

KOMPOZİT REÇİNELERİN SİTOTOKSİSİTELERİNİN İNCELENMESİ: İN VİTRO ÇALIŞMA

Berna Tarım¹ Haşmet Ulukapı¹ Mete Üçok² Canan Altınel³

Yayın kuruluna teslim tarihi : 20.9.1994

Yayına kabul tarihi : 2.1.1996

Özet

Işıklı polimerize olan kompozit reçineler (Brilliant ve Prizma APH) ile kimyasal olarak polimerize olan kompozit reçinenin (Concise) 60 dak. ve 24 saat sonraki sitotoksosite değerleri Milipor Filtre Yöntemi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Işıklı ve kimyasal olarak polimerize olan kompozit reçinelerin sitotoksosite değerleri arasında bir fark olmadığı, bütün gruplarda 60 dak. ve 24 saat sonra elde edilen değerlerin benzer olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte ışıkta sertleşen Prizma APH kompozit reçinenin diğer iki kompozit reçineye göre daha az toksik etki oluşturduğu kanısı gözlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Kompozit reçineler, sitotoksosite.

CYTOTOXICITY OF COMPOSITE RESINS: AN IN VITRO STUDY

Abstract

In this study, the evaluation of the cytotoxicity of the light curing composite resins (Brilliant and Prizma APH) and one chemically curing composite resin (Concise) was made after 60 min and 24 hours of polymerization by means of a milipore filter method.

There was no difference between the cytotoxicity of light and chemically cured composite resins; 60 min and 24 hours after polymerization in all group, the values of cytotoxicity were similar and it was observed lower cytotoxicity in the Prizmatic group.

Key words: Composite resins, cytotoxicity.

GİRİŞ

Günümüzde kompozit dolgu maddelerinin azı dişlerinde uygulama alanına girmesiyle, kompozit reçinelerle ilgili in vivo çalışmalar daha da önem kazanmış ve pulpada meydana gelen zararlı etkiler araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Kompozit reçinelerin fiziksel özelliklerinin sürekli olarak geliştirilmesine rağmen, pulpa hasarlarının ve nekrozların bildirildiği de görülmektedir (9,10). Bazı araştırmacılar ise, oluşan pulpa zararlarının bakteriyel mikrosızıntı nedeniyle geliştiğini belirtmişlerdir (2,3).

Etik ve sosyal nedenlerden dolayı günümüzde hayvan deneyleri kısıtlı sayıda yapılabilmektedir. Gelişen hücre kültür testler maddenin kimyasal özellikleriyle oluşan toksisitesinin saptanmasında kullanılmış ve kompozit dolgu maddelerinin oluşturduğu pulpa reaksiyonları araştırılma-

ya çalışılmıştır (5,6,10,11,12). Kısa sürede, basit ve ucuz hücre kültür testleri ile dolgu maddesinin neden olduğu genel toksisite ve yerel hücre zararı saptanabilmektedir.

Bu yöntemle, maddeler arasında karşılaştırma yapılabilmesine olanak sağlayan parametrik veriler elde edilebilmektedir. Yapılan çalışmalarda daha çok kompozit reçinelerin, uzun dönem olarak adlandırabileceğimiz bir hafta ve daha uzun süreli sitotoksik etkileri incelenmiştir (8,10,16). Ancak kısa dönem olarak adlandırabileceğimiz ilk gün içindeki reaksiyonlarla ilgili çalışmalara daha seyrek rastlanmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, ışıkla polimerize olan kompozit reçineler ile kimyasal olarak polimerize olan kompozitlerin sitotoksosite açısından farklılıklarının kısa dönemde karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmesidir.

1 Dr İ Ü Diş Hek Fak Konservatif Diş Tedavisi Bilim Dalı

2 Prof İ Ü Diş Hek Fak Konservatif Diş Tedavisi Bilim Dalı

3 Dr TC Tarım Bakanlığı, Veteriner Araştırma Enstitüsü, Viroloji Laboratuvarı

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada kimyasal olarak polimerize olan Concise* ve ışıkla polimerize olan Brilliant** ve Prizma APH*** kompozit dolgu maddeleri kullanılmıştır. İn vitro sitotoksitenin saptanmasında hücre-dolgu maddesi ilişkisi milipor filtre yöntemi (11) kullanılarak Fédération Dentaire Internationale (FDI) standartlarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir (4).

Çalışmamız T.C. Tarım Bakanlığı Veteriner Araştırma Enstitüsü Doku Kültürü Laboratuvarlarında yapılmıştır.

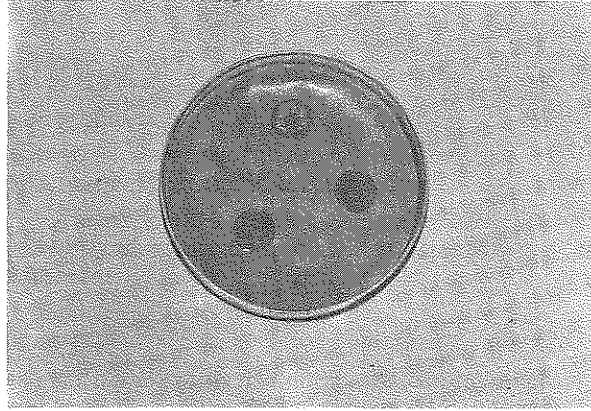
Çalışmamızda kullanılacak tüm aletler sterilize edildikten sonra, araştırmaya dahil edilen maddeler 7 mm. çapında, 5 mm. yüksekliğinde cam halkalara üretici firmanın öngördüğü şekilde hazırlanarak yerleştirildi ve her maddeden 16 örnek elde edildi. Örnekler 1 saat ve 24 saat süre ile % 100 nemli ortamda 37° C'de etüvde bekletildi.

Çalışmada, Eagle's minimum essential medium (MEMx1) ve Eagle's minimum essential medium (MEMx2)'den oluşan besiyeri, ve BHK 21 (C₁₃/An 32) fare fibroblastları kullanıldı.

Logaritmik üreme fazının sonunda hücreler 5 ml. tripsin çözeltisinde 1 dak. bekletildikten sonra tripsin ortamdaki uzaklaştırıldı. 60 mm. çapında 15 mm. yüksekliğinde petri kutularının tabanına PBS (phosphate buffer saline) ile ıslatılan gözenek çapı 0,45 µm olan milipor filtreler yerleştirildi ve üzerine MEMx1 besiyeri ilave edildi. Her bir petriye 1.5x10⁵ hücre gelecek şekilde hücreler ekildi ve 24 saat 37° C'de % 5 CO₂ ütevünde bekletildi.

Besiyerlerinden çıkartılan milipor filtreler, içinde % 3'lük MEMx2 agar besiyeri olan petriye ters çevrilerek yani hücre yüzeyi ile temasta bulunacak şekilde yerleştirildi. Örneklerden bir tanesi kontrol için ayrıldı ve hücre içermeyen besiyeri üzerindeki filtreye yerleştirildi. Kalan örnekler ise her petri kutusunda 3 örnek olacak şekilde milipor filtrelerin üzerine kondu (Resim 1). Tüm petri kutuları 24 saat süreyle 37° C'de % 5 CO₂ etüvünde bekletildi. Pozitif kontrol maddesi olarak "PVC", negatif kontrol olarak da üzerine dolgu maddesi yerleştirilmemiş milipor filtre kullanıldı.

Resim 1. Milipor filtreler üzerine yerleştirilen incelenen dolgu maddeleri



Etüvden çıkarılan petri kutularındaki milipor filtreler 5 ml. % 0,0002'lik Fluoresein diasetat (FDA) çözeltisi içinde konarak +4° C'de 15 dak. bekletildi. Daha sonra milipor filtreler distile su ile yıkandı ve kurutuldu.

Filtreler makroskobik olarak incelendi ve üzerlerindeki dolgu maddesinin sitotoksik etkiyle ortaya çıkan açık renkli bölgeyi (zon) değerlendirmek için 0'dan 3'e kadar skorları olan bir indeksten yararlandı (FDI, 1980) (4). Buna göre;

- 0 : Açık renkli bölge belirlenmedi
- 1 : Örnek çapından (7 mm) daha küçük çaplı açık renkli alan
- 2 : 7-11 mm çaplı açık renkli alan
- 3 : 12 mm ya da daha büyük çaplı renkli alan

Bu skorlama sistemine göre maddelerin sitotoksikite dereceleri aşağıdaki gibi sınıflandırıldı. Skor 0 sitotoksik cevap alınmadığı, skor 1 hafif derecede, skor 2 orta derecede, skor 3 şiddetli derecede sitotoksik cevap alındığını belirtmektedir.

BULGULAR

FDI standartlarına göre, Milipor Filtre Yöntemi ile 60 dak. ve 24 saat bekletilen örneklerden elde edilen sitotoksikite değerleri Tablo 1'de görülmektedir.

Işıkla polimerize olan Brillant kompozit reçine ile kimyasal polimerize olan Concise kompozit reçineden 60 dak. ve 24 saat sonra skor 2 değerleri elde edilmiştir.

Işıkla polimerize olan Prizma APH kompozit reçine grubunda ise, 60 dak. ve 24 saat sonra örneklerin 4 tanesi skor 2 değerini verirken, 3 tanesinde hiç bir sitotoksik etki saptanmamıştır.

* 3M, St Paul, USA.

** Coltene, Switzerland.

*** Caulk-dentsply, USA

Tablo 1. Milipor Filtre Yöntemi ile saptanan kompozit dolgu maddelerinin sitotoksite değerleri

Sertleşme Süresi	Örnek Sayısı	Brilliant			Prizma APH			Concise		
		0	1	2 3	0	1	2 3	0	1	2 3
60 dk.	7		7		3	4 7				
24 saat	7		7		3	4			7	

Bütün örnek gruplarında 60 dak. ve 24 saat sonraki sitotoksite değerleri aynıdır.

TARTIŞMA

Çalışmada kullanılan her üç dolgu maddesi çeşitli derecelerde toksik etki göstermiş ve bu etkide zamana bağlı bir değişim gözlenmemiştir. Tablo 1 incelendiğinde hiçbir örneğin skor 1 değerini vermediği görülmektedir. FDI 1980 standartlarına göre, skor 1 örnek çapından (7 mm) küçük çaplı açık renkli bölgeyi veya boyanma yoğunluğundaki azalmayı ifade etmektedir. Kanımızca bizim çalışmamızda kullandığımız maddelerin homojen yapısal özellikleri nedeni ile, örneğin hücre değişim alanından daha küçük çapta sitotoksik cevap vermesi mümkün görülmemektedir. Transtat ve ark. (14) yaptıkları çalışmada Concise kompozit reçinesini de kullanmışlar ve reçinenin 20 dakika ve 24 dakika sonunda sitotoksitesini skor 1 olarak belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise aynı sürelerde skor 2 değeri elde edilmiştir. Bu farklılık her iki çalışmada kullanılan değişik skorlama sistemlerinden kaynaklanmaktadır. Transtat ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada skor 1 örneğin hücre ile değişim alanındaki boyanma yoğunluğundaki azalmayı göstermektedir. Oysa bizim çalışmamızda FDI'in önerdiği standart skorlama sistemi kullanılmıştır.

Mjor ve ark. (11) yaptıkları çalışmada Concise dolgu maddesinin 60 dak ve 24 saat sonunda hiçbir sitotoksik etki oluşturmadığını bildirmişlerdir (1).

Hanks ve ark (5) 1988 yılında yaptıkları çalışmalarında, ışıkla sertleşen kompozit reçinelerin (Fulfil ve P30) polimerizasyondan sonraki ilk 24 saat içinde protein sentezini inhibe edebildiği görülmüştür. Aynı çalışmada kullanılan kimyasal yolla polimerize olan kompozitler (SILAR ve P10)'in ise protein sentezini değiştirmediği saptanmıştır.

Ito, Kaga ve Oguchi (7), 1989 yılında yaptıkları çalışmada 8 adet ışıkla polimerize olan kompo-

zit reçine kullanmışlar, ışınlama süresinin uzatılmasının maddenin sitotoksitesine etki etmediğini, en kısa ışınlama süresinin (10 san) bile sitotoksiteyi anlamlı olarak azaltmadığını ileri sürmüşlerdir. Karten ve ark. ise (9), 1989 yılında deneysel olarak florid eklenmiş kompozit reçinenin sitotoksitesinin diğer florid içeren maddelerden farklı olmadığını bildirmişlerdir.

Al-Nazhan, Sapounas ve Spangberg (1)'in 1988 yılında yaptıkları çalışmalarında Restodent isimli kompozit reçinenin L929 hücrelerine toksik olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar kullanılan asitin dentin geçirgenliğini arttırdığını, böylece sitotoksik cevabın arttığı görüşünü savunmuşlardır.

Hume (6) 1985 yılında farklı bir yöntem kullanarak yaptığı çalışmada, Concise kompozit reçinenin dentine asit uygulayarak ve dentine asit uygulamadan sonraki sitotoksite değerlerini karşılaştırmıştır. Asit uygulama sonrası toksik değerler görülürken, asit uygulamadan yapılan örneklerden belli belirsiz bir toksite değeri saptanmıştır.

In vitro teslerde en büyük dezavantaj genellikle kullanılan maddelerin bilinen klinik etkileri ile in vitro test sonuçları arasındaki zayıf korelasyondur (8). İn vitro kimyasal toksite testlerinde dolgu maddeleri hücreler ile temas edecek şekilde veya doku kültürü ortamına ilave edilir. Oysa klinik kullanımda toksinler biyolojik etkiye neden olmadan önce materyalden dentin boyunca diffüze olmalıdır. Bu nedenle hücre kültürü testlerinde dentinin dikkate alınması gerektiği bildirilmiştir (6,12).

Araştırmamızda FDI standardizasyonunun öngördüğü Milipor Filtre Yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde dolgu maddeleri ile pulpa arasında milipor filtrenin dentin dokusu yerine kullanılmış olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte pulpaya ulaşan toksinlerin yalnızca fibroblastlara etkili olmayacağı, belki de bundan önce pulpa sinirlerini etkileyebileceği düşünülmelidir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre kullandığımız farklı yapılarıdaki kompozit reçinelerin hepsi kısa dönemde sitotoksik etki göstermiştir ve bu etki Prizma APH dışındaki reçinelerde zamana bağlı olarak azalmamıştır. Klinikte geniş kullanım alanı bulan kompozit reçinelere sitotoksite açısından ihtiyada bakılması gerektiği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Al-Nazhan S, Sapounas G, Spangberg L. In vitro study of the toxicity of a composite resin, silver amalgam and Cavit. *J Endod* 1988; **14**: 236-8.
2. Bergenholz G, Cox CF, Loesche WJ, Syed SA. Bacterial Leakage around dental restorations: Its effect on the dental pulp. *J Oral Pathol* 1982; **11**: 439-50.
3. Cox CF, Keall CL, Keall HJ, Ostro E, Bergenholz G, Biocompatibility of surface-sealed dental materials against exposed pulps. *J Prosthet Dent* 1987; **57**: 1-8.
4. Federation Dentaire Internationale (FDI). Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. *Int Dent J* 1980; **30**: 140-88.
5. Hanks CT, Craig RG, Diehl ML, Pashley DH. Cytotoxicity of dental composites and other materials in a new in vitro device. *J Oral Pathol* 1988; **17**: 396-403.
6. Hume WR. A new technique for screening chemical toxicity to the pulp from dental restorative materials and procedures. *J Dent Res* 1985; **64**: 1322-25.
7. Ito Y, Kaga M, Oguchi H. Correlation between the illumination time and cytotoxicity of light-cured composite resins. *Jap J Pedodontics* 1989; **27**: 854-63.
8. Kaga M, Ito Y, Okabe T, Oguchi H, Ota M. Quantitative evaluation by measuring affected area for cytotoxicity of dental materials *Shiha Zairyo, Kitai* 1990; **9**: 591-9.
9. Kasten FH, Pineda LF, Schneider PE, Rawls HR, Foster TA. Biocompatibility testing of an experimental fluoride releasing resin human gingival epithelial cells in vitro. *In vitro Cell & Dev Biol-An* 1989; **25**: 57-62.
10. Meiyon SD, Stephens PG, Browne RM. A comparison of the in vitro cytotoxicity of two glass-ionomer cements. *J Dent Res* 1983; **62**: 769-73.
11. Mjör IA, Hensten-Pettersen A, Bowen RL. Biological assessment of experimental cavity cleansers: Correlation between in vitro and in vivo studies. *J Dent Res* 1982; **61**: 967-72.
12. Stanley HR, Going RE, Chauencey HH. Human pulp response to acid pretreatment of dentin and to composite restoration. *J Am Dent Assoc* 1975; **91**: 817-25.
13. Stanley HR, Swerdiow H, Buonocore MG. Pulp reaction to anterior restorative materials. *J Am Dent Assoc* 1967; **75**: 132-41.
14. Tronstad L, Wennberg A. In vitro assessment of the toxicity of filling materials. *Int Endod J* 1980; **13**: 131-8.
15. Tyas MJ. A method for the in vitro toxicity testing of dental restorative materials. *J Dent Res* 1977; **56**: 1285-9.
16. Yamagata N, Oshima H. Cytotoxic effects of restorative materials on early passage cultured cells derived from human gingiva (in vitro). *Shiha Zairyo, Kitai* 1990; **9**: 541-54.

Yazıřma adresi:

Dr Haşmet Ulukađı
İ Ü. Diş Hek Fak
Konservatif Diş Tedavisi Bilim Dalı
34390 Çapı - İstanbul