

Клиника за болести зуба
 Стоматолошког факултета у Београду

ЦИТОТОКСИЧНОСТ МАТЕРИЈАЛА ЗА ИНДИРЕКТНО ПРЕКРИВАЊЕ ПУЛПЕ ИСПИТИВАНО У IN VITRO УСЛОВИМА

Пап К., Ђорђевић, С. Седлеци, Јб. Костић Г. Бркић

У раду се износе резултати испитивања цитотоксичности две различите конзистенције поликарбоксилатног цемента у условима in vitro. За ова испитивања коришћене су L. ћелије клон NCTC 929.

На основу преживелих колонија може се видети да обе конзистенције испитиваног материјала показују цитотоксични ефекат непосредно након везивања материјала и после 1,3 и 24 часа стајања диска на собној температури. После 7 и 20 дана токсични ефекат се углавном није могао запазити.

Ако се упореде резултати са резултатима испитивања цитотоксичности цинк фосфатног цемента, из наших предходних испитивања, може се рећи да није примећена нека битна разлика у цитотоксичности ова два материјала у in vitro условима.

Скоро један век цинк фосфатни цемент је успешно коришћен у стоматолошкој пракси, како за цементирање надокнада тако и за облагање кавитета. У последњој деценији Smith (1968) уводи поликарбоксилатни цемент као нови тип цемента.

Проучавајући биолошке ефекте овог материјала, Смит (1968), је вршио експерименте на псима и мајмунима и нашао само слабе реакције пулпе на поликарбоксилатни цемент, наиме разлике између контролних и испитиваних узорка су биле једва уочљиве. Аутор закључује да овај цемент нема сигнификантног ефекта на пулпу зуба. (3)

Други истраживачи, који су користили поликарбоксилатни цемент као материјал за пуњење или подлагање дошло су до истог закључка. По правилу, поликарбоксилатни цемент се сматра као мањи иританс пулпе у односу на цинк фосфатни цемент. (2) Brännstrom i Nyborg (1977) су извршили компаративно испитивање реакције пулпе испод инлеја цементираних са цинк фосфатним и поликарбоксилатним цементом. Аутори су нашли свега у 2 до 39 инлеја цементираних цинк фосфатним цементом инфламаторне реакције док код 39 инлеја цементираних поликарбоксилатним цементом није нађен ни један случај са инфламаторном реакцијом пулпе. (2)

Leirskar i Helgeland (1977) су испитивали токсични ефекат цинк фосфатног цемента и поликарбоксилатног цемента на културама људских епителних ћели-

ја. Цитотоксични ефекат фосфатног цемента је био очигледан нарочито после 3 дана инкубације. Поликарбоксилатни цемент је показао цитотоксични ефекат после 24 часа као и после инкубације од 3 и 6 дана, када је цитотоксични ефекат био још израженији. (1)

Међутим, Welker i Newport (1974) испитујући поликарбоксилатни цемент на једнослојне културе фибробласта нису нашли токсични ефекат. (5)

С обзиром да је већи број испитивања показао да многи препарати који се користе у стоматолошкој пракси показују неке штетне биолошке ефекте као и да постоје контрадикторности у резултатима појединих аутора, циљ овог истраживања је да се у условима ин витро испита цитотоксичност поликарбоксилатног цемента припремљеног у две конзистенције. Процена токсичног ефекта вршена је помоћу методе која се заснива на способности изолованих сисарских ћелија да размножавањем у одређеним условима ин витро формирају макроскопски видљиве колоније.

Материја и метод

За ова испитивања користили смо L ћелије, клон NCTC 929, које су култивисане у Eagle-овом (ME) медијуму са додатком 7% телећег серума. У логаритамској фази раста ћелије су у одређеном броју засађене у Петријеве посуде са хранљивом подлогом која садржи 20% телећег серума и инкубиране на 37° C. у атмосфери 5% CO₂ и 95% ваздуха до момента испитивања цитотоксичности материјала.

Као материјал за тестирање коришћен је поликарбоксилатни цемент фирме Вауер-Lumicon у две конзистенције. Ређа у односу: 280mg. праха према 150 mg. киселине и гушћа у односу: 280 mg. праха према 100mg. киселине. Мешање је вршено према упутству произвођача а од добијене смеше прављени су дискови. Непосредно по очвршћавању смеше и после 1, 3, 24 часа 7 и 20 дана стајања на собној температури дискови су стављани у Eagle-ов медијум и инкубирани 24 часа на 37° C. уз лагано мучкање.

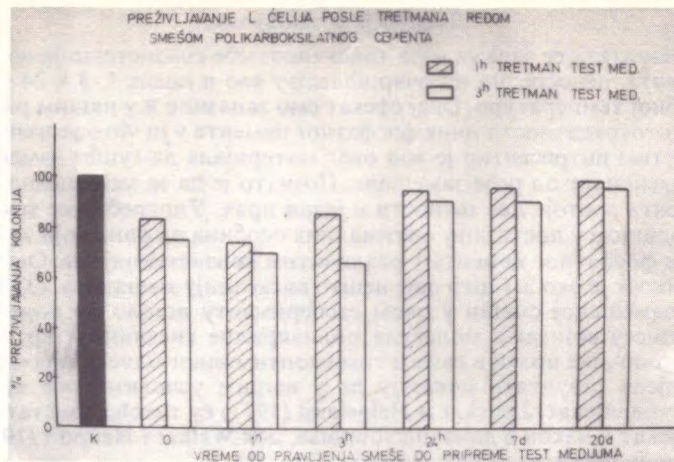
После тога у медијум је додано 20% телећег серума а затим су културе ћелија инкубиране 1 и 3 часа на 37° C. По завршетку инкубирања, тест медијум је одстрањен, ћелије испране физиолошким раствором и у свежем медијуму даље инкубиране до формирања колонија. Колоније су бојене раствором кристал виолета. Бројане су само оне колоније које садрже више од 100 ћелија, пошто се сматра да су оне задржале интактну репродуктивну способност.

Резултати

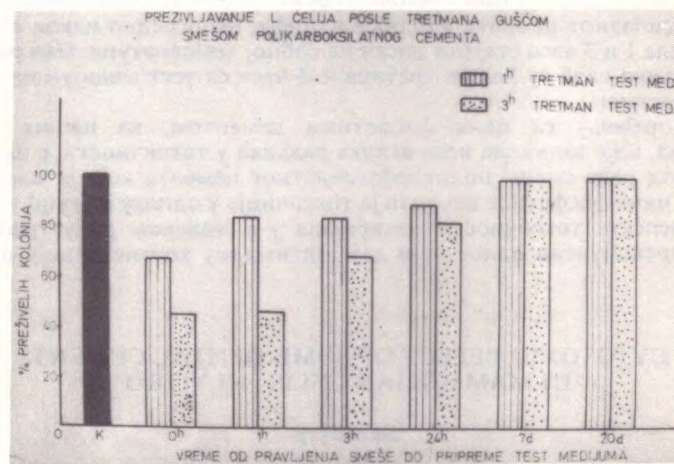
На основу преживелих колонија у односу на нормалне нетретиране, добијени су подаци о токсичном деловању поликарбоксилатног цемента на сисарске ћелије „in vitro“.

Резултати који се односе на преживљавање L ћелија инкубираних 1 и 3 часа у присуству тест медијума припремљеног од ређе смеше поликарбоксилатног цемента одмах по очвршћавању смеше или после 1, 3 и 24 часа као и 7 и 20 дана стајања на собној температури, приказани су на сл. 1

Резултати показују да после третмана ћелија са тест медијумом који је припремљен непосредно по очвршћавању смеше као и после 1 и 3 часа стајања смеше на собној температури, долази до извесног смањења броја преживелих колонија у односу на контролне. Дужим стајањем диска на собној температури токсични ефекат се смањује тако да већ после 24 часа као и 7-ог и 20-ог дана тест медијум показује минимални инхибиторни ефекат на преживљавање ћелија. После 20-ог дана вредности су као код контролних, нетретираних ћелија. Евидентно је такође да је инхибиторни односно токсични ефекат нешто већи када су ћелије третиране 3 часа са тест медијумом у односу на 1-часовни третман.



Сл. 1



Сл. 2

Ефекат тест медијума који је припремљен од гушке смеше поликарбоксилатног цемента приказан је на сл.2

На основу броја преживелих колонија види се да је највећи инхибиторни ефекат добијен када су ћелије инкубиране у присуству тест медијума који је припремљен непосредно по очвршћавању смеше а смањује се после 1, 3 и 24 часа стајања диска на собној температури. После 7 и 20 дана тест медијум не показује инхибиторни ефекат. За разлику од ређе смеше овде 3-часовни третман показује знатно већу токсичност у односу на 1-часовни третман. Сем тога, за разлику од ређе смеше, гушча смеша поликарбоксилатног цемента показује јаче изражен токсични ефекат непосредно по очвршћавању смеше као и после 1, 3 и 24 часа стајања диска на собној температури.

Дискусија и закључак

Из резултата се запажа већа токсичност обе конзистенције поликарбоксилатног цемента, непосредно по очвршћавању као и после 1, 3 и 24 часа стајања диска на собној температури. Овај ефекат смо запазили и у нашим ранијим испитивањима цитотоксичности цинк фосфатног цемента у *in vitro* условима. (4)

Међутим интресантно је код овог материјала да гушће замешана смеша даје већу токсичност од ређе замешане. Познато је да за мешање поликарбоксилатног цемента постоје две течности и један прах. Употреба две течности показала се погоднијом у постизању оптималних особина од оних који се добијају мешањем цинк фосфатног цемента у различитим конзистенцијама. Оптимум односа прах : течност је око 2:1 што даје нешто вискознију мешавину. (3) Могуће је да је у гушће замешаној смеси у овом експерименту дошло до поремећаја у хемијском процесу везивања молекула полиакрилне киселине и праха због присуства веће количине праха и самим тим неоптималног односа праха и течности.

Добијени резултати показују да у нашим условима обе конзистенције имају токсични ефекат. Leirskar и Helgeland (1977) су такође констатовали цитотоксични ефекат и након 6 дана инкубирања, док Welker и Neuport (1974) нису добили позитивне резултате у условима *in vitro*. (1)

Цитотоксични ефекат и ређе и гушће смеше је најизраженији непосредно након очвршћавања смеше, смањује се пола 1, 3 и 24 часа стајања диска на собној температури да би после 7 и 20 дана био минималан или се потпуно изгубио.

Инхибиторни односно токсични ефекат је више изражен код гушће смеше поликарбоксилатног цемента у односу на ређу, непосредно након очвршћавања смеше и после 1 и 3 часа стајања диска на собној температури. Ова разлика је нарочито уочљива када су хелије третиране 3 часа са тест медијумом у односу на 1-часовни третман.

У поређењу са цинк фосфатним цемента, из наших предходних истраживања, није запажена нека велика разлика у токсичности, с напоменом да за разлику од ређе смеше поликарбоксилатног цемента која је мање токсична, ређа смеша цинк фосфатног цемента је токсичнија у односу на гушћу смешу.

Са аспекта токсичности материјала у клиничком раду треба обратити пажњу на препоручени однос који даје оптималну конзистенцију и ниску токсичност.

CYTOTOXIC EFFECT OF SOME DENTAL CEMENTS IN MAMMALIAN CELLS „IN VITRO“

Summary

Cytotoxic effect of two consistencies of polycarboxylate cement have been investigated in the system of isolated mammalian cells (NCTC clone of L cells). To study this effect the method of cell's ability to form colony was used.

The results show that cytotoxic effect in consistency dependent. Both consistencies of polycarboxylate cement induce cytotoxic effect immediately after preparation the cement and also after 1, 3 and 24 hours of exposing the disks for 7 or 20 days at room temperature. By exposing the disk for 7 or 20 days at room temperature the cytotoxic effect disappears.

These results are compared and discussed with the previous results concerning the cytotoxic effect of zinc phosphate cement.

Литература

J. Y. Leirskar and K. Helgeland: „TOXICITY OF SOME DENTAL CEMENTS IN A CELL CULTURE SYSTEM“; Scand. J. Dent. Res., 1977:85:471-479.

2. M.Brännstrom and H.Nyborg: „PULPAL REACTION TO POLYCARBOXYLATE AND ZINC PHOSPHATE CEMENTS USED WITH INLAYS IN DEEP CAVITY PREPARATIONS“; J.A.D.A., vol:94, February 1977.
3. D.S.Smith: „A NEW DENTAL CEMENT“; Brit.Dent.J., November 5, 1968.
4. К. Пап, О.Ђорђевић, С.Седлеци, Љ.Костић и Г.Бркић: „ИСПИТИВАЊЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ФОСФАТНОГ ЦЕМЕНТА У IN VITRO УСЛОВИМА“; XV Стоматолошка недеља СРС. Београд, 1981.
5. Welker, D and Neuport, G.: „VERGLEICHENDER BIOLOGISCHER TEST VON POLYACRYLAT - UND PHOSPHATZEMENT AU MONOLAYER-KULTUREN“; Stomatol.DDR. 1974:24:602-610.