

## Özgün araştırma makalesi

Fissür örtücülerin *in vitro* sitotoksitesisiHayriye Esra Ülker,<sup>1\*</sup> Mustafa Ülker,<sup>1</sup>Muhammet Yalçın,<sup>2</sup> Ayşe Dünder<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Konya, <sup>2</sup>Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Malatya, <sup>3</sup>Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Bolu, Türkiye

## ÖZET

**AMAÇ:** Bu *in vitro* çalışmada üç farklı fissür örtücü materyalin sitotoksitesisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Üretici firmanın önerileri dikkate alınarak silindirik şekilli (2x5 mm) fissür örtücü test örnekleri hazırlandı (Fuji Triage, Dyract Seal, UltraSeal XT Plus). L929 fare fibroblast hücreleri 96-kuyucuklu hücre kültürü plakları içerisine yerleştirildi ve bir inkübatör içerisinde 24 sa. süre ile 37 °C'de, %5 CO<sub>2</sub>/%95 hava karışımı bir ortamda bekletildi. Test örnekleri ise %10 New Born Calf Serum ve %5 penisilin/streptomisin içeren Basal Medium Eagle (BME) içerisine alındı. L929 hücrelerinin inkübatör ortamında 24 sa. sonra uzaklaştırıldı ve yerine içerisinde 24 sa. boyunca test örneklerinin ekstrakte edildiği medyum konuldu. Test materyali içeren medyuma maruz bırakılmayan hücreler kontrol grubunu oluşturdu. Hücre canlılığı 24. sa. sonunda MTT testi ile belirlendi. Veriler One-Way ANOVA ve Tukey's HSD Post-hoc testleri ile analiz edildi.

**BULGULAR:** Dyract Seal ve Fuji Triage, kontrol grubundan farklı idi (p<0.05). UltraSeal XT Plus ise kontrol grubu ile benzer hücre canlılığı gösterdi (p>0.05). Dyract Seal, L929 hücreleri üzerine en fazla sitotoksik etkiyi gösteren materyaldi.

**SONUÇ:** Bu çalışmanın sonuçları fissür örtücülerin bazı toksik ajanlar salılabildiğini göstermektedir. Biyouyumluluk, diğer restoratif materyaller gibi fissür örtücüler için de kritik bir özelliktir.

**ANAHTAR KELİMELELER:** Cam iyonomer; fissür örtücü; kompomer; kompozit rezin; sitotoksitesite

**KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN:** Ülker HE, Ülker M, Yalçın M, Dünder A. Fissür örtücülerin *in vitro* sitotoksitesisi. *Acta Odontol Turc* 2014;31(1):7-12

[Abstract in English is at the end of the manuscript]

Makale gönderiliş tarihi: 13 Haziran 2013; Yayına kabul tarihi: 06 Ekim 2013  
\*İletişim: Hayriye Esra Ülker, Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Selçuklu, Konya, Türkiye;  
e-posta: botsalie@hotmail.com

## GİRİŞ

Pit ve fissür örtücüler, diş çürüğü gelişimini önlemek için çürüğe yatkın olan dişlerin bu bölgelerine yerleştirilirler.<sup>1,2</sup> Fissür örtücünün mine ile yaptığı mikromekanik bağlantı, ağız içi ortamı ile derin pit ve fissürler arasında fiziksel bir bariyer oluşturur.<sup>1-3</sup> Pit ve fissürlerdeki çürük önleyici etkinlikleri birçok laboratuvar ve klinik çalışma ile kanıtlanmıştır.<sup>1-3</sup> Günümüzün pit ve fissür örtücülerini içeriklerine göre: rezin-esaslı, poliasit modifiye kompozit rezin (kompomer)-esaslı veya cam iyonomer-esaslı olarak sınıflandırılabilir.<sup>4</sup> Uygulama kolaylığı, yüksek retansiyon oranı ve kanıtlanmış kariyostatik etkileri gibi avantajlarından dolayı ışıkla sertleşen rezin esaslı fissür örtücüler sıklıkla tercih edilmektedir.<sup>2,5-7</sup> Resin esaslı fissür örtücüler dolduruculu veya doldurucusuz olabilirler. Bunun dışında doldurucu içerikleri çok az olabildiği gibi yüksek oranda da olabilir.

Cam iyonomerler ilk defa 1974 yılında McLean & Wilson<sup>8</sup> tarafından piyasaya tanıtılmış ve uzun bir süredir fissür örtücü materyal olarak kullanılmaktadır. Ancak cam iyonomer-esaslı fissür örtücüler ile ilgili çalışmalarının sonuçları çelişkilidir. Cam iyonomer esaslı fissür örtücülerin flor salarak çürük oluşumunu engellediği düşünülmektedir ve özellikle yüksek çürük riskli bireylerde kullanılmaları önerilmektedir.<sup>2,9-11</sup> Cam iyonomer esaslı fissür örtücülerin en büyük dezavantajı retansiyonlarının yetersiz olmasıdır.<sup>2,7,11</sup> Ancak fissür örtücü materyalin gözle görülür bir şekilde kaybı söz konusu olsa bile çürük gelişimini önleyebildiği bildirilmiştir.<sup>12</sup> Cam iyonomer esaslı fissür örtücülerin retansiyon ve mekanik özelliklerini artırmak amacıyla rezin ilave edilerek kompomer esaslı örtücüler geliştirilmiştir. Bazı araştırmacılar rezin esaslı örtücüler ile poliasit modifiye kompozit rezin esaslı örtücülerin klinik performanslarının benzer olduğunu bildirirken bazı araştırmacılar poliasit modifiye kompozit rezin esaslı örtücülerin retansiyon oranının yetersiz olduğunu bildirmişlerdir.<sup>13,14</sup>

Koruyucu diş hekimliğinde çok önemli bir yeri olan fissür örtücüler bütün faydalarına rağmen bazı lokal ve sistemik yan etkilere neden olabilmektedirler. Fissür örtücü uygulamasının hipersensitivite reaksiyonlarına neden olabileceği bildirilmiştir.<sup>15</sup> Fissür örtücü kullanımının ksenoöstrojenlere maruz kalmayı artırdığı bildirilmiştir.<sup>16</sup> *In vitro* bir çalışmada piyasada satılan rezin esaslı bir fissür örtücünün östrojenik aktiviteye sahip ol-

duğu gösterilmiştir.<sup>17</sup> Fissür örtücü materyaller birçok yönü ile literatürde tartışılmıştır. Ancak, farklı tipteki fissür örtücülerin sitotoksitesileri konusunda literatürde yeterince veri yoktur. Oysa ki biyoyoumluluk fissür örtücülerin klinik başarısının önemli bir parçasıdır. Bu materyal oral mukozal dokular ile uzun süre yakın ilişkide olacağı için muhtemel sitotoksik etkileri çok önemlidir ve araştırılması gerekir.

Bu çalışmanın amacı, iki boyutlu L929 fare fibroblast hücreleri üzerine bir rezin esaslı, bir poliasit modifiye kompozit rezin esaslı ve bir cam iyonomer esaslı fissür örtücünün sitotoksik etkilerini incelemektir. Bu çalışmanın sıfır hipotezi şudur: test edilen fissür örtücüler L929 fare fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik değildir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Test materyalleri

Bu çalışmada bir adet rezin kompozit esaslı fissür örtücü (UltraSeal XT Plus, Ultradent Products Inc., South Jordan, Utah, ABD); bir adet poliasit modifiye kompozit rezin esaslı fissür örtücü (Dyract Seal, Dentsply De Trey GmbH, Konstanz, Almanya); ve bir adet cam iyonomer esaslı fissür örtücü (Fuji Triage, GC America, Alsip, IL, ABD) test edildi. Çalışmada kullanılan materyaller, içerikleri, lot numaraları ve üretici firmaları Tablo 1'de gösterildi.

Araştırmada kullanılan materyaller steril ortamda üretici firmanın önerileri dikkate alınarak silindirik şekilli steril standart teflon halkalar (2x5 mm) içerisinde hazırlandı. Hazırlanan test örnekleri %10 New Born Calf Serum ve %5 penisilin/streptomisin içeren BME (Basal Medium Eagle) içerisine alındı ve materyal ekstraktlarını açığa çıkarmak için 37 °C'de 24 sa. inkübatörde bekletildi. Hücreler üzerinde kullanılmak üzere steril filtreden geçirildi.

### Hücre kültürü

Çalışmada L929 fare fibroblast hücreleri (Şap Enstitüsü, Ankara, Türkiye) kullanıldı. Hücreler %10 New Born Calf Serum, %5 penisilin/streptomisin içeren BME içerisinde

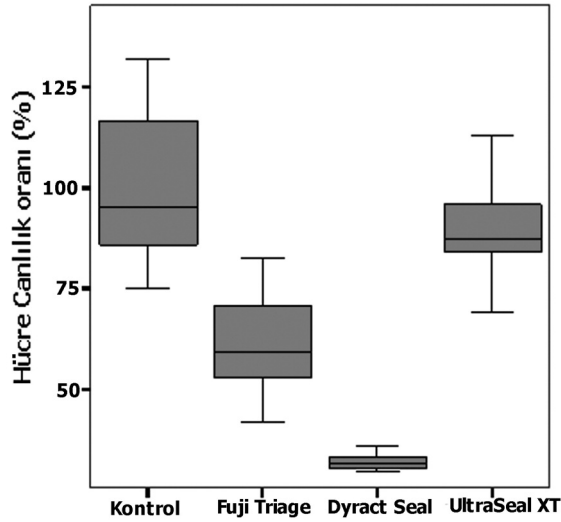
%5 CO<sub>2</sub>'li ortamda, 37 °C'de inkübe edildi. Hücreler deney kaplarında yeterli doluluğa erişince %0.25 trypsin ile kaldırıldı ve bir kuyucukta 25x10<sup>3</sup> hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu hücre kültürü kaplarına alınarak 37 °C'de, %5 CO<sub>2</sub> ve %95 hava karışımında bir ortamda 24 sa. inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda hücrelerin besi ortamları, 200 µl materyal ekstraktı içeren besi ortamı ile değiştirildi. Kontrol grubundaki (%100 canlılık) hücrelere yalnızca serum içeren besi ortamı verildi. Materyal ekstraktlarına maruz kalan hücrelerin canlılığı süksinik dehidrogenaz aktiviteleri ile değerlendirildi. Hücrelerdeki mitokondriyal aktiviteden süksinik dehidrogenaz aktivitesinin sorumlu olduğu gösterilmiştir ve süksinik dehidrogenaz aktivitesi hücre sayısını ve etkinliğini yansıtmaktadır. Her kuyucuğa 0.5 µl taze hazırlanmış MTT (BME içerisinde 0.5 mg/ml; 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide, Sigma Aldrich, Steinheim, Almanya) ilave edildi. İki sa. inkübe edildikten sonra (37 °C, %5 CO<sub>2</sub>) süpernatant uzaklaştırıldı, hücre içinde depolanan MTT formazanı açığa çıkarmak için 200 µl dimetil sülfoksit hücreler üzerine eklenerek çalkalayıcı üzerinde oda sıcaklığında 30 dk boyunca bekletildi ve 540 nm'deki ışık absorbansı spektrofotometrik olarak ölçüldü. Hücre kültürleri en az iki bağımsız deneyde her bir test materyali için en az 12 kuyucuk kullanılacak şekilde materyal ekstraktlarına maruz bırakıldı (n=24). Kontrol grubu örneklerinin hücre canlılık ortalaması %100 canlılık olarak belirlendi ve diğer örneklerin yüzde canlılık oranları bu değere göre hesaplandı. Ortalama hücre canlılık oranları arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Post hoc karşılaştırmalar için Tukey's HSD testi kullanıldı (α=0.05; SPSS 13.0, SPSS Inc., Chicago, IL, ABD).

## BULGULAR

İki boyutlu L929 hücre kültürü kullanılarak gerçekleştirilen sitotoksitesite testinin sonuçları Şekil 1'de gösterildi. Dyract Seal, Fuji Triage ve UltraSeal XT Plus gruplarına ait ortalama yüzde hücre canlılık oranları sırası ile %31.80, %65.51 ve %88.69 idi (Resim 1). UltraSeal XT

**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan materyaller, üretici firmaları, içerikleri ve lot numaraları

Materyal ve üretici firma	Materyal içeriği	Lot numarası
<b>Fuji Triage</b> (GC Corporation, Tokyo, Japonya)	Cam iyonomer, alümina-floro-silikat cam, poliakrilik asit, damıtılmış su, karboksilik asit	0704121
<b>Dyract Seal</b> (Dentsply DeTrey, Konstanz, Almanya)	Stronsiyum- alümina-floro-silikat cam, PENTA'nın amonyum tuzu, N,N-dimetilaminoetil metakrilat, karboksilik asit modifiye makro monomer, florosilikat cam, Bütilhidroksitoluen, DGDMA, başlatıcı, inhibitör	0708002846
<b>UltraSeal XT Plus</b> (Ultradent Products Inc, South Jordan, UT, ABD)	Diüretan dimetakrilat, Bis GMA, TEGDMA, UDMA	B356D



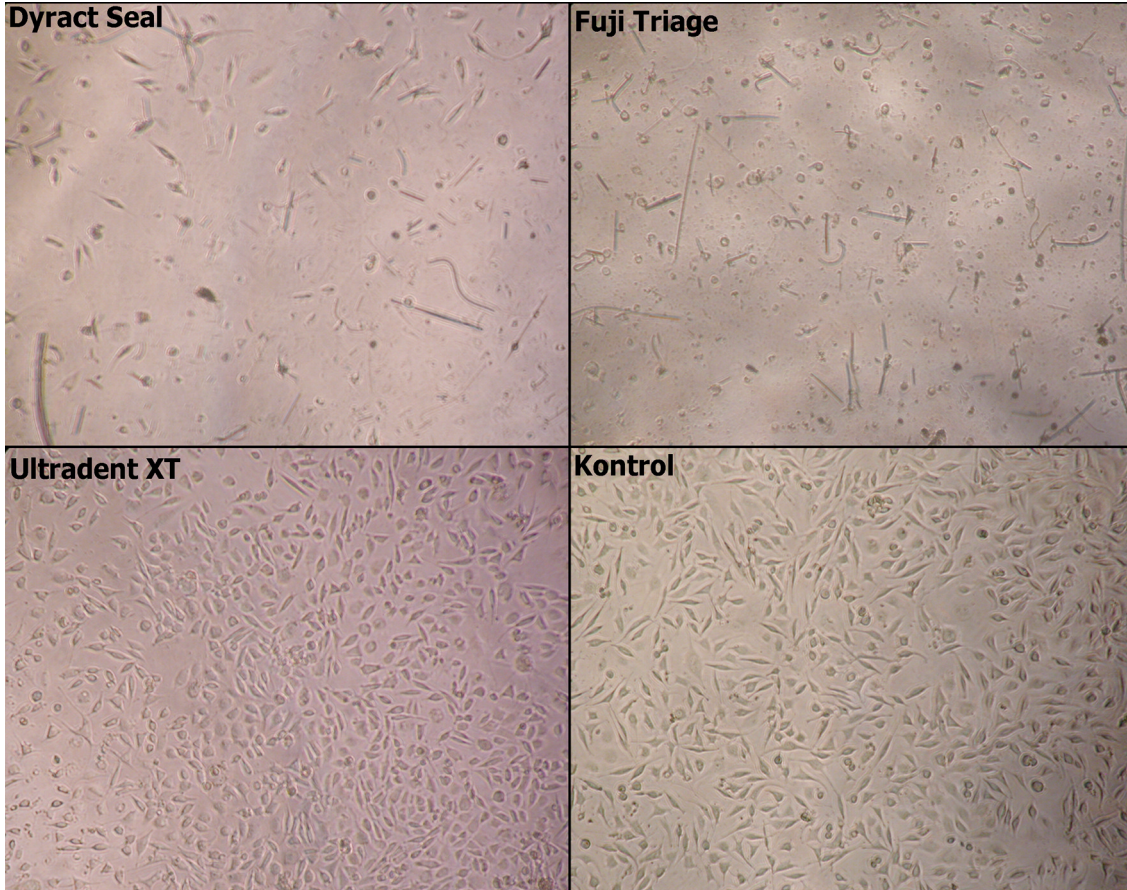
Şekil 1. Fissür örtücülere maruz kalan L929 hücrelerinin canlılık yüzdeleri (n=24)

Plus ile negatif kontrol grubunun hücre canlılık oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Dolayısıyla, UltraSeal XT Plus, L929 hücreleri üzerine belirgin olarak sitotoksik değildi.

Ancak test edilen diğer iki fissür örtücü materyal (Dyract Seal ve Fuji Triage) ile negatif kontrol grubunun hücre canlılık oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.001$ ). Dyract Seal ve Fuji Triage L929 hücreleri üzerine sitotoksik etkiler gösterdi. Dyract Seal, L929 hücreleri üzerine en fazla sitotoksik etkiyi gösteren materyaldi. Dyract Seal, hem Fuji Triage ( $p<0.001$ ), hem de UltraSeal XT Plus'tan ( $p<0.001$ ) daha sitotoksik idi.

#### TARTIŞMA

Biyouyumluluk (veya doku uyumluluğu) bir materyalin kendine özgü uygulamaları sonrası, uygun konak doku cevabı oluşturabilme yeteneği şeklinde tanımlanır.<sup>18,19</sup> Biyouyumlu bir materyalin tamamen inert olması şart değildir. Uygun konak cevabı alınabiliyor olması ile bir materyalin biyouyumlu olduğuna karar verilir.<sup>18,19</sup> Dental materyallerin biyouyumluluğunun araştırılması oldukça karmaşık ve kapsamlı bir alandır çünkü çok farklı tiplerde istenmeyen doku cevabı gelişebilir. *In vitro* hücre kültürü, hayvan ve insan deney düzeneklerinde dental materyallerin neden olabileceği sistemik, lokal, allerjik ve diğer reaksiyonlar (mutajenite gibi) değerlendiril-



Resim 1. Fissür örtücülere maruz kalan L929 hücreleri (x10)



dirilmekte ve test edilen dental materyallerin biyouyumlulukları hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir. Güvenilir, tekrar edilebilir, test koşulları kontrol edilebilir, basit ve kısa sürede sonuç veren bir yöntem olan *in vitro* hücre kültürü sitotoksitesite deneyleri biyouyumluluğun araştırılmasında sıklıkla kullanılmaktadır.<sup>19,20</sup> Ancak test prosedürleri, maruz kalma koşulları, biyolojik uç noktalar veya kullanılan hücre dizisi gibi deneysel parametreler dental materyallerin sitotoksitesisinin değerlendirilmesini etkileyebilmektedir.<sup>19-22</sup> Bu çalışmada hedef hücre olarak kullanılan L929 fare fibroblast hücre dizileri, diş hekimliğinde kullanılan medikal gereçlerin testi için uluslararası standartlar tarafından önerilmekte ve rutin tarama işlemlerinde uzun yıllardır kullanılmaktadır.<sup>23,24</sup>

Rezin içerikli restoratif materyaller ışık ile sertleştirildikten sonra içeriklerindeki monomerlerin tümü polimerize olmamakta ve bir kısım polimerize olmamış artık monomer polimerize rezin matriks içerisinde özellikle de en dıştaki oksijen inhibisyon tabakası içerisinde kalabilmektedir.<sup>4,22,25</sup> Restorasyonlardan erken dönemde salınan yüksek miktardaki artık monomerden oksijen inhibisyon tabakasının sorumlu olduğu bildirilmiştir.<sup>25</sup> Erozyon, enzimlerin neden olduğu degradasyon ve diğer mekanizmalar ile rezin restoratif materyallerden artık monomer salımı uzun bir süre daha devam edebilmektedir.<sup>26,27</sup> Pit ve fissür örtücüler çoğu rezin içerikli restoratif materyalden daha fazla rezin matriks ve daha az doldurucu içeriğe sahiptirler. Ayrıca fissür örtücüler koruyucu amaçla kullanıldığı için çoğu zaman aynı anda birçok dişe birden uygulanmaktadır. Bu materyallerden ağız ortamına salınan artık monomerler ciddi toksik etkiler gösterebilirler.<sup>27,28</sup>

Bu çalışmada test edilen Dyract Seal ve UltraSeal XT Plus fissür örtücüler belli oranda rezin içermektedirler. Bununla birlikte bu materyaller silindirik şekilli steril standart teflon halkalar içerisinde ışık ile sertleştirildikleri sırada oksijen inhibisyon tabakası oluşmaması için herhangi bir önlem alınmadı. Buna rağmen rezin esaslı bir fissür örtücü materyal olan UltraSeal XT Plus, L929 fibroblast hücre dizisi üzerine belirgin sitotoksik etki göstermedi. Yakın bir zaman önce Furche ve ark.<sup>27</sup> rezin esaslı beş farklı fissür örtücünün sitotoksitesisini XXT testi değerlendirmişler ve UltraSeal XT Plus'tan ciddi oranda triethyleneglycol-dimethacrylate (TEGDMA) ve kamforokinon (CQ) gibi bileşenlerin salındığını ancak test ettikleri fissür örtücüler arasında en az toksik materyallerden biri olduğunu bildirmişlerdir. TEGDMA monomerin memeli hücreleri üzerine sitotoksik ve genotoksik etkileri olduğu,<sup>29</sup> CQ bileşiğinin ise insan gingival fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik etkiler gösterdiği, oksidatif strese neden olduğu ve DNA

hasarına yol açtığı bildirilmiştir.<sup>30</sup> Ancak bir biyomateriyalin toksisite potansiyelinin ortaya çıkmasında tek bir bileşenden ziyade bütün bileşenlerin birlikte gösterdikleri sinerjistik etki belirleyici olmaktadır. Üretici firma UltraSeal XT Plus'un birçok fissür örtücünün aksine bisfenol-A içermediğini ve güvenilir bir materyal olduğunu iddia etmektedir. Bisfenol-A veya bisfenol-A dimetakrilat gibi monomerler ihtiva eden bazı fissür örtücülerin östrojenik aktivite gösterebildikleri bildirilmiştir.<sup>31</sup>

Bu çalışma da test edilen kompozit esaslı fissür örtücü Dyract Seal'in biyouyumluluğu hakkında yayınlanmış herhangi bir veriye ulaşamadı. Bu çalışmanın sonuçlarına göre Dyract Seal oldukça sitotoksik bir materyaldir. Aynı üretici firmanın poliasit modifiye kompozit rezin esaslı restoratif materyali Dyract AP'nin insan pulpa fibroblast hücreleri ve insan entotelyal hücreleri (ECV-304) üzerine sitotoksik olduğu bildirilmiştir.<sup>32,33</sup> Ayrıca Schweikl ve ark.<sup>34</sup> Dyract AP'nin V79 fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik ve mutajenik etkileri olabileceğini bildirmişlerdir. Diğer taraftan Chen ve ark.<sup>35</sup> Dyract AP'nin çok az sitotoksik etkisi olduğunu bildirmişlerdir. L929 fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik etki gösteren diğer test materyalimiz cam iyonomer esaslı Fuji Triage idi. Ancak Fuji Triage, Dyract Seal kadar sitotoksik değildi. Bizim bulgularımızla benzer şekilde Selimovic-Dragas ve ark.<sup>36</sup> Fuji Triage'nin osteoblast benzeri hücreler (UMR-106) ve fare fibroblast hücreleri (NIH(3)T(3)) üzerine sitotoksik olduğunu ancak test ettikleri rezin modifiye cam iyonomer simanlardan daha az sitotoksik olduğunu bildirmişlerdir. Kanjevac ve ark.<sup>37</sup> ise Fuji Triage'nin salınan düşük miktardaki flor ile uyumlu olarak insan dental pulpasının kök hücreleri üzerine çok az bir sitotoksik etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Cam iyonomer simanlardan salınan F<sup>-</sup>, Al<sup>3+</sup> ve Sr<sup>2+</sup> gibi iyonların konsantrasyonu bu materyallerin toksik potansiyelini belirlemektedir.<sup>37,38</sup>

## SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçları fissür örtücülerden bazı toksik ajanların salınabildiğini göstermiştir. Biyouyumluluk, diğer restoratif materyaller için olduğu gibi fissür örtücüler için de kritik bir özelliktir.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar bu çalışmayla ilgili herhangi bir çıkar çatışmalarının bulunmadığını bildirmişlerdir.

## TEŞEKKÜR VE ANMA

Bu çalışma 26-28 Nisan 2012 tarihleri arasında Malatya İnönü Üniversitesi Turgut Özal Kongre ve Kültür Merkezinde düzenlenen 'İnönü Üniversitesi 1. Uluslararası Diş Hekimliği Kongresinde' sunulmuştur.

**KAYNAKLAR**

1. Mejäre I, Lingström P, Petersson LG, Holm AK, Twetman S, Källestål C, *et al.* Caries-preventive effect of fissure sealants: a systematic review. *Acta Odontol Scand* 2003;61:321-30.
2. Ahovuo-Saloranta A, Hiiri A, Nordblad A, Worthington H, Mäkelä M. Pit and fissure sealants for preventing dental decay in the permanent teeth of children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;8:CD001830.
3. Simonsen RJ. Pit and fissure sealant: review of the literature. *Pediatr Dent* 2002;24:393-414.
4. Kuşgöz A, Tüzüner T, Ülker M, Kemer B, Saray O. Conversion degree, microhardness, microleakage and fluoride release of different fissure sealants. *J Mech Behav Biomed Mater* 2010;3:594-9.
5. Poulsen S, Laurberg L, Vaeth M, Jensen U, Haubek D. A field trial of resin-based and glass-ionomer fissure sealants: clinical and radiographic assessment of caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2006;34:36-40.
6. Muller-Bolla M, Lupi-Pégurier L, Tardieu C, Velly AM, Antomarchi C. Retention of resin-based pit and fissure sealants: A systematic review. *Community Dent Oral Epidemiol* 2006;34:321-36.
7. Azarpazhooh A, Main PA. Pit and fissure sealants in the prevention of dental caries in children and adolescents: a systematic review. *J Can Dent Assoc* 2008;74:171-7.
8. McLean JW, Wilson AD. Fissure sealing and filling with an adhesive glass-ionomer cement. *Br Dent J* 1974;136:269-76.
9. Alsaffar A, Tantbirojn D, Versluis A, Beiraghi S. Protective effect of pit and fissure sealants on demineralization of adjacent enamel. *Pediatr Dent* 2011;33:491-5.
10. Campus G, Carta G, Cagetti MG, Bossù M, Sale S, Cocco F, *et al.* fluoride concentration from dental sealants: a randomized clinical trial. *J Dent Res* 2013;92 (Suppl 7):S23-8.
11. Ulusu T, Odabaş ME, Tüzüner T, Baygin O, Sillelioğlu H, Deveci C, *et al.* The success rates of a glass ionomer cement and a resin-based fissure sealant placed by fifth-year undergraduate dental students. *Eur Arch Paediatr Dent* 2012;13:94-7.
12. Seppä L, Forss H. Resistance of occlusal fissures to demineralization after loss of glass ionomer sealants in vitro. *Pediatr Dent* 1991;13:39-42.
13. Güngör HC, Altay N, Alpar R. Clinical evaluation of a polyacid-modified resin composite-based fissure sealant: two-year results. *Oper Dent* 2004;29:254-60.
14. Ram D, Mamber E, Fuks AB. Clinical performance of a non-rinse conditioning sealant in three paediatric dental practices: a retrospective study. *Int J Paediatr Dent* 2005;15:61-6.
15. Hallström U. Adverse reaction to a fissure sealant: report of case. *ASDC J Dent Child* 1993;60:143-6.
16. Schafer TE, Lapp CA, Hanes CM, Lewis JB. What parents should know about estrogen-like compounds in dental materials. *Pediatr Dent* 2000;22:75-6.
17. Tarumi H, Imazato S, Narimatsu M, Matsuo M, Ebisu S. Estrogenicity of fissure sealants and adhesive resins determined by reporter gene assay. *J Dent Res* 2000;79:1838-43.
18. Wataha JC. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J Prosthet Dent* 2001;86:203-9.
19. Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Invest* 1997;1:154-62.
20. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials--advantages and limitations. *J Dent* 1994;22 Suppl 2:S6-11.
21. Wataha JC, Hanks CT, Sun Z. Effect of cell line on in vitro metal ion cytotoxicity. *Dent Mater* 1994;10:156-61.
22. Geurtsen W, Lehmann F, Spahl W, Leyhausen G. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures *J Biomed Mater Res* 1998;41:474-80.
23. International Organization for Standardization. ISO 10993-5: Biological evaluation of medical devices-part 5. Tests for cytotoxicity: in vitro methods. Geneve 1992.
24. International Organization for Standardization, ISO 7405: Dentistry-Preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry-Test methods for dental materials, Geneve 1997.
25. Komurcuoglu E, Olmez S, Vural N. Evaluation of residual monomer elimination methods in three different fissure sealants in vitro. *J Oral Rehabil* 2005;32:116-21.
26. Finer Y, Santerre JP. Salivary esterase activity and its association with the biodegradation of dental composites. *J Dent Res* 2004;83:22-6.
27. Furche S, Hickel R, Reichl FX, van Landuyt K, Shehata M, Durner J. Quantification of elutable substances from methacrylate based sealers and their cytotoxicity effect on with human gingival fibroblasts. *Dent Mater* 2013;29:618-25.
28. Geurtsen W, Spahl W, Leyhausen G. Variability of cytotoxicity and leaching of substances from four light-curing pit and fissure sealants. *J Biomed Mater Res* 1999;44:73-7.
29. Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *J Dent Res* 2006;85:870-7.
30. Volk J, Ziemann C, Leyhausen G, Geurtsen W. Non-irradiated campherquinone induces DNA damage in human gingival fibroblasts. *Dent Mater* 2009;25:1556-63.
31. Tarumi H, Imazato S, Narimatsu M, Matsuo M, Ebisu S. Estrogenicity of fissure sealants and adhesive resins determined by reporter gene assay. *J Dent Res* 2000;79:1838-43.
32. Tunç ES, Ozer L, Sari S, Cetiner S. Cytotoxic effects of halogen- and light-emitting diode-cured compomers on human pulp fibroblasts. *Int J Paediatr Dent* 2009;19:55-60.
33. Quinlan CA, Zisterer DM, Tipton KF, O'Sullivan MI. In vitro cytotoxicity of a composite resin and compomer. *Int Endod J* 2002;35:47-55.
34. Schweikl H, Hiller KA, Bolay C, Kreissl M, Kreismann W, Nusser A, *et al.* Cytotoxic and mutagenic effects of dental composite materials. *Biomaterials* 2005;26:1713-9.
35. Chen CC, Chen RC, Huang ST. Enzymatic responses of human deciduous pulpal fibroblasts to dental restorative materials. *J Biomed Mater Res* 2002;60:452-7.
36. Selimović-Dragaš M, Huseinbegović A, Kobašlija S, Hatibović-Kofman S. A comparison of the in vitro cytotoxicity of conventional and resin modified glass ionomer cements. *Bosn J Basic Med Sci* 2012;12: 273-8.
37. Kanjevac T, Milovanovic M, Volarevic V, Lukic ML, Arsenijevic N, Markovic D, *et al.* Cytotoxic effects of glass ionomer cements on human dental pulp stem cells correlate with fluoride release. *Med Chem* 2012;8:40-5.
38. Lönnroth EC, Dahl JE. Cytotoxicity of dental glass ionomers evaluated using dimethylthiazol diphenyltetrazolium and neutral red tests. *Acta Odontol Scand* 2001;59:34-9.

## Cytotoxicity of fissure sealants *in vitro*

### ABSTRACT

**OBJECTIVE:** This *in vitro* study aimed to evaluate the cytotoxicity of three different fissure sealant materials.

**MATERIALS AND METHOD:** Cylindrical-shaped (2x5 mm) fissure sealant test samples were prepared according to the manufacturers' directions (Fuji Triage, Dyract Seal, UltraSeal XT Plus). L929 mouse fibroblast cells were plated in 96-well plates, and maintained in an incubator at a mixture of 5% CO<sub>2</sub>/95% air and at 37 °C for 24 h. The test samples were immersed in Basal Medium Eagle (BME) with 10% New Born Calf Serum and 5% penicillin/streptomycin. After 24 h, the incubation medium of the cells was replaced by the medium in which the test samples were extracted.

Cells that were not exposed to the material extracts were used as control. After 24 h, cell viability was determined by using MTT assay. The data were analyzed by One-Way ANOVA and Tukey's HSD Post-hoc tests.

**RESULTS:** Dyract Seal and Fuji Triage were significantly different from the control ( $p<0.05$ ). UltraSeal XT Plus was similar to the control ( $p>0.05$ ). Dyract Seal presented the greatest cytotoxic effect on the L929 cells.

**CONCLUSION:** The results of this study indicate that fissure sealant materials can release toxic agents. Biocompatibility, like for other restorative materials, is an important aspect for fissure sealants.

**KEYWORDS:** Compomer; composite resin; cytotoxicity; fissure sealant; glass ionomer