

Rezin Esaslı Dental Materyallerin Sitotoksitesine Genel Bir Bakış

An Overview To The Cytotoxicity Of Resin Based Dental Materials

Çiğdem ATALAYIN, Hüseyin TEZEL, Zeynep ERGÜCÜ

Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi AD, İzmir, Türkiye

ÖZET

Dişhekimliği pratiğinde rezin esaslı materyaller estetik özellikleri nedeni ile ön plana çıkmaktadır. Günümüzde klinik başarı sadece materyalin mekanik ve estetik özellikleri değil, aynı zamanda biyolojik açıdan güvenilirliği ve dokularla uyumluluğu ile de ilişkilendirilmektedir. Bu yaklaşımdan hareketle rezin esaslı dental materyallerin içeriğindeki monomerler nedeni ile biyoyumlulukları sorgulanmaktadır. Bu derlememin amacı biyoyumluluğa ilişkin temel kavramları ve yöntemleri gözden geçirmek, rezin esaslı materyallerin sitotoksitesine ilişkin çalışmaların verilerini sunmak ve son olarak klinik uygulamalara ilişkin tavsiyeleri bildirmektir.

Anahtar Kelimeler: biyoyumluluk, dental materyal, rezin, monomer, sitotoksiste

ABSTRACT

Resin based dental materials have become popular due to their aesthetic features. Clinical success of the materials depends on their mechanical and aesthetic properties as well as their biocompatibility. In this approach, the biocompatibility of resin based dental materials are inquired due to their resin monomer content. The aim of this review is to consider the main definitions and methods about biocompatibility, present the results of the studies related to the cytotoxicity of resin based dental materials and report the recommendations for clinical practice.

Keywords: biocompatibility, dental material, resin, monomer, cytotoxicity

GİRİŞ

Biyoyumluluğa İlişkin Temel Kavramlar

Biyoyumluluk materyalin çeşidine, uygulandığı bölgeye ve fonksiyonuna bağlı olan bir kavramdır.¹ Bu kavram bir materyalin canlı dokularla temas halindeyken sistemik ve lokal toksik, alerjik, mutajenik ve karsinojenik etkiler oluşturmamasını ifade etmektedir.² Biyoyumluluk ya da doku uyumluluğu aslında materyalin uygulandığında konakta uygun yanıt oluşturması durumunu ifade etmektedir. Biyoyumlu bir materyal tamamen inert (etkisiz) olmayabilir, ancak klasik yaklaşımla tolere edilebilir bir biyomateryal tanımına karşılık gelir. Materyalin biyoyumluluğu yapısından salınan bileşenler ve bunların hücresel düzeyde oluşturduğu etkilere bağlıdır. Biyoyumluluk; materyalin güvenilirliği, yani beklenmedik riskler taşımaması, şeklinde de tanımlanabilir. Toksikite ise tam tersine materyalin kimyasal yollarla biyolojik sistemlerde hasar oluşturabilme özelliğini ifade etmektedir. Materyaller sistemik toksisite, lokal reaksiyonlar (sitotoksiste, nekroz, enflamasyon, apoptozis vb) ve alerjik reaksiyonlar oluşturabilir. Sitotoksiste hücresel hasarı, apoptozis ise programlı hücre ölümünü tanımlayan kavramlardır. Materyalin

DNA yapısında oluşturduğu değişiklik genotoksiste, bunun sonraki jenerasyona aktarımı ise mutajenite olarak tanımlanmaktadır.³

Biyoyumluluğun Değerlendirilmesi

Biyolojik yapıların, materyallerin olası zararlarından korunabilmesi için öncelikle sitotoksiste mekanizmalarının anlaşılması gereklidir. Materyallerin sitotoksitesini belirlemek için ISO standartlarına göre *in vitro* koşullarda uygulanabilecek test metodları; hücre kültürü (direkt temas testi, ekstrakt testi ve bariyer test metodu), agar difüzyon testi, filtre difüzyon testi ve dentin bariyer testi olarak bildirilmiştir.^{4,5}

Sitotoksiste incelemeleri genellikle hücre kültürü yöntemleri ile gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemlerde hücre serileri (L929; fare gingival fibroblast, MDPC-23; fare odontoblast, HeLa; insan epitelial, ECV 304; insan endotelial hücre hattı vb.) veya primer (dokudan izole edilen) hücreler kullanılmaktadır.⁶⁻⁸ Hücre kültürü çalışmaları; standart, kolay uygulanabilir, göreceli olarak daha ucuz ve daha az zaman gerektiren yöntemler olmakla birlikte, seçilen test yönteminin sonuçları etkileyebileceği ifade edilmiştir.⁶

Doğru bir risk değerlendirmesi için klinik koşulları yansıtan *in vitro* test modelinin/modellerinin seçimi gereklidir.⁹ Bu açıdan *in vivo* koşulları taklit eden dentin bariyer testinin iyi bir seçenek olduğu bildirilmiştir.^{9,10} Materyallerin *in vitro* koşullarda biyoyumluluk açısından tehlikeli ve/veya riskli sonuçlar sergilemesi *in vivo* koşullarda da daima toksik etki göstereceklerinin göstergesi değildir. Hücre kültürü verileri bir materyalden uygun olmayan komponentlerin salımı ve olası reaksiyonlar hakkında fikir sağlamakla birlikte, bu veriler doğrudan klinik koşullar ve hasta ile ilişkilendirilmemelidir. *In vivo* koşullarda çeşitli biyolojik ve immünolojik reaksiyonlar söz konusudur. Materyal, hücre kültüründe doğrudan toksik etki gösterirken, bu etkinin canlı dokuda (örneğin pulpa dokusunda) mevcut rejeneratif kapasite ile tolere edilmesi ve/veya zamanla ortadan kalkması mümkün olabilir.⁶

Dolayısıyla materyalin biyoyumluluğunun değerlendirilmesinde hücre kültürü testlerinden sonraki aşamada; öncelikle klinik koşulları taklit eden diğer *in vitro* test yöntemleri, daha sonra göreceli olarak daha pahalı, zaman alıcı ve etik açıdan sorgulanması gereken hayvan testleri ve son aşamada da kullanım için *in vivo* değerlendirme testleri gereklidir.⁶

Rezin Esaslı Dental Materyallerin Sitotoksitesisi

Restoratif diş tedavisi alanında pek çok rezin esaslı materyal kullanılmaktadır. Bunlar arasında en geniş kullanım alanı adeziv sistemler, kompozit rezinler ve rezin simanlara aittir.^{11,12} Rezin esaslı materyaller özelliklerine göre farklı konsantrasyonlarda çeşitli monomerler içermektedir. Bu ürünler genellikle 2,2-bis [4-(2-hidroksi-3-metakriloksi-propoksi) fenil] propan (Bis-GMA) ve ürethan dimetakrilat (UDMA) gibi visköz ve/veya 2-hidroksietilmetakrilat (HEMA) ve trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA) gibi visköz olmayan monomerler içermektedir.^{11,13,14}

Monomerlerin yapısı ve özellikleri, sitotoksik etkileri üzerinde etkilidir. Örneğin iki metakrilat grubu içeren bifonksiyonel monomerlerin monofonksiyonel monomere oranla daha fazla sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir.¹⁵ Yapısal olarak HEMA ve TEGDMA hidrofilik, Bis-GMA ve UDMA ise hidrofobik monomerler olarak tanımlanmaktadır.¹⁵ HEMA ve TEGDMA'nın Bis-GMA ve UDMA gibi daha hidrofobik monomere kıyasla daha düşük sitotoksikite potansiyeli taşıdığı bildirilmiştir.¹⁶⁻¹⁸ Rezin monomerlerde genel olarak sitotoksikite sıralaması Bis-GMA>UDMA>TEGDMA>HEMA şeklindedir.^{16,19} Öte yandan moleküler ağırlık da difüzyon oranı nedeniyle monomerin sitotoksitesisinde etkili bir faktördür. HEMA,

TEGDMA ve 4-metakroksiletil trimellitat anhidrit (4-META) gibi düşük molekül ağırlığına sahip monomerler Bis-GMA ve UDMA gibi daha visköz rezinler için solvent işlevi görmekte ve bunların hücre ve dokulara daha çok difüze olmasına neden olmaktadır.²⁰ HEMA'nın düşük viskozite göstermesi nedeniyle, yüksek difüzyon oranına rağmen düşük sitotoksikiteye sahip olduğu bildirilmiştir.²¹

Klinik ihtiyaçlar doğrultusunda rezin esaslı materyallerin içeriği bazı komponentlerin ilavesi ile modifiye edilebilir. Örneğin adeziv sistemlere antibakteriyel özellik kazandırmak üzere 12-metakriloiloksidodesil piridinyum bromür (MDPB) ilave edilmiştir. MDPB'nin sitotoksitesinin TEGDMA'ya benzer olduğu bilinmektedir.²² HEMA ve TEGDMA içerikli adeziv sisteme MDPB ilavesinin ise sitotoksik etki açısından fark ve olumsuz etki oluşturmadığı belirtilmiştir.^{20,21} Antibakteriyel ve hassasiyet giderici özelliği nedeni ile adeziv sistemlere dahil edilen glutraldehitin ise HEMA'ya oranla daha fazla sitotoksik etki gösterdiği bilinmektedir.²³ Çalışmalarda glutraldehit içerikli adeziv sistemlerin hücrede daha çok reaksiyona neden olduğu ve hücre canlılığı yönünden olumsuz etki gösterdiği saptanmıştır.^{24,25}

Rezin esaslı materyallerin polimerizasyonu tungsten halojen ve LED gibi çeşitli ışık kaynakları ile aktive edilmektedir. Teorik olarak, polimerizasyon süreci sonunda monomerlerin tamamının polimere dönüşmüş olması (konversiyonu) beklenmektedir. Ancak polimerizasyon sırasında metilmetakrilat monomerleri % 15 ile % 50 arası değişen oranlarda tepkimeye girmemekte ve buna bağlı olarak polimerize olmamış artık monomerleri oluşturmaktadır.^{26,27} Materyalin sitotoksik etkisinin polimerizasyon düzeyi, salınan komponentlerin türü ve konsantrasyonuna bağlı olduğu bilinmektedir.^{2,16,28,29} Kullanılan ışık kaynağının ise polimerizasyon derinliği, konversiyon derecesi ve salınan rezidüel monomer miktarını etkilediği bildirilmiştir.³⁰⁻³² Örneğin biyolojik özellikler ve sitotoksikite göz önünde bulundurulduğunda halojen ışık kaynaklarının LED ışık kaynaklarına göre avantaj sağladığı bildirilmiştir.⁸ Rezin esaslı materyallerin kısa süreli polimerizasyon sonrasında daha çok toksik etki gösterdiği bilinmektedir.³³ Yetersiz polimerizasyon, ağız ortamına rezidüel monomer salımı ile sonuçlanmakta ve rezidüel monomerler dokuda direkt biyolojik reaksiyon oluşturabilmektedir. Ayrıca rezin monomerlerin yetersiz polimerizasyonu ve monomer salımı sonucu oluşan

degradasyon (bozunma), materyalin klinik performansını da olumsuz etkilemektedir.^{26,34-37}

Polimerizasyon büzülmesi, materyalin doku uyumluluğunu indirekt olarak etkilemektedir.¹⁵ Polimerizasyon büzülmesi ve bu nedenle oluşan stresi azaltmak üzere; oksiran, siloksan ilavesi ve açık-halka polimerizasyon sistemi ile geliştirilen siloranın metakrilat-bazlı materyallere göre daha az sitotoksikite sergilediği bildirilmiştir.^{38,39} Sitotoksikite ve biyouyumluluğu etkileyen bir diğer faktör ise rezin matrisin temel kimyasal yapısı ve doldurucu içeriğidir. Örneğin akışkan rezin kompozitlerin, doldurucu içeriği yüksek materyallere göre daha fazla sitotoksik etki gösterdiği saptanmıştır.⁴⁰

Rezin kompozitlerden salınan monomerlerin sistemik yan etki oluşturacak düzeyde olmadığı bilinmektedir.⁴¹ Ancak bu monomerler non-letal konsantrasyonlarda hücre metabolizmasını bozmakta ve sitotoksik etki, alerjik reaksiyon ve mutajenite oluşturabilmektedir.¹⁵ Rezin esaslı materyallerin pulpa dokusu ile direkt temas edecek şekilde uygulandığında dokuda enflamasyona ve dentin mineralizasyonunda inhibisyona neden oldukları bildirilmiştir.⁴²⁻⁴⁴ Üretici firma önerilerinin aksine, adeziv sistemlerin direkt pulpa kuafaj materyali olarak denendiği çalışmalar mevcuttur. Ancak hayvan ve insan dişlerindeki uygulamalar farklı sonuçlar sergilemiştir.⁴⁵⁻⁴⁸ Ekspoze insan pulpasında kuafaj materyali olarak dentin bağlayıcı ajan kullanımı sonucunda pulpal iyileşmede gecikme, kalıcı enflamatuvar reaksiyon ve dentin köprüsü oluşturmada yetersizlik gözlenmiş,^{47,48} ayrıca pulpa arayüzünde adeziv başarısızlık meydana geldiği saptanmıştır.⁴⁶ Örneğin dentin bağlayıcı ajan uygulamasında monomer, asit veya solventlerin dentin tübüllerinden geçmesi ve özellikle dentin geçirgenliği yüksek olduğunda sitotoksik etki göstermesi mümkündür.^{49,50} Sitoplazmik uzantıları dentin kanallarına ulaşan odontoblast hücreleri rezidüel komponentlerden ilk etkilenen hücre grubudur.⁵¹ Rezin monomerlerin; odontoblastların alkalen fosfataz aktivitesi, matris mineralizasyon kapasitesi, kalsiyum depozisyonu ve dentin proteinleri için gen ekspresyonu gibi spesifik fonksiyonlarını inhibe etmesi mümkündür.^{52,53} Bunun yanı sıra fibroblastların hücresel fonksiyonlarını da olumsuz etkilediği bilinmektedir.⁵⁴ Ayrıca rezin monomerlerin kök hücrelerin de dahil olduğu pulpa kaynaklı hücrelerin odontojenik farklılaşma ve mineralizasyon süreçlerinde gecikmeye neden olduğu bildirilmiştir.⁵⁵⁻⁵⁸

Rezin monomerler çevresel stres kaynağı oluşturarak kompleks hücresel iletişimi ve sinyal iletim yolağını

bozmaktadır.⁵⁹ Normal koşullarda hücrede oksidatif stres oluşturan, hidrojen peroksit, süperoksit anyonları ve hidroksil radikalleri içeren reaktif oksijen türleri (ROS) ile bunların salım ve kontrolünü sağlayan antioksidan sistemleri arası denge mevcuttur. Ancak rezin monomerlerin indüklediği oksidatif stres hücre içi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların kapasitesini aşan ROS üretimine neden olmaktadır.⁶⁰ Dolayısıyla ROS üretimi rezin monomer sitotoksikitesinde hücresel stresin erken belirteçlerinden biri olarak tanımlanmaktadır.⁶¹⁻⁶³ ROS artışının hücrenin lipid, protein ve karbonhidrat gibi yapısal bileşenlerini ve DNA'yı oksidatif hasara uğratması ve apoptozise neden olması mümkündür.^{8,19,64} Oksidatif stres her zaman mutajenik koşullar oluşturmayabilir, ancak hücre içi oksidatif stres ve ROS üretimine neden olan kimyasallar mutajenite için de potansiyel oluşturmaktadır.⁶⁵

Materyalin pulpa dokusu ve hücrelerinde oluşturacağı biyolojik etkide, serbest monomerleri absorbe ederek bir tür bariyer görevi yapan dentin dokusu önemli bir faktördür.⁶⁶⁻⁶⁸ Test materyali ile hedef hücre arasına dentin yerleştirildiğinde adeziv materyalden salınıp hücreye ulaşan toksik bileşenlerin azaldığı belirlenmiştir.²³ Materyal ve hücreler arasında dentin bariyeri bulunmasına rağmen monomerler dentin tübüllerinden geçerek hücreleri etkilemektedir, ancak dentin kalınlığı arttıkça sitotoksikitenin azaldığı belirlenmiştir.⁹ Dentin kalınlığı azaldıkça rezin monomerlerin difüzyon oranının arttığı ve 0,5 mm kalınlığındaki dentinin bariyer etkisinin 1 mm ve 1,5 mm kalınlığındaki dentine oranla daha az olduğu bildirilmiştir.^{69,70} Ayrıca dentin tübüllerinin çapının ve sayısının mine-dentin sınırından pulpaya doğru gidildikçe arttığı bilinmektedir,⁷¹ dolayısıyla ultrastrüktürel olarak korondan pulpaya doğru tübül sayısı ve çapındaki artış, pulpaya yaklaştıkça dentin dokusunun geçirgenliğinde de artış ile sonuçlanacaktır. Ayrıca, kavite preparasyonu sırasında oluşturulan smear tabakasına bağlı olarak dentin dokusunun difüzyon veya absorpsiyon bariyeri görevinde olması da mümkündür.⁷²

Klinik Uygulamaya İlişkin Öneriler

Rezin esaslı dental materyallerin kullanımında biyouyumluluk göz önünde bulundurularak bir takım hususlara dikkat edilmesi klinik başarı açısından faydalı olacaktır.

- Literatürde aksini iddia eden veriler bulunmasına karşın hali hazırda etkin alternatif materyaller (örneğin kalsiyum hidroksit içerikli ürünler) mevcut iken kompozit rezinler ve adezivler direkt pulpa

kuafaj materyali olarak kullanılmamalıdır. Kalsiyum hidroksit süspansiyonu kullanıldığında, yüzeyi uygun bir cam iyonomer siman ile stabilize edilmeli/örtülenmeli, kompozit restorasyon bunu takiben uygulanmalıdır.¹⁵

- Derin ve dentin geçirgenliği artmış olan kavitelere kendinden-asitli adeziv sistemlerin kullanılması ve kavite tabanında pulpa koruyucu bir materyal ile örtüleme yapılması, asitle-yıka adeziv sistemlerin ise daha yüzeysel kavitelere uygulanması tavsiye edilmektedir.⁷³
- Yüzeysel oksijen inhibisyon tabakası ve polimerize olmamış monomerik yüzey tabakası mekanik olarak uzaklaştırılmadığında rezin materyaller daha fazla toksik etki göstermektedir.⁷⁴ Bu nedenle kompozit uygulaması sonrası bitirme ve polisaj işlemleri prosedüre uygun şekilde gerçekleştirilmelidir.
- Yeni yapılmış rezin restorasyonların şekillendirilmesi ve polisajı sırasında kompozit rezin partiküllerinin inhalasyonunu engellemek üzere lastik örtü kullanımı, su soğutması ve sakşın kullanımı gibi koruyucu önlemler alınmalıdır. Dişhekimi ve personelin rezin esaslı materyallerle deri teması engellenmelidir. Söz konusu materyaller likenoid reaksiyon veya alerji durumlarında kullanılmamalıdır.¹⁵
- Işık kaynaklarının çeşidine ve süresine göre polimerizasyon derinliği, konversiyon derecesi, rezidüel monomer miktarı ve ROS üretimi değişmektedir.^{8,30-32} Bu durum dikkate alınarak, materyalin özelliğine uygun ışık kaynağının önerilen şekilde ve sürede kullanımı fayda sağlayacaktır.

SONUÇ

Dişhekimliği pratiğinde yaygın ve etkin kullanım alanı kazanmış olan rezin esaslı dental materyallerin biyouyumluluklarına ilişkin sorgulama halen devam etmektedir. Söz konusu materyallerin biyouyumluluklarına ilişkin çalışmalar, sitotoksitesiyi azaltmaya yönelik yenilikçi yaklaşımları da beraberinde getirmiştir. Dişhekimliği pratiğinde mekanik ve estetik özellikleri yanında biyouyumlulukları da geliştirilmiş olan biyomateryallere ihtiyaç vardır; çünkü materyalin klinik başarısında canlı dokularla olan uyumu belirleyici bir faktördür. Bu ihtiyaç doğrultusunda mevcut materyallerde söz konusu özellikleri geliştirme açısından çeşitli modifikasyonların yapılması veya yeni komponentlerin eklenmesi gibi alternatif yöntemlerle araştırmalar devam etmektedir. Son yıllarda popülerlik kazanan cam iyonomer esaslı materyallerin, rezin esaslı materyallere

göre daha biyouyumlu olduğu ifade edilmektedir.⁷⁵ Materyal bilimindeki gelişmelerin hızı dikkate alındığında, bu materyallerin biyolojik değerlendirmelerinin doğru ve etkili olarak yapılmasının da büyük önem taşıdığı gözden kaçırılmamalıdır.

KAYNAKLAR

1. Wataha JC. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J Prosthet Dent* 2001; 86(2): 203-209.
2. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: A review. *Dent Mater* 1996; 12: 186-193.
3. Schmalz G, Arenholdt-Bindslev D. Basic Aspects. In: Schmalz G, Arenholdt-Bindslev D. Biocompatibility of Dental Materials. 1st Ed., Springer, Verlag Berlin Heidelberg, 2009, 1-12.
4. Murray PE, García Godoy C, García Godoy F. How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007; 12(3): 258-266.
5. ISO 10993-5:2009 Biological evaluation of medical devices -- Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. <http://www.iso.org>. Erişim tarihi: 02.03.2015
6. Schmalz G. Determination of Biocompatibility. In: Schmalz G, Arenholdt-Bindslev D. Biocompatibility of Dental Materials. 1st Ed., Springer, Verlag Berlin Heidelberg, 2009, 13-43.
7. El-kholany NR, Abielhassan MH, Elembaby A, Maria OM. Apoptotic effect of different self-etch dental adhesives on odontoblasts in cell cultures. *Arch Oral Biol* 2011. doi: 10.1016/j.archoralbio.2011.11.019.
8. Spagnuolo G, Annunziata M, Rengo S. Cytotoxicity and oxidative stress caused by dental adhesive systems cured with halogen and LED lights. *Clin Oral Invest* 2004; 8: 81-85.
9. Kusdemir M, Gunal S, Ozer F, Imazato S, Izutani N, Ebisu S, Blatz MB. Evaluation of cytotoxic effects of six self-etching adhesives with direct and indirect tests. *Dent Mater J* 2011; 30(6): 799-805.
10. Schmalz G, Schuster U, Nützel K, Schweikl H. An in vitro pulp chamber with three-dimensional cell cultures. *J Endod* 1999; 25: 24-29.
11. Cramer NB, Stansbury JW, Bowman CN. Recent advances and developments in composite dental restorative materials. *J Dent Res* 2011; 90: 402-416.

12. Ferracane JL. Resin composite--state of the art. *Dent Mater* 2011; 27: 29-38.
13. Peutzfeldt A. Resin composites in dentistry: the monomer systems. *Eur J Oral Sci* 1997; 105: 97-116.
14. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials* 2007; 28: 3757-3785.
15. Schmalz G. Resin-Based Composites. In: Schmalz G, Arenholdt-Bindslev D. *Biocompatibility of Dental Materials*. 1st Ed., Springer, Verlag Berlin Heidelberg, 2009, 99-137.
16. Ratanasathien S, Wataha JC, Hanks CT, Dennison JB. Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. *J Dent Res* 1995; 74: 1602-1606.
17. Spagnulo G, Mauro C, Leonardi A, Santillo M, Paterno R, Schweikl H. NF-B protection against apoptosis induced by HEMA. *J Dent Res* 2004; 83: 703-707.
18. Janke V, von Neuhoff N, Schlegelberger B, Leyhausen G, Geurtsen W. TEGDMA causes apoptosis in primary human gingival fibroblasts. *J Dent Res* 2003; 82: 814-818.
19. Lee DH, Lima BS, Lee YK, Ahn SJ, Yanga HC. Involvement of oxidative stress in mutagenicity and apoptosis caused by dental resin monomers in cell cultures. *Dent Mater* 2006; 22: 1086-1092.
20. Bouillaguet S, Virtiliggo M, Wataha J, Ciucchi B. The influence of dentine permeability on cytotoxicity of four dentine bonding systems in vitro. *J Oral Rehabil* 1998; 25: 45-51.
21. Imazato S, Tarumi H, Ebi N, Ebisu S. Cytotoxic effects of composite restorations employing self-etching primers or experimental antibacterial primers. *J Dent* 2000; 28: 61-67.
22. Imazato S, Ebi N, Tarumi H, Russell RRB, Kaneko T, Ebisu S. Bactericidal activity and cytotoxicity of antibacterial monomer MDPB. *Biomaterials* 1999; 20: 899-903.
23. Hanks CT, Wataha JC, Parsell RR, Strawn SE. Delineation of cytotoxic concentrations of two dentin bonding agents in vitro. *J Endod* 1992; 18: 589-596
24. Koulaouzidou EA, Helvatjoglu-Antoniades M, Palaghias G, Karanika-Kouma A, Antoniades D. Cytotoxicity of dental adhesives in vitro. *Eur J Dent*. 2009; 3(1): 3-9.
25. Galler K, Hiller KA, Ettl T, Schmalz G. Selective influence of dentin thickness upon cytotoxicity of dentin contacting materials. *J Endod* 2005; 31: 396-399.
26. Ferracane JL. Elution of leachable components from composites. *J Oral Rehabil* 1994; 21: 441-452.
27. Imazato S, McCabe JF, Tarumi H, Ehara A, Ebisu S. Degree of conversion of composites measured by DTA and FTIR. *Dent Mater* 2001; 17: 178-183.
28. Costa CAS, Hebling J, Hanks CT. Effects of light curing time on the cytotoxicity of a restorative resin composite applied to an immortalized odontoblast-cell line. *Oper Dent* 2003; 28: 365-370.
29. Nalcacı A, Oztan MD, Yılmaz S. Cytotoxicity of composite resins polymerized with different curing methods. *Int Endod J* 2004; 37: 151-156.
30. Stahl F, Ashworth SH, Jandt KD, Mills RW. Lightemitting diode (LED) polymerisation of dental composites flexural properties and polymerisation potential. *Biomaterials* 2000; 21: 1379-1385.
31. Kurachi C, Tuboy AM, Magalhaes DV, Bagnato VS. Hardness evaluation of a dental composite polymerized with experimental LED-based devices. *Dent Mater* 2001; 117: 309-315.
32. Jandt KD, Mills RW, Blackwell GB, Ashworth SH. Depth of cure and compressive strength of dental composites cured with blue light emitting diodes (LEDs). *Dent Mater* 2000; 16: 41-47.
33. Caughman WF, Caughman GB, Shifflett RA, Rueggeberg F, Schuster GS. Correlation of cytotoxicity, filler loading and curing time on dental composites. *Biomaterials* 1991; 12: 737-740.
34. Durner J, Spahl W, Zaspel J, Schweikl H, Hickel R, Reichl FX. Eluted substances from unpolymerized and polymerized dental restorative materials and their Nernst partition coefficient. *Dent Mater* 2010; 26: 91-99.
35. Drummond JL. Degradation, fatigue, and failure of resin dental composite materials. *J Dent Res* 2008; 87: 710-719.
36. Ferracane JL. Resin-based composite performance: are there some things we can't predict? *Dent Mater* 2013; 29: 51-58.
37. Santerre JP, Shajii L, Leung BW. Relation of dental composite formulations to their

- degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. *Crit Rev Oral Biol Med* 2001; 12: 136-151.
38. Weinmann W, Thalacker C, Guggenberger R. Siloranes in dental composites. *Dent Mater* 2005; 21: 68-74.
 39. Shafiei F, Tavangar MS, Razmkhah M, Attar A, Alavi AA. Cytotoxic effect of silorane and methacrylate based composites on the human dental pulp stem cells and fibroblasts. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2014;19(4): 350-358.
 40. Wataha JC, Lockwood PE, Bouillaguet S, Noda M. In vitro biological response to core and flowable dental restorative materials. *Dent Mater* 2003; 19: 25-31.
 41. Seiss M, Langer C, Hickel R, Reichl FX. Quantitative determination of TEGDMA, BHT, and DMABEE in eluates from polymerized resin-based dental restorative materials by use of GC/MS. *Arch Toxicol* 2009; 83: 1109-1115.
 42. Costa CAS, Hebling J, Hanks CT. Current status of pulp capping with dentin adhesive systems: a review. *Dent Mater* 2000; 16: 188-197.
 43. Murray PE, Hafez AA, Windsor LJ, Smith AJ, Cox CF. Comparison of pulp responses following restoration of exposed and non-exposed cavities. *J Dent* 2002; 30: 213-222.
 44. Modena KC, Casas-Apayco LC, Atta MT, Costa CA, Hebling J, Sipert CR et al. Cytotoxicity and biocompatibility of direct and indirect pulp capping materials. *J Appl Oral Sci* 2009; 17: 544-554
 45. Nowicka A, Parafiniuk M, Lipski M, Lichota D, Buczkowska-Radlinska J. Pulpo-dentin complex response after direct capping with self-etch adhesive systems. *Folia Histochem Cytobiol* 2012; 50(4): 565-573.
 46. Silva GA, Gava E, Lanza LD, Estrela C, Alves JB. Subclinical failures of direct pulp capping of human teeth by using a dentin bonding system. *J Endod* 2013; 39(2): 182-189.
 47. Hebling J, Giro EMA, Costa CAS. Biocompatibility of an adhesive system applied to exposed human dental pulp. *J Endod* 1999; 25: 676-682.
 48. Costa CAS, Nascimento ABL, Teixeira HM, Fontana UF. Response of human pulps capped with a self-etching adhesive system. *Dent Mater* 2001; 17(3): 230-240.
 49. Geurtsen W, Spahl W, Muller K, Leyhausen G. Aqueous extracts from dentin adhesives contain cytotoxic chemicals. *J Biomed Mater Res* 1999; 48(6): 772-777.
 50. Vajrabhaya L, Padasuk A, Harnirattisai C. Cytotoxicity evaluation of single component dentin bonding agents. *Oper Dent* 2003; 28(4): 440-444.
 51. Costa CAS, Giro EMA, Nascimento ABL, Teixeira HM, Hebling J. Short-term evaluation of the pulp-dentin complex response to a resin-modified glass-ionomer cement and a bonding agent applied in deep cavities. *Dent Mater* 2003; 19(8): 739-746.
 52. Tsukimura N, Yamada M, Aita H, Hori N, Yoshino F, Chang-II Lee M et al. N-acetyl cysteine (NAC)-mediated detoxification and functionalization of poly(methyl methacrylate) bone cement. *Biomaterials* 2009;30: 3378-3389.
 53. Galler KM, Schweickl H, Hiller KA, Cavender AC, Bolay C, D'Souza RN et al. TEGDMA reduces the expression of genes involved in biomineralization. *J Dent Res* 2011; 90: 257-262.
 54. Hanks CT, Strawn SE, Wataha JC, Craig RG. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *J Dent Res* 1991; 70: 1450-1455.
 55. About I. Dentin regeneration in vitro: the pivotal role of supportive cells. *Adv Dent Res* 2011; 23: 320-324.
 56. About I, Camps J, Mitsiadis TA, Bottero MJ, Butler W, Franquin JC. Influence of resinous monomers on the differentiation in vitro of human pulp cells into odontoblasts. *Biomed Mater Res* 2002; 63: 418-423.
 57. Bakopoulou A, Leyhausen G, Volk J, Tsiftoglou A, Garefis P, Koidis P, et al. Effects of HEMA and TEDGMA on the in vitro odontogenic differentiation potential of human pulp stem/progenitor cells derived from deciduous teeth. *Dent Mater* 2011; 27: 608-617.
 58. Bakopoulou A, Leyhausen G, Volk J, Koidis P, Geurtsen W. Effects of resinous monomers on the odontogenic differentiation and mineralization potential of highly proliferative and clonogenic cultured apical papilla stem cells. *Dent Mater* 2012; 28: 327-339.
 59. Krifka S, Spagnuolo G, Schmalz G, Schweickl H. A review of adaptive mechanisms in cell

- responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers. *Biomaterials* 2013; 34: 4555-4563.
60. Schweikl H, Spagnulo G, Schmalz G. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *J Dent Res* 2006; 82: 870-877.
61. Baumgardner KR, Sulfaro MA. The anti-inflammatory effects of human recombinant Copper-Zinc Superoxide Dismutase on pulp inflammation. *J Endod* 2001; 27: 190-195.
62. Atsumi T, Murata J, Kamiyanagi I, Fujisawa S, Ueha T. Cytotoxicity of photosensitizers camphorquinone and 9-fluorenone with visible light irradiation on a human submandibular duct cell line in vitro. *Arch Oral Biol* 1998; 43: 73-81.
63. Engelmann J, Leyhausen G, Leibfritz D, Geurtsen W. Effect of TEGDMA on the intracellular glutathione concentration of human gingival fibroblasts. *J Biomed Mater Res* 2002; 63: 746-751.
64. Mates JM, Sanchez-Jimenez FM. Role of reactive oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy. *Intl J Biochem Cell Biol* 2000; 32: 157-170
65. Bolt HM, Foth H, Hengstler JG, Degen GH. Carcinogenicity categorization of chemicals-new aspects to be considered in a European perspective. *Toxicol Lett* 2004; 151: 29-41.
66. Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent* 1997; 25: 355-372.
67. Schmalz G, Schuster U, Thonemann B, Barth M, Esterbauer S. Dentin barrier test with transfected bovine pulp-derived cells. *J Endod* 2001; 27: 96-102.
68. Goldberg M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. *Clin Oral Inv* 2008; 12: 1-8.
69. Hamid A, Hume WR. The effect of dentine thickness on diffusion of resin monomers in vitro. *J Oral Rehabil* 1997; 24: 20-25.
70. Galler K, Hiller KA, Ettl T, Schmalz G. Selective influence of dentin thickness upon cytotoxicity of dentin contacting materials. *J Endod* 2005; 31: 396-399.
71. Pashley DH, Liewehr FR. Structure and functions of the dentin- pulp complex. In: Cohen S, Hargreaves KM. 9th Ed., Elsevier, St.Louis: Mosby, 2006, 460-513.
72. Schmalz G, Hiller KA, Nunez LJ, Stoll J, Weis K. Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. *J Endod* 2001; 27: 23-30.
73. Costa CAS, Teixeira HM. Response of human pulps following acid conditioning and application of a bonding agent in deep cavities. *Dent Mater* 2002; 18: 543-551.
74. Schmalz G. The biocompatibility of nonamalgam dental filling materials. *Eur J Oral Sci* 1998; 106: 696-706.
75. Tamilselvam S, Divyanand MJ, Neelakantan P. Biocompatibility of a conventional glass ionomer, ceramic reinforced glass ionomer, giomer and resin composite to fibroblasts: in vitro study. *J Clin Pediatr Dent.* 2013; 37(4): 403-406.

Yazışma Adresi:

Dr. Çiğdem ATALAYIN

Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, Restoratif
Diş Tedavisi Anabilim Dalı 35100 İzmir - Türkiye

Tel: ++90 232 311 28 87

E-posta: dtcatalayin@gmail.com