

**To cite this article:**

Sułek Jolanta, Ossowska Anna, Marczuk-Kolada Grażyna, Hołownia Adam: Cytotoksyczność i biokompatybilność kompozytowych, światłoutwardzalnych żywic stomatologicznych. Cytotoxicity and biocompatibility of light-cured composite dental resins.

Nowa Stomatol 2022;27(4):140-144. DOI: 10.25121/NS.2022.27.4.140

**To link to this article:**

<https://doi.org/10.25121/NS.2022.27.4.140>

JOLANTA SUŁEK<sup>1</sup>, ANNA OSSOWSKA<sup>2</sup>, \*GRAŻYNA MARCZUK-KOLADA<sup>2</sup>, ADAM HOŁOWNIA<sup>1</sup>

## Cytotoksyczność i biokompatybilność kompozytowych, światłoutwardzalnych żywic stomatologicznych

Cytotoxicity and biocompatibility of light-cured composite dental resins

<sup>1</sup>Zakład Farmakologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Adam Hołownia

<sup>2</sup>Zakład Stomatologii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Kierownik Zakładu: dr hab. n. med. Grażyna Marczuk-Kolada

**SŁOWA KLUCZOWE**

cytotoksyczność, biokompatybilność, światłoutwardzalne żywice stomatologiczne

**KEYWORDS**

cytotoxicity, biocompatibility, light-cured dental resins

**STRESZCZENIE**

Właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne materiałów stosowanych do wypełnień stomatologicznych wpływają na kliniczne wyniki leczenia stomatologicznego. Żywice na bazie metakrylanu są szeroko stosowane w codziennej praktyce stomatologicznej, ale coraz więcej danych wskazuje na ich toksyczność.

Dokonano przeglądu najważniejszych danych eksperymentalnych dotyczących cytotoksyczności kompozytowych żywic dentystycznych, metakrylanów i związków epoksydowych stosowanych do indukcji polimeryzacji i zmniejszenia skurczu żywic.

Monomery metakrylanu wytwarzają reaktywne formy tlenu, indukują apoptozę i/lub genotoksyczność oraz wpływają na proliferację komórek w hodowli. Istnieje potrzeba uświadomienia sobie zagrożeń biologicznych związanych z tymi materiałami.

Nowe czułe metody wprowadzone do badań przedklinicznych żywic dentystycznych mogą pomóc w uwypukleniu specyficznych mechanizmów, ilościowym określeniu ryzyka biologicznego i pokierowaniu lekarza dentysty w wyborze odpowiedniego biomateriału do zastosowań stomatologicznych.

**SUMMARY**

The physical, chemical, and biological properties of restorative dental materials influence the clinical outcome of dental treatment. Methacrylate-based resins are extensively used in everyday dental practice, but accumulating records point to their toxicity.

This article reviews the most important experimental data on cell-induced cytotoxicity of composite dental resins, methacrylates and epoxy compounds used to induce polymerization and reduce resin shrinkage.

Methacrylate monomers produce reactive oxygen species, induce apoptosis and/or genotoxicity, and affect cell proliferation in culture. There is a need for awareness about the biological risks of these materials.

New sensitive methods introduced to the preclinical testing of dental resins may help to highlight specific mechanisms, quantify the biological risk and guide the dentist to select the right biomaterial for dental applications.

W stomatologii stosuje się wiele materiałów, ale ich biokompatybilność budzi obawy, ponieważ większość z nich pozostaje w kontakcie z tkankami jamy ustnej przez długi czas. Jednocześnie nie ma dobrego modelu, który pozwoliłby ocenić w badaniach przedklinicznych biokompatybilność nowych materiałów. Do wstępnej oceny stosuje się badania cytotoksyczności *in vitro* (1, 2). Można to zrobić, wykonując testy bezpośredniego kontaktu hodowanych komórek z badanym materiałem lub testy pośrednie, w których nie ma kontaktu bezpośredniego między komórkami i badanym materiałem, a narażenie ocenia się, inkubując komórki w medium hodowlanym, w którym przez określony czas inkubowano materiał stomatologiczny. W ten sposób można ocenić ostrą cytotoksyczność. Następnym krokiem jest przeprowadzenie testów na zwierzętach (3, 4). Można w ten sposób ocenić inne reakcje istotne dla przebiegu ostrej toksyczności, natomiast złożone odpowiedzi, zwłaszcza o charakterze immunologicznym, ocenić jest znacznie trudniej (3). Biologiczne i immunologiczne reakcje niepożądane powodowane przez materiały stomatologiczne można ocenić wyłącznie u ludzi. Reakcje typu alergicznego występują zwykle w postaci obrzęku, wysypki, pokrzywki i wycieku z nosa (5), ale materiały stomatologiczne mogą także wywołać anafilaksję, obrzęk krtani i zaburzenia rytmu serca. Częściej występujące objawy kliniczne obejmują: zaczerwienienie, suchość skóry, pieczenie jamy ustnej, ból, zapalenie warg, nadżerkę błony śluzowej jamy ustnej i zapalenie jamy ustnej (6, 7). Reakcje alergiczne zachodzą z powodu obecności alergenów oraz uwolnienia jonów metali lub formaldehydu z materiałów stomatologicznych (8). Niestety, nie ma modelu eksperymentalnego dla śledzenia takich zmian, a trzeba pamiętać, że narażenie dotyczy nie tylko pacjenta, ale także stomatologów i asystentów stomatologicznych. Istnieją doniesienia o niekorzystnych reakcjach z powodu stosowania dentystycznych żywic metakrylanowych i produktów lateksowych, od reakcji dłoni i opuszków palców po neuropatię uogólnioną, zwykle po długotrwałym kontakcie z tymi materiałami (9, 10). Reakcje skórne i śluzówkowe wywołane żywicą zgłoszono u 27% dentystów i u 12% pacjentów (11).

Poszczególne grupy materiałów stosowanych w stomatologii zachowawczej, endodoncji, periodontologii, implantologii, protetyce i lokalne anestetyki mają różny potencjał alergiczny i toksyczny. W ostatnich latach pojawiło się wiele prac dotyczących biokompatybilności powszechnie stosowanych w stomatologii żywic kompozytowych i klejów, dlatego w dalszym etapie skupimy się na tej grupie związków.

W stomatologii zachowawczej żywice kompozytowe stały się popularne ze względu na dobrą estetykę i szczelność.

Pomimo popularności, zawsze istniały obawy związane z zastosowaniem żywic. Jednym z głównych problemów jest ich toksyczny wpływ na tkankę miękką, ze względu na uwalnianie wolnych monomerów podczas reakcji polimeryzacji. Monomery mogą wpływać na metabolizm komórkowy. Zmniejszają ilość glutationu (GSH) – trójpeptydu, który utrzymuje w komórce równowagę oksydacyjno-redukcyjną (12, 13). Zwiększają ilość reaktywnych form tlenu, powodując uszkodzenie DNA i śmierć komórki (14, 15). Jest wiele czynników, które mogą wpływać na toksyczność składników z żywicy, jednak wiadomo, że działanie monomerów jest bardziej cytotoksyczne do 24 godzin po bezpośrednim kontakcie i staje się mniej toksyczne z upływem czasu (16). Nie jest jednak wykluczona toksyczność odległa (16). Wśród trzech popularnych, świeżo utwardzonych żywic, najwyższą cytotoksyczność wobec ludzkich fibroblastów dziąsła w hodowli wywoływała Charisma, podczas gdy Estelite i Filtec generowały mniej istotne efekty (17). Świeżo utwardzona Charisma była znacznie bardziej cytotoksyczna dla fibroblastów dziąsła niż ten sam preparat zastosowany po 24 godzinach, a cytotoksyczność Filtec po 24 godzinach była jeszcze wyższa (17). Lee i wsp. (18) ocenili toksyczność żywic wobec ludzkich komórek miękkiej tkanki zębowej i stwierdzili, że wszystkie żywice kompozytowe wykazały maksymalną cytotoksyczność na głębokości 4-6 mm. Spowodowane to było głównie przez niespolimeryzowane monomery. Według autorów cytotoksyczne działanie może trwać nawet 21 dni. Sisman i wsp. (19) ocenili działanie cytotoksyczne 5 żywic kompozytowych typu bulk fill: Smart Dentin Replacement (SDR), Tetric Evo Ceram Bulk Fill (TEC), X-trafil (XTF), Sonic Fill (SF) i Filtek Bulk Fill (FBF), na ludzkie komórki macierzyste miękkiej tkanki zębowej. Próbkę żywicy użyte w tym badaniu miały 4 mm grubości, a efekt cytotoksyczny obserwowano przez 21 dni. Stwierdzono, że XTF i SDR są najbardziej toksyczne spośród wszystkich badanych żywic, ze względu na ciągłe uwalnianie resztkowych monomerów. Może to być związane z zawartością żywicy wypełniającej w SDR i XTF, ponieważ zawierają dimetakrylan glikolu trietylenowego (TEGDMA) i dimetakrylan uretanu (UDMA), które mogą być bardziej toksyczne niż inne żywice. Ausiello i wsp. (20) ocenili toksyczny wpływ żywic na fibroblasty dziąseł i zaobserwowali, że wszystkie kompozyty wykazują cytotoksyczność przez 7 dni. Kavuncu i wsp. (21) zbadali cytotoksyczność trzech żywic nanokompozytowych po 24 godzinach i po jednym tygodniu na ludzkich fibroblastach dziąseł (hGF) oraz ludzkich liniach komórkowych fibroblastów więzadeł przyzębia (hPDLF) przy użyciu żółtego barwnika tetrazoliowego, 3-(4,5-dimetylotiazol-2-yl). Autorzy zauważyli, że Admira Fusion i Estelite Quick Sigma nie wykazały cytotoksyczności

hGF i hPDLF po 24 godzinach, natomiast Charisma Topaz okazał się toksyczny. Może to być prawdopodobnie spowodowane innym sposobem polimeryzacji, prowadzącej do redukcji uwalniania monomerów.

W ciągu ostatnich kilku lat nastąpiła poprawa wielkości, kształtu, rodzaju i ilości wypełniaczy oraz zastosowano nowe monomery, takie jak aloksylilany i tricyklodekan bis(akryloiloksymetylu) zamiast dimetakrylanu bisfenolu-A diglicydyłu (Bis-GMA), etoksylovanego metakrylanu diglicydyłu bisfenolu A (Bis-EMA), UDMA i TEGDMA.

Porto i wsp. (22), D'Alpino i wsp. (23), Pagano i wsp. (24) oraz Fröb i wsp. (25) ocenili cytotoxycytność kompozytów wobec makrofagów oraz odontoblastów i fibroblastów i stwierdzili, że wszystkie materiały wywierały efekt cytotoxycytny. Cytotoxycytność zależała od ilości kompozytów, rodzaju użytej aktywacji i rodzaju systemu trawiącego. Ponadto wykazano, że: chemiczna modyfikacja Bis-GMA zmniejszyła jego lepkość i odkształcenie polimeryzacyjne, a zmodyfikowany bis-GMA korzystnie zmienił właściwości mechaniczne żywic.

W badaniu cytotoxycytności żywic wobec różnych typów komórek (ludzkie fibroblasty mięśni, chrząstki i osteoblasty) wykorzystuje się test MTT, test uwalniania dehydrogenazy mleczanowej i alkalicznej fosfatazy (26, 27). Pomimo metodologicznych różnic i dyskusji, cytotoxycytność kompozytów jest niewątpliwie spowodowana uwalnianiem monomerów. Wśród czynników mających wpływ na cytotoxycytność kompozytów, wymienić należy czas utwardzania światłem, niewłaściwe obchodzenie się z materiałem kompozytowym, odległość między powierzchnią materiału a źródłem światła, krótki czas utwardzania, zawilgocenie (28). Dlatego należy podjąć działania edukacyjne, żeby minimalizować uwalnianie monomerów.

W piśmiennictwie jest wiele prac dotyczących ostrej cytotoxycytności. Nieznane pozostają subtelne efekty biochemiczne i immunologiczne. W tym zakresie ciągle brakuje danych, choć można uznać, że elementy składowe żywic są dobrze scharakteryzowane toksykologicznie. Działanie żywic wiąże się z apoptozą (1, 28) lub nekrozą (17, 29). Problemem jest jednak heterogenność materiałów, a ich potencjalna cytotoxycytność nie jest prostą pochodną składu chemicznego. Niedawno zaproponowano nowy model badania żywic stomatologicznych w modelu komórkowym, który pozwala definiować różne cele molekularne (17). Można w ten sposób badać finalne produkty, niezależnie od ich heterogenności. Zbadano kilka mechanizmów związanych z cytotoxycytnością kompozytowych, światłoutwardzalnych, metakrylanowych wypełnień stomatologicznych wobec fibroblastów chrząstki w hodowli. W badaniu wykorzystano

trzy popularne, światłoutwardzalne żywice: Charisma (C), Estelite Sigma Quick (E) i Filtek Z550 (F). Charisma (C) zawiera monomer toksycznego metakrylanu bisfenolu A-glicydyłu (BisGMA) oraz wysoce toksyczny TEGDMA (30). E zawiera BisGMA i TEGDMA i wykorzystuje wolnorodnikowe reakcje fotopolimeryzacji (31), podczas gdy F jest kompozytem nanohybrydowym zawierającym genotoksyczny dimetakrylan uretanu (UDMA) i toksyczny etoksylovanym metakrylan bisfenolu A (BisEMA) (31, 32). Wszystkie te związki wywoływały stres oksydacyjny, ale mogą również dyfundować do otaczających płynów i wywierać bezpośrednią cytotoxycytność w pobliskich tkankach (33, 34). Oceniono cytotoxycytność, apoptozę, stres oksydacyjny i dwa biomarkery cytotoxycytności: miR-9 – marker epigenetyczny związany ze stresem, który jako czynnik tranzycyjny nabłonkowo-mezenchymalny fibroblastów, ważny np. w gojeniu ran, ma szeroki potencjał wskaźnikowy (34) i białko szoku cieplnego o masie 70 kD, HSP70, białko opiekuńcze i marker stresu (35). Wyniki stresu oksydacyjnego i HSP70 przedstawiono jako dwuwymiarowe cytogramy, wykresy rozrzutu, wykresy dystrybucji fluorescencji oraz histogramy i przeanalizowano je pod kątem wektora, tendencji centralnej i rozproszenia. Żywice generowały różne wykresy ze zmiennymi obszarami rozproszenia, trendami i liniami wektorowymi. Zarówno E, jak i F spowodowały widoczne zwężenie i wydłużenie wykresów dyspersji fluorescencji, co sugeruje, że obie zmienne mogą być ze sobą dodatnio powiązane, zwłaszcza gdy obie wartości są zwiększone. C spowodowało znaczny wzrost obszaru rozproszenia o mniej spójnych zmiennych. Biorąc pod uwagę analizę linii centralnych i trendów, linii trendu wektorów i ich nachyleń, w komórkach hodowanych z C w porównaniu z (podobnymi) nachyleniami E i F, nachylenia linii wektorowych były takie same w E i F, ale różne od przesuniętego w dół nachylenia (C), istotnie różne od nachyleń centralnej linii trendu i podobne do F. Ponadto, dane sugerują istnienie lokalnych trendów i co najmniej dwóch podzbiorów komórek. W komórkach o największym stresie oksydacyjnym (np. frakcja komórek inkubowanych z F) ekspresja HSP70 jest również bardzo podwyższona i możliwe jest, że przynajmniej w części komórek oba parametry są ze sobą powiązane.

Wydaje się, że badania biokompatybilności heterogennych materiałów stomatologicznych można byłoby oprzeć na tym rodzaju, lub podobnym modelu, pozwalającym ocenić zmiany dystrybucji, wektor zmian (kierunek i rozmiar), a także krotkość ogniskowania badanych cech. Pomoże to zrozumieć mechanizmy złożonych interakcji materiałów stomatologicznych z żywą tkanką i poprawić algorytmy postępowania, co wpłynie na bezpieczeństwo i efektywność leczenia stomatologicznego.

## KONFLIKT INTERESÓW

Brak konfliktu interesów

## PIŚMIENNICTWO

1. Ponce-Bravo S, Ledesma-Montes C, Martínez-Rivera JL, Garcés-Ortiz M: Toxicity test of a dental commercial composite. *J Clin Exp Dent* 2015; 7(2): e289-292.
2. Wataha JC: Predicting clinical biological responses to dental materials. *Dent Mater* 2012; 28(1): 3-40.

**ADRES DO KORESPONDENCJI**

\*Grażyna Marczuk-Kolada  
Zakład Stomatologii Dziecięcej  
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. Waszyngtona 15 A, 15-274 Białystok  
tel.: +48 (85) 745-09-61  
grazyna.marczuk-kolada@umb.edu.pl

3. Browne RM: Animal tests for biocompatibility of dental materials - relevance, advantages and limitations. *J Dent* 1994; 22 Suppl. 2: S21-24.
4. McGroarty A: Animal tested materials. *Br Dent J* 1998; 184(11): 524.
5. Raap U, Stiesch M, Kapp A: Contact allergy to dental materials. *J Dtsch Dermatol Ges* 2012; 10(6): 391-396; quiz 397. English, German.
6. Olms C, Yahiaoui-Doktor M, Remmerbach TW: Contact allergies to dental materials. *Swiss Dent J* 2019; 129(7-8): 571-579.
7. Reinhart JP, Stoopler ET, Crawford GH: Oral Hypersensitivity Reactions. *Dermatol Clin* 2020; 38(4): 467-476.
8. Syed M, Chopra R, Sachdev V: Allergic Reactions to Dental Materials-A Systematic Review. *J Clin Diagn Res* 2015; 9(10): ZE04-9.
9. Donaghy M, Rushworth G, Jacobs JM: Generalized peripheral neuropathy in a dental technician exposed to methyl methacrylate monomer. *Neurology* 1991; 41(7): 1112-1116.
10. Kimber I: The activity of methacrylate esters in skin sensitisation test methods II. A review of complementary and additional analyses. *Regul Toxicol Pharmacol* 2021; 119: 104821.
11. Kanerva L, Estlander T, Jolanki R: Occupational skin allergy in the dental profession. *Dermatol Clin* 1994; 12(3): 517-532.
12. Stanislawski L, Soheili-Majd E, Perianin A, Goldberg M: Dental restorative biomaterials induce glutathione depletion in cultured human gingival fibroblast: protective effect of N-acetyl cysteine. *J Biomed Mater Res* 2000; 51(3): 469-474.
13. Krifka S, Spagnuolo G, Schmalz G, Schweikl H: A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers. *Biomaterials* 2013; 34(19): 4555-4563.
14. Arossi GA, Lehmann M, Dihl RR et al.: Induced DNA damage by dental resin monomers in somatic cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010; 106(2): 124-129.
15. Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G: Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *J Dent Res* 2006; 85(10): 870-877.
16. Putzeys E, Nys S, Cokic SM et al.: Long-term elution of monomers from resin-based dental composites. *Dent Mater* 2019; 35(3): 477-485.
17. Sulek J, Luczaj-Cepowicz E, Marczuk-Kolada G et al.: Cytotoxicity of Methacrylate Dental Resins to Human Gingival Fibroblasts. *J Funct Biomater* 2022; 13(2): 56.
18. Şişman R, Aksoy A, Yalçın M, Karaöz E: Cytotoxic effects of bulk fill composite resins on human dental pulp stem cells. *J Oral Sci* 2016; 58(3): 299-305.
19. Ausiello P, Cassese A, Miele C et al.: Cytotoxicity of dental resin composites: an in vitro evaluation. *J Appl Toxicol* 2013; 33(6): 451-457.
20. Kavuncu G, Yilmaz AM, Karademir Yilmaz B et al.: Cytotoxicity of Different Nano Composite Resins on Human Gingival and Periodontal Ligament Fibroblast Cell Lines: An In Vitro Study. *Biomedicines* 2020; 8(3): 48.
21. Porto IC, Oliveira DC, Raelle RA et al.: Cytotoxicity of current adhesive systems: in vitro testing on cell cultures of primary murine macrophages. *Dent Mater* 2011; 27(3): 221-228.
22. D'Alpino PHP, Moura GEDD, Barbosa SCA et al.: Differential cytotoxic effects on odontoblastic cells induced by self-adhesive resin cements as a function of the activation protocol. *Dent Mater* 2017; 33(12): 1402-1415.
23. Pagano S, Lombardo G, Balloni S et al.: Cytotoxicity of universal dental adhesive systems: Assessment in vitro assays on human gingival fibroblasts. *Toxicol In Vitro* 2019; 60: 252-260.
24. Fröb L, Rüttermann S, Romanos GE et al.: Cytotoxicity of Self-Etch Versus Etch-and-Rinse Dentin Adhesives: A Screening Study. *Materials (Basel)* 2020; 13(2): 452.
25. Goiato MC, Freitas E, dos Santos D et al.: Acrylic Resin Cytotoxicity for Denture Base - Literature Review. *Adv Clin Exp Med* 2015; 4(4): 679-686.
26. Lee MJ, Kim MJ, Kwon JS et al.: Cytotoxicity of Light-Cured Dental Materials according to Different Sample Preparation Methods. *Materials (Basel)* 2017; 10(3): 288.
27. Gallorini M, Cataldi A, di Giacomo V: HEMA-induced cytotoxicity: oxidative stress, genotoxicity and apoptosis. *Int Endod J* 2014; 47(9): 813-818.
28. Chang MC, Lin LD, Chuang FH et al.: Carboxylesterase expression in human dental pulp cells: role in regulation of BisGMA-induced prostanoic acid production and cytotoxicity. *Acta Biomater* 2012; 8(3): 1380-1387.

29. Ginzkey C, Zinnitsch S, Steussloff G et al.: Assessment of HEMA and TEGDMA induced DNA damage by multiple genotoxicological endpoints in human lymphocytes. *Dent Mater* 2015; 31: 865-876.
30. Durner J, Wellner P, Hickel R, Reichl FX: Synergistic interaction caused to human gingival fibroblasts from dental monomers. *Dent Mater* 2012; 28: 818-823.
31. Gupta SK, Saxena P, Pant VA, Pant AB: Release and toxicity of dental resin composite. *Toxicol Int* 2012; 19: 225-234.
32. Hiyasat AS, Darmani H, Milhem MM: Cytotoxicity evaluation of dental resin composites and their flowable derivatives. *Clin Oral Investig* 2005; 9: 21-25.
33. Ilie N, Kreppel I, Durner J: Effect of radical amplified photopolymerization (RAP) in resin-based composites. *Clin Oral Investig* 2014; 18: 1081-1088.
34. Tapeh BEG, Mosayyebi B, Mansoori B et al.: Emerging Molecular Functions of MicroRNA-9: Cancer Pathology and Therapeutic Implications. *Anticancer Agents Med Chem* 2021; 21(17): 2304-2314.
35. Qu B, Jia Y, Liu Y et al.: The detection and role of heat shock protein 70 in various nondisease conditions and disease conditions: a literature review. *Cell Stress Chaperones* 2015; 20: 885-892.

**nadesłano:**

6.10.2022

**zaakceptowano do druku:**

27.10.2022