

Hipoalerjenik ve Geleneksel Protez Kaide Materyallerinin L-929 Fare Fibroblastları Üzerindeki Sitotoksitelerinin İn Vitro Olarak İncelenmesi

In Vitro Cytotoxicity Of Hypoallergenic and Conventional Denture Base Materials On L-929 Mouse Fibroblasts

Seçil KARAKOCA NEMLİ*, Bilge TURHAN BAL**, Handan YILMAZ***, Cemal AYDIN***, Şükran YILMAZ****

Özet

Bu in vitro çalışmanın amacı iki hipolejenik rezin (Polyan, Promysan), bir enjeksiyon akriliği (SR-Ivocap) ve bir geleneksel ısı ile polimerize protez kaide akriliğinin L-929 fare fibroblastları üzerindeki toksik etkilerinin 24, 48 ve 72. saatlerde değerlendirilmesi ve 24 saat suda bekletmenin bu materyallerin toksikliği üzerindeki etkisinin incelenmesidir. Protez kaide materyallerinden üretici firma talimatları doğrultusunda steril koşullarda disk şeklinde örnekler hazırlandı. Örnekler iki gruba ayrıldı; birinci gruptaki örnekler suda bekletilmedi, ikinci gruptaki örnekler 37°C'de distile suda 24 saat bekletildi. Örnekler Dulbecco's Modified Eagle Medium/Ham's F12 (DMEM/F12) solüsyonunda 24, 48 ve 72 saat bekletildi. İnkübasyon periyotlarının sonunda solüsyonların fibroblastlar (L-929) üzerindeki sitotoksiteleri MTT testi kullanılarak değerlendirildi. Her bir örnek için sitotoksite derecesi kontrol hücrelerinde (örnek içermeyen kültür) tespit edilen değer referans alınarak hesaplandı. Çalışmada test edilen tüm materyaller (SR-Ivocap; % 91.29, Acron; % 92.58, Polyan; % 92.28, Promysan; % 89,12) tüm inkübasyon periyotlarında yüksek hücre canlılığı oranları göstermiştir. Tüm inkübasyon periyotlarında materyaller arasında istatistik olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p<0.01). Bu in vitro çalışmanın sınırlamaları içinde; test edilen materyallerin hiçbirinin hücreleri üzerinde toksik etkisinin olmadığı ve 24 saat suda bekletmenin protez kaide materyallerinin sitotoksiteleri üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı sonuçlarına varılabilir.

Anahtar kelimeler: protez kaide materyali, hipolejenik rezin, fibroblast, sitotoksite, hücre kültürü.

Abstract

The purpose of this in vitro study was to evaluate the cytotoxicity of two hypoallergenic (Polyan, Promysan), one injection-molded (SR-Ivocap) and one conventional heat-cured denture base resins (Acron) at 24, 48 and 72 h on L-929 cells and to determine the effect of water-storage for 24 hours on the cytotoxicity of these denture base materials. Disc-shaped test samples of denture base materials, were fabricated according to manufacturers' instructions under aseptic conditions. Samples were then divided into two groups. Group 1 samples were not stored in water after processing. Group 2 samples were stored in distilled water at 37°C for 24 hours. Then the samples were placed in Dulbecco's Modified Eagle Medium/Ham's F12 (DMEM/F12) for 24, 48, and 72 hours. After the incubation periods, cytotoxicity of the extracts to cultured fibroblasts (L-929) was measured by MTT assay. The degree of cytotoxicity of each sample was determined according to the reference value represented by control cells (culture without sample). All materials tested showed high cell viability percentages in all experimental incubation periods (SR-Ivocap; 91.29 %, Acron; 92.58 %, Polyan; 92.28 %, Promysan; 89.12 %). The differences between the materials in all incubation periods were not found statistically significant (p<0.01). With the limitations of this in vitro study it can be concluded that all test materials in each group had no toxic effect on the cells in MTT assay and 24 h water-storage did not have a significant effect on the cytotoxicity of denture base materials tested.

Key words: Denture base material, hypoallergenic resin, fibroblast, cytotoxicity, cell culture

* Dr. Dt. Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı

** Doç. Dr. Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı

*** Prof. Dr. Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı

**** Biyolog, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Şap Enstitüsü Müdürlüğü, ANKARA

Diş hekimliğinde 1930'lardan bu yana protez yapımında çok çeşitli rezinler kullanılmıştır. Bu rezinlerin etkin bir şekilde kullanılabilmesi fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerine dayanmaktadır¹. Akrilik protezler ağız ortamına, birçok çözücüye ve UV radyasyona karşı dayanıklı olmakla beraber bu materyale karşı toksisite ve alerji gelişmesi riski söz konusudur². Protez kaide rezinlerinden çeşitli toksik maddelerin (formaldehit, metil metakrilat, metakrilik asit, benzoik asit gibi) salındığı bilinmektedir. Monomer alerjen olarak davranabilir ve protezdeki artık monomerler deri veya ağız mukozasında irritasyon yaratabilir⁴⁻⁶.

Akrilik rezin protez kaide materyalleri; toz ve likit oranı, polimerizasyon yöntemi ve polimerizasyondan sonra protezin ağza takılmadan önce bekletilme zamanı ile ilişkili olarak değişen düzeyde sitotoksik etki gösterebilirler⁷. Bu etki polimerizasyondan günlerce sonra ortaya çıkabilir, ancak yapılan çalışmalarda protez 24 saat suda bekletildiğinde sitotoksik etkinin en aza indirilebileceği bildirilmiştir^{8,9}. Bu çalışmalarda, ilk 24 saat içinde toksik maddelerin ortama salınarak zamanla bozulacakları veya ortamdaki diğer kimyasallarla birleşerek sitotoksik potansiyellerinin ortadan kalkacağı hipotezi araştırılmıştır⁹. Bu sebeple diş hekimlerine akrilik rezin bir protezi hasta ağızına takmadan önce en az 24 saat suda bekletmeleri önerilmiştir⁷.

Protez kullanan hastalardan alerji şüphesi taşıyanlarda artık metil metakrilat monomeri (MMA) tarafından meydana getirilen doku reaksiyonlarının görülme riskini azaltmak için geleneksel polimetilmetakrilata (PMMA) alternatif hipoalerjenik protez kaide materyalleri geliştirilmiştir^{10,11}. Bu materyallerde MMA yerini hipoallerjenik olduğu düşünülen diüretan dimetakrilat, poliüretan, polietilenterfatale ve polibütillenterfatale gibi rezinler almıştır¹². Rustemeyer ve Frosch¹³ diş teknisyenlerinde diüretan dimetakrilata karşı gelişmiş alerji bildirmiştir.

Biyouyumluluk, bir materyalin canlı üzerinde belirli bir uygulaması sonucu vücutta uygun bir biyolojik cevap meydana getirmesidir^{14,15}. Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyolojik ve toksikolojik özellikleri klinik kullanımı açısından önemlidir¹⁶. Literatürde diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyouyumluluğunu tespit etmek için farklı test metodları kullanılmıştır^{8,17-20}. Bunlardan en önemlileri hücreler veya hücre kültürleri üzerinde in vitro olarak uygulanan sitotoksisite testleri^{16,20-22} ve deney hayvanları üzerinde deri altı yumuşak dokuya

veya kemik içine implantasyon yöntemleridir^{14,19,23}. In vitro sitotoksisite testleri yeni bir materyalin insan üzerinde kullanılmadan önce uygunluğunun araştırılması aşamasında gerekli bir basamaktır^{16,20}. Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin hücre kültürü yöntemleri ile test edilmesi basit, tekrarlanabilir ve ucuz olması yanı sıra kontrol edilebilir bir yöntem olması avantajlarına sahiptir. Bu testler yüksek maliyetli, tartışmalı ve birçok kontrol edilemeyen değişkene sahip hayvan deneylerine iyi bir alternatif oluşturmaktadırlar^{7,15,20}. Ayrıca hücre kültürü yöntemleri genellikle hayvan ve insan deneyleri için gerekli olan etik ve yasal işlemleri ortadan kaldırır¹⁴. Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesinde hücre gelişiminin engellenmesi, sitolizis, membran veya sitoplazmik işaretler üzerindeki etkiler ve metabolik aktivitedeki değişimler gibi çeşitli değişkenler kullanılır²⁴. Sarı metiltetrazolyum (MTT) tuzunun aktif hücrelerin mavi formozol kristalleri içinde mitokondrial dehidrojenaz ile ayrıştırılması sitotoksisite testlerinde sıklıkla kullanılan biyolojik çözüldür^{1,25-28}.

Protez kaide materyallerinin klinik kullanımı için biyouyumluluğunun iyi olması gerekir. Literatür incelendiğinde hipoalerjenik protez kaide materyallerinin biyouyumluluğu ve protezi hasta ağızına takmadan önce su içinde bekletmenin bu materyallerin biyouyumluluğu üzerine etkisi konusunda bilgi eksikliği olduğu görülmektedir. Bu çalışmanın amacı iki hipoalerjenik rezin, bir enjeksiyon akriliği ve bir ısı ile polimerize akrilik rezin protez kaide materyalinin 24 saat suda bekletme öncesinde ve sonrasında sitotoksik özelliklerinin değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem

Hücreler

Deneylerde L-929 fare fibroblastları (L-929, 95030802, HÜKÜK, ŞAP Enstitüsü, Ankara, Türkiye) kullanıldı. Hücreler T-25 kültür kaplarında (Costar, Cambridge, MA, ABD), %5 CO₂ ve %100 içeren 37°C inkübatörde bir hafta içinde 3 kez hücre kültür besiyeri tazelenerek tek tabaka halinde üretildi. Hücre kültür besiyeri olarak antibiyotik içermeyen %10'luk foetal bovine serum (FBS) (Biochrom, Berlin, Almanya) ile desteklenmiş Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Biochrom, Berlin, Almanya) kullanıldı. Kap yüzeyine yapışan hücreler %0,025'lik tripsin (Sigma) and % 0,02'lik

etilendiaminetera asetik asit (EDTA; Sigma) karışımı ile ayrılarak 37°C'de 2-5 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra hücre ekimi için kullanıldı.

Örnek Hazırlanması

Çalışmada test edilen protez kaide materyalleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Herbir materyalden üretici firmanın talimatlarına uygun bir şekilde 36 adet disk şeklinde (14 mm çap ve 1,2 mm kalınlık) örnek hazırlandı. Örnekler rastgele 2 gruba ayrıldı; kontrol grubu (n=18) örnekleri suda bekletilmedi, diğer gruba ait örnekler (n=18) 37°C'de distile suda 24 saat bekletildi. Sitotoksiste testinden önce örnekler distile su içinde 20 dakika boyunca ultrasonik olarak temizlendi ve bakterilerden temizlemek için 45 dakika ultraviyole ışık altında tutuldu.

Bu çalışmada disk örneklerin yüzey alanının salınım yapması için yerleştirildiği sıvının hacmine oranı ISO 10993-5:1997 standardına uygun olarak 3 cm² mL⁻¹ dir²⁹. Örnekler 10% FBS içeren DMEM/F12 içine koyuldu ve %5 CO₂ içeren 37°C'deki ortamda karıştırılmadan 24, 48 ve 72 saatlik periyotlarda bekletildi. İnkübasyon periyotlarından sonra örneklerin içinde bekletilerek salınım yaptığı ekstre 0.22-µm'lük selüloz asetat filtreler (Milipore; Sigma) kullanılarak süzülde ve sitotoksistenin değerlendirilmesinde kullanıldı.

Sitotoksiste testi

L-929 hücreleri ile %10 FBS içeren DMEM/F12 ve %1 antibiyotiğin 3X10⁴ hücre mL⁻¹ konsantrasyonda süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyon 96 bölmeli hücre üretme kabına (her bölme 100 µL) yerleştirildi. Kaplar %5 CO₂ ve %100 nem içeren 37°C'deki ortamda 24 saat boyunca inkübe edildi, daha sonra kabın bölme-

lerindeki kültür besiyeri alınarak eşit miktarda (100 µL) ekstre koyuldu. Kontrol bölmelerine 100 µL %10 FBS içeren DMEM/F12 ve %1 antibiyotik karışımı koyuldu ve 37°C ortamda 24 saat boyunca inkübe edildi. Herbir bölmeden test ekstralarının uzaklaştırılmasını takiben %10 FBS ve 13-µL MTT (tetrazolium salt 3-[4,5 dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) içeren 100 µL taze besiyeri ilave edildi. Kültür kapları ışıktan korumak amacıyla alüminyum folyo ile kaplandı ve hücreler 37°C'de karanlık ortamda 4 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrası doku kültür mikroskopu ile bölmelerdeki formazon kristalleri kontrol edildi. Bölmelerdeki MTT aspire edildikten sonra her birine 100 µL isopropanol (Merck, Darmstadt, Almanya) ilave edildi. Spektrofotometre (Molecular Devices, ABD) ile 570 nm'deki emilim ölçüldü, bulunan değerler %100 proliferasyon gösteren kontrol bölmeleri ile karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı. MTT analizi 3 ayrı test ile tekrarlandı.

İstatistik analiz

Verilerin istatistik analizi tekrarlanan ölçümlü varyans analizi tekniği (ANOVA) ile SPSS 12 istatistik paket programında değerlendirildi (p<0,01).

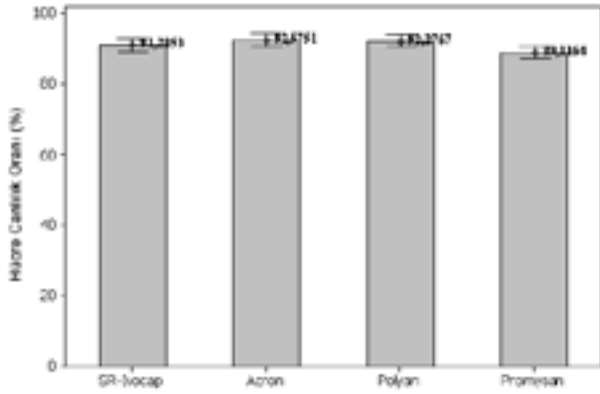
Bulgular

Çalışmada test edilen materyallerin tüm alt gruplarında elde edilen hücre canlılık oranları Tablo 2'de gösterilmiştir. Tekrarlanan ölçümlü varyans analizine göre protez kaide materyali, suda bekletme (0 ve 24 saat) ve inkübasyon periyodu (24, 48 ve 72 saat) olmak üzere üç faktör arasında istatistik olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>0,01). Ayrıca, protez kaide materyali ile suda bekletme, suda bekletme ile inkübasyon

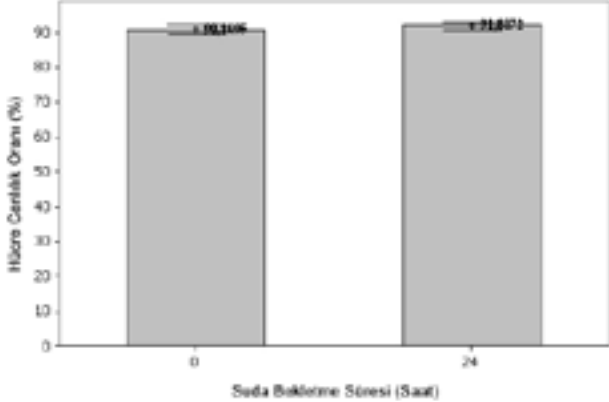
Tablo 1. Çalışmada kullanılan protez kaide materyalleri

Ticari İsmi	Polimerizasyon	İçeriği	Üretici Firma
Acron	Isı	PMMA	Kemdent associated Dental products Ltd.,Wiltshire, İngiltere
SR Ivocap	Enjeksiyon sistemi	PMMA	Ivoclar Vivadent AG, Principality of Lihtenştayn
Polyan	Termoplastik	Modifiye MMA	Polyapress, Altkirchen, Almanya
Promysan	Termoplastik	Polietilenterefatalat Polibütüilenterefatalat	Pedrazzini Dental Technologie, Münih, Almanya

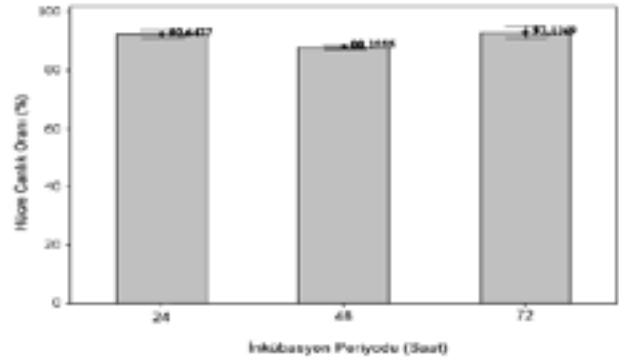
periyodu ile protez kaide materyali arasında iki faktör ilişkisi görülmemiştir. Resim 1-3'de tanımlayıcı istatistikler gösterilmiştir. Genel olarak çalışmada test edilen tüm materyaller tüm inkübasyon periyotlarında yüksek hücre canlılığı oranı bulunmuştur. Tüm inkübasyon periyotlarında materyallerin hücre canlılığı oranları arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir. Suda 24 saat bekletme materyallerin sitotoksiteleri üzerinde anlamlı bir etki göstermemiştir.



Resim 1. Protez kaide materyallerinde hücre canlılığı ve standart hataları



Resim 2. Suda bekletme uygulaması sonucu hücre canlılığı ve standart hataları



Resim 3. Farklı inkübasyon periyotları sonucu hücre canlılığı ve standart hataları

Tartışma

Protez kaide rezinlerinin polimerizasyonları esnasında reaksiyona girmeden kalan yapısal elemanları in vitro sitotoksiteye ve in vivo alerjik reaksiyonlara sebep olabilmektedir⁷. Polimerize edilen akrilik rezinlerin artık monomer içeriğini azaltmak için literatürde çeşitli yöntemler bildirilmiştir³⁰. Bazı yazarlar protez kaide rezinlerinin yapılarının ve üretim şekillerinin artık monomer salınımını etkilediğini bildirmişlerdir^{31,32,33,34}. Bir çok çalışma sonucunda protezlerin 24 saat suda bekletilmesinin, kaide materyalinin sitotoksik etkisini en az düzeye indirebileceği bildirmiştir^{8,9,34}. Buna dayanarak bazı yazarlar ağız içi monomer salınımını engellemek için yapılan protezin hasta ağızına takılmadan önce suda bekletilmesini önermişlerdir^{20,33}. Lefebvre ve arkadaşları⁸ 24 saat suda bekletmenin yanı sıra ışıkla polimerize rezinlerden yapılan protezlerin dokulara sitotoksik madde salınımını azalttığını bildirmişlerdir. Valiitt ve arkadaşları³⁴ örnekleri 24 saat 37°C suda beklettiklerinde 22°C suda bekletmeye göre daha fazla monomer uzaklaştığını ifade etmişler ve protezlerin hastaya tesliminden önce bir gün boyunca 37°C suda

Tablo II. Tüm alt gruplarda ortalama hücre canlılık oranları \pm standart hata

Ticari İsmi	Suda bekletme süresi (saat)	İnkübasyon periyotları		
		24 saat	48 saat	72 saat
SR IVOCAP	0	91,28 \pm 4,29	89,81 \pm 1,77	90,45 \pm 8,44
	24	96,58 \pm 6,82	89,98 \pm 1,01	89,61 \pm 4,11
ACRON	0	91,27 \pm 2,34	91,33 \pm 1,41	92,86 \pm 8,71
	24	93,62 \pm 2,98	93,22 \pm 0,78	93,14 \pm 8,37
POLYAN	0	94,83 \pm 1,09	87,02 \pm 2,87	93,33 \pm 6,21
	24	94,14 \pm 0,94	86,87 \pm 3,70	97,46 \pm 5,89
PROMYSAN	0	89,25 \pm 3,66	83,66 \pm 1,20	94,62 \pm 7,28
	24	90,21 \pm 3,49	83,34 \pm 1,71	93,63 \pm 5,63

bekletilmelerini önermişlerdir. Bununla beraber bazı çalışmalar, mikrodalga ve su banyosu ile polimerizasyon sonrası ısı uygulamasının artık monomer içeriğini azaltabileceğini ve bazı akrilik rezinlerin sitotoksitesini düşürebileceğini bildirmiştir^{33,35,36}. Ancak, protez kaide materyallerinin sitotoksitesinin mikrodalga veya su banyosu ile ısı uygulamasından etkilenmediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur^{22,30}.

Polimetilmetakrilatlar (PMMA) protez kaide materyali olarak en çok kullanılan materyallerdir. Yeni geliştirilen bir materyalin PMMA ürünlerinin özelliklerini yakalamakla kalmayıp daha gelişmiş üstün özellikler ve PMMA ile kıyasla avantajlar göstermesi beklenir.¹² Pfeiffer ve Rosenbauer¹² hipotalerjenik olduğu bildirilen dört protez kaide materyalinin artık monomer miktarını bir ısı ile polimerize PMMA ile karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda, test edilen hipotalerjenik protez kaide materyallerinin PMMA ile kıyaslandığında artık monomer içerdiğinin oldukça az olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada hipotalerjenik protez kaide materyallerinin bükülme dayanıklılığı ve bükülme modülüsü değerlendirilmiştir³⁷. Mevcut literatür incelendiğinde hipotalerjenik protez kaide materyallerinin biyouyumluluğu konusunda yeterli bilgi bulunmadığı görülmektedir. Bu sebeple bu in vitro çalışmada iki hipotalerjenik rezin, bir enjeksiyon akriliği ve bir ısı ile polimerize PMMA protez kaide materyalinin sitotoksitesinin değerlendirilmesi ve 37°C suda 24 saat bekletmenin bu materyallerin sitotoksitesini üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin sitotoksitesi farklı yöntemlerle değerlendirilmiştir. MTT analizi hücre canlılığını gösteren güvenilir bir testtir. Bu test, hücreler kimyasal bir madde veya bir malzemenin etkisinde kaldıktan sonra hücre mitokondrisinin fonksiyonel durumunu değerlendirilmesi yoluyla sitotoksik etkiyi belirler. Canlı hücrelerde mitokondrial dehidrojenaz hücrenin içinde tutunan sarı tetrazolium tuzunu azaltır, MTT'yi mavi MTT formazona dönüştürür^{21,38}. Formazon ürünlerinin oluşumunun canlı hücrelerin sayısı ile orantılı olduğu bulunmuştur³⁹. Bu testin sonuçları hücre sayısını göstermekle kalmamakta, hücrelerin metabolik düzeyini de ortaya koymaktadır. Sonuç olarak MTT yöntemi diş hekimliğinde kullanılan materyallerin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde hassas bir göstergedir^{1,16}.

Bu çalışmada 24, 38 ve 72 saatlik hücre inkübasyon süreleri uygulanmıştır. Yirmidört saatlik inkübasyon

periyodu protez kaide materyallerinin kısa dönemdeki sitotoksik etkileri hakkında bilgi vermiştir. Materyallerin hücre canlılığı üzerindeki daha uzun dönemli etkisini belirlemek için 72 saat inkübasyon periyodu uygulanmıştır. Huang ve arkadaşları¹⁶ polimerize olmuş rezinlerde artık madde salınımının en fazla ilk 24 saatte gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, inkübasyon periyotları (24, 48, 72) arasındaki farkın istatistik olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

Bu in vitro çalışma tüm inkübasyon periyotlarından sonra, tüm materyallerin ve gruplarının hücre canlılık oranları arasında istatistik olarak önemli bir fark olmadığını göstermiştir. Hipotalerjenik materyallerden (Polyan, Promysan) ve geleneksel kaide materyallerinden (Acron, SR-Ivocap) benzer sonuçlar elde edilmiştir⁴⁰⁻⁴². Bununla beraber tüm materyaller, tüm gruplarında ve her üç inkübasyon periyodunda da yüksek hücre canlılık oranı göstermiştir. Ancak deney şartlarındaki birçok değişken sebebiyle farklı hücre kültürü testleri ile elde edilmiş sonuçları birbirleriyle karşılaştırmak mümkün değildir. Hücre tipi, hücre ve materyalin temas ettirilme yöntemi ve temas süresi test yöntemine göre farklılık gösteren başlıca değişkenlerdir⁴³.

Kallus¹⁹ protez kaide materyallerinin toksitesini kobay farelerinde deri altına implante ederek değerlendirmiş ve ısı ile polimerize materyalin FDI değerlendirme kriterine göre kabul edilebilir olduğunu bildirmiştir.

Campanha ve arkadaşları³⁰ su banyosunun (55°C'de 10 dakika) ve polimerizasyon sonrası mikrodalga uygulamalarının farklı sertleştirme akrilik rezinlerinin sitotoksitesini üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. MTT yöntemi ile yaptıkları değerlendirme sonucunda polimerizasyon sonrası uygulamaların materyallerin sitotoksitesini üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Jorge ve arkadaşları²² ısı ile polimerize olan üç farklı protez kaide rezininin sitotoksitesini karşılaştırırken ısı uygulamalarının materyaller üzerindeki etkisini de değerlendirmişlerdir. MTT yöntemini kullandıkları çalışma sonucunda, test ettikleri rezin materyallerinin hiçbirinin sitotoksik özellik göstermediğini, ayrıca su banyosunun (55°C'de 60 dakika) ve polimerizasyon sonrası mikrodalga uygulamasının ısı ile polimerize olan rezinlerde sitotoksitesine üzerine etkisinin olmadığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda, tüm materyallerden bir grup örnek 37°C distile suda 24 saat boyunca bekletilmiştir. Önceki çalışmalara benzer şekilde bizim çalışmamızda da kullanılan protez kaide rezinlerinin türü ve suda bekletme şartları farklı olmasına rağmen, suda bekletme işleminin materyallerin

sitotoksiteleri üzerinde etkisi olmadığı bulunmuştur. Bu çalışmada hipoaerjenik materyaller olan Polyan ve Promysan için tüm inkübasyon periyotlarında tespit edilen yüksek hücre canlılık oranları materyallerin artık monomer içermemesi veya düşük oranda içermesine bağlı olabilir. Pfeiffer ve Rosenbauer¹² Polyan (modifiye metakrilat esaslı protez kaide rezini) materyalinde düşük miktarda artık monomer salınımı olduğunu ve Promysan (enterefatalat esaslı protez kaide rezini) materyalinde ise artık MMA monomerinin hiç tespit edilmediğini bil-

dirmişlerdir. Sitotoksite testlerinin sonuçlarının klinik şartlara uygulanabilmesi açısından sınırlamaları vardır. Buna rağmen bu testler diş hekimliğinde kullanılan materyaller ve materyallerin bileşenlerinin biyolojik cevabı açısından önemli bilgi vermektedirler.⁷ Bu çalışma sonucunda elde edilen in vitro sitotoksite verilerinin direk olarak in vivo şartlara uygulanması uygun değildir. İleriki çalışmalarda hipoaerjenik protez kaide materyallerinin in vivo biyoyumluluğunun artırılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Tang ATH, Li J, Ekstrand J, Liu Y. Cytotoxicity tests of in situ polymerized resins: methodological comparisons and introduction of a tissue culture insert as a testing device. *J. Biomed. Mater. Res.* 45: 214-222, 1999.
2. Yunus N, Rashid AA, Azmi LL, Abu-Hasan MI. Some flexural properties of a nylon denture base polymer. *J. Oral Rehabil.* 32: 65-71, 2005.
3. Baker S, Brooks SC, Walker DM. The release of residual monomeric methyl methacrylate from acrylic appliances in the human mouth: An assay for monomer in saliva. *J. Dent. Res.* 67: 1295-1299, 1988.
4. Weaver RE, Goebel WM. Reactions to acrylic resin dental prostheses. *J. Prosthet. Dent.* 43: 138-142, 1980.
5. Basker RM, Hunter AM, Highet AS. A severe asthmatic reaction to poly (methyl methacrylate) denture base resin. *Br. Dent. J.* 169: 250-251, 1990.
6. Taira M, Nakao H, Matsumoto T, Takahashi J. Cytotoxic effect of methyl methacrylate on 4 cultured fibroblast. *Int. J. Prosthodont.* 13: 311-315, 2000.
7. Jorge JH, Giampaolo ET, Machado AL, Vergani CE. Cytotoxicity of denture base acrylic resins: A literature review. *J. Prosthet. Dent.* 90: 190-193, 2003.
8. Lefebvre CA, Knoernschild KL, Schuster GS. Cytotoxicity of eluates from light-polymerized denture base resins. *J. Prosthet. Dent.* 72: 644-650, 1994.
9. Sheridan PJ, Koka S, Ewoldsen NO, Lefebvre CA, Lavin MT. Cytotoxicity of denture base resins. *Int. J. Prosthodont.* 10: 73-77, 1997.
10. Murray MD, Darvell BW. The evolution of the complete denture base. Theories of complete denture retention-a review. Part 1. *Aust. Dent. J.* 38: 216-219, 1993.
11. Price CA. A history of dental polymers. *Aust. Prosthodont. J.* 8: 47-54, 1994.
12. Pfeiffer P, Rosenbauer EU. Residual methyl methacrylate monomer, water sorption, and water solubility of hypoaerjenic denture base materials. *J. Prosthet. Dent.* 92: 72-78, 2004.
13. Rustemeyer T, Frosch PJ. Occupational skin diseases in dental laboratory technicians. (I). Clinical picture and causative factors. *Contact. Dermatitis.* 34: 125-133, 1996.
14. Wataha JC. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J. Prosthet. Dent.* 86: 203-209, 2001.
15. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: a review. *Dent. Mater.* 12: 186-193, 1996.
16. Huang FM, Tai KW, Hu CC, Chang YC. Cytotoxic effects of denture base materials on a permanent human oral epithelial cell line and on primary human oral fibroblasts in vitro. *Int. J. Prosthodont.* 14: 439-443, 2001.
17. International Organisation for Standardization ISO/DIS 7405, Dentistry: preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry: test methods. (revision of ISO/TR 7405). Geneva, 1994
18. Federation Dentaire International. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. Part 4.11: subcutaneous implantation test. *Int. Dent. J.* 30: 173-174, 1980.
19. Kallus T. Evaluation of the toxicity of denture base polymers after subcutaneous implantation in guinea pigs. *J. Prosthet. Dent.* 52: 126-134, 1984.
20. Lefebvre CA, Schuster GS. Biocompatibility of visible light-cured resin systems in prosthodontics. *J. Prosthet. Dent.* 71: 178-185, 1994.
21. Polyzois GL, Hensten-Petersen A, Kullmann A. An assessment of the physical properties and biocompatibility of three silicone elastomers. *J. Prosthet. Dent.* 71: 500-504, 1994.

22. Jorge JH, Giampaolo ET, Machado AL, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Cytotoxicity of denture base acrylic resins: Effect of water bath and microwave postpolymerization heat treatments. *Int. J. Prosthodont.* 17 :340-344, 2004.
23. Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin. Oral Invest.* 1: 154-162, 1997.
24. Hensten-Pettersen A. Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. *Int. Endod. J.* 21 :89-99, 1988.
25. Upadhyay P, Bhaskar S. Real time monitoring of lymphocyte proliferation by an impedance method. *J. Immunol. Methods.* 244: 133-137, 2000.
26. Costa CA, Edwards CA, Hanks CT. Cytotoxic effects of cleansing solutions recommended for chemical lavage of pulp exposures. *Am. J. Dent.* 14: 25-30, 2001.
27. Rose EC, Bumann J, Jonas IE, Kappert HF. Contribution to the biological assessment of orthodontic acrylic materials. Measurement of their residual monomer output and cytotoxicity. *J. Orofac. Orthop.* 61: 246-257, 2000.
28. Niu Q, Zhao C, Jing Z. An evaluation of the colorimetric assays based on enzymatic reactions used in the measurement of human natural cytotoxicity. *J. Immunol. Methods.* 251: 11-19, 2001.
29. International Standards Organisation 10993-5. Biological Evaluation of medical devices. Part 5. Tests for Cytotoxicity in vitro *Methods.* Geneva, Switzerland, 1997.
30. Campanha NH, Pavarina AC, Giampaolo ET, Machado AL, Carlos IZ, Vergani CE. Cytotoxicity of hard chairside relined resins: Effect of microwave irradiation and water bath postpolymerization treatments. *Int. J. Prosthodont.* 19:195-201, 2006.
31. Lassila LV, Valittu PK. Denture base polymer Alldent Sino-mer: mechanical properties, water sorption and release of residual compounds. *J. Oral Rehabil.* 28 :607-613, 2001.
32. Miettinen VM, Valittu PK. Release of residual methyl methacrylate into water from glass fibre-poly(methylmethacrylate) composite used in dentures. *Biomaterials.* 18: 181-185, 1997.
33. Tsuchiya H, Hoshino Y, Tajima K, Takagi N. Leaching and cytotoxicity of formaldehyde and methyl methacrylate from acrylic resin denture base materials. *J. Prosthet. Dent.* 71: 618-624, 1994.
34. Vallittu PK, Miettinen V, Alakuijala P. Residual monomer content and its release into water from denture base materials. *Dent. Mater.* 11: 338-342, 1995.
35. Jorge HJ, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Biocompatibility of denture base acrylic resins evaluated in culture of L929 cells. Effect of polymerisation cycle and post-polymerisation treatments. *Gerodontology.* 24: 52-57, 2007.
36. Urban VM, Machado AL, Oliveira RV, Vergani CE, Pavarina AC, Cass QB. Residual monomer of relined acrylic resins, Effect of water-bath and microwave post-polymerization treatments. *Dent. Mater.* 23: 363-368, 2007.
37. Pfeiffer P, Rolleke C, Sherif L. Flexural strength and moduli of hypoallergenic denture base materials. *J. Prosthet. Dent.* 93: 372-377, 2005.
38. O'Brien WJ. *Dental materials and their selection.* Chicago: 3rd ed. Quintessence Pub Co, 2002, 21-22.
39. Veres EM, Wolfaardt JF, Becker PJ. An evaluation of the surface characteristics of a facial elastomer. Part I: Review of the literature on the surface characteristics of dental materials with maxillofacial prosthetic application. *J. Prosthet. Dent.* 63: 193-197, 1990.
40. Bean TA, Zhuang WC, Tong PY, Eick JD, Chappelow CC, Yourtee DM. Comparison of tetrazolium colorimetric and ⁵¹Cr release assays for cytotoxicity determination of dental biomaterials. *Dent. Mater.* 11: 327-331, 1995.
41. Hanks CT, Strawn SE, Wataha JC, Craig RG. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *J. Dent. Res.* 70: 1450-1455, 1991.
42. Wataha JC, Craig RG, Hanks CT. Precision of and new methods for testing in vitro alloy cytotoxicity. *Dent. Mater.* 8: 65-70, 1992.
43. Spangberg LS. In vitro assessment of the toxicity of endodontic materials. *Int. Endod. J.* 14: 27-33, 1981.

Yazışma Adresi:

Dr. Seçil KARAKOCA NEMLİ
Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi,
Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Emek, 06510, Ankara, Türkiye.
Tel: 3122239226, E-Posta: secilkarakoca@yahoo.com