

Ocena cytotoksyczności wybranych kompomerów na fibroblasty dziąsła – badania *ex vivo*

Evaluation of cytotoxicity of selected compomers on gingival fibroblasts – *ex vivo* studies

Department of Pediatric Dentistry, Medical University of Białystok

Head of Department: Grażyna Marczuk-Kolada, PhD, MD

SŁOWA KLUCZOWE

cytotoksyczność, kompomery, fibroblasty dziąsła ludzkiego

STRESZCZENIE

Wstęp. Kompomery powstały w wyniku połączenia materiałów złożonych i cementów szkło-jonomerowych. Ze względu na swoje właściwości budzą duże zainteresowanie wśród lekarzy praktyków, szczególnie stomatologów dziecięcych.

Cel pracy. Porównanie działania cytotoksycznego dwóch wybranych kompomerów wobec fibroblastów dziąsła ludzkiego.

Materiał i metody. Ocenę przeprowadzono, używając testu MTT. Dla każdego materiału wykonano po 12 próbek. Połowę próbek (6 sztuk) polimeryzowano przez 20 sekund w dwóch warstwach lampą halogenową (Polylux II, Kavo) i drugą połowę lampą diodową (B-Max, Tecno-Gaz, 1600 mW/cm²). Płytki hodowlane z komórkami i insertami z materiałami przez 24 godziny inkubowano w temperaturze 37°C, 5% CO₂ i 95% wilgotności. Następnie usuwano inserty z materiałami, a do każdego dołka dodawano 1 ml MTT w stężeniu 0,5 mg/ml podłoża i inkubowano bez dostępu światła 3 godziny w opisanych warunkach. Gęstość optyczną mierzono za pomocą spektrofotometru absorpcyjnego przy długości fali 560 nm.

Wyniki. Analiza uzyskanych wyników ujawniła niewielkie, nieistotne statystycznie różnice w cytotoksyczności badanych materiałów w zależności od źródła polimeryzacji.

Wnioski. Należy kontynuować badania mające na celu aktualizację informacji dotyczących zagadnień cytotoksyczności.

KEYWORDS

cytotoxicity, compomers, human gingival fibroblasts

SUMMARY

Introduction. Compomers are the result of combining composite materials and glass ionomer cements. Due to their properties, compomers are of interest among medical practitioners, especially pediatric dentists.

Aim. The aim of this study was to compare the cytotoxic effect of two selected compomers on human gingival fibroblasts.

Material and methods. The assessment was conducted using the MTT test. Twelve samples were prepared for each material. Half of the samples (6 samples) were polymerized for 20 seconds in two layers with a halogen lamp (Polylux II, Kavo) and the other half with a diode lamp (B-Max, Tecno-Gaz, 1600 mW/cm²). Culture plates with cells and inserts with materials were incubated at 37°C, 5% CO₂ and 95% humidity for 24 hours. Then the inserts were removed, 1 mL of MTT was added in the amount of 0.5 mg per 1 mL of the medium and samples were incubated in the described conditions without light for 3 hours. The optical density was measured with an absorption spectrophotometer at the 560 nm wavelength.

Results. The analysis of the results revealed slight, not statistically significant differences in the cytotoxicity of the tested materials depending on the polymerization source.

Conclusions. Research should continue to update information on cytotoxicity issues.

WSTĘP

Zgodnie z aktualną wiedzą materiały adhezyjne uwalniające fluor powinno się stosować w wypełnianiu ubytków próchnicowych. W wyniku połączenia materiałów złożonych i cementów szkło-jonomerowych w latach 90. XX wieku powstały kompomery (1, 2). Materiały te zawierają w swoim składzie zmodyfikowany monomer i szkło krzemowe uwalniające fluor. Między innymi z tego powodu budzą duże zainteresowanie wśród lekarzy praktyków, szczególnie stomatologów dziecięcych (2, 3). Istotną zaletą tych materiałów w porównaniu z cementami szkło-jonomerowymi jest nieograniczony czas pracy, ponieważ ich wiązanie następuje pod wpływem światła emitowanego z urządzeń do utwardzania wypełnień. Stosowane powszechnie do polimeryzacji lampy halogenowe ze względu na szybkie zużycie i niewystarczającą energooszczędność, coraz częściej są zastępowane przez lampy diodowe (4). Pierwsze lampy diodowe nie spotkały się z pozytywnym przyjęciem, ponieważ nie zawsze zapewniały pełną, wymaganą polimeryzację, powodując nieodpowiednią jakość polimeryzowanych materiałów, szczególnie ich dużą cytotoksyczność. Wynikało to ze zbyt małej mocy światła emitowanego przez te lampy. Na początku XXI wieku wprowadzono II generację lamp diodowych charakteryzujących się większą wydajnością diod elektroluminescencyjnych. W dostępnym piśmiennictwie pojawiają się wątpliwości na temat biokompatybilności kompomerów utwardzanych światłem halogenowym i diodowym (5).

CEL PRACY

Celem pracy była ocena cytotoksyczności wybranych kompomerów, używając do ich polimeryzacji lampy halogenowej i diodowej.

MATERIAŁ I METODY

A. Przygotowanie próbek materiałów

Badania przeprowadzono z użyciem dwóch kompomerów: Dyract Extra (Dentsply) i Compoglass F (Ivoclar Vivadent). Materiały w kolorze A₂ aplikowano do plastikowych pierścieni o wymiarach 5 mm (wewnętrzna średnica) x 5 mm (wysokość). Wykonano po 12 próbek każdego materiału. Połowę próbek (6 sztuk) polimeryzowano przez 20 sekund w dwóch warstwach lampą halogenową (Polylux II, Kavov) i drugą połowę lampą diodową (B-Max, Tecno-Gaz, 1600 mW/cm²). Pierścienie z materiałami umieszczano w insertach (f. Nunc) o polu powierzchni 0,47 cm² i średnicy porów 0,4 μm znajdujących się w 24-dołkowych płytkach hodowlanych (f. Nunc), zawierających fibroblasty dziąsła ludzkiego. W każdej z 24-dołkowych płytek, 6 dołków z insertami bez materiałów stanowiło kontrolę.

B. Przygotowanie hodowli komórek

Ludzkie fibroblasty dziąsła posiadające zdolność adhezji (ang. *adherent permanent cell lines*) (ATCC[®] CRL-2014HGF-1, LGC Promochem) wzrastały w pojemnikach Falcon (pole

INTRODUCTION

According to current knowledge, carious lesions should be filled with fluoride-releasing adhesive materials. Compomers were developed in the 1990s as a result of combining composite materials and glass ionomer cements (1, 2). These materials contain a modified monomer and fluoride-releasing silicate glass. For this reason, inter alia, they arouse great interest among dental practitioners, particularly pediatric dentists (2, 3). An important advantage of the aforementioned materials, compared to glass ionomer cements, is their unlimited working time, as their binding occurs under the influence of light emitted by equipment for curing dental fillings. Halogen lamps commonly used for polymerisation are more and more often replaced by diode (LED) lamps due to the rapid wear and insufficient energy efficiency of the former (4). The first diode lamps were not received positively since they did not always enable the full required range of polymerisation, thus offering inadequate quality of polymerised materials, which was particularly expressed as high cytotoxicity. This was due to insufficient power of the light emitted by these lamps. The beginning of the 21st century marked the introduction of the second generation of diode lamps characterised by higher efficiency of light-emitting diodes. In the available literature, doubts are expressed in connection with biocompatibility of compomers cured with halogen and diode light (5).

AIM

The aim of this study was to evaluate cytotoxicity of selected compomers, using halogen and diode lamps for their polymerisation.

MATERIAL AND METHODS

A. Preparation of material samples

The study was conducted with the use of two compomers, Dyract Extra (Dentsply) and Compoglass F (Ivoclar Vivadent). A₂-coloured materials were applied to plastic rings with dimensions of 5 mm (inner diameter) x 5 mm (height). Twelve samples of each material were prepared. Half of the samples (6 pieces) were polymerised for 20 seconds in two layers with a halogen lamp (Polylux II, Kavov) and the other half – with a diode lamp (B-Max, Tecno-Gaz, 1600 mW/cm²). The rings with the materials were placed in inserts (from Nunc) with an area of 0.47 cm² and 0.4 μm diameter of pores located in 24-well culture plates (Nunc) containing human gingival fibroblasts. In each of the 24-well plates, 6 wells with inserts without materials served as the control.

B. Preparation of cell cultures

Human gingival fibroblasts with adherent permanent cell lines (ATCC[®] CRL-2014HGF-1, LGC Promochem) were grown in Falcon containers (growth area: 75 cm²)

powierzchni wzrostu 75 cm²) na podłożu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) z dodatkiem 10% płodowej surowicy bydlęcej (FBS) w temperaturze 37°C, 5% CO₂ i 95% wilgotności. Po osiągnięciu zlewego wzrostu komórki oddzielano 0,25% roztworem trypsyny z dodatkiem 0,53 mM EDTA. Aktywność enzymu hamowano przez dodanie medium z 10% FBS. Zawiesinę komórkową rozcieńczano w świeżym podłożu, posiewano w 24-dółkowych płytkach i inkubowano przez 24 godz.

C. Ocena cytotoksyczności

Ocenę toksyczności badanych materiałów wobec ludzkich fibroblastów dziąsła przeprowadzono w oparciu o test MTT. Metoda ta pozwala na określenie żywotności i proliferacji komórek na podstawie aktywności mitochondrialnej dehydrogenazy bursztynianowej. W żywych komórkach enzym ten powoduje redukcję żółtej soli tetrazolowej – MTT – bromku 3-(4,5-dimetylotiazol-2-ilo)-2,5-difenylo-tetrazoliowego do fioletowego formazanu. Zawartość barwnika oznacza się w spektrofotometrze absorpcyjnym. Ilość formazanu jest wprost proporcjonalna do liczby żywych komórek w hodowli. Przy niskiej przeżywalności komórek stwierdza się małą aktywność enzymu i tym samym niską zawartość fioletowego formazanu i obniżone wartości absorbancji.

Płytki hodowlane z komórkami i zaaplikowanymi materiałami inkubowano w temperaturze 37°C, 5% CO₂ i 95% wilgotności przez 24 godz. Po upływie tego czasu inserty z materiałami usuwano, do każdego dołka dodawano 1 ml bromku 3-(4,5-dimetylotiazol-2-ilo)-2,5-difenylo-tetrazoliowego (MTT) w stężeniu 0,5 mg/ml podłoża i inkubowano przez 2 godz. w podanych wyżej warunkach, bez dostępu światła. Następnie aspirowano płyn z hodowli, dodawano 1 ml isopropanolu zakwaszonego kwasem solnym (0,04 mol/L⁻¹). Uzyskany roztwór krótko mieszano celem rozpuszczenia kryształków formazanu. Pomiaru absorbancji dokonywano za pomocą dwuwiązkowego spektrofotometru absorpcyjnego Lambda EZ 201 (f. Perkin Elmer) przy długości fali 560 nm.

Żywotność komórek hodowli obliczano według wzoru:

$$\frac{\text{Absorbancja próbki badanej}}{\text{Absorbancja próbki kontrolnej}} \times 100\%.$$

Oceniając cytotoksyczność materiałów, przyjęto kryteria podane przez Sjögrena i wsp. (6):

- brak cytotoksyczności – przeżywalność komórek w stosunku do kontroli > 90%,
- niska cytotoksyczność – przeżywalność komórek w stosunku do kontroli 60-90%,
- umiarkowana cytotoksyczność – przeżywalność komórek w stosunku do kontroli 30-59%,
- wysoka cytotoksyczność – przeżywalność komórek w stosunku do kontroli < 30%.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej testem nieparametrycznym U Manna-Whitneya ($p < 0,05$).

in DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) supplemented with 10% foetal bovine serum (FBS), at 37°C, with 5% CO₂ and 95% humidity. After reaching confluent growth, cells were detached with 0.25% trypsin solution with added 0.53 mM EDTA. The enzyme activity was inhibited by adding medium with 10% FBS. The cell suspension was diluted in fresh medium, seeded in 24-well plates, and incubated for 24 hours.

C. Evaluation of cytotoxicity

The toxicity of the tested materials against human gingival fibroblasts was assessed with the use of the MTT assay. This method enables the determination of cell viability and proliferation based on mitochondrial succinate dehydrogenase activity. In living cells, this enzyme causes the reduction of the yellow tetrazolium salt, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) to purple formazan. The dye content is determined in an absorption spectrophotometer. The amount of formazan is directly proportional to the number of viable cells in the culture. At low cell survival rate, low enzyme activity and thus low purple formazan content and reduced absorbance values are observed.

Culture plates with cells and the applied materials were incubated at 37°C, with 5% CO₂ and 95% humidity for 24 hours. After that time, the inserts with materials were removed, then 1 ml of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide at a concentration of 0.5 mg/ml of medium was added to each well and incubated for 2 hours in the above-mentioned conditions, without access to light. Next, the culture fluid was aspirated and 1 ml of isopropanol acidified with hydrochloric acid (0.04 mol/L⁻¹) was added. The obtained solution was stirred briefly to dissolve the formazan crystals. Absorbance was measured using a Lambda EZ 201 (Perkin Elmer) double beam absorption spectrophotometer at 560 nm wavelength.

The viability of the culture cells was calculated according to the formula:

$$\frac{\text{Absorbance of the tested sample}}{\text{Absorbance of the control sample}} \times 100\%.$$

In assessing the cytotoxicity of the materials, the criteria presented by Sjögren et al. (6) were adopted:

- no cytotoxicity – cell survival rate compared to the control > 90%,
- low cytotoxicity – cell survival rate compared to the control 60-90%,
- moderate cytotoxicity – cell survival rate compared to the control 30-59%,
- high cytotoxicity – cell survival rate compared to the control < 30%.

The obtained results were analyzed statistically with the non-parametric Mann-Whitney U test ($p < 0.05$).

WYNIKI

Analiza uzyskanych wyników (tab. 1) ujawniła niewielkie, nieistotne statystycznie różnice w cytotoksyczności badanych materiałów w zależności od źródła polimeryzacji. Żaden z materiałów nie charakteryzował się wysoką i umiarkowaną cytotoksycznością. We wszystkich przypadkach przeżywalność komórek fibroblastów przekraczała 60%. Compoglass F niezależnie od sposobu utwardzania charakteryzował się niską cytotoksycznością – przeżywalność komórek w przedziale 60-90%. Dyract Extra wykazywał brak cytotoksyczności (przeżywalność komórek > 90%) zarówno utwardzany lampą diodową, jak i halogenową.

DYSKUSJA

Badania oceniające właściwości biologiczne materiałów stomatologicznych są prowadzone od wielu lat. Wykorzystywane są różne metody, jak: testy *in vitro* wykorzystujące hodowle komórkowe, badania przedkliniczne prowadzone z użyciem zwierząt doświadczalnych i testy kliniczne wykonywane u pacjentów (7-9). W przypadku oceny aktywności cytotoksycznej można zastosować szereg testów

RESULTS

An analysis of the obtained results (tab. 1) revealed small, statistically insignificant differences in cytotoxicity of the tested materials, depending on the source of polymerisation. None of the materials was characterised by high or moderate cytotoxicity. In all cases, the survival rate of fibroblast cells exceeded 60%. Compoglass F, regardless of the curing method, presented low cytotoxicity – cell survival rate was within the range of 60-90%. Dyract Extra demonstrated no cytotoxicity (cell survival rate > 90%), both when cured with a diode and halogen lamp.

DISCUSSION

For years, research has been conducted to evaluate biological properties of dental materials. Different methods have been used for this purpose, such as *in vitro* tests with cell cultures, preclinical studies conducted on experimental animals, and clinical tests performed on patients (7-9). A number of laboratory tests can be used to assess cytotoxic activity, among which the International Organisation for Standardisation (ISO) recommends the

Tab. 1. Ocena cytotoksyczności badanych materiałów w zależności od źródła polimeryzacji

Materiał	Rodzaj lampy	Żywotność komórek w %			
		Średnia (SD)	Mediana	Cytotoksyczność wg. Dahla	Analiza statystyczna
Compoglass F (A)	halogenowa (1)	79,20 (6,58)	79,73	niska	A1-A2 p = 0,66
	diodowa (2)	81,82 (1,00)	81,78	niska	
Dyract Extra (B)	halogenowa (1)	94,73 (1,65)	95,26	brak	B1-B2 p = 0,08
	diodowa (2)	100,77 (6,13)	99,18	brak	
A-B p = 0,19					

Tab. 1. Evaluation of cytotoxicity of the tested materials based on the source of polymerisation

Material	Type of lamp	Cell viability %			
		SD	Median	Cytotoxicity according to Dahl	Statistical analysis
Compoglass F (A)	halogen (1)	79.20 (6.58)	79.73	low	A1-A2 p = 0.66
	LED (2)	81.82 (1.00)	81.78	low	
Dyract Extra (B)	halogen (1)	94.73 (1.65)	95.26	no	B1-B2 p = 0.08
	LED (2)	100.77 (6.13)	99.18	no	
A-B p = 0.19					

laboratoryjnych, spośród których ISO jako referencyjny poleca test MTT, wykorzystany w naszym eksperymencie. Ocenia on aktywność dehydrogenazy bursztynianowej, enzymu mitochondrialnego obecnego w żywych komórkach (10, 11). Podczas oceny toksyczności *in vitro* bardzo ważnym elementem badania jest wybór odpowiedniej linii komórkowej. Poglądy badaczy na ten temat nie są jednolite. Zaleca się stosowanie stałych, wzorcowych linii komórkowych (ang. *permanent cell lines*) lub komórek pierwotnych (ang. *primary cell*) pobranych z dziąsła, ozębnej lub miazgi. Stałe linie komórkowe są jednorodnie morfologicznie i fizjologicznie. Pierwotne lepiej naśladują warunki kliniczne, ale cechują się różnorodnością i słabszą żywotnością (12). Norma ISO 10993 standaryzująca eksperymenty *in vitro* popiera użycie stałych linii komórkowych (7, 9). W obecnym eksperymencie użyliśmy wzorcowej linii ludzkich fibroblastów pochodzących z dziąsła, a w celu stworzenia warunków zbliżonych do sytuacji klinicznej próbki materiałów umieszczaliśmy na półprzepuszczalnej błonie insertów.

Z przeprowadzonego badania wynika, że oceniane materiały charakteryzowały się niską cytotoxycznością lub brakiem cytotoxyczności niezależnie od sposobu polimeryzacji. Nieco inne wyniki uzyskali Tunç i wsp. (5). Autorzy oceniając efekty cytotoxyczne kompozycji, wykorzystali komórki pierwotne pobrane z miazgi zatrzymanych i usuniętych chirurgicznie trzecich zębów trzonowych i zastosowali metodę dyfuzji w żelu agarowym. Wnioskowali, że kompozycje są potencjalnie toksyczne dla fibroblastów miazgi zęba, zaś sposób polimeryzacji materiałów może wpływać na ich efekt cytotoxyczny. Podobne do poprzedników wyniki uzyskali Quinlan i wsp. (13), którzy oceniali uszkodzający wpływ na komórki fibroblastów kompozytów i kompozycji. Stwierdzili, że cytotoxyczność kompozycji jest mniejsza niż kompozytów, ale są one potencjalnie toksyczne, zwłaszcza przy niedostatecznej polimeryzacji. Schedle i wsp. (14) ocenili cytotoxyczność szeregu różnych materiałów w badaniu 6-tygodniowym. Stosując jako metodę cytometrię przepływową, stwierdzili, że kompozycje w połączeniu z systemem łączącym po 6 tygodniach eksperymentu wykazują silniejszą cytotoxyczność niż kompozyty.

W przypadku przeprowadzonego przez nas badania oceniliśmy działanie biologiczne świeżo związanych materiałów, co może powodować różnice w uzyskanych wynikach. Była to obserwacja krótka.

Istnieje szereg prac dotyczących wpływu sposobu polimeryzacji na cytotoxyczność kompozytów (15-19). Uzyskane wyniki nie są jednoznaczne. Według Knezevic i wsp. (15) istnieje zależność pomiędzy intensywnością światła lampy, czasem polimeryzacji i efektami cytotoxycznymi. Stosując lampę diodową, autorzy najwyższy efekt cytotoxyczny uzyskali w przypadku polimeryzacji kompozytów światłem o wysokiej intensywności (800 mW/cm² przez 20 sekund), najniższy przy niskiej intensywności światła (650 mW/cm² przez 30 sekund) (15). Nie bez znaczenia jest również czas naświetlania materiału, co było wnioskiem kolejnej

MTT assay, used in our experiment, as a reference. This test evaluates the activity of succinate dehydrogenase – a mitochondrial enzyme that is present in living cells (10, 11). When assessing *in vitro* toxicity, an important part of the study is the selection of a suitable cell line. Researchers' views on this subject are not uniform. It is recommended to use permanent cell lines or primary cells collected from the gingiva, periodontal membrane, or pulp. Permanent cell lines are morphologically and physiologically homogeneous. Primary ones mimic clinical conditions better, but are characterised by diversity and lower viability (12). The ISO 10993 standard concerning *in vitro* experiments supports the use of permanent cell lines (7, 9). In the presented study, we used a model line of human gingival-derived fibroblasts, and placed material samples on a semipermeable insert membrane to create conditions similar to the clinical situation.

Our study showed that the assessed materials presented low or no cytotoxicity regardless of the polymerisation method. Slightly different results were obtained by Tunç et al. (5). To evaluate the cytotoxic effects of composites, the authors used primary cells taken from the pulp of retained and surgically extracted third molars, and applied the agar gel diffusion method. They concluded that composites are potentially toxic to dental pulp fibroblasts, and the manner of polymerisation of the materials may have an influence on their cytotoxic effect. Quinlan et al. (13) obtained results similar to their predecessors. These scientists evaluated the damaging effect of composites and composites on fibroblast cells, and found that the cytotoxicity of composites was lower than that of composites, but they were potentially toxic especially in case of insufficient polymerisation. Schedle et al. (14) studied the cytotoxicity of a number of different materials in a 6-week study. Using the flow cytometry method, they demonstrated that, after 6 weeks of experimentation, composites combined with a bonding system demonstrated stronger cytotoxicity than composites.

In the course of our study, we evaluated the biological action of freshly bound materials, which might have led to differences in the obtained results. Moreover, it was a short observation.

There are numerous works on the influence of the polymerisation method on the composite cytotoxicity (15-19). The results derived from the available experiments are not conclusive. According to Knezevic et al. (15), there is a correlation between lamp light intensity, polymerisation time, and cytotoxic effects. Using a diode lamp, the authors observed the highest cytotoxic effect while polymerising composites with high-intensity light (800 mW/cm² for 20 seconds), and the lowest – when using low-intensity light (650 mW/cm² for 30 seconds) (15). The exposure time of the material is also important, which was the conclusion of another study (16). According to its authors, polymerisation time has a greater effect on cytotoxicity than the

pracy (16). Zdaniem autorów czas polimeryzacji ma większy wpływ na cytotoksyczność niż intensywność światła. Nałçaci i wsp. (18) w oparciu o wyniki swoich badañ doszli do innych wniosków. Stwierdzili mianowicie, że sposób polimeryzacji nie ma istotnego wpływu na cytotoksyczność materiałów złożonych. Zdaniem Wan-Yu i wsp. (17) sposób polimeryzacji wpływa na redukcję wiązań krzyżowych materiałów złożonych, co może wiązać się z ich cytotoksycznością.

Wyniki doświadczalnych badañ laboratoryjnych nie powinny być w sposób bezpośredni odnoszone do warunków klinicznych. Zdaniem wielu autorów podczas odbudowy tkanek zębów powinno się brać pod uwagę grubość i przepuszczalność pozostającej w ubytku zębiny (20-22). Jako częściowa bariera może ona zredukować potencjał cytotoksyczny preparatów poprzez limitowanie dostępności wody niezbędnej do hydrolizy uwalnianych składników (ograniczenie dyfuzji) oraz zdolności buforujące hydroksyapatytów. Nie bez znaczenia pozostaje również fakt, że postęp technologiczny powoduje doskonalenie zarówno materiałów do wypełnień, jak i narzędzi do ich polimeryzacji. Należy więc kontynuować badania mające na celu aktualizację informacji dotyczących tych zagadnień.

intensity of light. Nałçaci et al. (18), based on the results of their study, came to a different conclusion. Namely, they found that the polymerisation technique has no significant effect on the cytotoxicity of composite materials. According to Wan-Yu et al. (17), the method of polymerisation affects the reduction of cross-linking of composite materials, which may be related to their cytotoxicity.

It should be remembered that the results of experimental laboratory tests should not be directly related to clinical conditions. According to numerous researchers, the thickness and permeability of the remaining dentin should also be considered when restoring dental tissues (20-22). As a partial barrier, the remaining dentin can reduce the cytotoxic potential of preparations by limiting the availability of water that is necessary for hydrolysis of the released components (limitation of diffusion) and the buffering capacity of hydroxyapatites. It is also important to note that technological progress is leading to the improvement of both dental restorative materials and tools for their polymerisation. Therefore, research aimed at updating information on these issues should be continued.

KONFLIKT INTERESÓW CONFLICT OF INTEREST

Brak konfliktu interesów
None

ADRES DO KORESPONDENCJI CORRESPONDENCE

*Sylwia Kuderewska
Zakład Stomatologii Dziecięcej
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. Waszyngtona 15a, 15-274 Białystok
tel.: 511-480-283
sylwia.kuderewska@umb.edu.pl

PIŚMIENNICTWO/REFERENCES

1. Hickel R, Dasch W, Janda R et al.: New direct restorative materials. FDI Commission Project. *Int Dent J* 1998; 48: 3-16.
2. Krämer N, Frankenberger R: Compomers in restorative therapy of children: a literature review. *Int J Paediatr Dent* 2007; 17(1): 2-9.
3. Marks LAM, Faict N, Welbury RR: Literature review: restorations of class II cavities in the primary dentition with compomers. *Eur Arch Paediatr Dent* 2010; 11(3): 109-113.
4. Dudzik K, Iwanicka-Grzegorek E: Lampy polimeryzacyjne stosowane w stomatologii – rodzaje, zastosowanie i mechanizm polimeryzacji. *Nowa Stomatologia* 2009; 3: 122-127.
5. Tunç ES, Özer L, Sari Ş, Çetiner S: Cytotoxic effect of halogen – and light-emitting diode-cured compomers on human pulp fibroblasts. *Int J Paediatr Dent* 2009; 19(1): 55-60.
6. Sjögren G, Sletten G, Dahl JE: Cytotoxicity of dental alloys, metals, and ceramics assessed by millipore filter, agar overlay, and MTT tests. *J Prosthet Dent* 2000; 84(2): 229-236.
7. Murray PE, Garcia Godoy C, Garcia Godoy F: How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007; 12(3): E258-266.
8. Wataha JC: Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J Prosthet Dent* 2001; 86(2): 203-209.
9. Schmalz G: Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Investig* 1997; 1(4): 154-162.
10. Atay A, Bozok Centintas V, Cal E et al.: Cytotoxicity of hard and soft denture lining materials. *Dent Mater J* 2012; 31(6): 1082-1086.
11. Sasanaluckit P, Albustany KP, Doherty PJ, Williams DF: Biocompatibility of glass ionomer cements. *Biomaterials* 1993; 14(12): 906-916.
12. Geursten W: Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000; 11(3): 333-355.
13. Quinlan CA, Zisterer DM, Tipton KF et al.: In vitro cytotoxicity of a composite resin and compomer. *J Endod J* 2002; 35(1): 47-55.
14. Schedle A, Franz A, Rausch-Fan X et al.: Cytotoxic effects of dental composites, adhesive substances, compomers and cements. *Dent Mater* 1998; 14(6): 429-440.

15. Knezevic A, Zeljezic D, Kopjar N, Tarle Z: Cytotoxicity of composite materials polymerized with LED curing units. *Oper Dent* 2008; 33(1): 23-30.
16. Knezevic A, Zeljezic D, Kopjar N, Tarle Z: Influence of curing mode intensities on cell culture cytotoxicity/genotoxicity. *Am J Dent* 2009; 22(1): 43-48.
17. Wan-Yu T, Chien-Hsun H, Ruey-Song C et al.: Monomer conversion and cytotoxicity of dental composites irradiated with different modes of photoactivated curing. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater* 2007; 83(1): 85-90.
18. Nalçacı A, Öztan MD, Yilmaz Ş: Cytotoxicity of composite resins polymerized with different curing methods. *Int Endod J* 2004; 37(2): 151-156.
19. Millar BJ, Nicholson JW: Effect of curing with a plasma light on the properties of polymerizable dental restorative materials. *J Oral Rehabil* 2001; 28(6): 549-552.
20. Bouillaguet S, Virgilito M, Wataha et al.: The influence of dentine permeability on cytotoxicity of four dentine bonding systems, in vitro. *J Oral Rehabil* 1998; 25(1): 45-51.
21. Hamid A, Hume WR: The effect of dentine thickness on diffusion of resin monomers in vitro. *J Oral Rehabil* 1997; 24(1): 20-25.
22. Goldberg M: In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. *Clin Oral Investig* 2008; 12(1): 1-8.

nadesłano/submitted:

14.04.2021

zaakceptowano do druku/accepted:

5.05.2021