

SELF ADEZİV YAPIŞTIRICI SİMANLARIN MUTAJENİK POTANSİYELLERİNİN SALMONELLA/MİKROZOM TESTİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Mutagenic Potentials of Self-Adhesive Luting Cements as Detected by the Salmonella/Microsome Test

Tuğba TOZ*

Arlin KİREMİTÇİ**

Zeliha AYDOĞAN***

ABSTRACT

Resin cements have been considered the material of choice to cement indirect restorations, may be contact with tooth and oral tissues for prolonged periods of time. Thus, assessments of these materials' biocompatibility is gaining increasing importance for both patients and dentists. The aim of study was to evaluate the potential mutagenicity of two self-adhesive luting cement ("Biscem" Bisco, USA and "Maxcem" Kerr, Switzerland) by employing the Ames Salmonella/mikrosome test. The materials were eluted in dimethyl sulphoxide and the aliquots were used and incubation period of one day at 37⁰ C. Mutagenic effects of the materials were tested on Salmonella typhimurium strains TA 98 and TA 100 using the standard plate incorporation assay in the absence of S9 fraction from rat liver. No mutagenic effects were detected for the two self adhesive luting cements tested (P >0,05). We can conclude that Biscem and Maxcem has no mutagenic effect, but there is need for further investigations on different test strains, test aliquots and incubation periods and also in the presence of S9 fraction.

ÖZET

İndirekt restorasyonların yapıştırılmasında tercih edilen self-adeziv yapıştırıcı simanlar, diş ve ağız dokuları ile uzun süre temas halindedirler. Bu nedenle bu materyallerin biyouyumlulukları hasta ve hekimler için artan bir şekilde önem kazanmaktadır. Bu çalışmanın amacı, iki self-adeziv

yapıştırıcı simanın ("Biscem" Bisco, ABD ve "Maxcem" Kerr, İsviçre) mutajenik potansiyellerinin Ames Salmonella/mikrozom test sistemi ile değerlendirilmesidir. Kullanılan test materyallerinin ekstraktları dimetil sülfoksit içerisinde 1 gün boyunca 37C⁰ 'de bekletilerek hazırlanmıştır. Materyallerin mutajenik etkileri TA98 ve TA100 test suşlarının kullanılması ile plak inkorporasyon yönteminin uygulanması sonucu S9 kullanılmadan test edilmiştir. Her iki self-adeziv yapıştırıcı siman için herhangi bir mutajenik etki gözlenmemiştir (P >0.05). Bu çalışmanın sınırları dahilinde self-adeziv yapıştırıcı simanlar Biscem ve Maxcem mutajenik etki göstermemişlerdir. Bununla birlikte; farklı test suşları, farklı çözücüler ve farklı ekstrakt sürelerinde ve ayrıca S9 varlığında yapılmış daha fazla araştırma gereksinimi vardır.

Giriş

Günümüz diş hekimliğinde mümkün olduğunca az doku kaybı ile en iyi fonksiyon ve estetiğin sağlanması amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda kullanıma sunulan adeziv restoratif materyaller; fiziksel, mekanik, kimyasal ve biyolojik özelliklerinde kaydedilen gelişmelerle, diş hekimliğinde sıklıkla uygulanmaktadır. İndirekt restorasyonların, postların ve korların diş dokusuna tutunmasını sağlamak için geliştirilen yapıştırıcı simanlar düşük çözünürlükleri ve adezyon özellikleri nedeni ile estetik restorasyonların uygulanmasını

* DDS, PhD., Medipol Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı

** DDS, PhD., Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı

*** DDS., Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Moleküler biyoloji Anabilim Dalı

da sıklıkla kullanılan materyallerdir. Klinik prosedürlerin daha basite indirgenebilmesi ve çok aşamalı adeziv sistemlerin uygulamalarındaki teknik hassasiyetin önüne geçebilmek amacı ile 2002 yılında diş hekimlerinin kullanımına sunulan self-adeziv yapıştırıcı simanlar, bağlanma için başka bir uygulama aşamasına gerek duymaksızın direkt olarak dentin dokusu üzerine uygulanabilirler. Bu materyallerin tercih edilmesi ile dental dokuların yapısındaki hidroksiapatitler ve materyal içeriğindeki fosforik asit monomerlerinin etkileşimi ile gerçekleşen kimyasal bir bağlanma gözlenir. Her geçen gün farklı klinik uygulama tekniklerine sahip rezin ya da rezin içeriği olmayan birçok yeni siman dişhekimlerinin kullanımına sunulmaktadır [1].

Rezin esaslı dental materyallerden salınan bazı monomerler direkt olarak ya da “reaktif oksijen türleri” (ROS; H₂O₂, süperoksit anyon, OH radikali) üzerinden indirekt olarak mutajenik etki gösterirler [2]. Adeziv restoratif materyaller içerisinde genellikle en yoğun miktarda bulunan Bis-GMA'nın 0,02 ve 0,6 mM gibi düşük konsantrasyonlarının, materyallerin insan genlerinde mutajenik etkilerini ölçmede kullanılan DNA-sentezi inhibisyon (*DNA-synthesis inhibition test*) testinde pozitif cevap verdiği bilinmektedir [3]. Kompozit rezinlerde en fazla salım gösteren monomer olduğu belirtilen TEGDMA'nın doza bağlı olarak memeli hücrelerinde mutajenik etki gösterdiği ve V79 (Chinese, Hamster akciğer hücreleri) hücrelerinde subtoksik konsantrasyonlarda kısmen mutajenik olduğu bildirilmiştir [4]. Hücre ölümünü ve apoptozisini tetiklediği düşünülen [5] HEMA'nın ise gen mutasyonuna sebep olmadığı [3], ancak yüksek konsantrasyonlarda kromozal bozukluklar oluşturduğu gözlenmiştir [6].

Kısa zamanlı in vitro test sistemleri, diş hekimliğine sunulan restoratif materyallerin kullanıma başlanmadan önce genotoksik ve mutajenik potansiyelleri açısından test edilmeleri gerekliliği nedeni ile sıklıkla uygulanmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar, karsinojenite taramalarına esas olabilecek kısa zamanda sonuç verebilen ve düşük maliyetli birçok kısa zamanlı mutajenite test sistemlerini geliştirmişlerdir [7]. Kısa zamanlı bakteriyel testler; kimyasal tarafından oluşturulan DNA hasarı, mu-

tasyon türü ve metabolizma sonucu ortaya çıkan yan ürünler veya DNA onarımının genotoksik aktivite üzerindeki etkileri hakkında bilgi sahibi olunmasını sağlar. Genetiği değiştirilmiş bakterilerin kullanıldığı kısa zamanlı bakteriyel testlerden 1973'ten beri uygulanan Ames testi (*Salmonella*/mikrozom) bu yöntemler içinde en sıklıkla tercih edilenidir [8]. Bu test sistemi, test parametreleri açısından en iyi standardize edilmiş ve mutajen karsinojen etkisi en iyi bilinen kimyasallarla geçerliliği kabul edilmiş geri mutasyon testidir [7-9]. Değerlendirmeler; sitokrom P-450 enzimlerini içeren memeli karaciğer post mitokondriyal süpernatant (S9) varlığında veya yokluğunda, okzotrofik, histidin aminoasitine ihtiyaç duyan, mutant *Salmonella typhimurium* test bakterileri kullanılarak yapılmaktadır [10]. *Salmonella*-mikrozom testi, bakteri DNA'sı ile etkileşime girerek mutasyona neden olan ajanların insan dahil diğer türlerde de muhtemel mutasyonlara yol açma yeteneğinde olabileceği ve karsinojenite ile yüksek korelasyon varsayımlarına dayanmaktadır. Ames test sistemi aynı zamanda, kimyasalların mutajen veya kanserojen etkilerini ortadan kaldıran, bu kimyasalların DNA ile etkileşimlerini önleyen antimutajenlerin ve antikanserojenlerin tayininde de kullanılmaktadır [11]. Dentin-pulpa kompleksi ve ağız yumuşak dokuları ile direkt temas halinde oldukları için, bu materyallerin biyouyumlulukları hastalar ve hekimler için önem taşımaktadır. Dişhekimliğine sunulan restoratif materyallerin kullanıma başlanmadan önce genotoksik ve mutajenik potansiyelleri açısından test edilmeleri gerekliliği ışığı altında; kısa zamanlı in vitro test sistemlerinin kullanılması oldukça avantajlı olup yaygın olarak bir çok laboratuvarında uygulanmaktadır. Bu çalışmanın amacı iki self-adeziv yapıştırıcı simanın (“Biscem” Bisco USA ve “Maxcem” Kerr İsviçre) mutajenik potansiyellerinin Ames test sistemi ile değerlendirilmesidir.

Materyal ve Metod

Test Hazırlıklarının Yapılması

Ames test sisteminde kullanılan *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşları Dr. Bruce N Ames'ten (California Üniversitesi, Berkeley) temin edilmiştir. Tüm çalışmalarda, her bir bakteri suşu, her 10 mililitreye

100 µl gecelik kültür ekilerek, çalkalamalı etüvde, 37°C'de, 1-2x10⁹ bakteri/ml olacak şekilde üretilmiştir. Ames test sisteminde, rat karaciğer S9 fraksiyonu yokluğunda, TA 98 ve suşu için pozitif mutajen olarak 6 µg/plak Danomisin (Daunomicina, Deva Holding A.Ş.), TA100 suşu için ise 1,5 µg/plak Sodyumazid (NaN₃) (Sigma Aldrich, Almanya) kullanılmıştır. D- biyotin, L- histidin- HCl monohidrat, kristal viyole, tetrasiklin, sitrik asit monohidrat, sodyum amonyum fosfat ve D- glukoz Sigma'dan (Sigma Aldrich, Almanya); ampisilin trihidrat ve etanol (%99 saflıkta) Fluka'dan (Fluka, Almanya); Oxoid agar, Oxoid nütrient broth no:2 Oxoid'den (Oxoid, İngiltere); magnezyum sülfat ve potasyum fosfat Merck'ten (Merck, Almanya) sağlanmıştır.

Salmonella typhimurium TA98 ve TA100 suşları, ya sıvı ortamda üretilip küçük steril filtre disklerle emdirilmiş olarak ya da liyofilize olarak temin edilmiştir. Diske emdirilmiş olarak elde edilen suşlarda, bakteri emdirilmiş diskin yüzeyi öncelikle nütrient agarlı plağa sürülerek temizlenmiş ve daha sonra sıvı ortam içerisine aktararak üremesi sağlanmıştır. Liyofilize halde gelen suşları kullanabilmek için ise, aseptik şartlarda kültürü sulandırmak amacıyla üzerine sıvı ortam eklenmiştir. Sulandırılan kültürden nütrient agarlı plağa tek koloni ekim tekniği uygulanarak bakteri ekimi yapılmıştır.

Nütrient agarlı plaklar, 37°C'de bir gecelik inkübasyonun ardından üreme açısından kontrol edilmiştir. Tek kolonilerin gözlenebilmesi durumunda, sağlıklı görünen bir koloni alınarak yeterli histidin, biotin ve ampisilin ile desteklenmiş minimal glukoz agarlı plaklara tek koloni ekim tekniği yapılmıştır. Bu saflaştırma basamağı en az 2 defa tekrar edilmiştir. Saflaştırma basamağında, uygun çözeltiler ve besinler (nütrient) ile desteklenmiş minimal glukoz agarlı ortamlar yerine nütrient agarın da kullanılabilirdiği, fakat bu durumda kontaminasyon riskinin arttığı bilinmektedir. Minimal glukoz agarlı plaklar üzerinde iyi bir üreme gözlemek için 37°C'de 2 günlük inkübasyon gereklidir.

Ames test sistemi uygulanırken, sitotoksite ve mutajenite deneyleri sırasında 1-2x10⁹ bakteri/ml kullanılması öngörülmektedir. Üreme miktarı spektrofotometrik ölçümlerle veya

nütrient agarlı plak üzerinde canlı hücre sayımı yapılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan suşların genetik işaretlerinin Kontrollerinin yapılmasının ardından mutajenite çalışmalarında kullanılmak üzere, genetik işaretleri kontrol edilmiş TA98 ve TA100 suşları için, master plaklar hazırlanmıştır.

Ekstraktlarının Hazırlanması

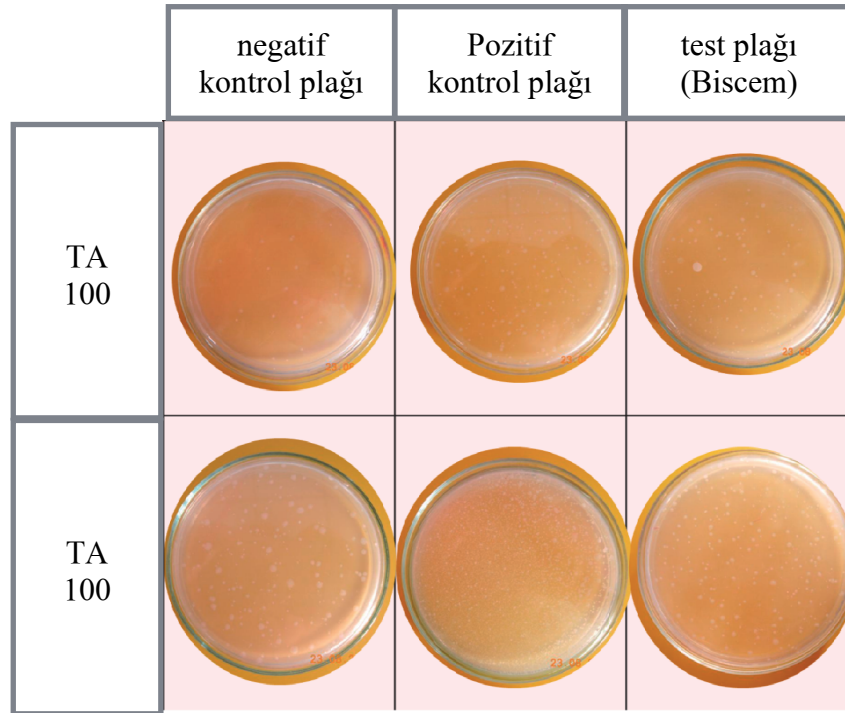
Toplam 5 ml ekstre ortamı kullanabilmek için her iki gruptan 15 adet örnek steril teflon kalıplarda üretici firmaların önerileri doğrultusunda laminar flow içerisinde steril şartlarda hazırlanmıştır. Self-adeziv yapıştırıcı simanlar Maxcem(Kerr, İsviçre) ve Biscem (Bisco, Amerika) uygulama aparatından 5 mm çapında 4 mm yüksekliğindeki teflon kalıp içerisine uygulanarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda 40 saniye ("Radii Plus" SDI Avustralya) polimerize edilmişlerdir. Örnekler DMSO içerisinde 37⁰ C'de inkübe edilmiş, ve örneklerin yüzey alanı birim hacim başına 3 cm² olacak şekilde hazırlanmış (1997:ISO 10993-11). 24 saat 370 C 'de etüv içerisinde 1 gün inkübe edildikten sonra kullanılmıştır.

Mutajenik değerlendirmeler, test bileşiklerinin bakteri için öldürücü olmayan dozlarının belirlenmesi sonrasında yapılmıştır.

Plak konsantrasyonları 25, 50, 75, 100 µl/plak olarak kabul edilip pozitif kontrol olarak TA 98 suşu için Danomisin (6µg/plak), TA 100 suşu için Sodyumazid (1,5µg/plak) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılacak test suşlarının genetik işaretlerinin kontrolünden sonra test bileşiklerinin bakteri için öldürücü olmayan dozları belirlenmiştir. AMES test sistemi (S9-), 'standart plate incorporation' yöntemi kullanılarak yürütülmüştür. Mutajenite testinde, test bileşiği ve bakteriyel test suşu, eser miktarda histidin-biyotin içeren üst agar içerisinde bir araya getirilerek, homojen bir şekilde minimal glukoz agarlı plaklar üzerinde yayılması sağlanmıştır. Kontrol plakları ile birlikte bütün plaklar 37°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve his- karakteri geri dönen, yani his+ hale gelen, koloniler sayılmıştır. Herhangi bir bileşiğin mutajenik olarak kabul edilebilmesi için, deney plakları ile negatif kontrol plakları karşılaştırıldığında, deney plaklarında ya doza bağlı anlamlı bir artış ya da en az 2 katlık bir artış gözlenmelidir.

Tablo 1. Biscem ve Maxcem'in *Salmonella typhimurium* TA 98 ve TA 100 mutant suşlarında plak inkorporasyon testi sonuçları

		100	75	50	25	negatif kontrol	pozitif kontrol
Maxcem	TA 98	23±4,58	28±5,29	19,6±4,50	25±2,64	29,3±4,6	87,3±2,51
	TA 100	236±18,33	245,3±11,54	283±15,27	219,3±13,6	231,3±4,16	1000,66±21
Biscem	TA 98	28±9,84	25,6±3,51	28,6±6,3	28±1,73	29,3±4,6	87,3±2,51
	TA 100	320±34,64	320±20,23	287,3±11,37	290±10	231,3±4,16	1000,66±21

**Şekil 1.** Ames testi sonrası gözlenen bakteri kolonizasyonları

Mutajenite Testi (Plak İnkorporasyon Testi)

AMES/Salmonella mikrozom test sisteminde plak inkorporasyon yöntemi (*standart plate incorporation*) uygulanmıştır. Bu teknikte; restoratif materyal ekstraktı ve bakteriyel test suşu üst agara ilave edilerek minimal glukoz agarlı plaklara dökülmektedir (355). 37°C'de 48-72 saat inkübasyondan sonra ise *his*⁺ haline dönüşen koloniler sayılır. Mutajenite testinde, restoratif materyal ekstraktı ve bakteriyel test suşu kültürü üst agara eklenerek, homojen bir şekilde minimal glukoz agarlı plaklar üzerinde yayılmıştır. Her bir suş için ayrıca pozitif ve negatif kontrol plakları hazır-

lanmış, TA 98 için pozitif kontrol olarak Danomisin, TA100 için ise Sodyumazid her deneyde pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Kontrol plakları ile birlikte bütün plaklar 37°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve *his*⁻ karakteri geri dönen, yani *his*⁺ hale gelen, koloniler sayılmıştır.

Çalışma sırasında her bir steril tüpe 0,5 mM histidin-biyotin çözeltisi eklenmiş 48°C'deki 2,5 ml üst agar, restoratif materyal ekstraktından en fazla 0,1 ml ve test suşunun uygun derişimdeki gecelik kültüründen 0,1 ml eklenerek vorteks yardımı ile 3 saniye boyunca karışması sağlanmıştır. Üst agarın donma eğiliminde olması nedeni ile, bu işlemler kısa bir

süreç içinde tamamlanarak minimal glukoz agarlı plaklar üzerine yayılmış ve test bileşiğinin her bir dozu için 3 plak kullanılmıştır. Deneyde test şuşlarının geriye dönme frekanslarını kontrol etmek amacıyla kullanılan negatif ve pozitif kontrol plaklarından da üçer adet hazırlanmıştır. Ames mutajenite test sisteminde mutasyon; ortamdaki histidin tükenmesinden sonra, agar üzerinde koloni oluşturan histidin prototroflarının sayılması sonucunda hesaplanır. Mutajen tanımlamasının yapılabilmesi için histidin prototroflarının sayısının kendiliğinden geriye dönen koloni sayısının en az iki katından fazla olup, doza bağlı bir artışın söz konusu olması gerekmektedir.

Bulgular

Mutajenite değerlendirmelerinden önce, çalışmada test edilmesi planlanan tüm adeziv materyallerin test şuşları üzerindeki sitotoksik değerleri belirlenmiştir. Mutajenite değerlendirmeleri, sitotoksik etkinin gözlenmediği en yüksek dozdan başlanılarak belirlenen dört farklı dozda yapılmıştır. Yapılan değerlendirmelere göre test edilmesi planlanan doz miktarları test şuşları üzerinde sitotoksik etki göstermemişlerdir.

Kırksekiz saatlik inkübasyon sonrasında test edilen adeziv restoratif materyallerin uygulandığı test plakları ile negatif ve pozitif kontrol plakları üzerinde koloni oluşturan histidin prototroflarının sayılması sonrasında elde edilen bulgular değerlendirilmiştir. Mutajen tanımlamasının yapılabilmesi için test edilen plaklarda tesbit edilmiş histidin prototroflarının sayısının, negatif kontrol plaklarındaki kendiliğinden geriye dönen koloni sayısının en az iki katından fazla olup, doza bağlı bir artışın olması gerekliliği gözönünde bulundurulmuştur. Şekil 1'de Ames testi sonucunda elde edilen TA 98 ve TA 100 şuşuna ait mutajenik etki göstermedikleri tesbit edilmiş test, negatif kontrol ve pozitif kontrol plakları bulunmaktadır. Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi tek yönlü varyans analizi ile yapılmıştır. Yapılan istatistiksel analizlere göre Xp Bond, TA 98 ve TA 100 şuşlarında hiçbir doz için mutajenik etki göstermemiştir ($p>0.05$).

Tartışma

Özellikle uzun dönem salındıkları göz önünde bulundurulduğunda, adeziv restoratif

materyallerden salınan monomerlerin genotoksik özellikleri; hücre ölümü, mutasyon ve kanser gibi oluşturabilecekleri olası etkileri ile birlikte önem taşımaktadır. Bu amaçla ; dişhekimliği kliniklerinde güncel olarak uygulanan iki self-adeziv yapıştırıcı simandan elde edilen ekstraktlarının mutajenik etkilerinin, Ames testi ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Ames test sistemi, materyallerin mutajenik potansiyellerinin taranmasında yaygın olarak kullanılan kısa zamanlı bakteriyel mutajenite test sistemlerinden biridir. Bu testin yaygın olarak kullanılması nedenleri arasında, bu sistemde belirlenen bir etkinin, kemirgen karsinojenitesi hakkında bilgi veriyor olması sayılabilir [7, 8]. Adeziv restoratif materyallerin mutajenik etkileri, tek bir deneye bağlı kalınmamasının hedeflenmesi sonucunda iki farklı şuş kullanılması yolu ile değerlendirilmiştir;. Bu nedenle genellikle bir deneyin aynı koşullar ve/veya değişen koşullar altında tekrarlanması, böylelikle önceki sonuçlarla uyumluluğun kontrol edilmesi ve genotoksitenin belli koşullar altında ifade edilip edilmediği hakkında bilgi sahibi olunması amacı ile TA 98 ve TA 100 şuşları kullanılmıştır. Bilinen bakteriyel mutajenlerin büyük bir kısmını belirlemede çok hassas oldukları için TA98, TA 100 kombinasyonunun genel olarak kabul görmüş test şuşları olduğu da bilinmektedir [12]. Bu anlamda Ames test sistemi, kendi içinde çoklu bir deney sistemi sayılabilir.

Test sistemi sonucunda elde edilen bulguların istatistiksel analizinde; toksisitenin varlığı ya da hayatta kalan bakteri sayısının azalması azalmadığı, negatif kontrol plaklarından gözlenen bakteri koloni miktarının homojen dağılıp dağılmadığı, literatürdeki negatif ve pozitif kontrol plaklarından elde edilen sonuçlarla uyumlu bulgular elde edilip edilmediği, test edilen grupların kontrol gruplarından daha yüksek değerlerde sonuç verip vermediği, deney gruplarının doz-cevap ilişkisi ve inkübasyon süresinin mutajenite üzerinde etki gösterip göstermediği değerlendirilmiştir.

Çalışma kapsamında, sitotoksik etki değerlendirmesi, mutajenite deneyleri öncesinde yapılmıştır. Test edilen tüm adeziv restoratif materyaller için incelenen en yüksek doz, 100 µg/plak olarak belirlenmiştir. Mutajenite testi sonrasında, negatif kontrollerin istatistiksel

olarak değerlendirilmesi sonucunda, değerlerin homojen dağılım gösterdiği belirlenmiş ve geriye dönme fraksiyonları TA 98 suşu için $31,87 \pm 11,07$, TA 100 suşu için ise $183,22 \pm 38,89$ olmak üzere literatürde TA 98 için 20-30, TA 100 için 75-200 [7] olarak belirtilen miktara uyumlu bulunmuştur. Pozitif kontrol plakları için TA 98 suşunda $6 \mu\text{g/plak}$ danomisin, TA 100 suşunda $1,5 \mu\text{g/plak}$ sodyum azid kullanılması önerilmektedir. Bu öneri dikkate alınarak hazırlanmış kontrol plaklarında gözlenen koloni miktarı ortalamaları alındığında TA 98 için $87,3 \pm 2,51$ TA 100 için ise $1000,66 \pm 21$ koloni gözlenmiştir. Bu değerlerin negatif kontrol plakları ile karşılaştırıldığında literatürdeki veriyi doğruladığı gözlenmiştir. Elde edilen bulgular SPSS 16.0 paket programı kullanılarak iki yönlü varyans analizi ile çözümlendiğinde; test edilen adeziv restoratif materyallerin iki farklı süre sonunda elde edilen tüm ekstraktları, Ames test sisteminde metabolik aktivasyon yokluğunda negatif sonuç vermişlerdir.

Bu araştırmada test edilen Biscem içeriğinde Bisfenol glisidil metakrilat (Bis-GMA) ve polimerize olmamış dimetakrilat monomerleri, Maxcem ise gliserofosfat dimetakrilat (GPDM) ve self-adeziv asidik monomer içermektedir. Bis-GMA, UDMA, TEGDMA, GMA ve HEMA'nın Ames testinde mutasyon oluşturmadıkları belirtilmiştir. Bununla birlikte BisGMA'nın bozunma ürünleri BPA ve GMA'nın V79 hücre kültüründe mikronükleus oluşumunu arttırmasına rağmen, kromozom mutasyonlarında anlamlı derecede etkili olmadığı da bildirilmiştir [6, 13, 14]. Bu bulgularla birlikte, monomerlerin genotoksik etkileri tam olarak açıklanamamaktadır. Nükleotidlerle direkt etkileşim, DNA hasarı oluşturan araçlar veya DNA tamir mekanizmasının inhibisyonu, rezin monomerlerin mutajenik etkilerinden sorumlu olarak kabul edilmektedir [15]. Bis-GMA ve UDMA'nın in vitro olarak bakteri kültürlerinde ve ökaryotik hücrelerde mutajenik etki göstermediği bildirilmiş, bununla birlikte kolesterol esteraz varlığında Bis-GMA'nın bozunma ürününün ortaya çıktığı (BAD-PE-4OH) ve insan lenfositlerinde mikronükleus oluşumuna neden olduğu [16] belirtilmiştir. Poplawski ve diğ. [17] çok sıklıkla olmamakla birlikte, adeziv sistemlerde fizyokimyasal dayanıklılığı ve hidrofobikliği arttırmak

üzere poli(metil metakrilat) (PMAA) modifikasyonu olarak kullanılan GMA'nın genotoksik etkisini bildirmişlerdir. Biscem içerdiği monomerin olası mutajenik etkisine rağmen Ames testinde negatif sonuç vermiştir. Bununla birlikte Bu araştırmada Biscem ile test edilen ve herhangi bir mutajenik etkinin gözlenmediği Maxcem içeriğinde bulunan GPDM'nin biyoyumluluğunu değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Bu durum, salınan monomer miktarının etki oluşturacak konsantrasyona ulaşmaması ile açıklanabilir. HEMA ve Bis-GMA içeren beş farklı adezivden 1, 24 saat ve 5 gün sonunda elde edilen ekstraktların farklı dilüsyonlarının değişen genotoksik etki gösterdiği de bildirilmiştir [18]. Gözlenen negatif sonuçların diğer bir nedeni ise metabolik aktivasyon sisteminin kullanılmaması olabilir. Bu sistem, kısa zamanlı bakteriyel test sistemi olan Ames testinin memelilerdeki biyotransformasyon olaylarının deney ortamında taklit edilmesi amacı ile ortama eklenen bir metabolik aktivasyon sistemidir [7]. Test edilen adeziv restoratif materyallerin metabolitlerinin mutajenik potansiyelleri hakkında bilgi sahibi olabilmek amacı ile, bu aktivasyon sistemi varlığında farklı sonuçlar elde edilebileceği, göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. De Munck, J., et al., Bonding of an auto-adhesive luting material to enamel and dentin. *Dent Mater*, 2004. 20(10): p. 963-71.
2. Schweikl, H., et al., Inhibition of TEGDMA and HEMA-induced genotoxicity and cell cycle arrest by N-acetylcysteine. *Dent Mater*, 2007. 23(6): p. 688-95.
3. Heil, J., et al., Genotoxicity of dental materials. *Mutat Res*, 1996. 368(3-4): p. 181-94.
4. Schweikl, H. and G. Schmalz, Triethylene glycol dimethacrylate induces large deletions in the hprt gene of V79 cells. *Mutat Res*, 1999. 438(1): p. 71-8.
5. Spagnuolo, G., et al., NF-kappaB protection against apoptosis induced by HEMA. *J Dent Res*, 2004. 83(11): p. 837-42.
6. Schweikl, H., G. Schmalz, and T. Spruss, The induction of micronuclei in vitro

by unpolymerized resin monomers. *J Dent Res*, 2001. 80(7): p. 1615-20.

7. Mortelmans, K. and E. Zeiger, The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutat Res*, 2000. 455(1-2): p. 29-60.

8. Maron, D.M. and B.N. Ames, Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res*, 1983. 113(3-4): p. 173-215.

9. Ames, B.N., Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science*, 1979. 204(4393): p. 587-93.

10. Jorgensen, K.V., J.W. Clayton, and R.L. Price, Evaluation of aflatoxin B1 mutagenesis: addition of glutathione and glutathione-S-transferase to the Salmonella mutagenicity assay. *Environ Mutagen*, 1987. 9(4): p. 411-9.

11. Rosin, M.P. and H.F. Stich, Assessment of the use of the Salmonella mutagenesis assay to determine the influence of antioxidants on carcinogen-induced mutagenesis. *Int J Cancer*, 1979. 23(5): p. 722-7.

12. Levin, D.E. and B.N. Ames, Classifying mutagens as to their specificity in causing the six possible transitions and transversions: a simple analysis using the Salmonella mutagenicity assay. *Environ Mutagen*, 1986. 8(1): p. 9-28.

13. Schweickl, H., G. Schmalz, and K. Rackebrandt, The mutagenic activity of unpolymerized resin monomers in Salmonella typhimurium and V79 cells. *Mutat Res*, 1998. 415(1-2): p. 119-30.

14. Kleinsasser, N.H., et al., Genotoxicity and cytotoxicity of dental materials in human lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (comet) assay. *J Dent*, 2004. 32(3): p. 229-34.

15. Arossi, G.A., et al., Induced DNA damage by dental resin monomers in somatic cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2010. 106(2): p. 124-9.

16. Suarez, S., R.A. Sueiro, and J. Garrido, Genotoxicity of the coating lacquer on food cans, bisphenol A diglycidyl ether (BADGE), its hydrolysis products and a chlorohydrin of BADGE. *Mutat Res*, 2000. 470(2): p. 221-8.

17. Poplawski, T., et al., Cytotoxicity and genotoxicity of glycidyl methacrylate. *Chem Biol Interact*, 2009. 180(1): p. 69-78.

18. Prica, D., et al., Genotoxicity evaluation of five different dentin bonding agents by chromosomal aberration analysis. *J Oral Rehabil*, 2006. 33(6): p. 462-71.

Yazışma Adresi:

Tuğba Toz: ttoz@medipol.edu.tr

