

FARKLI YÖNTEMLERLE POLİMERİZE OLAN REÇİNELERİN SİTOTOKSİSİTELERİNİN İNCELENMESİ: İN VİTRO ÇALIŞMA

Fatma Ünalın¹ Özlem Duran² Nilgün Işık³ Gülden Yılmaz⁴

Yayın kuruluna teslim tarihi : 2.5.1996

Yayına kabul tarihi : 31.5.1996

Özet

Bu araştırmada ısı ile polimerize olan akrilik reçine, görülebilir ışık ile polimerize olan (VLC) Triad reçine ve kendi kendine polimerize olan (otopolimerizan) akrilik reçinelerin akut sitotoksik etkileri "hücre kültürünü agarla kaplama testi" kullanılarak incelenmiştir. Her bir örnek için erime indeksi 0, zone indeksi ise ısı ve kendi kendine polimerize olan akrilik reçine örnekleri için 1 ve VLC Triad reçine için 2 olarak bulunmuştur. Elde edilen bulgulara göre reçine örneklerinin sitotoksik etkilerinin olmadığı gözlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Akrilik reçine, sitotoksiste.

GİRİŞ

Doğal dişlerin bir kısmının veya tümünün yitirilmesi sonucunda stomatognatik sistemin nöroartiküler ve nöromusküler uyumu bozulur. Bu uyumu yeniden sağlamak amacıyla tam ve bölümlü protezlerin yapımı kaçınılmazdır. Protetik restorasyonların yapımında kullanılan materyallerin fiziksel, mekanik ve estetik özellikleri kadar diş ve çevre dokularla biyolojik uyumu da çok önemlidir. Bu nedenle ağız ortamı ile uzun süreli temasda bulunacak protetik materyellerin klinik kullanılabilirliklerinin yanı sıra, biyolojik uygunlukları da büyük önem taşımaktadır. Diş hekimliğinde kullanılan reçinelerin insanların sağlığı açısından zararlı olmadığı kabul edilmektedir. Ancak bu materyeller bazı şartlarda (enfeksiyon, ağız kuruluğu vb.) ağız mukozasında lokal tahrişlere ve ülserasyonlara yol açabilir (4,7,13). Bunu önlemek ve kullanılan reçine materyellerinin iatrojenik zararlarından kaçınmak için biyolojik uy-

IN VITRO CYTOTOXICITY INVESTIGATION OF RESINS WITH DIFFERENT POLYMERIZATION

Abstract

In this investigation to detect the acute cytotoxicity of heat-cured polymerizing acrylic resin, Visible Light-Cured (VLC) Triad resin and cold cured resin, tissue culture agar overlay test was used. It was founded that, Eysis index was 0 for each resin, whereas zone index for heat-cured and cold cured acrylic resins was 1 and for VLC triad resin 2. None of them was found to be cytotoxic.

Key words: Acrylic resin, cytotoxicity.

gunluklarının (biokompatibilitelerinin) saptanması gerekmektedir.

Bu sebeple araştırmamızda protezlerin yapımı ve tamir işlemlerinde kullanılan üç değişik reçine materyelinin in vitro şartlarda sitotoksitesini tayin etmeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırmada üç değişik reçine kullanılmıştır:

1- Meliodent (Isı ile polimerize olan akrilik reçine) (Bayer Dental UK)

2- Meliodent (Kendi kendine polimerize olan (otopolimerizan) akrilik reçine) (Bayer Dental UK)

3- Visible Light Cure (VLC) Triad sistemi (Görülebilir ışıkla polimerize olan akrilik reçine) (Dentsply Int. Inc PA, USA).

1 Doç. Dr İÜ Diş Hek Fak Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı

2 Dok Öğr İÜ Diş Fak Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı

3 Uzm Tıbbi Bio İÜ Tıp Fak. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Viroloji ve Temel İmmunoloji Anabilim Dalı

4 Doç Dr İÜ Tıp Fak Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Viroloji ve Temel İmmunoloji Anabilim Dalı

Akrilik reçine örneklerinin hazırlanışı:

Isı ile otopolimerizan akrilik reçinelerin her biri için 5, toplam 10 adet 0.5 x 0.5 x 0.3 cm ebatlarında pirinde örnekler hazırlanmıştır. Bu örnekler ısı ile polimerize olan ve otopolimerizan akrilik reçine için iki ayrı muflaya alınmıştır. Alçı sertleştikten sonra mufladan çıkarılan pirinç örneklerin boşluklarına, muflanın birinde, üretici firma direktiflerine göre hazırlanmış olduğumuz ısı ile polimerize olan akrilik reçine yerleştirilmiş ve üretici firma önerilerine uygun olarak polimerizasyonu sağlanmıştır. Otopolimerizan akrilik reçinenin ise, mufla kapatılıp üretici firmanın önerdiği süreçte pres altında bekletilerek polimerize olması sağlanmıştır. Görülebilir ışıkla polimerize olan akrilik reçine örneklerin hazırlanabilmesi için 0.3 cm kalınlığında bir cam levha üzerinde 0.5 x 0.5 cm ebatların da 5 boşluk açılmıştır. Üretici firma direktiflerine göre hazırlanan VLC akrilik reçine bu boşluklara yerleştirilmiş ve ışıkla polimerize olması sağlanmıştır.

Sitotoksitenin saptanması:

Akut sitotoksitenin tayin etmek için "hücre kültürünü agarla kaplama testi" Federation Dentaire Internationale (FDI) (3) standartlarına uygun olarak İÜ İst. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Viroloji ve Temel İmmunoloji laboratuvarında gerçekleştirildi. Hücre kültürü olarak Hep-2 hücreleri ve hücreleri üretmek için %2 fetal kalf serum, L-glutamin içeren Eagles's minimum essential medium (MEM) kullanıldı. Bu hücrelerin 6 kuyucuklu hücre kültürü plaklarında üremeleri sağlandı. Tam tabaka olan hücrelerin üzeri, %0.01 nötral kırmızı içeren %3 agarlı Eagle'm agar besiyeri ile kaplandı. Daha sonra her örnekten 5 kalıp 5 ayrı kuyucuğa konuldu. Böylece sitotoksitesi araştırılacak örneklerin hücre kültürünün üzerini örten agarla temas etmesi sağlanmış oldu. 37 C'da 24 saat inkübe edildi. Bu arada hücreler agarın içine katılan nötral kırmızı ile boyandı. Saptanan boya kaybı varlığı ve hücre erimesi özel invert mikroskopta sağlandı. Toksik yanıt difüzyon zonunun büyüklüğü (dekolorize alan) ve zone içinde ölen hücrelerin oranına dayanan Response indeks olarak ifade edilir. Bir örnek eğer hücre erimesi gösterdi ise sitotoksik sayıldı. Zone indeksi 2 ya da üzerinde bulunan maddelerde eğer hücre lizisi saptanmadı ise madde fizyolojik olarak aktif kabul edildi ama litik olarak değerlendirilmedi.

Yanıt indeksinin büyüklüğü örnekten difüze olan eriyebilir komponentlerin toksisite ve kon-

santrasyonları ile ilişkilidir ve karşılaştırma amacı için semikantitatif bir parametre oluşturur. Yanıt indeksinin 1/1 ve üzerinde oluşu örnekte difüze olabilen toksik maddelerin kesin belirtisidir.

BULGULAR

Herbir örnek için erime indeksi 0, zone indeksi ise ısı ve otopolimerizan akrilik reçine örnekler için 1 ve VLC triad reçine örneği için 2 olarak bulunmuştur. Bu verilere göre reçine örneklerinin sitotoksik olmadığına karar verilmiştir. Zone indeksinin 2 olarak saptandığı VLC Triad reçine ise, hücre lizisi olmadığı için fizyolojik olarak aktif kabul edilmiş ancak litik olarak değerlendirilmemiştir (Tablo 1).

Tablo 1. İndeks Değerlerinin Tanımı

İndeks	Zonun Tanımı
0	Renksiz alan yok
1	Örnek altında sınırı alanda renk kaybı
2	örnek çevresinde 0.5cm'yi aşmayan alan
3	örnek çevresinde 0.5 cm ile 1cm arasında renksiz zon
4	1cm'nin üzerinde zon
5	tüm plağı kaplayan renksiz alan
Erime indeksi	
0	hücre erimesi yok
1	zonun %20'si erimiş
2	%20-40'ı erimiş
3	%40-60'ı erimiş
4	%60-80'ı erimiş
5	%80'nin üzerinde erimiş

TARTIŞMA

Protetik restorasyonlarda maksimal başarı bu tür restorasyonların yapımında kullanılan materyallerin dokularla olan biyolojik uyumları ile direkt olarak ilgilidir. Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyolojik uygunluk testleri değişik yöntemler ile yapılabilmektedir. Bunlar arasında in vitro hücre kültürü sistemleri veya in vivo olarak hayvan deneyleri sayılabilir (5,9).

Ancak günümüzde hücre kültürü çalışmaları basit, ucuz ve kontrolü kolay olması açısından tercih edilmektedir. Ayrıca materyalin sitotoksitesi, hücre kültürü deneyleri ile organizmanın kompleks etkisi olmaksızın saptanabilmekte, sonuçların değerlendirilmesi kantitatif ve kantitatif olarak yapılabilmektedir (7,14).

Biz de bu nedenle araştırmamızda akut sitotoksitenin tayininde "hücre kültürünü agarla kaplama testi"ni kullandık (3). Otopolimerizan ve ısı ile polimerize olan reçinelerden çeşitli, kısmen toksik maddelerin açığa çıktığı gösterilmiştir. Bu maddeler arasında formaldehid, metil metakrilat, metakrilik asit ve benzoik asit de bulunmaktadır (1,8). Çeşitli reçinelerin sitotoksik etkileri in vitro olarak incelendiğinde, belirgin morfolojik toksisite saptanmadan DNA, RNA ve protein sentezinde bozukluk, hücrelerin ölümü şeklinde değişiklikler saptandığı bildirilmiştir. Genelde görülebilir ışıqla polimerize reçinelere dual veya ısı ile polimerize olan akrilik reçinelere göre değişik seviyelerde sitotoksisite gösterdiği bilinmektedir (6). Dual polimerize reçinelerin hücresel yanıt maddeden maddeye ve imalata göre değişiklik göstermektedir (2,7,12). Ogle ve ark. (10) ışıqla polimerize reçineler üzerinde çeşitli biokompatibilite testleri uygulamışlar, polimerize materyalin nontoksik olduğunu ve polimerize olmamış materyalin ise daha az toksik olduğunu saptamışlardır. Lefebvre ve ark. (8), ise çevre pH'nın çeşitli reçinelerden açığa çıkan maddelerin sitotoksisite

miktarında etkili olduğu göstermişlerdir. Ağız içi pH'ı kişiden kişiye değişiklik gösterdiği için, farklı miktarda toksik maddenin açığa çıkacağı ve toksitenin de buna bağlı olarak değişeceğini bildirmişlerdir.

Yapılan in vitro araştırmalarda ışıqla sertleşen protez reçinelerinin ve otopolimerizan reçinelerinin, ısıyla sertleşenlere oranla sitotoksitesinin çok daha fazla olduğu bildirilmektedir (2,11).

Bizler de 3 değişik tip reçine üzerinde yaptığımız sitotoksisite değerlendirmelerinde her 3 reçine örneklerinin de sitotoksik etkisinin bulunmadığını gözledik. Ancak reçine örneklerinden VLC Triad reçine fizyolojik olarak aktif kabul edilmiş fakat litik olarak değerlendirilmemiştir.

Ancak yinede reçinelerden açığa çıkan maddelerin sitotoksik etkileri bulunmamasına karşın bu reçineler kullanılarak yapılan protetik restorasyonların hasta üzerinde kullanılmadan önce belirli bir süre suda saklanmalarının doku devamlılığı ve sağlığı açısından yararlı olacağı görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Baker S, Brookes SC, Walker DM: The Release of residual monomeric methyl methacrylate from acrylic appliances in human mouth: An assay for monomer in saliva *J Dent Res* 1988; 67:1295-9.
2. Barron DJ, Schuster GS, Caughman GB, Lefebvre CA. Biocompatibility of Visible Light-Polymerized Denture Base Resins. *Int J Prosthodont*. 1993; 6:495-501.
3. Federation Dentaire Internationale (FDI). Recommended standart practices for biological evaluation of dental materials. *Int Dent J* 1980:140-188.
4. Fisher AA. Allergic sensitization of the skin and oral mucosa to acrylic resin denture materials. *J Proshet Dent* 1956; 6:593-6.
5. Heidemann D. Die Bestimmung der Biokompatibilität von zahnärztlichen Materialien anhand primärer Zellkulturen. *Dtsch Zahnärztl Kalender* 1982; 109-25.
6. Lefebvre CA, Schuster GS, Caughman GB, Caughman WF. Effect of denture base resins on oral epithelial cells. *Int J Prosthodont*. 1991; 4:371-6.
7. Lefebvre CA, Schuster GS. Biocompatibility of visible light-cured resin systems in prosthodontics. *J Proshet Dent* 1994; 71:178-85.
8. Lefebvre CA, Schuster GS, Knoerschild KL: The effect of pH on the Cytotoxicity of Elutes from Denture Base Resins. *Int J Prosthodont* 1995; 8:122-8.
9. Nakamura M, Koda H, Kawahara H. A proposition for long-term biocompatibility test of dental materials. *Dent Mat J*. 1983; 2:113-23.
10. Ogle RE, Sorensen SE, Lewis EA. A new visible light-cured resin system applied to removable prosthodontics. *J Proshet Dent* 1987; 57:384-6.
11. Schmalz G. Die Geweebeverträglichkeit zahnärztlicher Materialien Stuttgart: *Georg Thieme Verlag*, 1981; 30-3:169-70.
12. Schuster GS, Lefebvre CA, Dirksen TR, Knoerschild KL, Caughman GB. The Effect of pH on the Cytotoxicity of Eluates from Denture Base Resins. *Int J Prosthodont* 1995; 8:580-6.
13. Weaver RE, Goebel WM. Reactions to acrylic resin dental prosthesis. *J Proshet Dent* 1986; 43:138-42.
14. Welker D, Neupert G, Dehring H. Aspekte der Toxizitätprüfung stomatologischer Werkstoffe. *Zhan Mund Kieferheilkd* 1986; 74:699-705.

Yazışma adresi

Doç. Dr. Fatma Ünalın
LÜ. Diş Hekimliği Fakültesi
Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı
34390 Çapa / İSTANBUL