

# Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Sitotoksik Etkileri

## The Cytotoxic Effects of Dentin Bonding Agents: Review

Uz.Dt. Safa TUNCER,<sup>a</sup>  
Prof.Dr. Mustafa DEMİRCİ<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Diş Hastalıkları ve Tedavisi AD,  
İstanbul Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi, İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 16.09.2010  
Kabul Tarihi/Accepted: 20.01.2011

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Uz.Dt. Safa TUNCER  
İstanbul Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi,  
Diş Hastalıkları ve Tedavisi AD, İstanbul,  
TÜRKİYE/TURKEY  
safatuncer@gmail.com

**ÖZET** Dişlerde oluşan madde kayıplarının restorasyonunda kullanılan dental materyaller ile diş dokusunun kaybedilmiş olan estetik, fonetik ve fonksiyonel özelliklerinin yeniden kazandırılması amaçlanmaktadır. Günümüzde adeziv diş hekimliğindeki gelişmeler sonucu reçine esaslı restoratif materyallerin kullanımı büyük önem kazanmıştır. Dentin bağlayıcı sistemler, kavite duvarı ile restoratif materyal arasında oluşabilecek mikrosızıntıyı, marjinal renklemeyi, sekonder çürükleri ve bunların sonucunda oluşabilecek pulpa reaksiyonlarını önlerler. Ayrıca diş ve restoratif materyaller üzerine gelen fonksiyonel stresleri iletir ve zayıflamış diş dokularını güçlendirirler. Dentin bağlayıcı sistemler, "etch&rinse", "self etch" ve cam iyonomer bağlayıcı sistemler olmak üzere üç farklı şekilde sınıflandırılmıştır. Çeşitli metakrilatlar (örn: HEMA, 4-META), dimetakrilatlar (örn: TEGDMA), fosfanat penta akril esterler, akril amidler, aldehitler (örn: glutaraldehit) ve organik asitlerden oluşan bu sistemlerde aseton, etanol ve su çözücü olarak bulunmaktadır. Ağız ortamının değişken yapısından dolayı restorasyonlarda kullanılan bu materyallerin mekanik ve fiziksel özelliklerinin yanı sıra biyolojik özellikleri de önem kazanmaktadır. Adeziv sistemlerin içeriklerinde bulunan komponentlerin, canlı diş dokuları üzerinde sitotoksik etkilerinin olup olmadığının anlaşılabilmesi için bu materyallerin biyouyumluluklarının incelenmesine gerek duyulmaktadır. Çeşitli metotlarla yapılan bu incelemeler, en az materyallerin geliştirilme safhaları kadar önem taşıyan bir safhadır. Adeziv sistemlerin farklı içeriklere sahip olmasından dolayı farklı marka ve tipteki adeziv sistemler farklı sitotoksik etki göstermektedir. Bu derleme ile dentin bağlayıcı ajanların sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Dentin yapıştırma ajanları; sitotoksisite testleri, immünolojik; hücre kültürü teknikleri; malzemelerin denemesi

**ABSTRACT** Aesthetic, phonetic and functional features are aimed to regain by the materials used for the restoration of tooth tissue loss. Dental adhesives avert the microleakage, marginal discoloration, secondary caries between cavity wall and restorative material. Also they avoid the pulp reactions which may occur as a result of these factors. Dental adhesives transmit the functional stress on tooth and restorative material and strengthen the weakened tooth tissue. Dental adhesives are classified as etch & rinse, self etch and glass ionomer adhesives. Adhesives consist of methacrylates (e.g., 2-hydroxymethyl-methacrylate, or HEMA, and 4-methacryl-oxethyl-trimellitic-anhydride, or 4-META), dimethacrylates (e.g., TEGDMA), phosphonated penta-acryl esters, acryl amides, aldehydes (e.g., glutaraldehyde), and organic acids. Solvents are ethanol, acetone, or water. Due to the structure of the oral environment variables, biological features of the dental materials used in the restoration of tooth are important as well as mechanical and physical properties. To understand the cytotoxic effects of the adhesive system components on dental and oral soft tissues, the biocompatibility of these materials should be reviewed. This review made by various methods are at least as important as the materials which are under development. Adhesive system may have different ingredients. This is why different brands and types of adhesive systems may show different cytotoxic effects. In the present review the cytotoxic effects of dentin bonding agents were evaluated.

**Key Words:** Dentin-bonding agents; cytotoxicity tests, immunologic; cell culture techniques; materials testing

**D**iş hekimliğinde kullanılan restoratif materyallerdeki gelişmelerin esas amacı, madde kaybına uğramış diş dokularını restore edebilecek en ideal materyali elde etmektir. Restoratif materyaller ağız ortamında yumuşak doku ve sıvılarla temas etmektedir. Bu nedenle yeni bir materyal seçiminde, mekanik ve fiziksel özelliklerin yanı sıra biyolojik uyumluluk da göz önüne alınmaktadır.

Dentin bağlayıcı sistemler, kompozit reçineler ile dentin arasındaki bağlanmayı arttırmak için geliştirilen materyallerdir.<sup>1</sup> Bu reçine materyaller, kavite duvarı ile restoratif materyal arasındaki yüzeyi hermetik olarak kapatarak mikrosızıntıyı, marjinal renklemeyi, sekonder çürükleri ve bunların sonucunda oluşabilecek pulpa reaksiyonlarını önlerler. Dentin bağlayıcı sistemler ayrıca diş ve restoratif materyaller üzerine gelen fonksiyonel stresleri iletirler ve zayıflamış diş dokularını güçlendirirler.<sup>2</sup>

Diş sert dokuları ile restoratif materyaller arasındaki adezyonun temel prensibi, dişin inorganik kısımlarının sentetik reçine ile yer değiştirmesidir.<sup>3</sup> Bu süreç iki aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşama, kalsiyum-fosfatın uzaklaştırılması sonucu mine ve dentinde mikroporozite oluşumu, ikinci aşama ise reçinenin oluşan mikroporoziteler arasına girip polimerize olması ve bunun sonucunda mikromekanik adezyonun sağlanmasıdır. Klinikte mikromekanik kilitlenmenin iyi bir bağlanma oluşturması yanında fonksiyonel monomerler ile diş dokularının kimyasal bir etkileşime girmesi de önem kazanmaktadır.<sup>4</sup>

Adezif restorasyonlarda klinik başarı kullanılan bağlayıcı sistem ve teknikle bağlantılıdır. Adeziv bağlantı iki farklı yüzey arasında oluşurken diş hekimliğinde adezyon mine-dentin-bağlayıcı sistem-kompozit, porselen, amalgam vb. gibi daha kompleks yapılar arasında gerçekleşir.<sup>5</sup>

Dentin bağlayıcı sistemlerin farklı şekillerde sınıflandırılması yapılmıştır. Van Meerbeek ve ark.nın, 2001 yılında yaptıkları sınıflama günümüzde bilimsel açıdan kabul gören sınıflamadır.<sup>6</sup> Bu sınıflandırmada dentin bağlayıcı ajanların uygulama basamaklarının sayısı yanı sıra mine ve dentine bağlanma stratejileri de esas alınmıştır. Bu

sınıflamaya göre bağlayıcı sistemler üç gruba ayrılmıştır:

1. “Etch&rinse” sistemler.
2. “Self etch” bağlayıcı sistemler.
3. Cam iyonomer bağlayıcı sistemler.

## ETCH & RİNSE BAĞLAYICI SİSTEMLER

Bu sistemler, mine ve dentin yüzeyini %30-40 konsantrasyonunda fosforik asit ile asitleme ve yıkama işlemlerini gerektirir. Asitleme işlemi sonrası smear tabakası tamamen uzaklaşır ve yüzeyel hidroksiapatit kristalleri demineralize olur. Geleneksel “etch & rinse” sistemlerde asitleme işlemi takiben primer ve ardından bağlayıcı reçine uygulaması yapılmaktadır.<sup>4</sup> Aşamalarını azaltmak ve basitleştirmek için iki aşamalı “etch & rinse” bağlayıcı sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemlerde asitleme işlemi takiben primer ve adeziv uygulaması tek aşamada yapılmaktadır. Hem iki hem üç aşamalı bağlayıcılar benzer adezyon mekanizmaları ile diş dokularına tutunurlar. Asit uygulama aşamasında fosforik asit smear tabakasını kaldırır, aynı zamanda dentini de 3-5 µm derinliğinde kollajen fibril ağını açığa çıkarır. Açığa çıkmış bu kollajen fibriller mikro tutucu bir ağ yapısı oluşturur, reçinenin bu ağa difüze olması ile bir mikromekanik bağlanma meydana gelir.<sup>7</sup> Asit uygulamasından sonra adezyonu arttıran monomerler bir ya da iki aşamada uygulanarak açığa çıkmış kollajen ağa penetre olurlar.

## SELF ETCH BAĞLAYICI SİSTEMLER

Bu dentin bağlayıcı sistemler ayrı bir asitleme ve yıkama safhası gerektirmezler. Böylece uygulama süresi kısalmış, teknik hassasiyetleri ve uygulama süresince hata yapma oranı azalmıştır. “Self-etch” bağlayıcı sistemler, “smear” tabakasını asidik monomerler ile çözerek ya da modifiye ederek etki gösterirler.<sup>4</sup> “Self etch” bağlayıcı sistemlerin yapısında bulunan asidik monomerler mine ve dentini pürüzlendirirken aynı zamanda primer işlevi görerek reçine infiltrasyonunu sağlarlar. Bunun sonucunda çözülmüş “smear” tabakası ve demineralizasyon ürünleri “etch & rinse” sistemlerdeki gibi yıkanarak uzaklaştırılmazlar, bu ürünler

adeziv reçine ile birleşmiş bir şekilde bulunurlar.<sup>8</sup> Böylece “smear” tabakası monomer infiltrasyonu ile modifiye edilerek hibrit tabakaya katılması sağlanır ve bağlanma ara yüzeyinin bir parçası haline gelir.

“Self etch” bağlayıcı sistemler iki şekilde sınıflandırılabilirler. Uygulama şekline göre iki aşamalı ve tek aşamalı “self etch” bağlayıcı sistemler olarak isimlendirilirler. İki aşamalı sistemlerde asidik monomer içeren primer uygulamasının ardından hidrofobik bağlayıcı reçine uygulanırken, tek aşamalı sistemlerde asit monomer ve bağlayıcı reçine tek bir şişede toplanmış, böylece uygulama tek aşamaya indirilmiştir.<sup>9</sup>

“Self etch” bağlayıcı sistemler pH değerlerine ve asitleme potansiyellerine göre kuvvetli ( $pH \leq 1$ ), orta ( $pH \approx 1,5$ ) ve zayıf ( $pH \geq 2$ ) olarak da sınıflandırılırlar. “Self-etch” bağlayıcı sistemlerin içeriklerinde “self etch” adeziv monomerler, çapraz bağlı monomerler ve monofonksiyonel komonomer bulunmaktadır. “Self etch” adeziv monomerler karboksilik, fosforik veya dihidrojenfosfat asit grubu içerirler. Bu gruplar sayesinde “self etch” bağlayıcı sistemler diş sert dokularında pürüzlendirmeyi sağlarlar. Ayrıca içerdiği monomerlerle diş sert dokularının inorganik kısmıyla şelasyon yaparak kimyasal bağlanma gerçekleştirirler. İyonik bağlanma için suya ihtiyaç vardır ve dolayısıyla “self etch” bağlayıcı sistemler genellikle su bazlıdır. Aseton ve etanol gibi yardımcı solventler de bu sistemler içerisine dâhil edilebilir.<sup>10</sup>

## CAM İYONOMER BAĞLAYICI SİSTEMLER

Cam iyonomer bağlayıcı sistemler, mine ve dentin dokusunda herhangi bir yüzey hazırlığı yapmadan bu dokulara bağlanabilen tek materyaldir. Bununla birlikte zayıf polialkenoik asit ile yüzeye işlem yapılması bağlanma direncini anlamlı derecede artırdığı bildirilmiştir. Bu cam iyonomer bağlanma bir ya da iki aşamalı uygulama ile elde edilebilir. Kısa süreli polialkenoik asit uygulaması yüzey temizler “smear” tabakasını kaldırır ve kollajen fibrilleri 0,5-1 µm derinliğe kadar açığa çıkarır. Daha sonra cam iyonomer bileşenler bu bölgeye difüze olur ve mikromekanik bir bağlanma oluşur. Ayrıca polialkenoik asitin karboksil grupları ile hidroksia-

patitin kalsiyum iyonları arasında bir kimyasal bağlanma meydana gelir, böylece kollajen fibrillerine bağlı bir halde bulunur. Reçine esaslı “self etch” sistemlerle cam iyonomerler arasındaki temel fark cam iyonomerlerin daha yüksek moleküler ağırlığa sahip polikarboksil esaslı polimerleri içeren “self etch” sistemler olmasıdır. Bu özellik cam iyonomerlerin infiltrasyon yeteneklerini sınırlar ve yalnızca çok ince bir hibrit tabaka meydana gelir.<sup>11</sup>

## DENTİN BAĞLAYICI SİSTEMLERDE BİYOUYUMLULUK

Dentin bağlayıcı sistemler; metakrilatlar [örn: Hidroksietil metakrilat (HEMA), 4-metakriloksietil trimelitat anhidrit (4-META)], dimetakrilatlar [örn: Trietilenglikol dimetakrilat (TEGDMA)], fosfanat penta akril esterler, akril amidler, aldehitler (örn: glutaraldehit) ve organik asitlerden meydana gelirler. Ayrıca dentin bağlayıcı sistemler Bisfenol A dimetakrilat (Bis DMA) da içerebilirler. Aseton, etanol ve su dentin bağlayıcı sistemler içerisinde çözücü olarak bulunmaktadır. Bazı bağlayıcı sistemler doldurucu partiküller de içerebilir. Günümüzde antibakteriyel monomer metakriloloksidodesilpiridinyum bromid (MDPB) içeren dentin bağlayıcı ajanlar da piyasaya sürülmüştür.<sup>12</sup>

Dentin bağlayıcı sistemlerin canlı dentin dokusunda kullanılmaya başlaması ile birlikte bu materyallerin pulpa dokusunda meydana getirecekleri etki büyük önem kazanmıştır. Serbest monomerlerin sıvı ile dolu dentin kanallarını geçip pulpa dokusuna ulaşabilmesi için suda çözünebilir yapıda olması gerekmektedir. Dentin bağlayıcı sistemlerin TEGDMA veya HEMA gibi hidrofilik bileşenleri, kompozit reçine restoratif materyallerden salınan diğer bileşenler ile birlikte dentin dokusunu geçerek pulpaya difüze olurlar ve pulpada reaksiyona neden olabilirler. Bu nedenle HEMA gibi suda çözünebilir monomerler dentin sıvısında yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar ve kalan dentin kalınlığına ve dentin geçirgenliğine bağlı olarak sitotoksik etki gösterebilirler.<sup>13,14</sup>

Dentin geçirgenliği; kanalların çapı ve uzunluğu, dentin sıvısının yoğunluğu ve içindeki bileşenlerin molekül boyutu, basınç değişimi, difüzyon yüzey alanı ve pulpa dolaşımı tarafından uzaklaştı-

rilan maddenin miktarı gibi değişik faktörlere bağlıdır. Uzun dentin kanalları pulpaya ulaşan toksik maddelerin konsantrasyonlarının azalmasına neden olur. Kavite preparasyonu gibi dentin kalınlığının azalmasına neden olan işlemler, dentin geçirgenliğinin artmasına yol açar.<sup>15,16</sup> Dentin geçirgenliği dentin kanallarının fonksiyonel çapı ile ilişkilidir. Dentinin geçirgenlik derecesi çap ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Bunun yanında, dentin geçirgenliği, mm<sup>2</sup>deki dentin kanal sayısına bağlı olarak dentinin değişik bölgelerinde farklılık göstermektedir.<sup>13</sup> Kurondan pulpaya doğru mm<sup>2</sup>deki dentin kanal sayısı ve çapı artmaktadır. Bu nedenle pulpa boynuzlarının üzerindeki dentin oklüzal yüzeyin ortasındaki dentinden, proksimal dentin oklüzal dentinden ve kuronal dentin kök dentininden daha geçirgendir.<sup>17-19</sup> Çürük, aşınma gibi dış uyaranlar sonucu oluşan tersiyer dentin kanalsız bir yapıya sahiptir. Bu nedenle tersiyer dentin dentin geçirgenliğini azaltarak zararlı uyaranlara karşı pulpanın korunmasını sağlayan diğer bir mekanizmadır.<sup>20</sup>

Reçine esaslı restoratif materyallerden yetersiz polimerizasyon, termal, mekanik veya kimyasal faktörler nedeni ile başlangıç polimerizasyonunu takip eden ilk birkaç saat içerisinde serbest monomer salınımı başlar. Rezidüel monomer oranı %1,5-5 arasındadır. Bu oran da sitotoksik etkinin başlaması için yeterlidir.<sup>21</sup>

Polimerizasyon gerçekleşmiş olsa dahi reçine esaslı materyallerden hücrelerin metabolik aktivitesini değiştirecek düzeyde serbest monomer salınımı gerçekleşmektedir.<sup>21-24</sup> Üzerinde çalışılan hücre tipine bağlı olarak dentin bağlayıcı ajanlardan salınan materyallerin salınım süresi ve salınan materyallerin birbiriyle olan ilişkisi sitotoksik testlerinin önemli parametreleridir.<sup>25</sup>

Dentin bağlayıcı ajanların TEGDMA ve HEMA gibi hidrofilik bileşenlerin toksisitesi Bisfenol A glisidil dimetakrilat (BİSGMA) ve üretan dimetakrilat (UDMA) gibi hidrofobik monomerlere göre daha azdır. Ancak monomerlerin birbiriyle olan ilişkisi sonucu meydana getirdikleri toksik reaksiyonlar tek tek meydana getirdikleri reaksiyondan daha fazladır. Hidrofilik monomerler hid-

rofobik monomerleri taşıyıcı rol oynayarak toksik reaksiyonun artmasına neden olurlar. Ayrıca HEMA ve TEGDMA gibi bileşenler immün sistemi baskılayarak veya uyararak bu sistem üzerinde etki gösterebilirler.<sup>26,27</sup>

Dentin bağlayıcı sistemler kullanılarak hayvanlar üzerinde yapılan direkt pulpa kuafajı çalışmalarında bazı araştırmacılar pulpada herhangi bir patolojik değişim tespit etmemişler fakat bazı araştırmacılar ise direkt pulpa kuafajı sonucu dentin bağlayıcı sistemlerin şiddetli derecede pulpa hasarına neden olduğunu bildirmişlerdir.<sup>28-31</sup> İnsan dişlerinde yapılan direkt pulpa kuafajı çalışmalarında dentin bağlayıcı ajanların, yabancı cisim reaksiyonuna bağlı enflamasyondan şiddetli düzeyde pulpa hasarına kadar farklı pulpa reaksiyonlarına neden olduğu açıklanmıştır.<sup>32-35</sup> Bununla birlikte reçine bazlı dental materyallerin derin kavitelere uygulanması sonucu pulpada herhangi bir reaksiyonun oluşmadığı ya da hafif düzeyde olduğu bildirilmiştir.<sup>36</sup>

İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan biyouyumluluk çalışmaları etik nedenlerden dolayı çok sık yapılamamaktadır. Bu nedenle araştırmacılar dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksik etkilerini farklı in vitro testlerle incelemişlerdir. Meryon ve Brook, üç farklı dentin bağlayıcı sistemin (Tripton, Gluma ve Scotchbond 2) sitotoksitesilerini 100 µm ve 500 µm kalınlığında dentin diskleri kullanarak dentin bariyer test yöntemi ile incelemişlerdir. 100 µm'lik dentin disklerinin kullanıldığı teste tüm dentin bağlayıcı ajanlar yüksek oranda sitotoksik bulunmuştur. 500 µm'lik dentin disklerinin kullanıldığı teste ise Scotchbond 2 diğer dentin bağlayıcı ajanlara göre daha fazla toksisite göstermiştir.<sup>37</sup>

Dört farklı dentin bağlayıcı sistemin (Aelitebond, Optibond, Scotchbond Multi Purpose ve Prisma Universal Bond 3) sitotoksitesisini dentin bariyer test yöntemi ile incelendiği bir çalışmada kullanılan dentin diskleri geçirgenliklerine göre üç gruba ayrılmıştır (düşük, orta, yüksek). Çalışmada yüksek geçirgenliğe sahip dentin disklerinin dentin bağlayıcı sistem bileşenlerinin difüzyonuna daha fazla izin verdiğini ancak geçirgenliğe bağlı sitotoksik etkinin dentine uygulanan bağlayıcı sisteme bağlı olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar 24-48 saat-

lik erken zaman diliminde tüm test materyallerinin diğer zaman aralıklarına göre daha fazla sitotoksik etki gösterdiğini açıklamışlardır.<sup>38</sup>

Hashieh ve ark., 4. nesil (All Bond2, Scotch Bond Multi-Purpose, Syntac, ve Tenure) ve 5. nesil (One Step, Scotchbond 1, Syntac Single Component, Tenure Quick) dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksitesilerini MTT yöntemi kullanarak karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, One Step dışında diğer tüm 5. nesil dentin bağlayıcı sistemlerin 4. nesil dentin bağlayıcı sistemlerden daha az sitotoksik olduğunu saptamışlardır.<sup>39</sup>

Costa ve ark., üç dentin bağlayıcı sistemin (Single Bond, Prime & Bond 2.1, Syntac Sprint) MDPC-23 hücreleri üzerinde sitotoksitesini inceledikleri çalışmalarında polimerize edilmeden uygulanan tüm test materyallerinin yüksek derecede toksik olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar polimerize edilerek uygulanan bağlayıcı sistemlerden Single Bond'un en az sitotoksik etkiye sahip test materyali olduğunu bildirmişlerdir.<sup>40</sup> "Solobond Plus, Solist, Scotchbond Multipurpose, Syntac SC ve Prime & Bond 2,1" isimli dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksik etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, yüksek miktarda TEGDMA içeren "Solobond Plus"ın en toksik dentin bağlayıcı ajan olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar sırasıyla "Scotchbond Multipurpose" ve "Syntac SC" dentin bağlayıcıların yüksek oranda sitotoksik etki gösterdiklerini bildirmişlerdir.<sup>41</sup>

Altı farklı dentin bağlayıcı sistemin (Syntac, Solobond, Bond 1, Scotchbond 1, Heliobond ve F 2000) sitotoksik etkilerinin incelendiği bir çalışmada araştırmacılar, kullanılan tüm dentin bağlayıcıların sitotoksik olduğunu ve F-2000 ile Scotchbond 1'in ise en fazla sitotoksik etkiye sahip dentin bağlayıcı sistemler olduğunu açıklamışlardır.<sup>42</sup> Benzer şekilde Szep ve ark., farklı dentin bağlayıcı sistemlerin (Ariston Liner, Etch & Prime 3.0, Optibond Solo, Prime & Bond NT, Scotchbond 1, Syntac Sprint) sitotoksik etkilerini inceledikleri çalışmalarında "Scotchbond 1"ın en toksik dentin bağlayıcı sistem olduğunu bildirmişlerdir. Diğer yandan araştırmacılar "Etch and Prime 3.0"ın en az sitotoksik etki gösterdiğini ifade etmişlerdir.<sup>43</sup>

Kaga ve ark., çeşitli dentin bağlayıcı sistemlerden (Scotchbond Multipurpose ve Clearfil Liner Bond 2) salınan monomerlerin L929 hücrelerinde hücre canlılığı ve çoğalmasında rol oynayan tirozin fosforilasyonuna etkisini incelenmişlerdir. Araştırmacılar polimerize olmuş dentin bondinglerden salınan monomerlerin sitotoksik dozda olmadığını belirtmişlerdir. Diğer yandan araştırmacılar HEMA'nın tirozin fosforilasyonunu etkilediğini bildirmişlerdir.<sup>44</sup> Scotchbond Multipurpose ve Clearfil, "Liner Bond 2" isimli dentin bağlayıcı sistemlerin in vivo ve in vitro ortamlarda biyouyumluluklarının değerlendirildiği çalışmada, Demarco ve ark., bu iki dentin bağlayıcı sistemin Ca(OH)<sub>2</sub> materyalinden daha fazla sitotoksik etkiye sahip olduklarını açıklamışlardır.<sup>45</sup>

Farklı ışık güçlerinde (100, 200, 300 mW/cm<sup>2</sup>) 10 saniye polimerize edilen "Scotchbond Multipurpose" dentin bağlayıcı sistemin sitotoksik etkilerinin karşılaştırılması sonucunda dentin bağlayıcıların düşük ışık gücüne bağlı olarak yetersiz polimerizasyonun daha fazla sitotoksik etkiye neden olduğu belirtilmiştir.<sup>46</sup> İnsan pulpa hücreleri üzerinde yapılan bir başka in vitro sitotoksite çalışmasında, dentin bağlayıcı sistemlerin oluşturduğu sitotoksik etkinin sırasıyla "Single Bond>Prime & Bond NT>Syntac Single Component>Heliobond>Clearfil SE Bond" şeklinde sıralandığı saptanmıştır.<sup>47</sup> Schmalz ve ark., düşük pH değerlerine sahip dentin bağlayıcı sistemlerin (Syntac Classic, Syntac Single Component, Prime & Bond NT, All Bond 2, Prompt L-Pop) sitotoksitesilerini bölümlü odalı perfüzyon cihazı kullanarak dentin bariyer test metodu ile değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar düşük pH değerine sahip dentin bağlayıcı sistemlerin in vitro ortamda sitotoksik etkiye sahip olmadıklarını belirtmişlerdir. Araştırmacılar test materyalleri içerisinde en fazla sitotoksik etkiye sahip dentin bağlayıcı sistemin "Syntac Classic" olduğunu belirtmişlerdir.<sup>48</sup>

Chen ve ark., insan pulpa hücrelerinde 3 farklı dentin bağlayıcı sistemin (Syntac Sprint, Prime & Bond, Single Bond) hücre kültür medyumunu ile hazırlanan farklı dilüsyonlarının sitotoksik etkilerini 12, 24 ve 72 saat sonunda karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, farklı zaman aralıklarında yüksek kon-

santrasyonda (1:1000 [v/v]) hazırlanan dilüsyonlarda üç dentin bağlayıcının da yüksek oranda sitotoksik etkilerinin olduğunu açıklamışlardır.<sup>49</sup> Mantellini ve ark., “Single Bond” isimli bağlayıcı sistemin odontoblast benzeri hücrelerde, farklılaşmamış pulpa hücrelerinde ve makrofajlarda hücre canlılığına ve yaşam döngüsüne olan etkisini incelemiştir. Araştırmacılar çalışma sonucunda “Single Bond” bağlayıcı sistemin hücrelerde apoptozu başlattığı ve hücre yaşam döngüsünü durdurduğunu açıklamışlardır.<sup>50</sup>

“Single Bond, Prime & Bond 2.1, Syntac Single Component ve One Up Bond F” dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksitelerini 500 µm kalınlığında dentin diski yerleştirerek bölümlü oda perfüzyon cihazının kullanıldığı dentin bariyer test metodu ile değerlendirildiği bir çalışmada, “One Up Bond F self etch” bağlayıcı sistem diğer test edilen “etch & rinse” sistemlere göre daha az toksik bulunmuştur. Araştırmacılar “etch & rinse” dentin bağlayıcı sistemlerin (Single Bond, Prime & Bond 2.1) “self etch” sistemlere (Syntac Single Component ve One Up Bond F) göre daha toksik olduğunu bildirmişlerdir.<sup>51</sup>

İki farklı ışık kaynağı (halojen ve LED) kullanılarak polimerize edilen “Scotchbond 1” ve “Optibond Solo” dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksitelerinin karşılaştırıldığı çalışmada araştırmacılar, bu iki dentin bağlayıcı sistemin neden olduğu ROS üretimini de incelemiştir. Çalışma sonucunda LED ışık kaynağı kullanılarak polimerize edilen “Scotchbond 1”in en toksik test materyali olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar LED ışık kaynağı ile hazırlanan test materyallerinin daha yüksek miktarda ROS üretimine neden olduğunu açıklamışlardır.<sup>52</sup> Galler ve ark., “Syntac Classic, Prompt L-Pop ve Vitrebond” test materyallerinin sitotoksitelerini farklı kalınlıkta (100, 200, 300 ve 500 µm) dentin disklerinin kullanıldığı bölümlü oda perfüzyon cihazında dentin bariyer test metodu ile karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda Syntac Classic en toksik test materyali olarak tespit edilmiş ve araştırmacılar dentin kalınlığının artmasıyla sitotoksik etkinin azaldığını açıklamışlardır.<sup>53</sup>

About ve ark., insan pulpa hücrelerinin odontoblast hücrelerine dönüşmesine “One Step”,

“Scotchbond 1”, “Prime&Bond NT” ve “Unibond” isimli dentin bağlayıcı sistemlerin etkisini incelemiştir. Araştırmacılar dentin bariyer test yöntemi kullandıkları çalışmalarında 0,7 mm dentin varlığında sekonder odontoblast hücre farklılaşmasının gerçekleşmediğini açıklamışlardır.<sup>54</sup>

İki farklı reçine modifiye cam iyonomerin (Fuji Lining LC and Vitrebond) farklı ışıkla polimerizasyon süreleri sonunda (0s, 15s, 30s, 45s) sitotoksik etkileri MTT yöntemi ile incelenmiştir. Tüm test edilen süreler sonunda Vitrebond daha fazla toksik etki göstermiştir. Fuji Lining LC karanlık polimerizasyonda (0s) ışıkla polimerize olan gruplara oranla yüksek sitotoksik etki göstermiştir.<sup>55</sup>

Ribeiro ve ark. üç farklı cam iyonomerin (Ketac Cem, Ketac Molar and Vitrebond) toz ve likit kısımlarını ayrı ayrı Çin hamster ovarium [Chinese hamster ovary (CHO)] hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini tiripan mavis testi ve genotoksik etkilerini de tek hücre jel elektroforezi (Comet) testi ile inceledikleri çalışmalarında, 1000 µg/mL toz konsantrasyonu ile %10’lu likit konsantrasyonu en fazla sitotoksik etkiyi gösteren dozlar olmuştur. Ketac Molar toz kısmı en yüksek konsantrasyonda (100 µg/mL) ve Vitrebond’un %0,1’lik likit dilüsyonu en fazla DNA hasarına neden olan dozlar olarak bulunmuştur. Araştırmacılar cam iyonomer bileşiklerinin sitotoksik ve genotoksik etki gösterdiklerini belirtmişlerdir.<sup>56</sup>

Koulaouzidou ve ark., “Clearfil Protect Bond, Adper Scotch Bond1”, “Excite”, “Tyrian SPE” ve “One Step Plus” isimli dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksitelerini üç farklı hücre hattında değerlendirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda “Clearfil Protect Bond” diğer test edilen dentin bağlayıcı sistemlere göre daha az sitotoksik bulunmuştur. Araştırmacılar “Scotchbond 1” ve “Excite” dentin bağlayıcı sistemlerin ise en fazla sitotoksik etkiye neden olan dentin bağlayıcı olduğunu belirtmişlerdir.<sup>57</sup>

Ergün ve ark., “Swisstec SL Bond”, “Clearfil SE Bond”, “Adper Single Bond 2”, “Adper Prompt L-Pop”, “Xeno III”, “Pentron Bond 1” isimli dentin bağlayıcı sistemlerden hazırlanan test örneklerini iki farklı ışık kaynağı (halojen ve LED) kullanıla-

rak polimerize etmişler ve sitotoksitelerini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar LED kullanılarak polimerize edilen örneklerin halojen lamba ile polimerize edilen örneklere göre daha az sitotoksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir.<sup>58</sup>

Grobler ve ark., “Clearfil Protect Bond”, “Adper Scotch Bond1”, “Xeno III”, “Prime & Bond NT” dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksitelerini hazırladıkları dentin diski içermeyen test düzeneğinde incelemişler, ayrıca bu test düzeneğinde 120 µm kalınlığında dentin diski yerleştirerek yaptıkları değişiklikle Xeno III dentin bağlayıcı sistemin sitotoksik etkisini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar test edilen tüm dentin bağlayıcı sistemlerin 3T3 fare fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterdiğini belirtilmişler ve ayrıca “Xeno III”ün de bu sistemler içerisinde en toksik dentin bağlayıcı olduğu açıklamışlardır. Aynı zamanda “Xeno III”ün dentin diski kullanılan test cihazında da yüksek düzeyde sitotoksikite sergilediğini açıklamışlardır.<sup>59</sup>

Yasuda ve ark., insan pulpa hücreleri ve MDPC-23 hücrelerini kullanarak yaptıkları çalışmalarında “AQ Bond Plus”, “Clearfil Tri-S Bond”, “Absolute”, “G Bond” ve “Adper Prompt” dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksitelerini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar “AQ Bond Plus”ın en az, “Adper Prompt” ise en fazla sitotoksik etki gösteren dentin bağlayıcı sistem olduğunu bildirmişlerdir.<sup>60</sup> “Self etch” dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksitelerini 500 µm kalınlığında dentin diski kullanarak bölümlü oda perfüzyon cihazında dentin bariyer test yöntemi ile karşılaştırıldığı bir çalışmada dentin bonding ajanların oluşturduğu sitotoksik etkinin sırasıyla “IBond> Xeno III> Optibond Solo Plus SE Primer” şeklinde sıralandığı saptanmıştır.<sup>61</sup>

Demirci ve ark., dentin bağlayıcı sistemlerin (Clearfil SE Bond, Clearfil Protect Bond, AdheSE, Excite) neden olduğu oksidatif stres, sitotoksikite ve genotoksiteyi incelemişlerdir. Araştırmacılar dentin primerler ve bonding ajanların doza bağlı hücre yaşamını etkilediğini açıklamışlardır. %50 hücre ölümlüne neden olan konsantrasyonlara göre dentin bağlayıcı ajanların sitotoksikitesi: “Excite (0,16

mg/mL)>AdheSE bond (0,30 mg/mL)>Clearfil Protect bond (0,35 mg/mL)>Clearfil SE bond (0,37 mg/mL) ve Prompt L-Pop bond (0,68 mg/mL)” şeklinde saptanmıştır. Araştırmacılar, üç boyutlu hücre kültürünün kullanıldığı dentin bariyer testinde dentin bağlayıcı sistemlerin toksik etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca tüm dentin bağlayıcı ajanların doza bağlı olarak pulpa hücrelerinde ROS miktarını 5 kata kadar arttırdığını belirtmişlerdir. Aynı zamanda araştırmacılar AdheSE primerin ekstraktının mikronüklei sayısında 6 kata kadar artışa neden olduğunu açıklamışlardır.<sup>62</sup> Koulaouzidou ve ark., “Clearfil Tri-S Bond”, “AdheSE” ve “XP Bond” bağlayıcı sistemlerin’i “RPC-C2A” ve “L929” hücreleri üzerinde sitotoksik etkilerini hücre proliferasyonunu inceleyerek değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar çalışma sonucunda “XP Bond”un diğer iki bağlayıcı sisteme göre her iki hücre hattında da daha fazla antiproliferatif etki gösterdiği belirtilmiştir.<sup>63</sup>

Altı farklı dentin bağlayıcının (Admira Bond, Clearfil Liner Bond 2V, ED Primer II, Fuji Bond LC, Gluma Comfort Bond, NanoBond) iki farklı hücre kültürü üzerinde [rat pulpa hücreleri (RPC-C2A), insan akciğer fibroblastları (MRC5)] sitotoksik etkilerinin sulforodamin B (SRB) testi ile incelendiği çalışmada, “Fuji Bond LC” ve “NanoBond”, her iki tip hücrede kültüründe diğer test materyallerine göre daha az sitotoksik etki göstermişlerdir. Araştırmacılar “etch&rinse” bağlayıcı sistemlerin (Gluma Comfort Bond, Admira Bond) daha fazla toksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir.<sup>64</sup>

Lanza ve ark., dentin bariyer test yöntemi ile 5 farklı dentin bağlayıcı sistemin sitotoksikitesini karşılaştırdıkları çalışmalarında, taramalı elektron mikroskopu ile test materyallerinin hücre morfolojisinde meydana getirdikleri etkileri de incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda dentin bağlayıcı sistemlerin oluşturduğu sitotoksik etkinin sırasıyla “Single Bond> Clearfil SE Bond= Xeno III=Clearfil Protect Bond≥Adper Prompt” şeklinde sıralandığını saptamışlardır. Test edilen dentin bağlayıcıların hücre iskeletinde değişikliklere neden olduğu, hücrelerin yuvarlak bir yapı aldığı, kısa hücresel uzantılar sergiledikleri belirtilmiştir.<sup>65</sup>

Sigusch ve ark., farklı ışık kaynakları kullanarak polimerize edilen dentin bağlayıcı sistemlerin (Syntac, iBond TM, Clearfil Protect Bond, Prime&Bond NT, Adper Prompt L-Pop) sitotoksitelerini incelemişlerdir. “Syntac” ve “Clearfil Protect Bond” dentin bağlayıcıların sitotoksik etkisi üzerinde ışık kaynaklarının etkisinin diğer bağlayıcılara göre daha fazla olduğunu açıklamışlardır. Araştırmacılar “iBond TM”, “Prime&Bond NT” ve “Adper Prompt L-Pop”un en az sitotoksik etki gösteren bağlayıcı sistemler olduğunu saptamışlardır.<sup>66</sup>

N-asetilsistein eklenen dentin bağlayıcıların (Prime&Bond NT, Adper Single Bond, Dentin Cement) sitotoksik etkilerinin incelendiği bir çalışmada hücre canlılığı, alkalin fosfataz aktivitesi ve matriks mineralizasyonu değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda N-asetilsisteinin “Prime & Bond NT” dentin bağlayıcı sistemin insan pulpa hücrelerinde neden olduğu sitotoksik etkinin geri dönüşümünde rol oynadığı ve bu hücrelerin farklılaşmasına karşı bir etken olduğu belirtilmiştir.<sup>67</sup>

Porto ve ark., dentin bağlayıcı sistemlerin (Single Bond Plus, Clearfil SE Bond, Xeno V) sitotoksik etkilerini dentin bariyer test yöntemi ile inceledikleri çalışmalarında, hücre canlılık oranını ve nitrik oksit üretimini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar 300 µm kalınlığında insan dişlerinden elde ettikleri dentin kesitlerini kullandıkları çalışmalarında bağlayıcı sistemlerin sitotoksik etkilerinin (Clearfil SE Bond>Single Bond Plus>Xeno V) çeşitli düzeylerde görüldüğünü belirtmişlerdir.<sup>68</sup>

## SONUÇ

Dentin bağlayıcı sistemlerin sitotoksitesi ile ilgili çok çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Çeşitli metotlar kullanılarak yapılan bu çalışmalar, materyallerin geliştirilmesi ve klinikte güvenli bir şekilde kullanılmasına önemli katkılar sağlamaktadır. Diş hekimliği kliniklerinde birçok dentin bağlayıcı sistem kullanılmaktadır. Bu dentin bağlayıcı sistemler farklı bileşenlere sahiptir. Bu nedenle bağlayıcı sistemlerin neden olduğu sitotoksik etkilerde materyale bağlı olarak farklılık gösterebilir.

## KAYNAKLAR

1. Perdigao J, Swift JE. Fundamental concepts of enamel and dentin adhesion. In: Roberson TM, Heymann H, Swift EJ, Sturdevant CM, eds. Art and Science of Operative Dentistry. 5<sup>th</sup> ed. St. Louis: Mosby; 2006. p.243-71.
2. Douglas WH. Clinical status of dentine bonding agents. J Dent 1989;17(5):209-15.
3. Van Meerbeek B, Inoue S, Perdigao J, Lambrechts PC, Vanherle G. Enamel and dental adhesion. In: Summitt JB, Robbins JW, Schwartz RS, eds. Fundamentals of Operative Dentistry. A Contemporary Approach. 2<sup>nd</sup> ed. Illinois: Quintessence Publishing; 2001. p.178-235.
4. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. Oper Dent 2003;28(3):215-35.
5. Perdigão J. New developments in dental adhesion. Dent Clin North Am 2007;51(2):333-57.
6. Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P, et al. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. Oper Dent 2001;(Suppl 6):119-44.
7. Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Hashimoto M, Peumans M, Lambrechts P, et al. Technique-sensitivity of contemporary adhesives. Dent Mater J 2005;24(1):1-13.
8. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. J Dent Res 2005;84(2):118-32.
9. Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: depth of penetration beyond dentin smear layers. Dent Mater 2001;17(4):296-308.
10. Moszner N, Salz U, Zimmermann J. Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: a systematic review. Dent Mater 2005;21(10):895-910.
11. Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Snauwaert J, Hellemans L, Lambrechts P, et al. Evidence of chemical bonding at biomaterial-hard tissue interfaces. J Dent Res 2000; 79(2):709-14.
12. Schmalz G. Resin based composites In: Schmalz G, Arenholt-Bindslev D, eds. Biocompatibility of Dental Materials. 1<sup>st</sup> ed. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2009. p.99-130.
13. Pashley DH, Pashley EL, Carvalho RM, Tay FR. The effects of dentin permeability on restorative dentistry. Dent Clin North Am 2002;46(2):211-45.
14. Schmalz G. Materials science: biological aspects. J Dent Res 2002;81(10):660-3.
15. Hanks CT, Wataha JC, Parsell RR, Strawn SE, Fat JC. Permeability of biological and synthetic molecules through dentine. J Oral Rehabil 1994;21(4):475-87.
16. Pashley DH. Dentin-predentin complex and its permeability: physiological overview. J Dent Res 1985;64 Spec No:613-20.
17. Maroli S, Khera SC, Krell KV. Regional variation in permeability of young dentin. Oper Dent 1992;17(3):93-100.
18. Rauschenberger CR. Dentin permeability: the clinical ramifications. Dent Clin North Am 1992;36(2):527-42.
19. Fogel HM, Marshall FJ, Pashley DH. Effects of distance from the pulp and thickness on the hydraulic conductance of human radicular dentin. J Dent Res 1988;67(11):1381-5.
20. Mjör IA. Dentin permeability: the basis for understanding pulp reactions and adhesive technology. Braz Dent J 2009;20(1):3-16.



21. Stanislawski L, Daniau X, Lauti A, Goldberg M. Factors responsible for pulp cell cytotoxicity induced by resin-modified glass ionomer cements. *J Biomed Mater Res* 1999;48(3): 277-88.
22. Geurtsen W, Leyhausen G. Chemical-biological interaction of the resin monomer triethylenglycol-dimethacrylate (TEGDMA). *J Dent Res* 2001;80(12):2046-50.
23. Lefeuvre M, Amjaad W, Goldberg M, Stanislawski L. TEGDMA induces mitochondrial damage and oxidative stress in human gingival fibroblasts. *Biomaterials* 2005;26(25): 5130-7.
24. Stanislawski L, Soheili-Majid E, Perianin A, Goldberg M. Dental restorative biomaterials induce glutathione depletion in cultured human gingival fibroblast: protective effect of N-acetyl cysteine. *J Biomed Mater Res* 2000; 51(3):469-74.
25. Goldberg M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. *Clin Oral Investig* 2008;12(1):1-8.
26. Rakich DR, Wataha JC, Lefebvre CA, Weller RN. Effect of dentin bonding agents on the secretion of inflammatory mediators from macrophages. *J Endod* 1999;25(2):114-7.
27. Ratanasathien S, Wataha JC, Hanks CT, Dennison JB. Cytotoxic interactive effects of dentin-bonding components on mouse fibroblasts. *J Dent Res* 1995;74(9):1602-6.
28. Cox CF, Hafez AA, Akimoto N, Otsuki M, Suzuki S, Tarim B. Biocompatibility of primer, adhesive and resin composite systems on non-exposed and exposed pulps of non-human primate teeth. *Am J Dent* 1998;11 Spec No:S55-63.
29. Pameijer CH, Stanley HR. The disastrous effects of the "total etch" technique in vital pulp capping in primates. *Am J Dent* 1998;11 Spec No:S45-54.
30. da Silva LA, de Freitas AC, de Carvalho FK, de Queiroz AM, Nelson-Filho P, Porto-Neto ST. Direct pulp capping with a self-etching adhesive system: histopathologic evaluation in dogs' teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108(1):e34-40.
31. Koliniotou-Koumpia E, Tziafas D. Pulpal responses following direct pulp capping of healthy dog teeth with dentine adhesive systems. *J Dent* 2005;33(8):639-47.
32. Gwinnett AJ, Tay F. Early and intermediate time response of the dental pulp to an acid etch technique in vivo. *Am J Dent* 1998;11 Spec No:S35-44.
33. Hebling J, Giro EM, Costa CA. Biocompatibility of an adhesive system applied to exposed human dental pulp. *J Endod* 1999;25(10):676-82.
34. Sübay RK, Demirci M. Pulp tissue reactions to a dentin bonding agent as a direct capping agent. *J Endod* 2005;31(3):201-4.
35. Ersin NK, Eronat N. The comparison of a dentin adhesive with calcium hydroxide as a pulp-capping agent on the exposed pulps of human and sheep teeth. *Quintessence Int* 2005; 36(4):271-80.
36. de Souza Costa CA, Teixeira HM, Lopes do Nascimento AB, Hebling J. Biocompatibility of resin-based dental materials applied as liners in deep cavities prepared in human teeth. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2007; 81(1):175-84.
37. Meryon SD, Brook AM. In vitro cytotoxicity of three dentine bonding agents. *J Dent* 1989; 17(6):279-83.
38. Bouillaguet S, Virgillito M, Wataha J, Ciocchi B, Holz J. The influence of dentine permeability on cytotoxicity of four dentine bonding systems, in vitro. *J Oral Rehabil* 1998;25(1): 45-51.
39. Hashieh IA, Cosset A, Franquin JC, Camps J. In vitro cytotoxicity of one-step dentin bonding systems. *J Endod* 1999;25(2):89-92.
40. Costa CA, Vaerten MA, Edwards CA, Hanks CT. Cytotoxic effects of current dental adhesive systems on immortalized odontoblast cell line MDPC-23. *Dent Mater* 1999;15(6):434-41.
41. Geurtsen W, Spahl W, Müller K, Leyhausen G. Aqueous extracts from dentin adhesives contain cytotoxic chemicals. *J Biomed Mater Res* 1999;48(6):772-7.
42. Koliniotou-Koubia E, Dionysopoulos P, Koulaouzidou EA, Kortsaris AH, Papadogiannis Y. In vitro cytotoxicity of six dentin bonding agents. *J Oral Rehabil* 2001;28(10):971-5.
43. Szep S, Kunkel A, Ronge K, Heidemann D. Cytotoxicity of modern dentin adhesives--in vitro testing on gingival fibroblasts. *J Biomed Mater Res* 2002;63(1):53-60.
44. Kaga M, Noda M, Ferracane JL, Nakamura W, Oguchi H, Sano H. The in vitro cytotoxicity of eluates from dentin bonding resins and their effect on tyrosine phosphorylation of L929 cells. *Dent Mater* 2001;17(4):333-9.
45. Demarco FF, Tarquinio SB, Jaeger MM, de Araújo VC, Matson E. Pulp response and cytotoxicity evaluation of 2 dentin bonding agents. *Quintessence Int* 2001;32(3):211-20.
46. Chen RS, Liuw CC, Tseng WY, Hong CY, Hsieh CC, Jeng JH. The effect of curing light intensity on the cytotoxicity of a dentin-bonding agent. *Oper Dent* 2001;26(5):505-10.
47. Huang FM, Chang YC. Cytotoxicity of dentine-bonding agents on human pulp cells in vitro. *Int Endod J* 2002;35(11):905-9.
48. Schmalz G, Schuster U, Koch A, Schweikl H. Cytotoxicity of low pH dentin-bonding agents in a dentin barrier test in vitro. *J Endod* 2002; 28(3):188-92.
49. Chen RS, Liu CC, Tseng WY, Jeng JH, Lin CP. Cytotoxicity of three dentin bonding agents on human dental pulp cells. *J Dent* 2003;31(3):223-9.
50. Mantellini MG, Botero TM, Yaman P, Dennison JB, Hanks CT, Nör JE. Adhesive resin induces apoptosis and cell-cycle arrest of pulp cells. *J Dent Res* 2003;82(8):592-6.
51. Vajrabhaya LO, Padasak A, Harnirattisai C. Cytotoxicity evaluation of single component dentin bonding agents. *Oper Dent* 2003; 28(4):440-4.
52. Spagnuolo G, Annunziata M, Rengo S. Cytotoxicity and oxidative stress caused by dental adhesive systems cured with halogen and LED lights. *Clin Oral Investig* 2004;8(2):81-5.
53. Galler K, Hiller KA, Ettl T, Schmalz G. Selective influence of dentin thickness upon cytotoxicity of dentin contacting materials. *J Endod* 2005;31(5):396-9.
54. About I, Camps J, Burger AS, Mitsiadis TA, Butler WT, Franquin JC. Polymerized bonding agents and the differentiation in vitro of human pulp cells into odontoblast-like cells. *Dent Mater* 2005;21(2):156-63.
55. Aranha AM, Giro EM, Souza PP, Hebling J, de Souza Costa CA. Effect of curing regime on the cytotoxicity of resin-modified glass-ionomer lining cements applied to an odontoblast-cell line. *Dent Mater* 2006;22(9):864-9.
56. Ribeiro DA, Marques ME, Salvadori DM. Genotoxicity and cytotoxicity of glass ionomer cements on Chinese hamster ovary (CHO) cells. *J Mater Sci Mater Med* 2006;17(6):495-500.
57. Koulaouzidou EA, Helvatjoglou-Antoniades M, Palaghias G, Karanika-Kouma A, Antoniadis D. Cytotoxicity evaluation of an antibacterial dentin adhesive system on established cell lines. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008;84(1):271-6.
58. Ergün G, Eğilmez F, Uçtaşı MB, Yılmaz S. Effect of light curing type on cytotoxicity of dentine-bonding agents. *Int Endod J* 2007;40(3): 216-23.
59. Grobler SR, Oliver A, Moodley D, Van Wyk Kotze TJ. Cytotoxicity of recent dentin bonding agents on mouse fibroblast cells. *Quintessence Int* 2008;39(6):511-6.
60. Yasuda Y, Inuyama H, Maeda H, Akamine A, Nör JE, Saito T. Cytotoxicity of one-step dentin-bonding agents toward dental pulp and odontoblast-like cells. *J Oral Rehabil* 2008; 35(12):940-6.
61. Vajrabhaya LO, Korsuwannawong S, Bosl C, Schmalz G. The cytotoxicity of self-etching primer bonding agents in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 107(3):e86-90.
62. Demirci M, Hiller KA, Bosl C, Galler K, Schmalz G, Schweikl H. The induction of oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity by dental adhesives. *Dent Mater* 2008;24(3):362-71.

63. Koulaouzidou EA, Papazisis KT, Yiannaki E, Palaghias G, Helvatjoglu-Antoniades M. Effects of dentin bonding agents on the cell cycle of fibroblasts. *J Endod* 2009;35(2):275-9.
64. 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.
65. Lanza CR, de Souza Costa CA, Furlan M, Alécio A, Hebling J. Transdental diffusion and cytotoxicity of self-etching adhesive systems. *Cell Biol Toxicol* 2009;25(6):533-43.
66. Sigusch BW, Pflaum T, Völpel A, Schinkel M, Jandt KD. The influence of various light curing units on the cytotoxicity of dental adhesives. *Dent Mater* 2009;25(11):1446-52.
67. Kim NR, Park HC, Kim I, Lim BS, Yang HC. In vitro cytocompatibility of N-acetylcysteine-supplemented dentin bonding agents. *J Endod* 2010;36(11):1844-50.
68. Porto IC, Oliveira DC, Rael RA, Ribas KH, Montes MA, De Castro CM. Cytotoxicity of current adhesive systems: In vitro testing on cell cultures of primary murine macrophages. *Dent Mater* 2011;27(3):221-8.