

DİŞHEKİMLİĞİNDE KULLANILAN RESTORATİF MATERYALLERİN SİTOTOKSİSİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI (İN VİTRO)

Elif Pak¹, Deniz ŞEN²,
Emel BOZKAYA³, Deniz FIRAT⁴, Hakan ÇETİNER¹

ÖZET

Bu araştırmanın amacı, iki farklı tipteki restoratif materyalin sitotoksisiteelerinin insan gingival fibroblastları üzerinde araştırılmasıdır. Gingival biopsilerden üretilmiş fibroblastlar üzerinde yapısal açıdan farklı iki restoratif materyal, porselen (Vita VMK 68, Germany) ve kompozit (Targis Ivoclar, Liechenstein) denenmiştir. Saf titanyum ve polimetilmetakrilat ise negatif ve pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Tüm test ve kontrol gruplarına ait örnekler iki hafta süresince hücre kültürleri üzerinde denenmiş ve gelişmeler invert ışık mikroskobu ile gözlenmiştir. Kompozit restoratif materyal Targis üç ve yedi günlük sürelerin sonunda, pozitif kontrol grubundaki örnekler ile benzer olarak orta dereceli hücre harabiyetine neden olmuştur. Bununla birlikte, porselene ait örnekler 15 gün sonunda ortaya çıkan ve saf titanyum örneklerle benzerlik gösteren bazı geç reaksiyonlar oluşturmuşlardır. Bu çalışmanın sonucuna göre yeni kompozit restoratif materyal Targis, porselen ile karşılaştırıldığında, canlı dokularda birtakım erken reaksiyonlara neden olabilir.

Anahtar sözcükler: Biyoyumluluk, hücre kültürü, kompozit restoratif materyal

CYTOCOMPATIBILITY OF DIFFERENT RESTORATIVE DENTAL MATERIALS (IN VITRO)

Abstract

The purpose of this investigation was to determine the cytocompatibility of two different types of esthetic restorative dental materials on human gingival fibroblasts. Human primary fibroblasts cultured from gingival biopsies were used for monitoring the biocompatibility of porcelain (Vita VMK 68,

1 Dr Dt İ Ü Diş Hek Fak Kuron-Köprü Protezi BD

2 Doç Dr İ Ü Diş Hek Fak Kuron-Köprü Protezi BD

3 Prof Dr İ Ü Tıp Fak Mikrobiyoloji ABD

4 Doç Dr İ Ü Diş Hek Fak Çene Cerrahisi BD

Germany) and the new dental restorative composite material (Targis İvoclar, Liechtenstein). Pure titanium and polymethylmethacrylate were used as negative and positive controls. The specimens of both test and control groups were exposed to cell culture for 15 days. The cultures were observed in an inverted light microscope over a period of two weeks. The samples of composite restorative material Targis caused moderate cell injury, observed after the third and seventh days of exposure, similar to the results of the positive controls. However, the samples of porcelain showed some late reactions, observed after the 15th days of exposure. The result of this study showed that, the new dental restorative composite material Targis may cause some early tissue reactions to some degree when compared to porcelain.

Key words: Biocompatibility, cell culture, composite restorative material.

GİRİŞ

Son yıllarda dişhekimliğinde porselen ve metal porselen köprü sistemlerine alternatif olarak yeni restoratif materyaller kullanıma sunulmaya başlamıştır. Bunlardan biri de kullanıma yeni giren kompozit bir materyal olan Targis'tir. Ana yapıyı, monomerlerin serbest çift bağlarının kimyasal birleşmesi ile meydana gelen polimer oluşturur. %75-85 gibi yüksek oranlarda inorganik dolgu materyalleri ile güçlendirilmiştir (11).

Porselenler, diğer restoratif materyaller ile karşılaştırıldıklarında en inert etkiyi gösterenlerdir. Kimyasal açıdan inert olmak önemli bir özelliktir çünkü bu durum, restorasyon yüzeyinin potansiyel olarak zararlı elementleri serbestlemeyeceğinin güvencesidir. Ayrıca yüzey düzensizliği ihtimalini azalttığı için, zaman içinde oluşabilecek bakteriyel adezyon riskini minimuma indirir(1).

Porselenin canlı dokulara karşı gösterdiği mükemmel uyum gözönüne alındığında, bu yeni materyallerin doku uyumu yönünden ne derece kabul edilebilir olduğu araştırılması gereken bir konudur. Hücrelerin materyal yüzeyine adezyonu ve bu materyallere karşı gösterdikleri reaksiyon, bu malzemelerin canlı dokulara uyumu konusunda yargıya varmada etkili olan ana faktörlerdir (10). Bu araştırmanın amacı, iki farklı estetik restoratif materyalin insan gingival fibroblastları üzerindeki sitotoksik etkilerinin belirlenmesidir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada sitotoksitelerin tayini için, porselen (Vita VMK 68, Germany) ve kompozit (Targis İvoclar, Liechtenstein) olmak üzere iki ayrı estetik restoratif materyal kullanıldı. Saf titanyum ve polimetilmetakrilat ise

negatif ve pozitif kontrol olarak kullanıldı. Her gruptan 5.0 mm x 2.0 mm boyutlarında 10 ayrı disk hazırlandı. Örnekler etanol ve distile su içinde ultrasonik olarak temizlendi ve otoklavda sterilize edildi. Hücre kültürü için, gingival biopsilerden elde edilen fibroblastlar kullanıldı. Biopsiler 25-35 yaş arası bireylerde yapılan diş çekimleri esnasında alt yirmi yaş dişleri çevresinden aseptik şartlar altında alındı (10). Alınan bu biopsiler antibiotik takviyeli (penisilin 200 UI/ml, streptomisin 200µg/ml) transport besiyerinde +4 °C da ve 12 saatten fazla olmamak kaydı ile muhafaza edildi. Biopsiler daha sonra antibiotik içermeyen serum fizyolojik ile yıkanıp temizlendi ve 1-2 mm³ boyutunda parçalara ayrıldı. Hücre kültürü için, 24 bölmeden oluşan özel taşıyıcılar kullanıldı (Resim 1). Herbir hücre 1,5-2 cm³, %10 FCS ilave edilmiş MEM (Minimal Essential Medium) içermekte idi. Taşıyıcılar 37°C %5 CO₂ atmosferde inkube edildi. Hücreler yaklaşık yedi gün içinde tabaka oluşturdular. Tabaka oluşumunu takiben test örnekleri hücreler üzerine yerleştirildi. Giemsa ile boyanan fibroblastlar invert ışık mikroskobu altında, hücresel yuvarlaklaşma, sitoliz ve morfolojik toksisite yönünden incelendi. Etkisi incelenen materyalin çeperi ile bölme çeperi arasındaki mesafe, üç eşit bölgeye ayrıldı ve hücre yayılımı buna göre puanlandırıldı (Şekil 1) (6).

BULGULAR

Örnekler yaklaşık iki hafta kültür içerisinde bırakıldı. Bu süre içinde örneklerden, üçüncü, yedinci ve 14. günlerde invert ışık mikroskobu ile incelenerek kayıt alındı. Tablo 1'de bölgelere göre hücresel dejenerasyon dağılımı görülmektedir.

Üç günün sonunda, 10 kompozit materyal örneğinden dördünde ileri derecede hücresel dejenerasyon gözlemlendi. Diğer taraftan, 10 gün sonunda tüm bölmelerde tamamen dejenerasyon meydana geldi (Resim 2). Bu sonuçlar, pozitif kontrol grubunun sonuçları ile benzerlik göstermekte idi. Bununla birlikte, tüm porselen örnekler 10. günün sonunda negatif kontrollere benzer şekilde bazı geç reaksiyonlar gösterdi (Resim 3). İkinci haftanın sonuna doğru porselen ve negatif kontrol grubu materyallere karşı oluşan hücre reaksiyonlarının, hücrelerin doğal dejenerasyonu olduğu düşünülmektedir çünkü benzer reaksiyonlara herhangi bir tip materyalin uygulanmadığı hücre kültürü örneklerinde de rastlanmıştır.

TARTIŞMA

Dişhekimliğinde kullanılan restoratif materyaller ile dişeti yakın temastadır ve bundan dolayı doku hücreleri üzerindeki etkileri klinik olarak önemlidir (6). Restoratif materyallerin doku uyumu ve toksisitesi konusunda çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu tür çalışmalar için in vivo ve in vitro yöntemler kullanılmaktadır (5). Dişhekimliğinde kullanılan biyomateryallerin

biyolojik uyumlarının belirlenmesi amacıyla yapılan hücre kültürü çalışmalarında farklı yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar, direkt kontak metodu, hücreler ile test edilecek materyal arasına, oluşabilecek fiziksel zararları önleyebilmek için bir agar tabakasının yayıldığı agar overlay testi (4,12), extract metodu ve koloni tayini yöntemleridir. Bu yöntemler kullanılarak test edilen biyomateriyallerin biyolojik uyumları konusunda bir hükme varabilmek için ise hücre fonksiyonlarının tayininin yapılması gereklidir. Bu fonksiyonların tayini FPR tayini, proliferasyon testi(3), LDH tayini(8), IL-1 tayini (2,9) gibi metodlarla yapılmaktadır. Biz bu çalışmamızda, direkt kontak metodunu kullandık. Bu metodu, kullandığımız materyallerin biyolojik uyumları hakkında fikir edinebileceğimiz en pratik ve ekonomik yöntem olduğu için tercih ettik. Çalışmada, insan dişetinden ürettiğimiz fibroblast tabakalarını invert ışık mikroskobu altında inceledik.

Wataha (13), farklı yüzdelerde altın içeren alaşımlarla yaptığı in vitro araştırmada negatif kontrol grubu olan teflon ile arada sitotoksiste açısından belirgin bir fark olmadığını belirtmiştir. Biz ise çalışmamızda, negatif kontrol grubu olarak, biyolojik ortamlara yüksek derecede uyum göstermesi(1) nedeni ile, saf titanyum kullandık.

Hildebradt (7), kıymetli ve yarı kıymetli metal alaşımlarını sitotoksiste açısından incelediği in vitro çalışmasında ,bu alaşımlara karşı doku uyumluluğunu mükemmel bulmasına karşı, nikelden zengin kıymetsiz alaşımlar ve non -gamma 2 dental amalgamlarda biyolojik uyumu zayıf bulmuştur. Biyolojik uyumun, iyon serbestlenme oranı ve serbestlenen iyonun toksik mutajenik ya da allerjik olup olmaması ile yakından ilgili olduğu düşünülürse, kimyasal stabilite açısından daha zayıf olan kıymetsiz alaşımlar daha zayıf biyolojik uyum göstereceklerdir. Bizim çalışmamızda da kimyasal inertliği yüksek olan porselen materyali, negatif kontrol grubuna benzer olarak, daha uyumlu sonuçlar vermiştir.

Luizard(10), Pd, Au-Pd, Au ve Ag olmak üzere 4 farklı alaşım kullanarak yaptığı in vitro çalışmada hücre canlılığını ölçmüş ve sonuçları negatif kontrol grubuna çok yakın bulmuştur. Biz yaptığımız in vitro çalışmamızda 10. gün sonunda fibroblast hücre kültürlerinde porselene karşı kompozit materyale kıyasla daha hafif dejeneratif reaksiyon saptadık. Erken dönemde (72 saat) ise porselende hiçbir dejeneratif reaksiyon gözlemedik. Porselende 10. gün sonunda gözlediğimiz hafif dejenerasyonun, doğal hücre dejenerasyonu olduğunu düşünülmekteyiz çünkü aynı türde reaksiyonlar, herhangi tipte bir materyalin uygulanmadığı hücre kültürü örneklerinde de gözlenmiştir.

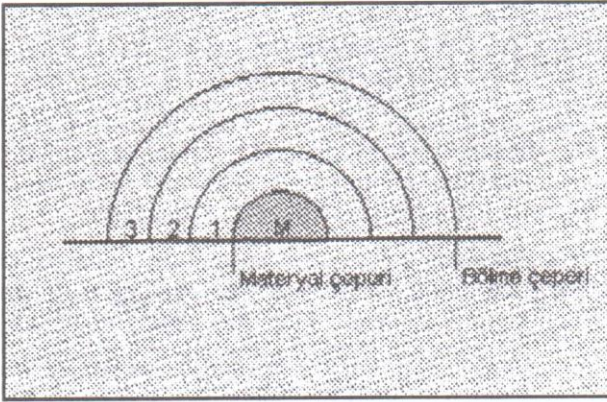
Sonuç olarak, yaptığımız in vitro çalışmada yeni kompozit restoratif materyal Targis, biyolojik uyum açısından porselene göre daha zayıf bulunmuştur.

Tablo 1: Bölgelere göre hücrel dejenerasyon dağılımı

| Materyal \ Süre | 72 saat | | | 1 hafta | | | 2 hafta | | |
|-----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 3.Bölge | 2.Bölge | 1.Bölge | 3.Bölge | 2.Bölge | 1.Bölge | 3.Bölge | 2.Bölge | 1.Bölge |
| Kompozit | 4 | 1 | 5 | 6 | 3 | 1 | - | - | - |
| Porselen | - | 1 | 9 | - | 3 | 7 | 9 | 1 | - |
| Pozitif kontrol | 6 | 2 | 2 | 9 | 1 | - | - | - | - |
| Negatif kontrol | - | - | 10 | - | 2 | 8 | 8 | 2 | - |

Hücrelerin yayılım gösterdiği alan numarasına göre preparat sayısı esas alınarak yapılmıştır

Şekil 1: Hücre yayılımının puanlandırılması



KAYNAKLAR

- 1- Anusavice K.J. Phillips' Science of Dental Materials. 10th ed. Philadelphia :W.B. Saunders Company, 1996: 583-619 , 655-663.
- 2- Bonfield T.L., Colton E., Anderson J.M. Plasma protein absorbed biomedical polymers: Activation of human monocytes and induction of interleukin 1. J. Biomed. Mater. Res., Vol.23,p.535-548,1989.
- 3- Cheung H.S., Haak M.H. Growth of osteoblasts on porous calcium phosphate ceramic:An in vitro model for biocompatibility study. Biomaterials, Vol 10 Jan. 1989.
- 4- Ciapelli G. Cell Culture Methods to Evaluate the Biocompatibility of Implant Materials, ALTA, Vol 20 p.52-60, 1992.
- 5- El-Maarri O. Applicability of boride and nitride type ceramic surgical stainless steels as implant materials. Thesis of M.S. Boğaziçi University 1993.
- 6- Hekimoğlu C., Şahin E., Tuncer S. Değişik Toz- Sıvı Oranlarında Hazırlanan Bazı Yapıştırıcı Ajanların Sitotoksitesi. Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Dergisi. Cilt 20, Sayı 2, Sayfa 44-47,1996.
- 7- Hildebrand H.F., Lefevre A., Elagli K., Veron C. In vitro studies on the cell viability and inflammatory effects induced by dental alloys and pure reference metals.Biocompatibility,Allergies and Resistance to Corrosion: a global scientific approach; Metalor, p.11-19, Switzerland 1993.
- 8- Johnson S.D., Anderson J.M., Merchant R.E.Biocompatibility studies on Plasma polymerised interface materials encompassing both hydrophobic and hydrophilic surfaces. J. Biomed. Mater. Res., Vol. 26 p.915- 935,1992.
- 9- Miller K.M., Anderson J.M. Human monocyte/ macrophage activation and interleukin 1 generation by biomedical polymers. J. Biomed. Mater. Res., Vol. 22,p.713-731,1988.
- 10- Sigot-Luizard M. F. In vitro evaluation of the cytocompatibility of precious and nonprecious metal based dental alloys on an organotypical culture of human gum. Biocompatibility,Allergies and Resistance to Corrosion:8 Years of Research; Metalor, p.33-37, Switzerland 1996.
- 11- Targis/ Vectris: Research and Development Scientific Service; April, 1997.
- 12- The American Society for Testing and Materials, ASTM Standards for medical Equipments, Vol. 13.01, Standards F 748, F 813, F 895, F 763, F 750, 1991.
- 13- Wataha J.C. Cytotoxicity test to screen the biological performance of dental alloys. Biocompatibility,Allergies and Resistance to Corrosion:8 Years of Research; Metalor, p.27-31, Switzerland 1996.