

FARKLI DOLGU MADDELERİ ÜZERİNDE İNSAN DİŞETİ FİBROBLAST ATAŞMANININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr.Dt.Gülay TÜTER*

Dt.Meryem Umay ENGEL**

Doç.Dr.Mehmet YALIM***

THE EVALUATION OF GINGIVAL FIBROBLAST ATTACHMENT ON THE DIFFERENT FILLING MATERIALS

SUMMARY

Different filling materials are used to restore caries, perforations of fractures occurring on the root surfaces. Filling materials composed of different chemical components may include toxic and irritating agents. As a result underirable reactions may develop both on the pulp tissue and periodontium. The purpose of this study to evaluate the possible effects of amalgam, glass ionomer cement, composite, zinc phosphate cements and corboxylate cement on human gingival fibroblasts in vitro. Diseased and non diseased root surfaces are also used as control. The filling materials and cement surfaces were incubated with equal number of cells in an atmosphere of 5 % CO₂ 95 % air at 37°C for 1 hour. At the end of time statistical evaluation of the results was carried out by determining the number of attached cells on the surfaces of the samples. Our findings showed that number of attached human gingival fibroblasts were higher in the glass ionomer cement group than other groups.

Key Words: Fibroblast, Filling materials, Attachment.

ÖZET

Kök yüzeylerinde meydana gelen çürük, perforasyon ya da fraktürlerin restorasyonunda çeşitli dolgu materyalleri kullanılmaktadır. Farklı kimyasal bileşimlerden oluşan dolgu maddeleri toksik ve irrite edici ajanlar içerebilmektedir. Sonuçta hem pulpa dokusunda hem de çevre dokularda istenmeyen reaksiyonlar gelişebilmektedir. Çalışmamızda dişhekimliğinde rutin olarak kullanılan amalgam, cam iyonomer siman, kompozit, çinko fosfat siman ve karboksilat simanın insan dişeti fibroblastları üzerine olabilecek sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla eşit büyüklükte hazırlanarak kültür kaplarına yerleştirilen dolgu materyalleri ve kontrol grubu olarak kullanılan sement yüzeyleri üzerine eşit sayıda dişeti fibroblastı içeren vasat ilave edildi. Takiben örnekler % 5 CO₂ % 95 havalı 37°C etüvde 1 saat süreyle inkübe edildi. Süre sonunda örnek yüzeylerine tutunan hücre sayısı belirlenerek sayım sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi yapıldı. Sonuç olarak dişeti fibroblastlarının en yüksek oranda cam iyonomer siman yüzeylerine tutunduğu bulundu.

Anahtar Kelimeler: Fibroblast, Dolgu maddeleri, Ataşman

GİRİŞ

Kök yüzeylerinde meydana gelen çürük, perforasyon ya da fraktürlerin restorasyonunda çeşitli dolgu materyalleri kullanılmaktadır. Kök yüzeyinde kullanılan bu materyaller periodon- siyumla yakın ilişkide olduğu için bu materyal- lerin periodontal dokular üzerinde toksik etkisinin olmaması, bu dokularla biyolojik olarak uyumluluk göstermesi aranılan bir özellik olmaktadır.^{2,8} Bu açıdan özellikle vital dokularla temas söz konusu ise, dental materyallerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi daha da önem kazanmaktadır. Bu etkilerin belirlenmesi aşama- sında büyük oranda hücre kültürü test yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Dental mater- yallerin sitotoksitesi hücre kültürlerinde genel olarak şu yöntemlerle belirlenmektedir.

1. Hücre büyümesi: Hücre sayımı, DNA analizi veya laktik asit oluşumunun saptanması,
 2. Membran permeabilite değişiklikleri: ⁵¹Cr salınımı ve vital boyalar ile boyanma özelliklerinin saptanması,
 3. Mitotik aktivite: Koloni oluşturma ve koloni oluşturma etkinliğinin saptanması,
 4. Mitokondriyal enzim fonksiyonlarının histokimyasal olarak saptanması,
 5. Oksijen alımındaki ve glukoz metaboliz- masındaki değişikliklerin saptanması.^{3,6,7,11}
- Çalışmamızın amacını; kök yüzeylerinde görülen çürük, perforasyon ve kırıkların restoras- yonunda dişhekimliği kliniklerinde kullanılması söz konusu olan çeşitli dolgu materyallerinin dişeti fibroblastları üzerinde olabilecek sitotoksik etkilerinin in vitro koşullarda hücre sayımı yapılarak belirlenmesi oluşturdur.

* Gazi Üniversitesi Dişhekimiği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Arş.Gör.

** Gazi Üniversitesi Dişhekimiği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Arş.Gör.

*** Gazi Üniversitesi Dişhekimiği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hücre Kültürü

Çalışmada kullanılan hücreler; sistemik olarak ve periodontal açıdan sağlıklı bireylerin lokal anestezi altında interdental papilinden alınan dişeti biyopsilerinden elde edildi. Dişeti fibroblastları hücre kültürü için gerekli ortam koşullarında üretildi. Çalışmada 7. pasaj dişeti fibroblastları kullanıldı.

Kültür vasatı olarak; Dulbecco's Modified Eagles Medium Ham's F 12 1:1 Nutrient Mixture (DMEM F/12; % 15 Fetal Caif Serum, % 1 Antibiotic Antimycotic Lyophilized Powder)* kullanıldı.

Dolgu Materyallerinin Hazırlanması

Çalışmada; amalgam, fosfat siman, kompozit, karboksilat siman, cam iyonomer siman, sağlıklı sement ve hastalıklı sement örnekleri kullanıldı. Gruplara ait örnekler 0.5 cm çapında ve 8'er adet olarak hazırlandı. Örnekler otoklavda 121°C de steril edildi.

Bütün örnekler 96 bölmeli kültür kabına yerleştirildikten sonra her bölmeye 5×10^3 hücre içeren 50 µl vasat konuldu. Takiben kültür kabı 37°C % 5 CO₂ % 95 havalı etüve kaldırıldı ve 1 saat sonra ortamdaki vasat uzaklaştırılarak, örnekler % 5 formaldehit solüsyonu ile yarım saat tespit edildi. Daha sonra Giemsa ile boyandı.

Kantitatif değerlendirmeler Olympus BH ışık mikroskopunda X 100 büyütmede 1 cm²'lik (10 x 10 mm) oküler grid kullanılarak yapıldı. Her örnekte rastgele seçilmiş 4 alan sayılarak ortalamaları elde edildi.

Sonuçlar istatistiksel olarak Kruskal-Wallis testi (Tablo 1) ve Mann-Whitney U testi ile (Tablo 2) değerlendirildi.

Tablo 1. Gruplara ait ortalama değerler (SD: Standart sapma).

N:11	X ± SD
Amalgam	93,4 ± 18,6
Fosfat siman	58,6 ± 10,9
Kompozit	61,0 ± 19,6
Karboksilat siman	49,1 ± 19,0
Cam iyonomer	107,9 ± 14,7
Sağlıklı sement	70,0 ± 17,5
Hastalıklı sement	28,8 ± 11,1

* Sigma, St.Louis, USA

BULGULAR

İstatistiksel olarak yapılan değerlendirme sonuçlarına göre insan dişeti fibroblastlarının en yüksek oranda cam iyonomer dolgu materyali yüzeylerine tutunma gösterdiği bulguları (Tablo 1). Bu maddeyi amalgam materyalinin izlediği görüldü. Hem cam iyonomer siman hem de amalgam grubunda belirlenen hücre sayısı, sağlıklı sement yüzeyine göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde fazla bulundu ($p > 0.01$, $p < 0.001$). Fosfat siman ve kompozit materyalleri üzerine tutunma gösteren hücre miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmezken, fosfat siman ve karboksilat siman arasında fosfat siman lehinde bir farklılık tespit edildi ($p < 0.05$).

Hastalıklı sement yüzeyine tutunma gösteren hücre sayısı bütün gruplardan daha az oranda bulguları (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplar arası karşılaştırmalara göre p değerleri.

	Fosfat Siman	Kompozit	Karboksilat Siman	Cam iyonomer	Sağlıklı Sement	Hastalıklı Sement
Amalgam	***0.002	**0.011	**0.004	-0.0415	**0.0011	***0.0001
Fosfat Siman		0.0434	*0.0486	***0.0001	*0.0450	**0.0002
Kompozit	0.8434		*0.0485	**0.0005	*0.0324	**0.0003
Karboksilat S.	*0.0485	*0.0465		***0.0001	**0.0058	**0.0043
Cam iyonomer	***0.0001	**0.0005	***0.0001		**0.0007	***0.0001
Sağlıklı Sement	*0.0450	-0.0324	**0.0068	**0.0037		***0.0001

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ **** $p < 0.0001$

TARTIŞMA

Dişhekimliğinde kullanılan dental materyallerin sitotoksitelerini belirleme amacıyla değişik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Çeşitli kimyasal bileşimlerden meydana gelen dolgu maddeleri toksik ve irrite edici ajanlar içerebilmektedir. Kullanılan bu maddeler pulpa üzerinde olduğu gibi periodontal dokularda da

olumsuz reaksiyonlara yol açabilmektedirler.⁸ Restorasyonların ara yüzelerindeki dolgu maddeleri periodonsiyuma yakın olduğundan bu materyallerin biyolojik uyumluluğunun tespit edilmiş olması önem kazanmaktadır.² Aynı zamanda dişeti altında yer alan Klas V restorasyonlar ile kök yüzelerindeki çürük, perforasyon ve kırıkların restorasyonunda kullanılan dolgu materyallerinin, dişeti dışında yer alan restorasyonlara oranla daha fazla dişeti cevabına neden olduğu bilindiği için kullanılan dental materyalin biyo uyumlu olması gerekmektedir.

Bu noktadan yola çıkarak çalışmamızda dişhekimliğinde rutin olarak kullanılan farklı dolgu materyalleri üzerinde dişeti fibroblast ataşmanının biyometrik olarak değerlendirilmesi yoluyla, materyallerin biyolojik uyumluluğunun karşılaştırmalı olarak belirlenmesi hedeflenmiştir.

Çalışmada kullanılan dolgu materyalleri günümüzde dişhekimliği kliniklerinde yaygın olarak kullanılmaları sebebiyle tercih edilmiştir. Bu materyallerin biyo uyumluluğunu değerlendirmek üzere araştırmalar yapılmış olmasına rağmen, yaptığımız literatür taraması dahilinde materyallere fibroblast tutunumunu değerlendiren bir çalışmaya rastlamadık.

Çeşitli dolgu maddelerinin değerlendirilmesi için klinik çalışmalar, hayvan deneyleri ve hücre kültürü çalışmaları yapılabilmektedir. Dolgu maddesi içerisindeki toksik fraksiyonun saptanması ve bu fraksiyonun hücreler üzerinde ne gibi etkide bulunduğu tanımlanması gereklidir. Bu nedenle dolgu maddelerinin diş ve dişeti dokusu hücrelerinde oluşturduğu etki türleri in vitro deneylerle çok daha güvenilir şekilde incelenebilir. Dolgu maddelerinin uygulanmasından sonra in vivo olarak meydana gelen reaksiyon dizisini takip etmek ve saptamak zordur. In vivo etkileşim ancak bazı histolojik çalışmalarla kaba bir şekilde tespit edilebilir. Bu nedenle çalışmamız in vitro olarak planlanmıştır.^{8,10,12}

Bulgularımıza göre farklı dolgu maddeleri üzerinde değişen oranlarda hücre sayısının tespit edilmiş olması bu maddelerin kimyasal özelliklerinin farklı olmasına bağlı olabilir. Cam iyonomer simanların mine ve dentine istenilen düzeyde tutunma gösterdiği, sürekli flor açığa çıkardığı, pulpa ve dişeti üzerinde toksisiteye yol açmadığı daha önce yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur.¹ Buna bağlı olarak bu simanlar 5.sınıf kaviteelerde, kök yüzelerinin restorasyonunda, dişlerin kolelerinde görülen abrazyon ve erozyonların restorasyonunda da güvenle kullanılmıştır.^{1,5} Bu sonuçlar bizim bulgularımızı destekler niteliktedir. Çalışmamızda hücre sayısı

açısından yapılan değerlendirmede amalgam dolgu maddesi yüzeyleri 2.sırayı almıştır. Amalgam dolgu maddesi; tutuculuğunun iyi olması, canlı dokulara zarar vermemesi gibi özellikleri nedeniyle kök kanalının retrograd dolguları da dahil olmak üzere, posterior dişlerin her türlü restorasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır.^{1,5}

Çalışmamızda cam iyonomer ve amalgam dolgu maddelerine göre kompozit dolgularda daha az hücre tutunduğu görülmüştür. Önen ve arkadaşlarının bir çalışmasında dişeti altında yer alan kompozitlerin dişeti reaksiyonlarına yol açtıkları bulgulanmıştır. Caughman ve arkadaşlarının bir çalışmasında da kompozitlerin dişeti altındaki restorasyonlarda periodontal dokularla kontakt kurdukları ve bunların pulpa üzerindeki toksik etkilerine ilave olarak periodonsiyum üzerinde de etkileri olduğu bulunmuştur.² Dolayısıyla, bulgularımızın da ışığı altında dişeti altındaki restorasyonlarda kompozitlerin kullanımı önerilmeyebilir.

Çalışmamızda fosfat siman ve karboksilat simanlarda hücre tutunumunun daha da az olduğu gözlenmiştir. Zaten bu maddeler daimi dolgu maddesi olarak değil taban kaide maddesi olarak daha yaygın olarak kullanılmaktadır.^{1,5}

Bulgularımıza göre; fosfat siman ve kompozit dolgu maddeleri hariç diğer tüm dolgu maddeleri birbirinden farklıdır ve fark ortalama hücre sayısı yüksek olan materyal lehinedir.

Çalışmamızda sağlıklı sement yüzeylerinde, cam iyonomer ve amalgam materyallerine göre daha az oranda hücre ataşmanının saptanması, sement yüzelerinin bu örnek yüzeyleri kadar düzgün hazırlanamayışına bağlı olabilir. Yine bulgularımıza göre negatif kontrol grubu olarak kullanılan hastalıklı sement yüzeylerine enaz oranda hücre tutunmuş olması bu yüzeylerin toksisitesini göstermesi açısından önemlidir.

Bir dolgu maddesinin biyolojik uygunluğunun tespiti için sadece hücre kültürü teknikleri yeterli olmayabilir. Bu konuda hayvan çalışmaları ve klinik çalışmalarda yapılmalıdır. Fakat yine de hücre kültürü çalışmalarıyla maddenin doku uygunluğu ile akut lokal toksisitesi ortaya çıkarılabilir. Bu da maddenin tercih edilebilmesi için önemli bir anlam ifade eder.^{8,12}

SONUÇLAR

İstatistiksel olarak yapılan değerlendirme sonuçlarına göre insan dişeti fibroblastlarının en yüksek oranda cam iyonomer dolgu materyali yüzeylerine tutunma gösterdiği bulgulanmıştır. Bu

maddeyi amalgam materyalinin izlediği görüldü. Hem cam iyonomer siman hem de amalgam grubunda belirlenen hücre sayısı, sağlıklı sement yüzeyine göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde fazla bulundu. Fosfat siman ve kompozit materyalleri üzerine tutunma gösteren hücre miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmezken, fosfat siman ve karboksilat siman arasında fosfat siman lehinde bir farklılık tespit edildi. Hastalıklı sement yüzeyine tutunma gösteren hücre sayısı bütün gruplardan daha az oranda bulgularlandı. Tüm bu sonuçlara rağmen dolgu maddelerinin biyolojik uygunluğunun tespiti için hücre kültürü tekniklerinin, hayvan çalışmaları ve klinik çalışmalarla desteklenmesi gereği gözardı edilmemelidir.

Teşekkür

Çalışmamızın laboratuvar aşamasını gerçekleştirmemizde yardımlarını esirgemeyen ŞAP Enstitüsü Hücre Bankası ve Üretim Öncesi Kontrol Laboratuvarı Şefi Uzm. Vet. Dr. S. İsmet Gürhan ve şahsında bütün laboratuvar çalışanlarına teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Bayırhı GS, Şirin Ş. Konservatif diş tedavisi. 1. Baskı, İstanbul- 1982: 154-158.
2. Caughman WF, Caughman GB, Dominy VT, et al. Glass ionomer and composite resin cements: Effects on oral cells. J Prosthet Dent 1990; 63: 513-21.
3. Hanks CT, Anderson M, Craig RG. Cytotoxic effects of dental cements on two cell culture systems. J Oral Pathol 1981; 10: 101-112.
4. Kawahara H, Yamagami A, Nakamura M. Biological testing of dental materials by means of tissue culture. Int Dent J 1968; 18: 443-467.
5. Kidd EAM, Smith BGN, Pickard HM. Pickard's manuel of operative dentistry. 6. Baskı, Oxford 1990: 133-143.
6. Lefebvre CA, Schuster GS. Biocompatibility of visible light-cured resin systems in prosthodontics. J Prosthetic Dentistry 1994; 71: 178-85.
7. Niom HP. Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. Int Endodontic J 1988; 21: 89-99.
8. Onat A, Ustaçelebi Ş, Usmen E. Gümüş amalgamı, adaptic ve isopast dolgu maddelerinin gingiva üzerindeki sitotoksik etkilerinin hücre kültürleriyle araştırılması. Hacettepe Diş Hek Fak Derg 1985; 9: 32-41.

9. Önen A, Nohutçu R. Polisajlı ve polisajsız kompozit dolgularda dişeti cevabı. Hacettepe Diş Hek Fak Derg 1988; 12: 63-68.

10. Schmolz G, Arenbuls BD, Hiller KA, et al. Epithelium-fibroblast co-culture for assessing mucosal irritancy of metals used in dentistry. J Oral Sci 1997; 105: 86-91.

11. Yeşilsoy C, Feigal RJ. Effects of endodontic materials on cell viability across standard pore size filters. J of Endodontics 1985; 11: 401-407.

12. Zander HA, Kennedy J. Methods and criteria for evaluating gingival tissue reactions. Int Dent J 1970; 20: 493-504.

Yazışma Adresi :

Dr. Dt. Gülay TÜTER
Gazi Üniversitesi
Dişhekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı
Emek-ANKARA