının kullanılması uygun görülmüştür. Protez kaidesinden sıvı ortama difüzyon yoluyla geçebilen (9,12,74,84,85,101,131,163,168) ve sitotoksik etki gösteren komponentlerin (93) tükürük içindeki konsantrasyonlarının da zamana ve yenilenen tükürük salgılanmasına bağlı olarak değişebileceği düşünülerek her ekstraksiyon periyodu sonunda ekstraksiyon sıvısının tazelenmesi uygun görülmüştür. Bu nedenle, akrilik reçine örneklerin complete hücre kültürü medyumunda farklı sürelerde 37°C'de bekletilerek gerçekleştirilen ekstraksiyon periyotları sonunda elde edilen ekstrakt sıvısı tamamen değiştirilip örnekler üzerine yeniden taze hücre kültür medyumuna eklenmiştir (52,93,145). Bu uygulama *in vivo* şartlar altında ağız boşluğuna salgılanan tükürüğün yutma ile gastrointestinal sisteme doğru uzaklaştırılması ve yeni tükürük ortamının oluşmasının *in vitro* olarak simüle edilmesi amacıyla tercih edilmiştir. Ayrıca, **ISO 10993-5** (57)'de ekstraksiyon işlemi 37°C'de gerçekleştirildiğinde ekstraksiyon süresinin 24 saatten az olmaması gerektiği belirtilmektedir. İlave olarak, literatürde akrilik reçinelerin 1 ve 2 gün süreli ekstraksiyon periyotları sonundaki sitotoksik özellikleri ağırlıklı olarak incelenmiştir (22,24,25,70,71,78,93,95,145). Öte yandan, *Huang ve ark.* (52). akrilik reçine örneklerin ekstraksiyon ortamına yerleştirilmesinden itibaren 1.,3. ve 5. gün; *Sheridan ve ark.* (148) 4 gün ve *Lefebvre ve ark.* (94) ise 5 gün süreyle elde edilen ekstraktların sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. Literatür taramamızda akrilik reçine örneklerin ekstraksiyon ortamına yerleştirilmesinden itibaren 7 gün sonunda elde edilen ekstraktların sitotoksik özelliklerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmadığından deneysel dizayn oluşturulurken toplam 7 günlük ekstraksiyon süresinin de incelenmesi amaçlanmıştır.

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin sitotoksik özelliklerinin incelenmesinde kullanılan sitotoksisite testlerinde en çok L-929 veya 3T3 fare fibroblastları büyüme oranları ve biyolojik cevapları nedeniyle tercih edilmekte ve rutin olarak kullanılmaktadır (22,70,71,141,159). İlave olarak, L-929 hücrelerinin toksikolojik incelemeler için spesifik olduğu American Type Culture Collection (180) tarafından da belirtilmektedir. Bununla birlikte, diş hekimliğinde kullanılan materyallerin sitotoksik özelliklerinin incelendiği deneysel

çalışmalarda dişeti dokusundan izole edilen epitel veya fibroblast hücrelerinden oluşan primer kültürler de kullanılmaktadır (35,52,97,141,146,148). Ancak, primer kültürlerde kullanılan hücrelerde birkaç pasajlamadan sonra meydana gelebilen transformasyonların testlerde elde edilen biyolojik cevaplarda varyasyonlara yol açması (52,166) sitotoksik bulguların karşılaştırılması ve standardizasyonu açısından önemli bir dezavantaj oluşturmaktadır. Bu nedenlerle; çalışmamızda *in vitro* sitotoksitenin değerlendirilmesinde kullanılmak üzere farklı polimerizasyon yöntemleri ve siklusları uygulanarak hazırlanan toplam 324 adet akrilik reçine deney örneğinden I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda elde edilen ekstraktların *in vitro* sitotoksiste ile ilişkisinin karşılaştırılmasında standart biyolojik cevabın elde edilebilmesi amacıyla L-929 fare fibroblast hücrelerinin kullanımı tercih edilmiştir.

Memeli hücrelerinden hazırlanan sistemlerde hücre sel parametrelerinin değerlendirilmesine yönelik birçok test sistemi bulunmaktadır (146). Tetrazolyum tuzlarının mitokondriyal enzimler tarafından mavi formazan bileşiğine indirgenmesi prensibine dayanan kolorimetrik yöntemler arasında bulunan ve hücre proliferasyonunun kantitatif ölçümü için çalışmamızda kullanılan XTT kolorimetrik yöntemi veya benzer yapıllı tetrazolyum tuzlarının kullanıldığı diğer kolorimetrik yöntemler son yıllarda popülerlik kazanmıştır (103,126). Ayrıca, akrilik reçine protez kaide materyallerinden elde edilen ekstraktların tetrazolyum tuzlarının indirgenme mekanizmasını etkilemediğinin bildirilmesi (52) nedeniyle XTT kolorimetrik yöntemin çalışmamızdaki deneysel dizayna uygun olduğuna karar verilmiştir.

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin salındıkları sıvı ortamda düşük konsantrasyonlarda dahi sitotoksik etki oluşturabileceği belirtilmektedir. Artık monomerin kantitatif olarak tayininde kullanılan UV dedektörlü HPLC sistemi yaklaşık olarak 1 µg/mL oranında dedeksiyon limitine sahiptirler (44,64). HPLC yönteminde tüm işlemler oda sıcaklığında gerçekleştirilebildiğinden artık monomer miktarının belirlenmesinde daha doğru sonuçlar elde edilebileceği de ayrıca bildirilmektedir (2). Bu nedenle çalışmamızda akrilik reçine deney gruplarından ekstraksiyon periyotları sonunda elde edilen ekstraktlara salınan MMA konsantrasyonunun hassas ölçümünün yapılabilmesi amacıyla HPLC

yöntemi kullanılmıştır. Polimerizasyon reaksiyonu sonrasında polimer yapı içerisinde reaksiyona girmeden kalan artık monomerin büyük çoğunluğunun MMA'dan oluştuğu bildirildiğinden (87,92,107,168) bu çalışmada da ekstrakt sıvılarında artık MMA konsantrasyonu incelenmiştir.

Çalışmamızda ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney grupları arasında monomerin polimere dönüşümü sırasında azalan alifatik C=C çift bağlarının sayısına bağlı olarak 1637 cm^{-1} dalgasayısındaki yoğunluk değerlerinde de değişimler saptanmıştır. Diş hekimliğinde protez kaidesi yapımında kullanılan ve genellikle toz-likit komponentin karıştırılmasıyla hazırlanan akrilik reçinelerde polimerizasyon alifatik C=C çift bağı boyunca gerçekleşen bir serbest radikal polimerizasyondur. Polimerizasyon devam ederken, alifatik C=C çift bağlarının sayısı azalma gösterir. Spektroskopik olarak alifatik C=C çift bağlarının miktarındaki azalmaya C=C çift bağı ile ilgili 1637 cm^{-1} dalgasayısındaki absorban değerlerindeki azalmanın da eşlik ettiği bildirilmektedir (7,10,14,32). Bu nedenle, bu çalışmada farklı polimerizasyon sikluslarının monomerin polimere dönüşümündeki etkisinin FTIR spektrometresi ile incelenmesinin uygun bir ölçüm yöntemi olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızda polimerizasyon yöntemlerine bağlı olarak monomerin polimere dönüşüm ortalamaları incelendiğinde en yüksek dönüşüm oranı ısı ile polimerize olan deney gruplarında (% 90,36) daha sonra mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarında (% 87,79) saptanmıştır. En düşük monomerin polimere dönüşüm oranı ise kimyasal yolla polimerize olan (% 85,71) deney gruplarında belirlenmiştir. Bulgularımız, ısı ve mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yöntemlerinde monomerin polimere dönüşüm oranını FTIR spektroskopisi ile inceleyen *Bartoloni ve ark.* (14) 'nın bulguları ile paralellik göstermektedir. Isı ile ve mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yöntemlerinde, polimerizasyon reaksiyonu sırasında açığa çıkan ekzotermik ısı monomer moleküllerinin hareketliliğini artırarak aktivasyonu sağlarken; kimyasal yolla polimerizasyon yöntemlerinde DMPT tarafından aktivasyon sağlanarak oda sıcaklığında gerçekleştiğinden, ısı ve mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon sonucunda oluşan monomer dönüşümünün daha fazla olabileceği

bildirilmektedir (167-169). Kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarının ortalama $[MMA]_a$ değerlerinin ise I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda ısı ile polimerize olan deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.4). Bu bulgumuz, kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerde ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerden daha fazla artık MMA olduğunu (17,38,50,131,134,168) ve bu nedenle de sıvı ortama daha fazla MMA salındığını (12,163,167,169) bildiren önceki çalışmalar tarafından desteklenmektedir. Çalışmamızda kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde belirlenen monomerin polimere dönüşüm oranının ısı ile polimerizasyon yönteminde sağlanan dönüşüm oranından daha düşük belirlenmesi aynı zamanda $[MMA]_a$ değerleri arasındaki farklılığı açıklamaktadır.

In vitro sitotoksikite testleri ile ilgili düzenlemelerin yer aldığı **ISO 10993-5**'de (57) belirtilen kriterlere göre; negatif kontrol materyaline oranla hücre proliferasyonunu % 25'ten daha az inhibe eden (% 75'ten fazla hücre proliferasyonu) materyaller '*non-sitotoksik*', % 25-50 arasında inhibe eden (% 50-75 hücre proliferasyonu) materyaller '*hafif derecede sitotoksik*', % 50-75 (% 25-50 hücre proliferasyonu) arasında inhibisyon oluşturan materyaller '*orta derecede sitotoksik*' ve % 75'ten fazla inhibisyon oluşturan (% 25'ten az hücre proliferasyonu) materyaller ise '*yüksek derecede sitotoksik*' olarak sınıflandırılmaktadır. Çalışmamızda incelenen deney gruplarının *in vitro* sitotoksik özellikleri '*hafif derecede sitotoksik*' ile '*non-sitotoksik*' dereceler arasında değişmektedir. Genel olarak, tüm ekstraksiyon periyotları sonunda elde edilen ekstraktlarda saptanan $[MMA]_a$ değerleri ile hücre proliferasyonu değerleri arasında negatif korelasyon belirlenmiştir (Tablo 4.27 - 4.29). Bu çalışmada, ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarının *in vitro* sitotoksik etkilerinin $[MMA]_a$ ile doğru orantılı olarak değiştiği; bir başka deyişle ekstrakt sıvısında $[MMA]_a$ değerlerinin artmasının hücre proliferasyonu değerlerini azaltarak *in vitro* sitotoksik etkiyi arttırdığı gözlenmiştir. Bu nedenle, ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçine protez kaide polimerlerinin biyolojik ortamda (hücre kültür medyum) ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktların indirekt olarak hücre kültürlerine uygulanması sonucunda belirlenen *in vitro* hücre proliferasyonu

değerlerine dayanarak ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerizasyon yöntemleri ile elde edilen protez kaide polimerlerinin genel olarak **ISO 10993-5 (57)**'de belirtilen kriterlere göre L-929 hücrelerine *hafif derecede sitotoksik* etkili olduğunu belirtebilmekteyiz (Tablo 4.16).

Çalışmamızda kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde [MMA]_a değerleri ile hücre proliferasyonu değerleri arasında sadece III. ekstraksiyon periyodunda istatistiksel olarak anlamlı olmak I., II. ve III. ekstraksiyon periyodu sonunda negatif yönde; IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise pozitif yönde korelasyon belirlenmiştir (Tablo 4.29). I., II. ve III. ekstraksiyon periyodu sonunda kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarının sitotoksik etkileri ekstraksiyon ortamına salınan [MMA]_a değerleri ile ilişkili olduğunu ifade edebiliriz. IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise ortalama [MMA]_a değerleri bu periyot sonunda en düşük değerleri göstermesine rağmen (Tablo 4.12); III. ve IV. ekstraksiyon periyotları arasındaki hücre proliferasyonu değerlerinde de istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma belirlenmiştir (Tablo 4.23 ve 4.25). Hücre proliferasyonu değerlerindeki bu azalma kültür ortamında meydana gelebilecek negatif bir koşula bağlı olabilen biyolojik cevaba veya kimyasal yolla polimerize olan protez kaidelerinden salınabilen MMA dışındaki başka kimyasal maddelere (163) bağlı olabilir. Kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarının ekstraksiyon periyotları sonundaki ortalama [MMA]_a değerlerinin mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarından düşük (Tablo 4.4); ve hücre proliferasyonu değerlerinin ise I., II. ve III. ekstraksiyon periyodu sonunda mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarının değerlerinden yüksek olarak saptanmıştır (Tablo 4.16). Bu bulgumuz, ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerin kimyasal yolla veya mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinelere göre daha az *in vitro* sitotoksik etki gösterdiğini bildiren önceki çalışmalarla (34,35,46,67,81,138,160) uyum göstermekte; ancak mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminin değerlerinde paralellik göstermemektedir. *Sheridan ve ark.* (148), 1 ile 4 günlük ekstraksiyon periyotları sonunda mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinelerin *in vitro* sitotoksik etkisinin kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelere göre daha düşük olduğunu belirtmektedir. Mikrodalga enerjisi ile polimerize edilen akrilik reçinelerde artık MMA miktarının ısı ile polimerize edilen akrilik reçinelerden

daha yüksek (18), benzer (150) veya daha düşük (29) olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda I., II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarının ortalama $[MMA]_a$ değerlerinin ısı ve kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerinden çok ileri derecede anlamlı ($p<0.001$) olarak daha yüksek değerler gösterdiği saptanmıştır (Tablo 4.4). Aynı şekilde, mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarının hücre proliferasyonu değerleri ile ısı ve kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarının hücre proliferasyonu değerleri arasında istatistiksel olarak çok ileri derecede anlamlı ($p<0.001$) yönde daha düşük değerlerde bulgular saptanması da (Tablo 4.16) mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde saptanan daha yüksek $[MMA]_a$ değerlerine bağlı olabileceği görüşündeyiz (Tablo 4.4). Öte yandan, *Ergün* (35), 1 günlük ekstraksiyon periyodu sonunda mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinelerin *in vitro* sitotoksitesinin hem ısı ile hem de kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerden daha düşük olduğunu bildirmektedir. Bulgularımız arasında paralellik olmaması, deneysel yöntem ve sitotoksikite testlerinde kullanılan hücrelerin biyolojik cevabı gibi etkenlere bağlı olabilir.

Genel olarak *hafif derecede sitotoksik* etkili olarak değerlendirilen ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerizasyon yöntemlerinin farklı polimerizasyon siklusları uygulamaları ile sitotoksik etkilerinin *orta derecede sitotoksik* etki ile *non-sitotoksik etki* arasında değişen derecelerin elde edildiği saptanmıştır (Tablo 4.17, 4.20 ve 4.23). Materyallerin toksik etkileri doza ve zamana bağlı olarak değişebildiğinden (142), polimerizasyon sikluslarına bağlı olarak elde edilen monomerin polimere dönüşüm oranına ve ayrıca ekstraksiyon periyotları sonunda ekstraktlarda $[MMA]_a$ değerleri (Tablo 4.5, 4.8 ve 4.12) ile hücre proliferasyonu değerleri arasındaki negatif yöndeki korelasyon (Tablo 4.27-4.29) da farklı derecelerde belirlenen *in vitro* sitotoksik etkinin nedenini açıklamaktadır.

Çalışmamızda, ısı ile polimerizasyon yönteminde uzun süreli (3 saat) terminal kaynatmanın uygulandığı deney grubunda (H3) en yüksek (% 97,45); terminal kaynatma uygulanmadan 74°C'de 9 saat gibi uzun süreyle polimerize edilen grupta (H1) en düşük (% 87,82) dönüşüm oranı saptanması bulgusu

terminal kaynatmanın artık monomer miktarını azalttığını bir başka deyişle monomerin polimere dönüşüm oranını arttırdığını bildiren çalışmalarla (17,48,50,53,168) paralellik göstermektedir (Tablo 4.1, Şekil 4.1). Akrilik reçinelerin polimerizasyonunda polimerizasyon süresi ve ısısının arttırılmasına bağlı olarak değişen artık MMA miktarına paralel olarak (50,53,168) salınan artık MMA miktarının da azaldığı bildirilmektedir (8,9,84,154). Çalışmamızda terminal kaynatma uygulaması ile elde edilen daha yüksek oranlardaki monomerin polimere dönüşümü, terminal kaynatma uygulanan gruplarda ve özellikle I. ve II. ekstraksiyon periyotları sonunda belirgin olarak düşük $[MMA]_a$ değerlerinin ortaya çıkmasına neden olduğu görülmektedir (Tablo 4.1 ve 4.5, Şekil 4.4). Terminal kaynatmanın uygulandığı deney gruplarında, kısa süreli (H2, H4) ve uzun süreli (H3) terminal kaynatma süresinin uygulandığı gruplar arasında elde edilen monomerin polimere dönüşüm oranı ve $[MMA]_a$ değerleri arasındaki farklılıklar terminal kaynatma süresi arttıkça monomer miktarının azaldığını bildiren daha önceki çalışmalara (46,50,53,66,74,100,168) ait bulgularla desteklenmektedir. Isı ile polimerize olan deney grupları arasında ilginç bir bulgu ise, 74°C'de 30 dk ve daha sonra 100°C'de 30 dk kaynatmanın (kısa süreli terminal kaynatma) başka deyişle kısa süreli polimerizasyon işleminin uygulandığı H4 deney grubunda terminal kaynatma uygulanmadan sadece 74°C'de 9 saat süreyle polimerize edilen H1 deney grubunda elde edilen dönüşüm oranının daha yüksek saptanmasıdır. Bu bulgu ile akrilik reçinelerin polimerizasyonunda kısa süreli polimerizasyon sikluslarının tercih edildiği (8) de göz önünde bulundurulduğunda, ısı ile polimerizasyon yönteminde en az 30 dk süreyle olmak üzere uygulanan terminal kaynatmanın önemini ve gereğini ortaya çıkarmaktadır (Tablo 4.1 ve 4.5). *Baker ve ark.* (12), terminal kaynatma uygulanmadan 70°C'de 1 saat ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerden hazırlanan damak plaklarından tükürüğe salınan ortalama $[MMA]_a$ 'nın 1 gün sonunda 6.3 µg/mL olduğunu ve 70°C'de 3 saatten daha uzun süreyle ısı ile polimerize edilerek hazırlanan damak apearelerinden ise tükürüğe salınan artık MMA saptanmadığını bildirmektedirler. Çalışmamızda, terminal kaynatma uygulanmadan 74°C'de 9 saat süreyle polimerize olan deney gruplarında ekstrakt sıvılarında I. ekstraksiyon periyodu saptanan $[MMA]_a$ değerleri 6.45 µmol/L olarak belirlenmiştir ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda

[MMA]_a 4.04 µmol/L seviyesine düşmüştür (Tablo 4.5). Bu bulgu *Baker ve ark.* (12) tarafından tükürükte 1 gün sonunda salındığı belirtilen [MMA]_a değerlerinden yüksektir. İlave olarak, I. ve II. ekstraksiyon periyotları sonunda en düşük [MMA]_a değerlerinin saptandığı uzun süreli terminal kaynatmanın uygulandığı H3 deney grubunun [MMA]_a değerleri ile terminal kaynatma uygulanmayan H1 deney grubunun [MMA]_a değerleri arasında çok ileri derecede anlamlı ($p \leq 0.001$), üretici firma tarafından önerilen polimerizasyon siklusu ile polimerize edilen H4 deney grubunun [MMA]_a değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($p < 0.05$) saptanmıştır (Tablo 4.6). İlginç bir bulgu ise, ısı ile polimerize olan deney grupları arasında I. ve II. ekstraksiyon periyodu sonunda en düşük [MMA]_a değerlerinin saptandığı H3 deney grubunda II. ekstraksiyon periyodundan itibaren [MMA]_a değerlerinin artması, ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerde bulunan artık MMA'nın suya salınım mekanizmasının daha dirençli olması bulgusuna bağlı olabilir (9).

Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarından H3 deney grubu dışındaki deney gruplarının *in vitro* sitotoksik etkileri IV. ekstraksiyon periyodu (7 günlük) sonunda birbirlerine oldukça yakın değerler göstermiş (Tablo 4.17, Şekil 4.7) ve **ISO 10993-5'de** (57) belirtilen kriterlere göre L-929 hücreleri üzerinde *hafif sitotoksik etki* oluşturdukları saptanmıştır. [MMA]_a ve hücre proliferasyonu değerleri arasında I. ve II. ekstraksiyon periyotları sonunda istatistiksel olarak anlamlı olmak üzere ($p < 0.05$) tüm ekstraksiyon periyotları sonunda negatif korelasyon belirlenmiştir (Tablo 4.27). Ancak, I. ve II. ekstraksiyon periyotları sonunda ısı ile polimerize olan deney grupları arasında en düşük *in vitro* sitotoksik etki (en yüksek hücre proliferasyonu değerleri) uzun terminal kaynatmanın yapıldığı H3 deney grubunda saptanmıştır ve **ISO 10993-5'de** (57)'de belirtilen kriterlere göre bu periyotlar sonunda % 80 üzerinde hücre proliferasyonu belirlendiğinden H3 deney grubu L-929 hücreleri üzerine *non-sitotoksik etki* göstermiştir. Bu bulgu, aynı ekstraksiyon periyotları sonunda ısı ile polimerize olan deney grupları arasında H3 deney grubunun [MMA]_a değerlerinin düşük olması bulgusuna bağlı olabilir (Tablo 4.17). Aynı şekilde, H3 deney grubunda II. ekstraksiyon periyodundan sonra *in vitro* sitotoksik etkideki anlamlı artışın ($p < 0.05$, Tablo 4.19) ekstraktlarda saptanan [MMA]_a'nın da

yüksek oranda artmasına bağlı olabileceği düşüncesindeyiz. III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda ise en düşük sitotoksik etki 74°C'de 9 saatten sonra kısa süreli terminal kaynatma uygulanan H2 deney grubunda saptanmıştır. H2 deney grubunun $[MMA]_a$ ve hücre proliferasyonu değerlerinde I.-IV. ekstraksiyon periyotları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişimler saptanmamasına rağmen (Tablo 4.5 ve 4.17), III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonundaki ısı ile polimerize olan deney grupları arasında en düşük $[MMA]_a$ değerlerinin elde edilmesi H2 grubunda en yüksek hücre proliferasyonu değerleri görülmesine neden olmuş olabilir.

Akrilik reçineden hazırlanan örneklerin suda bekletilmesi sonucunda artık MMA miktarının difüzyon yoluyla sıvı ortama salınarak büyük oranda azaldığı dolayısıyla tükürüğe salınması olası artık MMA miktarının da azaltılabileceğini bildirilmektedir (88,154,167). Çalışmamızda ısı ile polimerize olan deney gruplarında özellikle I. (1 günlük) ve II. (2 günlük) ekstraksiyon periyotları arasında $[MMA]_a$ değerlerinde büyük oranda azalma belirlendiğinden, *hafif derecede sitotoksik* olarak belirlenen sitotoksik etkinin azalarak *nonsitotoksik* etki derecesinin oluşturulması için protez kaidelerinin en az 2 gün süreyle suda bekletilmesinin uygun olabileceği düşüncesindeyiz. Öte yandan, III. (5 gün) ve IV. (7 gün) ekstraksiyon periyotları sonunda $[MMA]_a$ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan artışlar belirlenmesine rağmen (Tablo 4.7), ısı ile polimerize olan deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarının ortalama $[MMA]_a$ değerlerinden belirgin olarak çok düşük düzeydedir.

Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde üretici firma (1) tarafından önerilen, 500 W güçte 3 dk süreyle uygulanan polimerizasyon siklusu sıklıkla kullanılmaktadır (5, 10, 11, 14, 17, 20, 22, 27, 30, 35, 70, 71, 87, 105, 113, 125,150,160,165,171-173,182). Bu polimerizasyon siklusu ile en iyi fiziksel özelliklerin (porozite, renk gibi) elde edildiği bildirilmektedir (29,55). Ancak, yüksek güçte (500 W üzeri) 3 dk'dan daha uzun süreyle mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon sonucunda iyi fiziksel ve mekanik özelliklerin elde edildiğini belirten çalışmaların (29,79,87,112) yanı sıra, düşük güçte (90 W) ve uzun süreyle (13 dk) uygulanan polimerizasyon işleminin de uygun fiziksel özellikler

oluşturduğunu belirten çelişkili bulgular da bildirilmektedir (82,87,125). Tez çalışmamızdan önce yaptığımız pilot çalışmada, yüksek güçte 5 dk ve daha fazla sürelerde mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon gerçekleştirildiğinde akrilik reçinede gözle görünür olarak porozite oluşumu nedeniyle bu çalışmada yüksek güçte 3 dk'dan daha uzun polimerizasyon süresinin uygulanmamasına bunun yerine ilave olarak mikrodalga enerjisinin düşük güçte (90 W) kısa süreli (3 dk) olarak uygulanmasına karar verilmiştir. Bununla birlikte, literatürde düşük veya yüksek güçte farklı süreler uygulayarak mikrodalga enerjisi ile polimerize edilen akrilik reçine protez kaide polimerlerinde monomerin polimere dönüşüm oranı ve suya salınan artık MMA miktarı incelenmiş (13); ancak farklı polimerizasyon sikluslarının *in vitro* sitotoksosite ve artık monomer miktarı ile ilişkisinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, mikrodalga enerjisi ile kullanımı önerilen farklı polimerizasyon sikluslarının (29,55,79,82,87,112,125,165) da ayrıca *in vitro* sitotoksosite ile ilişkisinin incelenmesinin araştırmamızda yer alması uygun görülmüştür.

Çalışmamızda mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarında en yüksek dönüşüm oranı (% 96,98) 500 W güçte 3 dk süreyle polimerize edildikten sonra ilave olarak 90 W güçte 3 dk polimerize edilen deney grubunda (M5); en düşük (% 72,23) ise 90 W güçte 13 dk süreyle polimerize edildikten sonra ilave olarak 30 dk suda bekletilen deney grubunda (M2) saptanmıştır (Tablo 4.2, Şekil 4.2). Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçine için üretici firma tarafından önerilen (199) 500 W güçte 3 dk süreyle polimerizasyon siklusunda ise % 93,7 oranında dönüşüm oranı saptanmıştır. Bu bulgumuz, aynı materyalin 500 W güçte 3 dk süreyle polimerizasyonu sonucunda % 92,63 oranında monomer dönüşüm oranı bildiren *Bartoloni ve ark.* (14)'nın çalışmasındaki orana çok yakın bir değerdir. Literatürde, farklı siklusların uygulanması ile mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinenin dönüşüm oranlarının incelendiği sadece bir çalışma (13) mevcuttur. *Azzari ve ark* (10) en yüksek dönüşüm oranının 500 W güçte 5 dk polimerizasyon sonucunda elde edildiğini; 500 W ve daha yüksek güçte 5 dk'dan fazla mikrodalga enerjisi uygulaması ile daha az dönüşüm oranı ve daha fazla artık monomer oranı elde edildiğini bildirmektedirler. Araştırmacılar, bu bulgunun mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinenin ısısal cevabına bağlı olarak daha fazla

mikrodalga enerjisinin karbon çift bağlarının miktarını azaltmadığını, polimerizasyon reaksiyonu sırasında oluşan fazla ısının serbest radikal mekanizmalarında ilave sekonder reaksiyonlara yol açarak artık monomer miktarını arttırdığını dolayısıyla da dönüşüm oranını azalttığını bildirmektedirler. Bu nedenle çalışmamızda en yüksek dönüşüm oranının elde edildiği M5 deney grubunda 500 W güçte, 3 dk süreyle polimerizasyondan sonra uygulanan kısa süreli ve düşük güç uygulamasının akrilik reçinenin polimerizasyonu sırasında ilave sekonder reaksiyonlara yol açmadan daha fazla monomer dönüşümü sağladığı kanısındayız. Aynı şekilde, önerilen 500 W güçte, 3 dk süreyle mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon işlemi uygulamasına ilave olarak 90 W güçte 3 dk mikrodalga enerjisi uygulamasının (M5) sadece 500 W güçte 3 dk süreyle mikrodalga enerjisi uygulamasına (M3) göre ekstraksiyon periyotları sonunda daha düşük $[MMA]_a$ değerleri göstermesi yüksek orandaki monomerin polimere dönüşüm oranından kaynaklanmaktadır (Tablo 4.2 ve 4.8, Şekil 4.5). Bununla birlikte M5 deney grubunda II. ekstraksiyon periyodu sonunda $[MMA]_a$ değeri yaklaşık olarak % 75 oranında azalmış ve III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda elde edilen ekstraktlarda HPLC sistemi tarafından artık MMA detekte edilememiştir (Tablo 4.8, Tablo 4.10 ve Şekil 4.5).

Özellikle kimyasal yolla polimerizasyon yöntemi ile polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyallerinin polimerizasyon işlemi sonrasında monomerin polimere dönüşüm oranının artırılması ile birlikte artık monomer miktarının azaltılmasına yönelik olarak önerilen diğer bir ısıl işlem ise polimerizasyon işleminden sonra 10-80°C sıcaklıktaki suda bekletme işlemidir (17,22,70,71,92,115,163). Monomerin polimere dönüşüm oranında artışa ve artık MMA miktarındaki azalmaya neden olan mekanizma suyun sıcaklığının yanı sıra havadaki oksijenin akrilik reçinenin monomer dönüşümünü inhibe edici etkisini ortadan kaldırarak bariyer görevi görmesi etkisi ile açıklanmaktadır (27,92,115). Ancak, literatür taramamızda, mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinelerde polimerizasyon işleminden sonra 37°C'nin üzerindeki sıcaklıktaki suda bekletme işlemi gibi alternatif uygulamayı inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminden sonra akrilik reçinenin 60°C'deki suda 30 dk süreyle bekletilmesinin monomerin polimere dönüşüm oranına ve artık MMA

miktarına etkisinin değerlendirilmesine karar verilmiştir. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney grupları arasında sadece mikrodalga enerjisinin uygulandığı polimerizasyon sikluslarında (M1, M3 ve M5 deney grupları) monomerin polimere dönüşüm oranı ilave olarak 60°C'deki suda 30 dk daha bekletilen polimerizasyon sikluslarında (M2, M4 ve M6 deney grupları) belirlenen dönüşüm değerlerinden daha yüksek belirlenmiştir (Tablo 4.2). Bu bulgu mikrodalga enerjisinden sonra 60°C sıcaklıktaki suda bekletmenin polimer yapıda degradasyona yol açmasına olmasına bağlı olabilir. İlginç bir başka bulgu ise, 500 W güçte 3 dk süreyle (M3) ve 90 W güçte 13 dk süreyle (M1) polimerize edilen ve ilave olarak 60°C'deki suda 30 dk daha bekletilen deney gruplarının (M2 ve M4) dönüşüm oranlarında yaklaşık olarak %15 oranında azalma belirlenmiştir. Ancak, en yüksek dönüşüm oranının elde edildiği M5 deney grubuna ilave olarak uygulanan 60°C'deki suda 30 dk bekletme işlemi dönüşüm oranını yaklaşık olarak % 1 civarında azaltmıştır. Bu durum M5 deney grubunda elde edilen maksimum dönüşüm nedeniyle polimer yapı içinde kalan artık monomer miktarının minimal düzeyde olması nedeniyle, ısıl işlemler karşısında monomer dönüşümünü olumsuz yönde etkileyebilecek fazla sekonder reaksiyonların oluşmadığı görüşünderiz (10). Ayrıca, mikrodalga enerjisi ile polimerize edilen (M1, M3 ve M5) deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri ilave olarak 60°C'deki suda 30 dk daha bekletilen (M2, M4 ve M6) deney gruplarının $[MMA]_a$ değerlerinden tüm ekstraksiyon periyotları sonunda daha yüksek değerler saptanmıştır (Tablo 4.8). Polimerizasyon işlemi sonrasında artık monomer miktarının azaltılmasına yönelik olarak ve özellikle kimyasal yolla polimerizasyon yöntemi ile polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyalleri için önerilen polimerizasyon işleminden sonra 10-80°C sıcaklıktaki suda bekletme işleminin (17,22,70,71,92,115,163) genel olarak $[MMA]_a$ değerlerini anlamlı olarak azalttığı belirlenmiştir (Tablo 4.11). Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon işlemi sonrasında 60°C sıcaklıktaki suda bekletilen deney gruplarında belirlenen $[MMA]_a$ değerlerindeki anlamlı azalmalarda da hem suyun sıcaklığının hem de oksijenin etkisini inhibe edici bariyer sağlaması mekanizması neden olabilir (Tablo 4.8 ve 4.11). Bulgularımız monomer moleküllerinin hareketliliğini arttıran mikrodalga enerjisinin yüksek oranda monomer dönüşümüne yol açtığını bildiren çalışmaları (18,38) desteklemekte

ve ayrıca ilave olarak 60°C'deki suda 30 dk daha bekletme işleminin [MMA]_a değerlerinde oluşan ileri derecedeki anlamlı farklılıklar ($p < 0.01$) (Tablo 4.11) mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde ilave olarak 60°C'deki suda 30 dk daha bekletme işleminin klinik açıdan avantajlı olabileceğini göstermektedir. Ancak, mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminden sonra 60°C sıcaklıkta ilave olarak suda bekletme işleminin monomer dönüşüm oranı ve artık MMA miktarı açısından inceleyen çalışma olmadığından, mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde alternatif ısısal işlemlerin etkisini inceleyen araştırmaların yapılmasının yararlı olabileceğini önermekteyiz. Ancak, ekstrakt sıvılarında azalan [MMA]_a değerlerine paralel olarak çalışmamızda 60°C'deki suda 30 dk bekletme işleminin mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde *in vitro* sitotoksik etkiyi azalttığı bulgusu (Tablo 4.21) *Jorge ve ark. (71)* tarafından ısı ile polimerizasyon yöntemi için bildirilen bulgulara paralellik gösterdiğini belirtebiliriz.

Çalışmamızda düşük güçte mikrodalga enerjisi ve uzun süreli polimerizasyon siklusu (90 W güçte 13 dk süre) uygulanan M1 deney grubunda monomerin polimere dönüşümü % 88 oranında belirlenmişken (Tablo 4.2, Şekil 4.2); ekstrakt sıvılarında saptanan [MMA]_a değerinin mikrodalga enerjisi ile polimerize olan diğer deney gruplarının [MMA]_a değerlerinden belirgin derecede yüksek saptanmıştır (Tablo 4.8). İlave olarak, M1 deney grubundan salınan [MMA]_a değeri üretici firma tarafından uygulanması önerilen ve bu çalışmada % 93 oranında monomerin polimere dönüşüm oranı belirlenen 500 W güçte 3 dk süreyle polimerize edilen M3 deney grubundan salınan [MMA]_a değerinden I. ekstraksiyon periyodu sonunda yaklaşık olarak 30 kat daha fazladır. Bununla birlikte M1 deney grubunun [MMA]_a değeri II. ekstraksiyon periyodu sonunda yaklaşık % 73 oranında azalma göstermiş; IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise [MMA]_a değeri I. ekstraksiyon periyodunda saptanan değerlerin yaklaşık olarak % 90'ı değerine inmiştir (Tablo 4.8, Şekil 4.5). M1 deney grubunun [MMA]_a değerlerinin I.-IV. ekstraksiyon periyotları arasında istatistiksel olarak çok ileri derecede anlamlı ($p < 0.001$) azalması artık MMA'nın I., II. ve III. ekstraksiyon periyotları sonunda büyük oranda difüzyon yoluyla sıvı ortama salınmasına (9, 12, 27, 74, 84, 85, 92, 101, 131, 133, 163, 167, 169) veya polimerizasyon işlemi sonrasında devam edebilen monomerin polimere ilave

dönüşümüne (88,154) bağlı olabilir (Tablo 4.10). Literatür taramamızda 90 W güçte 13 dk süreyle mikrodalga enerjisi ile polimerize edilen akrilik reçinelerin gerek reçine yapısında gerek çevresindeki sıvı ortama salınan artık MMA miktarını inceleyen bir çalışmaya rastlanmadığından, M1 deney grubuna ait $[MMA]_a$ değerlerinin literatür bulgularıyla karşılaştırılması mümkün olamamaktadır. *Baker ve ark.* (12), ortodontik akrilik reçineden hazırlanmış damak plaklarının kullanımından 3 saat sonra, ölçü yüzeyindeki tükürük film tabakasında 180 µg/mL olarak saptanan $[MMA]_a$ değerinin tükürükte saptanan $[MMA]_a$ değerinden yaklaşık 4 kat daha fazla olduğunu bildirmekte ve bu konsantrasyonun damak mukozasında hassasiyet veya alerjik reaksiyonlar oluşturabilecek kadar yüksek olduğunu belirtmektedirler. Çalışmamızda M1 deney grubunda saptanan yüksek $[MMA]_a$ değerlerinin sıvı ortamda saptanan değerler olduğu göz önünde bulundurulursa, 90 W güçte 13 dk süreyle mikrodalga enerjisi uygulanan akrilik reçineden hazırlanan protez kaidesi ağız dokuları ve gastrointestinal sisteme toksik veya alerjik reaksiyonlar gibi istenmeyen etkiler oluşturabileceği kanısındayız (12,163).

Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarının genel olarak **ISO 10993-5** (57) kriterlerine göre L-929 hücrelerine *hafif derecede sitotoksik* etkili olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.20) ve $[MMA]_a$ ve hücre proliferasyonu değerleri arasında bulunan negatif korelasyon II. ve III. ekstraksiyon periyotları sonunda ileri derecede anlamlı ($p<0.01$), IV. ekstraksiyon periyodu sonunda ise anlamlı ($p<0.05$) olarak belirlenmiştir (Tablo 4.28). Materyallerin toksik etkileri de doza ve zamana bağlı olarak değişebildiğinden (142), $[MMA]_a$ değerleri mikrodalga enerjisi ile polimerize olan deney gruplarında da *in vitro* sitotoksiteyi etkilemektedir. Ancak, I. ve II. ekstraksiyon periyotları sonunda M1 deney grubunda çok yüksek oranda saptanan $[MMA]_a$ 'a rağmen (Tablo 4.20), hücre proliferasyonu değerleri genel olarak incelendiğinde M1 deney grubunun da diğer deney grupları gibi **ISO 10993-5** (57) kriterlerine göre L-929 hücrelerine *hafif derecede sitotoksik* etkili olduğu belirlenmiştir. Öte yandan, M1 deney grubunun $[MMA]_a$ değerlerinin I.- IV. ekstraksiyon periyotları arasında çok ileri derecede anlamlı ($p<0.001$) olarak azalmasıyla birlikte (Tablo 4.10) IV. periyot sonunda *in vitro* sitotoksik etkisinin artması (Tablo 4.28) ise ilginç ve beklenmedik bir bulgudur. İlave olarak III. ekstraksiyon periyodu sonunda M1

deney grubunun $[MMA]_a$ değeri M5 deney grubunun $[MMA]_a$ değerinden ileri derecede anlamlı olarak daha yüksek olmasına rağmen (Tablo 4.9); aynı ekstraksiyon periyodu sonunda M1 deney grubunun hücre proliferasyonu değerleri M5 deney grubunun hücre proliferasyonu değerlerinden ileri derecede ($p < 0.01$) anlamlı olarak yüksektir (Tablo 4.21). M1 deney grubuna ait hücre proliferasyonu değerleri dikkate alındığında **ISO 10993-5** (57) kriterlerine göre L-929 hücreleri üzerine *hafif derecede sitotoksik* etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak, ekstrakt ortamında artık MMA detekte edilemeyen M4, M5 ve M6 gruplarının *non-sitotoksik* etki göstermesi gerekirken *hafif derecede sitotoksik* etkilerinin belirlenmesi (Tablo 4.19 ve 4.20) ekstrakt sıvılarında *in vitro* sitotoksikiteyi etkilemesi sözkonusu başka bileşiklerin varlığına bağlı olabilir. *Tsuchiya ve ark.* (163), ısı ile ve kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerin tükürük içinde ekstrakte edilmesiyle tükürükteki MMA'nın yanısıra formaldehitin de varlığını gözlemlemişlerdir. MMA'nın sıvı ortamda oksidasyonu sonucunda formaldehit (163) veya metakrilik asit (84,133) gibi maddelerin oluştuğu bildirilmektedir. Araştırmacılar (163), çeşitli konsantrasyonlarda MMA ve formaldehit içeren ekstraktların L strain hücre kültürleri üzerine sitotoksik etki gösterdiğini ve 0,5 $\mu\text{mol/mL}$ değerinin altındaki $[MMA]_a$ 'u sitotoksik etki oluşturmazken formaldehitin 1.0 nmol/mL gibi çok daha düşük bir konsantrasyonda bile hücre proliferasyonunu % 70 oranında inhibe ettiğini (*yüksek derecede sitotoksik*) bildirmektedirler. Çalışmamızda, M1 deney grubunda yüksek oranda $[MMA]_a$ saptanmasına rağmen, deneyler sırasında ekstraksiyon periyotları sonunda ekstraksiyon sıvılarında gözlemlenen renk ve koku değişiklikleri de ekstraksiyon sıvısının pH'sının değişmesine sebep olabilecek başka materyallerin salınımının söz konusu sorusunu akla getirmektedir. Ayrıca, mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilik reçinenin toz komponentinde bulunan PEMA'nın (Tablo 3.1) polimerizasyonu sonrasında artık olarak kalabilecek etil metakrilat (EMA) monomerinin MMA' a oranla daha yüksek orandaki *in vitro* sitotoksik etkisinin (181) de bu beklenmedik durumun açıklanmasına yardımcı olabilir. Bu nedenlerle, mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı sikluslar uygulanarak polimerize edilen akrilik reçinelerde hem sıvı ortama salınan $[MMA]_a$ hem de *in vitro* sitotoksik etkileri inceleyen bir çalışmaya rastlanmadığından bulgularımızı karşılaştırmamız

mümkün olamamakta ve mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde farklı polimerizasyon siklusları uygulamalarının etkilerinin başka çalışmalarda incelenmesinin farklı polimerizasyon siklusların oluşturduğu kimyasal reaksiyon mekanizmalarının açıklanmasında faydalı olabileceği düşüncesindeyiz.

Kimyasal yolla polimerize olan (otopolimerizan) ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney gruplarında I., II. III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda $[MMA]_a$ değerleri çok ileri derecede ($p < 0.001$) ve hücre proliferasyonu değerlerinde ise ileri derecede anlamlı ($p < 0.01$) farklılıklar belirlenmiştir (Tablo 4.12 ve 4.22). Kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinenin oda sıcaklığında veya $40^{\circ}C$ sıcaklıktaki su içeren basınçlı tencerede polimerizasyonu üretici firma tarafından önerilmektedir (27,92,182). Ayrıca, kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerde monomerin polimere dönüşüm oranının artırılması ve dolayısıyla da akrilik reçinenin fiziksel ve mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi için alternatif olarak birçok polimerizasyon siklusu da önerilmektedir. Kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarından ekstraksiyon ortamına salınan ortalama $[MMA]_a$ değerlerinin tüm ekstraksiyon periyotları sonunda genel olarak azalması ve IV. ekstraksiyon periyodu sonunda $[MMA]_a$ değerinin I. ekstraksiyon periyodu sonundaki değerlerin yarısından daha az değere düşmesi (Tablo 4.12 ve Şekil 4.6) akrilik reçinede bulunan artık MMA'nın difüzyon yoluyla salınarak (9,12,74,84,85,101,131,163,168) veya polimerizasyon işlemi sonrasında devam edebilen monomerin polimere ilave dönüşümüne (88,154) bağlı olabilir. Kimyasal yolla polimerize olan deney grupları arasında akrilik reçine oda sıcaklığında polimerize edildiğinde (O1) % 55,18 oranında monomer dönüşümü elde edilirken; basınçlı tencerede aynı süreyle ancak $40^{\circ}C$ 'de ve 2.5 bar basınç altında polimerize olduğunda (O5) bu oranın % 96,25 gibi bir değere yükseldiği gözlenmektedir (Tablo 4.3, Şekil 4.3). Bu bulgumuz kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerde basınç altında ve su içerisinde gerçekleştirilen polimerizasyon işlemi sonucunda daha yüksek monomer dönüşüm oranı elde edildiğini bildiren önceki çalışmaların bulguları (26,92,168,170) ile uyum göstermektedir. Ayrıca, O1 deney grubunda saptanan en düşük monomerin polimere dönüşüm oranı, çalışmamızda yer alan ısı ile ve mikrodalga enerjisi ile polimerize olan ve farklı sikluslar uygulanarak polimerize edilen diğer tüm deney gruplarına ait dönüşüm oranlarından da daha düşüktür.

Bu durum, PMMA'nın serbest radikal polimerizasyonunun aktivasyonu için kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde kullanılan kimyasal aktivatörün sağladığı dönüşümün ısı ile ve mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yöntemlerindeki ısı enerjisinin sağladığı monomer dönüşümden daha düşük olması (167-169) ile açıklanabilir. Kimyasal yolla polimerize olan deney grupları arasında en yüksek monomerin polimere dönüşüm oranı (% 99,9) O2, O6 ve O8 deney gruplarında saptanmıştır. Bu deney gruplarına ait FTIR spektrumlarında 1637 cm^{-1} dalgasayısında pik belirlenmediğinden monomerin polimere dönüşüm oranı maksimum olarak kabul edilmiştir. (Tablo 4.3, Şekil 4.3). Oda sıcaklığında veya basınçlı tencerede polimerize olan bu deney gruplarında uygulanan ortak ısıl işlem ise polimerizasyondan sonra örneklerin 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletilmeleridir. Cam transisyon ısı (T_g) $67-78^{\circ}\text{C}$ arasında değişen kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine (131) de polimerizasyon sonrasında uygulanan 60°C sıcaklıktaki suda bekletme işleminin monomer moleküllerinin hareketliliğini arttırarak daha yüksek molekül zincirlerinin oluşmasına ve daha yüksek monomer dönüşümüne sebep olabileceği bildirilmektedir (168). Çalışmamızda O2, O6 ve O8 deney gruplarında belirlenen en yüksek dönüşüm oranı (%99) kimyasal yolla polimerizasyondan sonra ilave olarak 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletme işleminin maksimum monomer dönüşümünün oluşmasını sağladığı belirlenmiştir. *Vallittu* (170) ve *Craig* (27) kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçine protez kaide materyallerinde uygun monomer dönüşümü sağlanması için polimerizasyon işleminin basınç altında ve su içerisinde gerçekleştirilmesinin önemini belirtirken; suyun sıcaklığının arttırılmasının monomer dönüşümü açısından olumlu sonuçlar verdiğini bildiren çalışmalar (92,115,168,170) da mevcuttur. Ayrıca, kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerin polimerizasyondan hemen sonra mikrodalga enerjisi ile ilave olarak polimerize edilmesinin daha fazla monomer dönüşümü sağladığı da bildirilmektedir (182).

Çalışmamızda, en düşük monomerin polimere dönüşüm oranının saptandığı oda sıcaklığında polimerize olan deney grubunda (O1) elde edilen dönüşüm oranının (% 55,18) bu polimerizasyon siklusuna ilave olarak 500 W güçte mikrodalga enerjisi ile polimerize edildiğinde (O3) dönüşüm oranının % 90,6'ya yükseldiği belirlenmiştir. Bu bulgu ile kimyasal yolla polimerize olan

akrilik reçinelerde polimerizasyon işlemi sonrasında mikrodalga enerjisi uygulama işleminin de monomer dönüşümünü arttırdığını çalışmamızdaki O1 ve O3 deney gruplarına ait dönüşüm oranları arasındaki belirgin farklılıkla açıklayabileceğimiz kanısında. Ancak, basınçlı tencerede polimerize edilen deney grubunda (O5) belirlenen monomerin polimere dönüşüm oranı (% 96,25) ilave olarak mikrodalga enerjisi ile polimerize edilen deney grubuna ait dönüşüm oranından (% 70,5) daha yüksektir. Aynı şekilde, O3 deney grubunda elde edilen dönüşüm oranı da ilave olarak 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletilen deney grubuna (O4) ait dönüşüm oranından daha yüksektir. Bu bulguların, akrilik reçinelerde yüksek monomer dönüşümü elde edilebilen bir siklus uygulamasından sonra uygulanan ilave ısıl işlemlerle polimerizasyon sırasında ilave sekonder reaksiyonlara yol açarak polimer yapıda bozulmalara neden olmasına bağlı olduğu kanısında (10). Olası sekonder reaksiyonlar nedeniyle elde edilen düşük dönüşüm oranı O7 deney grubundaki dönüşüm oranının (% 70,5) ilave olarak 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletilme sonrasında (O8) (% 99,9) artmasıyla da açıklanabilir (Tablo 4.3). Oda sıcaklığında polimerize edilen O1 deney grubundan salınan [MMA]_a değeri ise tüm ekstraksiyon periyotları sonunda basınçlı tencerede polimerize olan O5 deney grubunun [MMA]_a değerlerinden belirgin derecede yüksek (Tablo 4.12) ve bu deney gruplarının [MMA]_a değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak ileri derecede ($p < 0.01$) anlamlıdır (Tablo 4.15). Bu bulgu, kimyasal yolla polimerize olan ve aynı polimerizasyon sikluslarıyla basınçlı tencerede veya oda sıcaklığında polimerize edilen akrilik reçinelerde 1 gün ve 1 hafta 37°C sıcaklıktaki distile suda bekletme işleminden sonra basınçlı tencerede polimerizasyon siklusunun daha düşük [MMA]_a değerlerini oluşturduğunu bildiren *Yunus ve ark.* (182)'in bulgularını desteklemektedir. Aynı polimerizasyon siklusları uygulanarak oda sıcaklığında ve basınçlı tencerede polimerize olan deney gruplarının [MMA]_a değerleri arasında genel olarak saptanan istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar (Tablo 4.15), kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde basınçlı tencere kullanımını öneren araştırmaları (8,37,101,177,191,204) desteklemektedir. Ancak bu durum, O1 ve O5 deney gruplarında tüm ekstraksiyon periyotları sonunda elde edilen hücre proliferasyonu değerleri arasında anlamlı bir değişim yaratmamış (Tablo 4.23 ve

4.24, Şekil 4.9) ve O1, O5 deney gruplarından elde edilen ekstraktlar L-929 hücrelerine *hafif derecede sitotoksik* etki göstermiştir (57). *Baker ve ark.* (12), 55°C sıcaklıktaki su içeren basınçlı tencerede polimerize edilen kimyasal yolla polimerize olan ortodontik akrilik reçineden tükürüğe salınan $[MMA]_a$ değerinin ortalama 29.5 µg/mL olduğunu bildirmektedirler. Çalışmamızda 40°C sıcaklıktaki su içeren basınçlı tencerede polimerize olan deney grubundan (O5) salınan en yüksek $[MMA]_a$ değeri II. ekstraksiyon periyodu sonunda 8,23 µmol/L olarak saptanmıştır (Tablo 4.12). Kimyasal yolla polimerize olan ve basınçlı tencerede polimerize edilerek hazırlanan akrilik reçinelerden salınan $[MMA]_a$ değerleri arasındaki bu farklılık deneysel yöntemler ve materyaller arasındaki farklılıktan kaynaklanmış olabileceği kanısındayız. Çalışmamızda O5 deney grubunun $[MMA]_a$ için bildirilen değerlerin, *Baker ve ark.* (12) tarafından bildirilen değerlerden oldukça düşük olan kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde basınçlı tencerenin klinik açıdan oldukça avantaj sağlayabileceği fikrini oluşturmaktadır.

Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen deney grupları arasında O5 ve O8 deney grupları dışındaki tüm gruplarda IV. ekstraksiyon periyodu sonunda $[MMA]_a$ değerlerinde azalma belirlenmiş (Tablo 4.12, Şekil 4.6); ancak bu azalma O1, O2, O3 ve O6 deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlıdır (Tablo 4.12 ve 4.14). Protez kaide materyallerinde bulunan artık MMA'nın özellikle ilk 24 saat (I. ekstraksiyon periyodu) sonunda salınımı nedeniyle (9,88,167) kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçineler özellikle oda sıcaklığında ve açık koşullar altında polimerize edildiğinde su içinde bekletilmelidir. Öte yandan, O4 deney grubunda I. ekstraksiyon periyodu ile II. ve III. ekstraksiyon periyotları arasında; O7 deney grubunda ise II. ve III. ekstraksiyon periyotları arasında $[MMA]_a$ değerlerinde saptanan istatistiksel olarak anlamlı artışlar (Tablo 4.14), bu polimerizasyon siklusları uygulandığında protez kaide polimerlerinin hasta ağızına uygulanmadan önce en az 2 gün süreyle suda bekletilmesi gereğini göstermektedir. O4 ve O7 deney gruplarında kimyasal yolla polimerizasyon işleminden sonra uygulanan mikrodalga enerjisinin artık MMA'nın sıvı ortama salınımını geciktirmiş olabileceği düşüncesindeyiz.

Son yıllarda kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerde artık monomer miktarının azaltılması sonucunda akrilik reçinenin mekanik ve fiziksel özelliklerinin iyileştirilmesine yönelik olarak önerilen kimyasal yolla polimerizasyon işleminden sonra ilave olarak mikrodalga enerjisinin uygulanmasının etkili sonuçlar verdiği bildirilmektedir (18,172,182). Çalışmamızda oda sıcaklığında polimerizasyon işleminden sonra 500 W güçte 3 dk süreyle polimerize edilen O3 deney grubunun $[MMA]_a$ değerlerinin sadece oda sıcaklığında polimerize edilen O1 deney grubunun $[MMA]_a$ değerlerinden düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.12, Şekil 4.6). Tüm ekstraksiyon periyotları sonunda O1/O3 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamasına rağmen ($p>0.05$, Tablo 4.13), I. ekstraksiyon periyodu sonunda O3 deney grubundan salınan $[MMA]_a$ değerlerinin O1 deney grubuna ait değerlerin yaklaşık olarak % 20'si civarında olduğu; II., III. ve IV. ekstraksiyon periyotları sonunda ise bu oranın yaklaşık olarak % 50'ye yükseldiği belirlenmiştir (Tablo 4.12 ve 4.13). O1 ve O3 deney gruplarının hücre proliferasyonu değerlerinde farklılıklar tüm ekstraksiyon periyotları sonunda istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$) (Tablo 4.23 ve 4.24) ve $[MMA]_a$ değerlerinin tersine sitotoksik etki O3 grubunda daha fazladır. İlave olarak, basınçlı tencerede polimerizasyon işleminden sonra 500 W güçte 3 dk süreyle polimerizasyon işleminin uygulandığı O7 deney grubunun $[MMA]_a$ değerleri ile basınçlı tencerede polimerize edilerek hazırlanan O5 deney gruplarının $[MMA]_a$ değerleri arasındaki farklılıklar O1/O3 deney gruplarında görülen belirgin değişimler oranında oluşmamıştır (Tablo 4.12 ve 4.13). Öte yandan, *Jorge ve ark (70)*, ısı ile polimerize olan akrilik reçinelerde polimerizasyon işlemi sonrasında uygulanan ilave olarak mikrodalga enerjisi uygulamasının in vitro sitotoksik etkiyi değiştirmemesinin nedenleri arasında mikrodalga enerjisinin kuru ortamda gerçekleştirilmesine bağlı olabileceğini bildirmektedirler. Çalışmamızdaki bu bulgulara dayanarak hem mikrodalga enerjisi ile hem de kimyasal yolla polimerizasyon yöntemlerinde, su içinde bulunan örneklere mikrodalga enerjisi uygulamasının hem $[MMA]_a$ 'nın azaltılması hem de hücre proliferasyonu değerlerinin artması açısından olumlu etki oluşturduğu kanısındayız. PMMA'ın polimerizasyon reaksiyonu benzoil peroksitin 60°C'nin üzerindeki ısılarda serbest kökler oluşturarak ayrılması (dekompoze olması) ile

başlamakta ve serbest köklerin monomer molekülü ile reaksiyona girerek yeni bir serbest kök oluşmasını sağlayıp diğer monomer molekülüne yapışmasıyla zincirleme olarak devam etmektedir (5). Kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde ise olan PMMA'nın polimerizasyon reaksiyonunun başlatılması için benzoil peroksitin parçalanmasında ısı yerine DMPT gibi bir başlatıcı madde kullanılmaktadır. Ancak, polimerizasyon reaksiyonu sırasında açığa çıkan serbest köklerin oksijenle reaksiyona girme eğilimi MMA monomer molekülleri ile reaksiyona girmesinden daha güçlüdür. Bu nedenle kimyasal yolla polimerizasyon işleminin gerçekleştirildiği ortamda havadaki oksijenin varlığı polimerizasyon reaksiyonunu inhibe ederek daha az monomer dönüşümüne ve daha fazla artık monomer oluşumuna yol açmaktadır (5,20,27,92,170). Polimerizasyon reaksiyonu sırasında polimerizasyon ortamında su bulunduğu takdirde akrilik reçinenin hava ile teması ve dolayısıyla oksijenle etkileşimi engellendiğinden *Craig* (27), kimyasal yolla polimerizasyon işleminin su içinde gerçekleştirilmesini önemle tavsiye etmektedir. Ayrıca, kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerde ilave monomer dönüşümü ve dolayısıyla $[MMA]_a$ 'un azaltılmasına yönelik olarak polimerizasyon işleminden sonra akrilik reçinelerin 10-80°C sıcaklıktaki suda bekletilmesi de önerilmektedir (17,22,70,71,92,115,163). Çalışmamızda, üretici firma tarafından önerildiği şekilde oda sıcaklığında ve basınçlı tencerede polimerize olan deney gruplarının polimerizasyonundan sonra ilave olarak 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletme işlemi de uygulanmıştır. O1/O2 ve O5/O6 deney gruplarının monomerin polimere dönüşüm oranları karşılaştırıldığında 60°C sıcaklıktaki suda bekletme işleminin monomerin polimere dönüşüm oranını arttırdığı (Tablo 4.3) ve sadece O1/O2 deney gruplarında da sıvı ortama salınan $[MMA]_a$ değerlerini düşürdüğü (Tablo 4.12) belirlenmiştir. Özellikle O1 deney grubunun $[MMA]_a$ değerleri II. ve III. ekstraksiyon periyotları sonunda istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olmak üzere tüm periyotlar sonunda O2 deney grubunun değerlerinden daha yüksek seviyelerdedir (Tablo 4.13). Ancak, O6 deney grubunun monomerin polimere dönüşüm oranı O5 deney grubundan yüksek olmasına rağmen aynı ilişki $[MMA]_a$ değerlerinde saptanmamıştır. Bu çalışmada basınçlı tencerede polimerizasyon işleminden sonra uygulanan mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon ve 60°C sıcaklıktaki suda bekletme gibi ilave ısısal

işlemlerin monomerin polimere dönüşümünü arttırmasının (Tablo 4.3) ve $[MMA]_a$ değerlerini istatistiksel olarak anlamlı azalmasını sağlamamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.13). Bu bulgu, basınçlı tencerede polimerizasyon işlemi sırasında meydana gelen dönüşümün yüksek oranda (%96,25) ve ilave ısısal işlemlerin polimerin yapısında bozulmalara neden olabileceği kanısındayız.

ISO 10993-5 (57) kriterlerine göre, kimyasal yolla polimerize olan ve farklı sikluslar uygulanarak polimerize olan deney grupları tüm ekstraksiyon periyotları sonunda L-929 hücrelerine hafif derecede sitotoksik etki göstermiştir (Tablo 4.23). Kimyasal yolla polimerize olan deney gruplarının $[MMA]_a$ ve hücre proliferasyonu değerleri arasında genel olarak negatif korelasyon saptanmasına rağmen (Tablo 4.29), $[MMA]_a$ değerlerinde meydana gelen değişimlerin hücre proliferasyonu değerlerine aynı oranlarda yansımadağı gözlenmiştir. Literatür taramamızda kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerin *in vitro* sitotoksitesisi ile ilgili çalışmalar olmasına rağmen (24, 25, 35, 52,127), farklı polimerizasyon sikluslarının etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmadığından bulgularımızın karşılaştırılması mümkün olamamaktadır. Özellikle ekstraksiyon periyotları sonunda $[MMA]_a$ değerlerinde anlamlı azalma kaydedilen O1, O2, O3 O5, O6 ve O8 deney gruplarında genel olarak gözlemlenen azalma, aynı ekstraksiyon periyotları sonunda sadece O2 ve O6 deney gruplarında anlamlı olarak ($p<0.05$) belirlenmiştir (Tablo 4.23). Ancak O2 ve O6 deney gruplarında $[MMA]_a$ değerlerinde azalma saptanmasına rağmen, sitotoksik etkide belirlenen artış ekstraksiyon ortamında formaldehit veya metakrilik asit gibi MMA'ın oksidasyonu sonucunda ortaya çıkabilen diğer sitotoksik bileşiklere bağlı olabileceği bildirilmektedir (84,133,163). Bu nedenle kimyasal yolla polimerize olan akrilik reçinelerde farklı polimerizasyon siklusu uygulamalarının *in vitro* sitotoksitesisinin diğer hücresel parametrelerle inceleneceği çalışmalara ilave olarak, sıvı ortama salındığı önceki çalışmalarda (84,133,163) bildirilen formaldehit veya metakrilik asit gibi bileşiklerin varlığının belirlenmesine ve salınım mekanizmalarının aydınlatılmasına yönelik ileriki çalışmaların yapılması uygun olabilir. Çalışmamızda, oda sıcaklığında veya basınçlı tencerede polimerizasyon işlemlerinden sonra ilave olarak 60°C sıcaklıktaki suda 30 dk bekletme işlemi uygulanan deney gruplarının (O1/O2, O3/O4, O5/O6, O7/O8) hücre proliferasyonu değerleri. arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık

olmamasına rağmen artış saptanmıştır (Tablo 4.24, Şekil 4.9). Bulgularımız, çalışmamızda kullanılan hücre proliferasyonunun kolorimetrik yöntemle değerlendirildiği gibi benzer yöntemle kimyasal yolla polimerize olan protez kaidesi astarlama materyallerinde ilave olarak 55 °C sıcaklıktaki suda bekletme işleminin *in vitro* sitotoksitesini etkilemediğini bildiren *Campanha ve ark.* (22) tarafından bildirilen bulgularla paralellik göstermektedir. Araştırmacılar (22) kolorimetrik yöntemden başka hücresel parametrelerle incelendiğinde 55 °C sıcaklıktaki suda bekletme işleminin akrilik reçine protez kaide polimerlerinden elde edilen hücre proliferasyonu değerlerini etkilediğini bildirmektedirler. Bu nedenle çalışmamızda incelenen deney gruplarına ait *in vitro* sitotoksitenin hücre membranı yapısına (94) etkileri, hücreler üzerine apoptoz ve nekroz oluşturma etkisi (24,25), hücre lipid metabolizmasına etkileri (145) gibi diğer hücresel cevaplar açısından da incelenmesinin yararlı olabileceği görüşündeyiz.

Sonuç olarak, *in vitro* sitotoksite testlerinden elde edilen veriler direkt olarak *in vivo* koşullara uyarlanmasa da *in vitro* yöntemler protez kaidesi polimerlerinin biyolojik uyumunun analizinde önemli rol oynayabilir (52, 143,144). Bu çalışmada incelenen akrilik reçine protez kaide materyallerinden ekstraktlara salınımı saptanan artık MMA'nın L-929 hücrelerine *hafif derecede sitotoksik* etkiden, *non-sitotoksik etkiye* kadar değişen değerlerde biyolojik uyum göstermiştir. Akrilik reçine protez kaide polimerlerinden tükürüğe salınan artık MMA konsantrasyonunun ağız mukozasında irritasyon, enflamasyon ve özellikle Tip IV hipersensitivite gibi doku reaksiyonlarına yol açabilecek düzeyde olduğu belirtilmektedir (12,16,43,72,104,111,155,164,176). Çalışmamızda M1 ve O1 deney grupları dışındaki diğer tüm gruplarda elde edilen [MMA]_a 'larının ağız mukozası ve gastrointestinal sistem dokuları gibi öncelikle etkileşimde olacağı dokular üzerine toksik etki oluşturma olasılığı çok düşüktür. Ancak, protez kaidesinden salınan artık monomere bağlı olarak gelişebilecek lokal alerjik reaksiyonların ortaya çıkabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenlerle bu çalışmada sıvı ortamda bekletme sonucunda [MMA]_a'nda saptanan azalma yönündeki bulgular, klinik uygulamalarda dokuda olası yan etkilerin oluşması ihtimalinin en aza indirgenmesi için PMMA esaslı protetik tedavide kullanılan polimer esaslı restorasyonların polimerizasyon işlemi sonrasında hemen hasta ağızına uygulanmaması ve ortalama olarak 2 gün suda

bekletilmesinin gerektiğini ortaya çıkarmaktadır. Protez kaidelerinde bulunan ve sıvı ortama salınan artık MMA miktarının en aza indirgenmesi için kullanılacak polimerizasyon yöntemine göre uygun bir polimerizasyon siklusunun seçiminin bu çalışmada direkt olarak ilişkili olduğu gözlemlenen biyolojik özellikler açısından ve ayrıca artık monomer miktarının önemli oranda etkilediği diğer mekanik ve fiziksel özellikleri açısından göz önünde bulundurulması protetik diş hekimliği pratiğinde olumlu klinik yararlar sağlayabilir.

SONUÇ (BÖLÜM 6)

Bu deneysel çalışmanın protokolü ve sınırları dahilinde; ısı ile, mikrodalga enerjisi ile ve kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçine materyalleri ile ilgili aşağıdaki sonuçlar çıkarılabilir:

- En yüksek monomerin polimere dönüşüm oranı ısı ile polimerizasyon yönteminde, en düşük dönüşüm oranı ise kimyasal yolla polimerizasyon yönteminde belirlenmiştir
- 1, 2, 5 ve 7 gün süreyle ekstrakte edilen akrilik reçinelerden sıvı ortama artık MMA salınımının gerçekleştiği belirlenmiştir ve en düşük artık MMA konsantrasyonları ısı ile polimerizasyon yönteminde, en yüksek ise mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde saptanmıştır. Genel olarak akrilik reçine protez kaide materyallerinden ekstraksiyon ortamına salınan artık MMA'nın ekstraksiyon ortamında belirlenen konsantrasyonlarının 7 gün sonunda belirgin oranlarda azaldığı ve en fazla salınımın ilk 2 gün içerisinde olduğu belirlenmiştir.
- ISO 10993-5 (72)'de belirtilen *in vitro* sitotoksikite kriterlerine göre bu çalışmada incelenen akrilik reçine protez kaide materyallerinin L-929 hücreleri üzerinde genel olarak 'hafif derecede sitotoksik' etkili olduğu belirlenmiştir.
- Genel olarak, ekstraksiyon sıvılarında saptanan artık MMA konsantrasyonu ile hücre proliferasyonu değerleri arasında negatif yönde korelasyon saptanmış ve ekstrakt sıvılarında artık MMA konsantrasyonunun artmasının *in vitro* sitotoksik etkinin de artmasına neden olduğu belirlenmiştir.
- Isı ile polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçinelerde polimerizasyon ısısının ve polimerizasyon süresinin monomerin polimere dönüşüm oranını ve dolayısıyla sıvı ortama salınan artık MMA konsantrasyonunu etkilediği belirlenmiştir. Isı ile polimerizasyon yöntemiyle hazırlanan protez kaide maddelerinin yapımı sırasında en az 30 dk süreyle terminal kaynatma işleminin uygulandığı polimerizasyon siklusunun seçimi monomerin büyük oranda polimerize olmasını sağlayarak aynı zamanda hem

tükürüğe salınan artık MMA konsantrasyonunun daha düşük olmasını hem de ağız mukozasında ortaya çıkabilecek yan etkilerin oluşma potansiyelini azaltabilir.

- Mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde uygulanan farklı polimerizasyon siklusları arasında 500 W güçte 3 dk süreyle polimerizasyon sonrasında ilave olarak 90 W güçte 3 dk süreyle polimerizasyon işleminin hem monomerin polimere dönüşüm oranını artırması açısından hem de tükürüğe salınan artık MMA konsantrasyonunun azaltılması açısından klinik kullanımda yarar sağlayabilir. Ancak, düşük mikrodalga enerjisi gücü ve daha uzun polimerizasyon süresi (90 W, 13 dk) uygulanan mikrodalga enerjisi ile polimerizasyon yönteminde ekstraksiyon sıvısında saptanan çok yüksek değerlerdeki artık MMA konsantrasyonu nedeniyle klinik açıdan risk oluşturabileceğinin göz önünde bulundurulması gerekir.
- Kimyasal yolla polimerize olan ve farklı polimerizasyon siklusları uygulanarak polimerize edilen akrilik reçinelerde 40° C sıcaklıktaki su içeren ve 2.5 bar basınç altında basınçlı tencere içerisinde gerçekleştirilen polimerizasyon sikluslarında daha yüksek oranlarda monomerin polimere dönüşüm oranının elde edildiği belirlenmiştir. Basınçlı tencerelerde gerçekleştirilen polimerizasyon işlemleri sonucunda yüksek oranda oluşan dönüşüm oranına paralel olarak ekstraksiyon ortamında da artık MMA konsantrasyonunun azalması klinik açıdan önem taşımaktadır. Bu nedenle klinik uygulama açısından artık MMA'nın salınımının azaltılması amacıyla kimyasal yolla polimerizasyon işlemlerinin mümkün olabildiğince basınçlı tencerelerde gerçekleştirilmesi ve ayrıca oda sıcaklığında açık koşullar altında gerçekleşen polimerizasyon işleminden sonra 60°C sıcaklıktaki suda en az 30 dk bekletme işlemi faydalı olmaktadır. Ayrıca, kimyasal yolla polimerizasyon yöntemlerinde polimerizasyon işleminden sonra ilave olarak mikrodalga enerjisi uygulaması $[MMA]_a$ 'nın azaltılması ve hücre proliferasyonu değerlerinin artması açısından olumlu etki oluşturmuştur.

- Ayrıca, özellikle 1. ve 2. günlerde büyük oranda artık MMA salınımı bulgusuna dayanarak akrilik reçineden hazırlanan protetik restorasyonların en az 2 gün suda bekletilmesi sitotoksik etkilerin en aza indirgenmesi açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Acron MC Mikrodalga akriliği kullanım kılavuzu. Acron MC, GC Corp, Tokyo, Japan
2. Aitzetmuller K, Eckert WR. High-performance liquid chromatography of methyl methacrylate in intraocular lenses. *J Chromatogr.* 1978;155:203-205.
3. American National Standards Institute/American Dental Association Document no. 41 for Recommended Standard Practices for Biological Evaluation of Dental Materials. Council on Dental Materials and Devices. *J Am Dent Assoc* 1979;99:697-698.
4. Anderson GC, Schulte JK, Arnold TG. Dimensional stability of injection and conventional processing of denture base acrylic resin. *J Prosthet Dent.* 1988;60:394-398.
5. Anusavice KJ. Phillips' Science of Dental Materials. W. B. Saunders Company, Tenth edition, Philadelphia, Toronto S:237-271.
6. Arab J, Newton JP, Lloyd CH. The effect of an elevated level of residual monomer on the whitening of a denture base and its physical properties. *J Dent* 1989;17:189-194.
7. Asmussen E. Factors affecting the quantity of remaining double bonds in restorative resin polymers. *Scand J Dent Res* 1982;90:490-496.
8. Austin AT, Basker RM. Residual monomer levels in denture bases. The effects of varying short curing cycles. *Br Dent J* 1982;153:424-426.
9. Austin AT, Basker RM. The level of residual monomer in acrylic denture base materials. *Br Dent J* 1980;149:281-286.
10. Azzari MJ, Cortizo MS, Alessandrini JL. Effect of the curing conditions on the properties of an acrylic denture base resin microwave-polymerised. *J Dent* 2003; 31:463-468.
11. Bafile M, Graser GN, Myers ML, Li EK. Porosity of denture resin cured by microwave energy. *J Prosthet Dent* 1991;66:269-274.
12. Baker S, Brooks SC, Walker DM. The release of residual monomeric methyl methacrylate from acrylic appliances in the human mouth: An assay for monomer in saliva *J Dent Res* 1988;67:1295-1299.

13. Barron DJ, Rueggeberg FA, Schuster GS. A comparison of monomer conversion and inorganic filler content in visible light-cured denture resins. *Dent Mater* 1992;8:274-277.
14. Bartoloni JA, Murchison DF, Wofford DT, Sarkar N. Degree of conversion in denture base materials for varied polymerization techniques. *J Oral Rehabil* 2000;27:488-493.
15. Basker RM, Collier J, Smith E, Bartle KD, Frere B, Wong L. Variation of residual monomer content of poly(methyl methacrylate) dental resins with time, and the influence of water immersion. *Clin Mater* 1989;4:173-182.
16. Basker RM, Hunter AM, Highet AS. A severe asthmatic reaction to poly(methyl methacrylate) denture base resin. *Br Dent J* 1990;169:250-251.
17. Bayraktar G, Guvener B, Bural C, Uresin Y. Influence of polymerization method, curing process, and length of time of storage in water on the residual methyl methacrylate content in dental acrylic resins. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2006;76:340-345.
18. Blagojevic V, Murphy VM. Microwave polymerization of denture base materials. A comparative study. *J Oral Rehabil* 1999;26:804-808.
19. Bouillaguet S, Shaw L, Gonzalez L, Wataha JC, Krejci I. Long-term cytotoxicity of resin-based dental restorative materials. *J Oral Rehabil* 2002;29:7-13.
20. Braden M, Clarke RL, Nicholson J, Parker S. *Polymeric Dental Materials*, Springer-Verlag Heidelberg, Germany, 1997
21. Browne RM. Animal tests for biocompatibility of dental materials--relevance, advantages and limitations. *J Dent* 1994;22 Suppl 2:21-24.
22. Campanha NH, Pavarina AC, Giampaolo ET, Machado AL, Carlos IZ, Vergani CE. Cytotoxicity of hard chairside reline resins: effect of microwave irradiation and water bath postpolymerization treatments. *Int J Prosthodont*. 2006;19:195-201.
23. Campbell SD. Biological compatibility of prosthodontic materials. *Int J Prosthodont* 2003;16 Suppl:52-4; discussion 68-70.
24. Cimpan MR, Cressey LI, Skaug N, Halstensen A, Lie SA, Gjertsen BT, Matre R. Patterns of cell death induced by eluates from denture base

- acrylic resins in U-937 human monoblastoid cells. *Eur J Oral Sci* 2000;108:59-69.
25. Cimpan MR, Matre R, Cressey LI, Tysnes B, Lie SA, Gjertsen BJ, Skaug N. The effect of heat-and autopolymerized denture base polymers on clogenicity, apoptosis and necrosis in fibroblasts : denture base polymers induce apoptosis and necrosis. *Acta Odontol Scand* 2000;58:217-228.
 26. Craig RG, Powers JM, Wataha JC. *Dental Materials. Properties and Manipulation*. 7th edn. St. Louis: Mosby, 2000.
 27. Craig RG. *Prosthetic Applications of Polymers. Restorative Dental Materials*. 10. baskı. Mosby-Yearbook, Inc. St Louis, 1997
 28. Çalikkocaoğlu S. Tam Protezler. Cilt II. İstanbul: Teknografik,;537-549, 1998
 29. De Clerk JP. Microwave polymerization of acrylic resins used in dental prostheses. *J Prosthet Dent* 1987;57:650-658.
 30. Del Bel Cury AA, Rached RN, Ganzarolli SM. Microwave-cured acrylic resins and silicone-gypsum moulding technique. *J Oral Rehabil* 2001;28:433-438.
 31. Dogan A, Bek B, Cevik NN, Usanmaz A. The effect of preparation conditions of acrylic denture base materials on the level of residual monomer, mechanical properties and water absorption. *J Dent* 1995;23:313-318.
 32. Duray SJ, Gilbert JL, Lautenschlager EP. Comparison of chemical analysis of residual monomer in a chemical-cured dental acrylic material to an FTIR method. *Dent Mater* 1997;13:240-245.
 33. Edgerton M, Levine MJ. Biocompatibility: its future in prosthodontic research. *J Prosthet Dent* 1993;69:406-415.
 34. Erdik E. *Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler*. 3. baskı, Gazi Kitabevi, Ankara, 2005.
 35. Ergün G. Farklı yöntemlerle polimerize edilen bazı akrilik rezinlerin biyolojik uyumlarının in vitro incelenmesi. Doktora tezi. 1998. Ankara.
 36. Ferracane JL, Greener EH. Fourier transform infrared analysis of degree of polymerization in unfilled resins--methods comparison. *J Dent Res* 1984;63:1093-1095.

37. Fisher AA. Allergenic sensitization of the skin and oral mucosa to acrylic denture material. *J Prosthet Dent* 1956;6:593-602.
38. Fletcher AM, Purnaveja S, Amin WM, Ritchie GM, Moradians S, Dodd AW. The level of residual monomer in self-curing denture-base materials. *J Dent Res* 1983;62:118-120.
39. Frangou M, Huggett R, Stafford GD. Evaluation of the properties of a new pour denture base material utilizing a modified technique and initiator system. *J Oral Rehabil* 1990;17:67-77.
40. Garfunkel E: Evaluation of dimensional changes in complete dentures processed by injection-pressing and the pack-and-press technique. *J Prosthet Dent* 1983;50: 757-761
41. Geerts GA, Jooste CH. A comparison of the bond strengths of microwave- and water bath-cured denture material. *J Prosthet Dent* 1993;70:406-409.
42. Gioka C, Bourauel C, Hiskia A, Kletsas D, Eliades T, Eliades G. Light-cured or chemically cured orthodontic adhesive resins? A selection based on the degree of cure, monomer leaching, and cytotoxicity. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2005 ;127:413-419.
43. Giunta J, Zablotsky N. Allergic stomatitis caused by self-polymerizing resin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1976;41:631-637.
44. Handbook of Ion Chromatography, Third, Completely Revised and Enlarged Edition. Joachim Weiss, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim s:1-11 ,2004
45. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: a review. *Dent Mater* 1996;12:186-193.
46. Harrison A, Huggett R. Effect of the curing cycle on residual monomer levels of acrylic resin denture base polymers. *J Dent* 1992;20:370-374.
47. Harrison MA, Rae IF. General Techniques in cell culture. 1. baskı, Cambridge University Pres, Melbourne, Australia, 1997.
48. Hensten-Pettersen A, Victorin L. The cytotoxic effect of denture base polymers. *Acta Odontol Scand* 1981;39:101-106.
49. Hill RG. The crosslinking agent ethylene glycol dimethacrylate content of the currently available acrylic denture base resins. *J Dent Res* 1981;60:725-726.

50. Honorez P, Catalan A, Angnes U, Grimonster J. The effect of three processing cycles on some physical and chemical properties of a heat-cured acrylic resin. *J Prosthet Dent* 1989;61:510-517.
51. Hornez JC, Lefevre A, Joly D, Hildebrand HF. Multiple parameter cytotoxicity index on dental alloys and pure metals. *Biomol Eng* 2002;19:103-117.
52. Huang FM, Tai KW, Hu CC, Chang YC. Cytotoxic effects of denture base materials on a permanent human oral epithelial cell line and on primary human oral fibroblasts in vitro. *Int J Prosthodont* 2001;14:439-443.
53. Huggett R, Brooks SC, Bates JF. The effect of different curing cycles on levels of residual monomer in acrylic resin denture base materials. *Quintessence Dent Technol* 1984;8:365-371.
54. Hüdayioğlu Kazak M. Çeşitli restoratif materyallerin sitotoksik açıdan değerlendirilmesi. Doktora tezi. İstanbul. 2003.
55. Ilbay SG, Guvener S, Alkumru HN. Processing dentures using a microwave technique. *J Oral Rehabil* 1994;21:103-109.
56. Inokoshi S, Fujitani M, Otsuki M, Sonoda H, Kitasako Y, Shimada Y, Tagami J. Monkey pulpal responses to conventional and adhesive luting cements. *Oper Dent* 1998;23:21-29.
57. International Organization for Standardization, ISO 10993-5. Biological Evaluation of medical devices- Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity, Geneva, 1999.
58. International Organization for Standardization, ISO 1567:1999 (E). Dentistry-Denture Base Polymers, Geneva, 1999
59. International Organization for Standardization, ISO 7405: Dentistry-Preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry-Test methods for dental materials, Geneva 1997.
60. International Union of Pure and Applied Chemistry, Compendium of Chemical Terminology 1996;68:2305.
61. International Union of Pure and Applied Chemistry, Compendium of Chemical Terminology 1993;65:823.
62. International Union of Pure and Applied Chemistry, Compendium of Chemical Terminology 1993;65:825.

63. Ishigami K, Shirane M, Aoyama Y, Miura M, Miyata T, Nagai E, Satoh Y, Yuda M, Anzai M, Ohki K. Basic studies on visible light-curing resin as a denture base--Part 4: Its strength in the repair of fractured parts of heat-curing denture base resin. *J Nihon Univ Sch Dent* 1986;28:287-293.
64. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Biyokimya ders notları, 2006
65. Jagger DC, Jagger RG, Allen SM, Harrison A. An investigation into the transverse and impact strength of "high strength" denture base acrylic resins. *J Oral Rehabil.* 2002;29:263-267.
66. Jagger RG. Effect of the curing cycle on some properties of a polymethylmethacrylate denture base material. *J Oral Rehabil* 1978;5:151-157.
67. Jerolimov V, Huggett R, Brooks SC, Bates JF. The effect of variations in the polymer/monomer mixing ratios on residual monomer levels and flexural properties of denture base materials. *Quintessence Dent Technol* 1985;9:431-434.
68. Jerolimov V, Krhen J, Besic J. The role of residual monomer in PMMA powder and methods of polymerization in the finding of residual monomer in poly(methylmethacrylate) denture base. *Acta Stomatol Croat* 1991;25:17-23.
69. Jorge JH, Giampaolo ET, Machado AL, Vergani CE. Cytotoxicity of denture base acrylic resins: A literature review. *J Prosthet Dent* 2003;90:190-193.
70. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AI, Pavarina AC, Carlos IZ. Cytotoxicity of denture base resins: Effect of water bath and microwave postpolymerization heat treatments. *Int J Prosthodont* 2004;17:340-344.
71. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Effect of post-polymerization heat treatments on the cytotoxicity of two denture base acrylic resins. *J Appl Oral Sci* 2006;14:203-207.
72. Kaaber S. Allergy to dental materials with special reference to the use of amalgam and polymethylmethacrylate. *Int Dent J* 1990 ;40:359-365.

73. Kaczmarczyk B, Morejko-Buż B, Stolarzewicz A. Investigation of infrared calibration methods for application to the study of methyl methacrylate polymerization. *Fresenius J Anal Chem* 2001;370:899-903.
74. Kalipcilar B, Karaagaclioglu L, Hasanreisoglu U. Evaluation of the level of residual monomer in acrylic denture base materials having different polymerization properties. *J Oral Rehabil* 1991;18:399-401.
75. Kallus T. Enhanced tissue response to denture base polymers in formaldehyde-sensitized guinea pigs. *J Prosthet Dent* 1984;52:292-299.
76. Kanerva L, Alanko K, Estlander T, Jolanki R, Lahtinen A, Savela A. Statistics on occupational contact dermatitis from (meth)acrylates in dental personnel. *Contact Dermatitis* 2000;42:175-176.
77. Kawahara H, Yamagami A, Nakamura M Jr. Biological testing of dental materials by means of tissue culture. *Int Dent J* 1968;18:443-467.
78. Kedjarune U, Charoenworoluk N, Koontongkaew S. Release of methyl methacrylate from heat-cured and autopolymerized resins: Cytotoxicity testing related to residual monomer. *Aust Dent J* 1999;44:25-30.
79. Keenan PL, Radford DR, Clark RK. Dimensional change in complete dentures fabricated by injection molding and microwave processing. *J Prosthet Dent* 2003;89:37-44.
80. Khan Z, von Fraunhofer JA, Razavi R. The staining characteristics, transverse strength, and microhardness of a visible light-cured denture base material. *J Prosthet Dent* 1987;57:384-386.
81. Kim JS, Baek SH, Bae KS. In vivo study on the biocompatibility of newly developed calcium phosphate-based root canal sealers. *J Endod* 2004;30:708-711.
82. Kimura H, Teraoka F. On the microwave polymerization method by the developed flask. *Quintessence Dent Tech* 1984;9:729-737.
83. Kitasako Y, Inokoshi S, Fujitani M, Otsuki M, Tagami J. Short-term reaction of exposed monkey pulp beneath adhesive resins. *Oper Dent* 1998;23:308-317.
84. Koda T, Tsuchiya H, Yamauchi M, Hoshino Y, Takagi N., Kawano J. High-performance liquid chromatographic estimation of eluates from denture base polymers. *J Dent* 1989;17:84-89.

85. Koda T, Tsuchiya H, Yamauchi M, Ohtani S, Takagi N, Kawano J. Leachability of denture-base acrylic resins in artificial saliva. *Dent Mater* 1990;6:13-16.
86. Köküuslu C, Dogan A, Bek B, Karademir N, Demirel E. Metil metakrilat monomerin fibroblastlar üzerine etkisinin in vitro olarak değerlendirilmesi. *G.Ü. Dişhek. Fak. Derg* 1993 X(1):67-74.
87. Lai CP, Tsai MH, Chen M, Chang HS, Tay HH. Morphology and properties of denture acrylic resins cured by microwave energy and conventional water bath. *Dent Mater* 2004;20:133-141.
88. Lamb DJ, Ellis B, Priestley D. Loss into water of residual monomer from autopolymerizing dental acrylic resin. *Biomaterials* 1982;3:155-159.
89. Lamb DJ, Ellis B, Priestley D. The effects of process variables on levels of residual monomer in autopolymerizing dental acrylic resin. *J Dent*. 1983;11:80-88.
90. Langeland K, Langeland LK. Pulp reactions to crown preparation, impression, temporary crown fixation, and permanent cementation. *J Prosthet Dent* 1965;15:129-143.
91. Lavos-Valereto IC, König B, Rossa C Jr, Marcantonio E Jr, Zavaglia AC. A study of histological responses from Ti-6Al-7Nb alloy dental implants with and without plasma-sprayed hydroxyapatite coating in dogs. *J Mater Sci Mater Med* 2001;12:273-276.
92. Lee SY, Lai YL, Hsu TS. Influence of polymerization conditions on monomer elution and microhardness of autopolymerized polymethyl methacrylate resin. *Eur J Oral Sci* 2002;110:179-183.
93. Lefebvre CA, Knoernschild KL, Schuster GS. Cytotoxicity of eluates from light-polymerized denture base resins. *J Prosthet Dent* 1994;72:644-650.
94. Lefebvre CA, Schuster GS, Marr JC, Knoernschild KL. The effect of pH on the cytotoxicity of eluates from denture base resins. *Int J Prosthodont* 1995;8:122-128.
95. Lefebvre CA, Schuster GS. Biocompatibility of visible light-cured resin systems in prosthodontics. *J Prosthet Dent*. 1994;71:178-185.
96. Levin B, Sanders JL, Reitz PV. The use of microwave energy for processing acrylic resins. *J Prosthet Dent* 1989;61:381-383.

97. Lovschall H, Eiskjaer M, Arenholt-Bindslev D. Formaldehyde cytotoxicity in three human cell types assessed in three different assays. *Toxicol in Vitro* 2002;16:63-69
98. Lung CY, Darvell BW. Methyl methacrylate in poly(methyl methacrylate)--validation of direct injection gas chromatography. *J Chromatogr A* 2004 17;1061:93-98.
99. Lung CY, Darvell BW. Methyl methacrylate monomer-polymer equilibrium in solid polymer. *Dent Mater*. 2006, basımda.
100. Lung CY, Darvell BW. Minimization of the inevitable residual monomer in denture base acrylic. *Dent Mater* 2005;21:1119-1128.
101. Lygre H, Solheim E, Gjerdet NR, Berg E. Leaching of organic additives from dentures in vivo. *Acta Odontol Scand* 1993;51:45-51.
102. Mariani P, Migozzi J, Soumeire J. Acrylic resin polymerization: advantage of a shrinkage guide in total prosthesis. *Cah Prothese*. 1978;6:77-91.
103. Masters JR. *Animal Cell Culture*. 3. baskı, Oxford University Press, New York, USA, 2000.
104. McCabe JF, Basker RM. Tissue sensitivity to acrylic resin. A method of measuring the residual monomer content and its clinical application. *Br Dent J* 1976;140:347-350.
105. Memon MS, Yunus N, Razak AA. Some mechanical properties of a highly cross-linked, microwave-polymerized, injection-molded denture base polymer. *Int J Prosthodont* 2001;14:214-218.
106. Messer RL, Lockwood PE, Wataha JC, Lewis JB, Norris S, Bouillaguet S. In vitro cytotoxicity of traditional versus contemporary dental ceramics. *J Prosthet Dent*. 2003;90:452-458.
107. Mikai M, Koike M, Fujii H. Quantitative analysis of allergenic ingredients in eluate extracted from used denture base resin. *J Oral Rehabil* 2006;33:216-220.
108. Moreira MS, Katayama E, Bombana AC, Marques MM. Cytotoxicity analysis of alendronate on cultured endothelial cells and subcutaneous tissue. a pilot study. *Dent Traumatol*. 2005;21:329-335.

109. Mosman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Met* 1983;65:55-63.
110. Nakamura M, Kawahara H. Long-term biocompatibility test of denture base resins in vitro. *J Prosthet Dent* 1984;52:694-699.
111. Nealey ET, Del Rio CE. Stomatitis venenata: reaction of a patient to acrylic resin. *J Prosthet Dent* 1969;21:480-484.
112. Nelson MW, Kotwal KR, Sevedge SR. Changes in vertical dimension of occlusion in conventional and microwave processing of complete dentures. *J Prosthet Dent* 1991;65:306-308.
113. Nishii M. Curing of denture base resins with microwave irradiation: with particular reference to heat-curing resins. *J Osaka Dent Univ* 1968;2:23-40.
114. O'Brien WJ. *Dental Materials and their selection*. 3. baskı. Quintessence Publishing Co, Inc, Kanada, 2002.
115. Ogawa T, Hasegawa A. Effect of curing environment on mechanical properties and polymerizing behaviour of methyl-methacrylate autopolymerizing resin. *J Oral Rehabil*. 2005;32:221-226
116. Ogawa T, Tanaka M, Koyano K. Effect of water temperature during polymerization on strength of autopolymerizing resin. *J Prosthet Dent* 2000;84:222-224.
117. Oliveira VM, Leon BL, Del Bel Cury AA, Consani S. Influence of number and position of flasks in the monomer release, Knoop hardness and porosity of a microwave-cured acrylic resin. *J Oral Rehabil* 2003;30:1104-1108.
118. Parvizi A, Lindquist T, Schneider R, Williamson D, Boyer D, Dawson DV. Comparison of the dimensional accuracy of injection-molded denture base materials to that of conventional pressure-pack acrylic resin. *J Prosthodont* 2004;13:83-89.
119. Penn E, Renner RP. A comprehensive review of VLC resin in removable prosthodontics. *Quintessence Dental Tech* 1993;16:107-118.

120. Pfeiffer P, Rosenbauer EU. Residual methyl methacrylate monomer, water sorption, and water solubility of hypoallergenic denture base materials. *J Prosthet Dent* 2004;92:72-78.
121. Phoenix RD, Mansueto MA, Ackerman NA, Jones RE. Evaluation of mechanical and thermal properties of commonly used denture base resins. *J Prosthodont* 2004;13:17-27.
122. Piliero SJ, Carson S, LiCalzi M, Pentel L, Piliero JA, Kaufman EG, Schulman A, Willigan DA. Biocompatibility evaluation of casting alloys in hamsters. *J Prosthet Dent*. 1979;41:220-223.
123. Polyzois GL, Kakaboura AI, Eliades GC. Curing efficiency of visible light- and dual-cured denture reliners. *Int J Prosthodont* 2000;13:520-525.
124. Pryor WJ. Injection moulding of plastics for dentures. *J Am Dent Assoc* 1942;29:140-1408.
125. Reitz PV, Sanders JL, Levin B. The curing of denture acrylic resins by microwave energy. Physical properties. *Quintessence Int*. 1985;16:547-51
126. Roehm NW, Rodgers GH, Hatfield SM, Glasebrook AL. An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. *J. Immunol. Methods* 1991;142: 257–265 .
127. Rose EC, Bumann J, Jonas IE, Kappert HF. Contribution to the biological assessment of orthodontic acrylic materials. *J Orofac Orthop* 2000;61:246-257.
128. Rubel DM, Watchorn RB. Allergic contact dermatitis in dentistry. *Australas J Dermatol* 2000;41:63-69.
129. Rueggeberg FA. Determination of resin cure using infrared analysis without an internal standard. *Dent Mater* 1994;10:282-286.
130. Ruyter IE, Gyorosi PP. An infrared spectroscopic study of sealants. *Scand J Dent Res* 1976;84:396-400.
131. Ruyter IE, Oysaed H. Conversion in denture base polymers. *J Biomed Mater Res* 1982;16:741-754.
132. Ruyter IE, Svendsen SA. Remaining methacrylate groups in composite restorative materials. *Acta Odontol Scand* 1978;36:75-82.

133. Ruyter IE. Physical and chemical aspects related to substances released from polymer materials in an aqueous environment. *Adv Dent Res* 1995;9:344-347.
134. Ruyter IE. Release of formaldehyde from denture base polymers. *Acta Odontol Scand* 1980;38:17-27.
135. Sadamori S, Ganefiyanti T, Hamada T, Arima T. Influence of thickness and location on the residual monomer content of denture base cured by three processing methods. *J Prosthet Dent* 1994;72:19-22.
136. Sadamori S, Kotani H, Hamada T. The usage period of dentures and their residual monomer contents. *J Prosthet Dent* 1992;68:374-376.
137. Sadamori S, Siswomihardjo W, Kameda K, Saito A, Hamada T. Dimensional changes of relined denture bases with heat-cured, microwave-activated, autopolymerizing, and visible light-cured resins. A laboratory study. *Aust Dent J* 1995;40:322-326.
138. Salim S, Sadamori S, Hamada T. The dimensional accuracy of rectangular acrylic resin specimens cured by three denture base processing methods. *J Prosthet Dent* 1992;67:879-881.
139. Sanders JL, Levin B, Reitz PV. Comparison of the adaptation of acrylic resin cured by microwave energy and conventional water bath. *Quintessence Int* 1991;22:181-186.
140. Sanders JL, Levin B, Reitz PV. Porosity in denture acrylic resins cured by microwave energy. *Quintessence Int* 1987;18:453-456.
141. Schedle A, Samorapoompichit P, Rausch-Fan XH, Franz A, Fureder W, Sperr WR, Sperr W, Ellinger A, Slavicek R, Boltz-Nitulescu G, Valent P. Response of L-929 fibroblasts, human gingival fibroblasts, and human tissue mast cells to various metal cations. *J Dent Res* 1995;74:1513-520.
142. Schmalz G, Langer H, Schweikl H. Cytotoxicity of dental alloy extracts and corresponding metal salt solutions. *J Dent Res* 1998;77:1772-1778.
143. Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Investig* 1997;1:154-162.
144. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials-- advantages and limitations. *J Dent* 1994;22 Suppl 2:S6-11.

145. Schuster GS, Lefebvre CA, Dirksen TR, Knoernschild KL, Caughman GB. Relationships between denture base resin and cell lipid metabolism. *Int J Prosthodont* 1995;8:580-586.
146. Schweikl H, Schmalz G. Toxicity parameters for cytotoxicity testing of dental materials in two different mammalian cell lines. *Eur J Oral Sci* 1996; 4:292-299.
147. Scudiero DA, Shoemaker RH, Paull KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, Currens MJ, Seniff D, Boyd MR. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res* 1988;48:4827-4833.
148. Sheridan PJ, Koka S, Ewolen NO, Lefebvre CA, Lavin MT. Cytotoxicity of denture base resins. *Int J Prosthodont* 1997;10:73-77.
149. Shim JS, Watts DC. Residual monomer concentrations in denture-base acrylic resin after an additional, soft-liner, heat-cure cycle. *Dent Mater* 1999;15:296-300.
150. Shlosberg SR, Goodacre CJ, Munoz CA, Moore BK, Schnell RJ. Microwave energy polymerization of poly(methyl methacrylate) denture base resin. *Int J Prosthodont* 1989;2:453-458.
151. Skinner EW. *The Science of Dental Materials*. W.B.Saunders Compnay, Philadelphia and London, 1945.
152. Smith DC, Bains ME. The detection and estimation of residual monomer in polymethyl methacrylate. *J Dent Res* 1956;35:16-24.
153. Solomon EG, Udani TM. A quantitative estimation of residual monomer in heat cure methyl methacrylate denture base resins processed under varying conditions of time and temperature. *J Indian Dent Assoc* 1973;45:147-153.
154. Stafford GD, Brooks SC. The loss of residual monomer from acrylic orthodontic resins. *Dent Mater*. 1985;1:135-148.
155. Strain JC. Reactions associated with acrylic denture base resins. *J Prosthet Dent*. 1967;18:465-468.
156. Syme VJ, Lamb DJ, Lopattananon N, Ellis B, Jones FR. The effect of powder/liquid mixing ratio on the stiffness and impact strength of

- autopolymerising dental acrylic resins. *Eur J Prosthodont Restor Dent* 2001;9:87-91.
157. Taira M, Nakao H, Matsumoto T, Takahashi J. Cytotoxic effect of methyl methacrylate on 4 cultured fibroblasts. *Int J Prosthodont* 2000;13:311-315.
158. Tang AT, Li J, Ekstrand J, Liu Y. Cytotoxicity tests of in situ polymerized resins: methodological comparisons and introduction of a tissue culture insert as a testing device. *J Biomed Mater Res* 1999;45:214-222.
159. Thonemann B, Schmalz G, Hiller KA, Schweikl H. Responses of L929 mouse fibroblasts, primary and immortalized bovine dental papilla-derived cell lines to dental resin components. *Dent Mater* 2002;18:318-23.
160. Truong VT, Thomasz FG. Comparison of denture acrylic resins cured by boiling water and microwave energy. *Aust Dent J* 1988;33:201-204.
161. TS-ISO 10993-10. Türk Standardı. Tıbbi Gereçlerin Biyolojik Değerlendirmesi Bölüm 10:
162. TS-ISO 10993-12. Türk Standardı. Tıbbi Cihazların Biyolojik Değerlendirmesi-Bölüm 12: Numune Hazırlama ve Referans Malzemeler, 2001.
163. Tsuchiya H, Hoshino Y, Tajima K, Takagi N. Leaching and cytotoxicity of formaldehyde and methyl methacrylate from acrylic resin denture base materials. *J Prosthet Dent* 1994;71:618-624.
164. Tucker TN. Allergy to acrylic resin denture base. *J Prosthet Dent* 1981;46:602.
165. Turck MD, Richards MW. Microwave processing for denture relines, repairs, and rebases. *J Prosthet Dent* 1993;69:340-343.
166. Uygulamalı Flow Sitometri- PCR ve Hücre Kültürü Kursu. Hücre Kültürü Kurs Notları 9-12 Şubat 2004.
167. Vallittu PK, Miettinen V, Alakuijala P. Residual monomer content and its release into water from denture base materials. *Dent Mater* 1995;11:338-342.
168. Vallittu PK, Ruyter IE, Buykuilmaz S. Effect of polymerization temperature and time on the residual monomer content of denture base polymers. *Eur J Oral Sci* 1998;106:588-593.

169. Vallittu PK. The effect of surface treatment of denture acrylic resin on the residual monomer content and its release into water. *Acta Odontol Scand* 1996;54:188-192.
170. Vallittu PK. Unpolymerized surface layer of autopolymerizing Polymethyl methacrylate resin. *J Oral Rehabil* 1999;26:208-212.
171. van Noort R. Introduction. to Dental Materials. 1. baskı, Mosby, Philadelphia, 2002.
172. Vergani CE, Seo RS, Pavarina AC, dos Santos Nunes Reis JM. Flexural strength of autopolymerizing denture reline resins with microwave postpolymerization treatment. *J Prosthet Dent* 2005;93:577-583.
173. Wallace PW, Graser GN, Myers ML, Proskin HM. Dimensional accuracy of denture resin cured by microwave energy. *J Prosthet Dent* 1991;66:403-408.
174. Wataha JC, Rueggeberg FA, Lapp CA, Lewis JB, Lockwood PE, Ergle JW, Mettenburg DJ. In vitro cytotoxicity of resin-containing restorative materials after aging in artificial saliva. *Clin Oral Investig* 1999;3:144-149.
175. Wataha JC. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J Prosthet Dent* 2001;86:203-209.
176. Weaver RE, Goebel WM. Reactions to acrylic resin dental prostheses. *J Prosthet Dent* 1980;43:138-142.
177. Woelfel JB. Processing complete dentures. *Dent Clin North Am* 1977;21:329-38.
178. Wolfaardt J, Cleaton-Jones P, Fatti P. The influence of processing variables on dimensional changes of heat-cured poly(methyl methacrylate). *J Prosthet Dent* 1986;55:518-525.
179. Wong DM, Cheng LY, Chow TW, Clark RK. Effect of processing method on the dimensional accuracy and water sorption of acrylic resin dentures. *J Prosthet Dent* 1999;81:300-304.
180. <http://www.lgcpromochem-atcc.com/common/catalog/numSearch/numResults.cfm?atccNum=CCL-1>
erişim tarihi 01.10.2006

181. Yoshii E. Cytotoxic effects of acrylates and methacrylates : Relationships of monomer structures and cytotoxicity. *J Biomed Mater Res* 1997;37:517-524.
182. Yunus N, Harrison A, Huggett R. Effect of microwave irradiation on the flexural strength and residual monomer levels of an acrylic resin repair. *J Oral Rehabil* 1994;21:641-648.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	H. Canan	Soyadı	Bural
Doğum Yeri	İstanbul	Doğum Tarihi	23.05.1976
Uyruğu	T.C		
Tel	0212/4142020-30256	Email	cbural@istanbul.edu.tr

Eğitimi

Eğitim Düzeyi	Lise / Fakülte, Üniversite	Meznet Yılı
Doktora		
Yüksek Lisans	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	1999
Fakülte/Yük.Okul	İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	1999
Lise	Özel Doğuş Lisesi	1994

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1. Araştırma Görevlisi	İ.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Total-Parsiyel Protez B.D.	5-
2.		-
3.		-

Yabancı Dilleri

	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	iyi	iyi	iyi
Almanca			
Fransızca			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft office	iyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri**Science Citation Index Expanded (SCI) kapsamında yer alan yurtdışı dergilerde yayınlananlar:**

1. Bayraktar G, Guvener B, **Bural C**, Uresin Y. Influence of polymerization method, curing process, and length of time of storage in water on the residual methyl methacrylate content in dental acrylic resins. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2006 Feb;76(2):340-5.
2. Bayraktar G, Duran O, **Bural C**, Guvener B. Effects of water storage of E-glass fiber reinforced denture base polymers on residual methyl methacrylate content. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2004 Jul 15;70(1):161-6.
3. Bayraktar G, Kurtulus İ, Duraduryan A, Cintan S, Kazancioglu R, Yildiz A, **Bural C**, Bozfakioglu S, Besler M, Trablus S. Dental and periodontal findings in hemodialysis patients. *Oral Diseases* dergisinde yayınlanmak üzere kabul edilmiştir.

Science Citation Index Expanded (SCI) kapsamında yer almayan yurtdışı dergilerde yayınlananlar:

4. Bayraktar G, **Bural C**, Sarioglu S. A Clinical Survey of Damages in Removable Dentures Needing Repair. *Balkan Journal of Stomatology* dergisinde yayınlanmak üzere kabul edilmiştir.

Yurtiçi hakemli dergilerde yayınlananlar:

5. **Bural C**, Bayraktar G, Uyumaz N, Hanzade M, Yusufoglu İ, Aydın İ. Farklı yöntemlerle polimerize edilen akrilik reçine protez kaide maddelerinin mekanik özelliklerinin incelenmesi. *Akademik Dental* 2006;8:29-33.
6. Bayraktar G, Ünür M, **Bural C**, Sarioğlu Ş. Yanan ağız sendromu olgusunda multidisipliner yaklaşım: Olgu sunumu. *Akademik Dental Diş Hekimliği Dergisi* 2005;24:53-56.
7. BayraktarG, Akdemir A, **Bural C**, Kurtuluş İ, Bayramgürler I, Çintan S , İşsever H. İskelet protezlerde destek dişlerin periodontal sağlığının değerlendirilmesi. *Türk Dişhekimliği Dergisi* 2006;64(13):97-100.
8. BayraktarG, Akdemir A, **Bural C**, Kurtuluş İ, Bayramgürler I, Çintan S , İşsever H. İskelet protez yapısının ve kullanımının destek dişlerin periodontal sağlığı ile ilişkisinin değerlendirilmesi. *Akademik Dental Diş Hekimliği Dergisi* 2006;2:20-25.

Tebliğler

- 1) Bayraktar G, Duran O, **Bural C**, Guvener B. Effects of water storage of E-glass fiber reinforced denture base polymers on residual methyl methacrylate content. Poster sunumu. Türk Prostodonti ve İmplantoloji Derneği, 12. Bilimsel Toplantısı. 23-25 Mayıs 2002, İstanbul.
- 2) Bayraktar G, Ünür M, **Bural C**, Sarioğlu Ş. Yanan ağız sendromu olgusunda multidisipliner yaklaşım. Poster sunumu. Oral Cerrahi Derneği'nin VI. Protez Akademisi ve Gnatoloji Derneği'nin VII. Ulusal Bilimsel Kongresi 23-28 Mayıs 2004, Antalya.
- 3) Bayraktar G, **Bural C**, Sarioğlu S, Tuncer N. Tamir gereksinimi olan hareketli protezler ile ilgili verilerin değerlendirilmesi. Poster sunumu. Oral Cerrahi Derneği'nin VI. Protez Akademisi ve Gnatoloji Derneği'nin VII. Ulusal Bilimsel Kongresi 23-28 Mayıs 2004, Antalya.

- 4) Bayraktar G, **Bural C**, Sarioğlu S. Fractures and tooth debondings in removable dentures needing repair. Poster sunumu. IADR CED/NOF/ID Joint meeting, 25-28 Ağustos 2004, İstanbul.
- 5) Bayraktar G, Akdemir A, **Bural C**, Kurtuluş İ, Bayramgürler I, Çintan S , İşsever H. Hareketli bölümlü protezlerde destek dişlerin periodontal sağlığının değerlendirilmesi. Poster sunumu. 12. Uluslar arası Dişhekimliği Kongresi. 20-25 Haziran 2005, İstanbul.
- 6) **Bural C**, Bayraktar G, Uyumaz N, Hanzade M, Yusufoglu İ, Aydın İ. Farklı yöntemlerle polimerize edilen akrilik reçine protez kaide maddelerinin mekanik özelliklerinin incelenmesi. Poster sunumu. Türk Prostodonti ve İmplantoloji Derneği, 15. Bilimsel Toplantısı. 22-23 Ekim 2005, Ankara.
- 7) Bayraktar G, Aptaraman S, **Bural C**, Bayramgürler I, Dişpınar D, Yusufoglu İ. Farklı yöntemlerle polimerize edilen protez kaide maddelerinin sertlik değerlerinin incelenmesi. Poster sunumu. Oral Cerrahi Derneği'nin VII. Protez Akademisi ve Gnatoloji Derneği'nin VIII. Ulusal Bilimsel Kongresi 27 Mayıs- 2 Haziran 2006, Bodrum.
- 8) **Bural C**, Bayraktar G, Bilhan H, Bayramgürler I. Dişüstü protezlerde mıknatıslı bağlantıların kullanımı. Poster sunumu. Oral Cerrahi Derneği'nin VII. Protez Akademisi ve Gnatoloji Derneği'nin VIII. Ulusal Bilimsel Kongresi 27 Mayıs- 2 Haziran 2006, Bodrum.
- 9) Bayramgürler I, Bayraktar G, **Bural C**, İnterim (ara) hareketli bölümlü protezler (İHBP): İki olgu nedeniyle. Poster sunumu. Oral Cerrahi Derneği'nin VII. Protez Akademisi ve Gnatoloji Derneği'nin VIII. Ulusal Bilimsel Kongresi 27 Mayıs- 2 Haziran 2006, Bodrum.
- 10) Bayraktar G, Akdemir A, **Bural C**, Kurtuluş İ, Bayramgürler I, Çintan S , İşsever H. Hareketli bölümlü protezlerde destek dişlerin periodontal sağlığının değerlendirilmesi. Poster sunumu. Oral Cerrahi Derneği'nin VII. Protez Akademisi ve Gnatoloji Derneği'nin VIII. Ulusal Bilimsel Kongresi 27 Mayıs- 2 Haziran 2006, Bodrum.

Sertifikalar

T.C.
TÜRK HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ DERNEĞİ



KATILIM BELGESİ

SAYIN CANAN BURAL

Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği adına 9-12 Şubat 2004 tarihleri arasında gerçekleştirilen Uygulamalı Hücre Kültürü kursunu başarıyla tamamlamıştır.

12.02.2004


Kurs Düzenleme Kurulu adına
Prof. Dr. Yener AYTEKİN


Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği adına
Prof. Dr. Şahin Sırmalı