

Sammendrag av doktorgradsavhandling: «Toxicity of resin based dental restorative materials *in vitro*»

Av Jan T. Samuelsen,

Nordisk Institutt for Odontologiske Materialer as (NIOM as)

Norske myndigheter innførte i januar 2008 et forbud mot import og bruk av kvikksølv og kvikksølvholdige produkter. Amalgam er et tannfyllingsmateriale med en lang klinisk historie og har lenge vært det mest brukte tannfyllingsmaterialet. Amalgam inneholder kvikksølv og omfattes av forbudet. All bruk av materialet har derfor i praksis stoppet. Tannfargede materialer, og da i hovedsak resinbaserte kompositter, har erstattet amalgam og blitt det nye førstevalget ved fyllingsterapi. Kunnskap om interaksjon mellom komposittens innholdsstoffer og biologiske systemer har man imidlertid hatt svært begrenset kunnskap om.

Resinbaserte kompositter er en blanding av forskjellige fyllpartikler og en metakrylatmonomer basert resin som polymeriseres i pasientens munn. Polymeriseringen skjer ved addisjonspolymerisering av metakrylatmonomerene, men langt fra alle vinylgruppene (C=C) reagerer under herdeprosessen. Andelen vinyl grupper som har reagert etter endt herding overstiger normalt ikke 70 %. Ikke-polymeriserte innholdsstoffer i tannfyllingen vil derfor kunne lekke ut fra en ferdig herdet fylling. *In vitro* studier viser at det er metakrylatmonomerer som i størst grad frigjøres. I tillegg til selve komposittens metakrylatinnhold, så benyttes et lim basert på andre metakrylatmonomerer for å bedre festeingen av kompositten til tannsubstansen. Metakrylater er derfor en gruppe stoffer som både tannhelsepersonell og pasienter ofte eksponeres for i forbindelse med tannbehandling.

Tannhelsepersonell håndterer til daglig uherdet materiale, og det er også målt verdier av metakrylatmonomerene i luften på tannlegekontorer. Selv om man unngår direkte kontakt så vil en eksponering via luftveiene ikke kunne unngås. Pasienter vil i hovedsak eksponeres av det som lekker ut av de ferdig herdede materialene. Det vil derfor være et begrenset antall eksponeringsveier av betydning for disse stoffene. Tannhelsepersonell vil eksponeres ved enten direkte hudkontakt eller via luftveiene, mens pasienter i hovedsak blir eksponert ved diffusjon gjennom tannsubstansen eller utlekking til munnhulen.

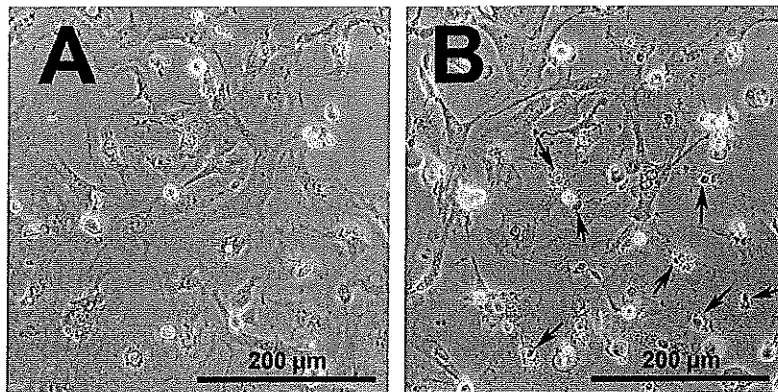
Hensikten med doktorgradsavhandlingen «toxicity of resin based dental restorative materials *in vitro*» (1) var å belyse toksisiteten av utvalgte metakrylatmonomerer i modeller som kan relateres til cellulære mål *in vivo*. En cellelinje med opphav fra spyttkjertel-epitel og primære epitelceller fra rottelunge ble valgt som relevante modellsystemer. Monomerene 2-hydroxyetylmetakrylat (HEMA) og trietylenglykoldimetakrylat (TEGDMA) er to metakrylater som er mye brukt i resinbaserte tannbehandlingsmaterialer, og cellekulturene ble eksponert for disse i varierende konsentrasjon og varighet. Resultatene er presentert i fem delarbeider (2-6). I hovedtrekk viser studiene at metakrylatene er reaktive stoffer som har et tydelig potensiale til å skade celler. Mekanismen som gir celledskade kan være forskjellig i forskjellige celletyper, og varierer med konsentrasjon og eksponeringstid. De endringene som kan sees direkte på cellekulturene er reduksjon i cellevekst og øket celledød.

Eksposering av spyttkjertelceller i opptil 24 timer med HEMA eller TEGDMA resulterte i apoptotisk og nekrotisk celledød. Konsentrasjoner som ga celledød, celledødsmonster og endringer i nivå reaktive oksygensubstanser (ROS) likner på tilsvarende eksperimenter som tidligere er publisert med andre celletyper. Mekanismen som resulterer i denne responsen foreslås initiert av glutathion-metakrylat addukt dannelse. Glutathion-binding til lipofile kroppsfremmede stoffer er en viktig mekanisme for detoksifisering av disse. Men glutathion er også viktig i cellers antioksidant forsvar. Ved økende konsentrasjon av metakrylatmonomer gjøres mindre glutathion tilgjengelig for cellenes forsvar mot ROS. Dette resulterer i økt oksidativ belastning på cellene, og celledødsprosesser kan oppstå.

I forsøk der spyttkjertelcellene ble eksponert i 2 timer for HEMA-konsentrasjoner som ikke ga påvisbare endringer i vitalitet etter 24 t, ble det vist aktivering av signal-systemer som assosieres med DNA skade. En sterk reduksjon av cellevekst ble også observert etter 24 timers eksponering. Øket eksponeringstid (>48 t) under disse betingelsene resulterte i apoptotisk celledød. Kun små endringer i nivå av glutathion og ROS påvises under disse betingelsene, og kan ikke alene forklare den observerte celledøden. Addukt-dannelse med cellens makromolekyler er foreslått som bakenforliggende mekanisme for de observasjonene som ble gjort.

Primærkultur av lunge-epitelceller reagerte forskjellig fra spyttkjertelcellene på HEMA eksponering. Tilsvarende eksponeringsbetingelser som kun ga små endringer i glutathion/ROS nivå i spyttkjertelcellene, ga ingen målbare endringer i glutathion- eller ROS nivå i lungeceller. Likevel ble det etter 6 timer observert kjernekonkondensering i nesten alle cellene (figur 1). Behandling av cellene med antioksidant eller hemmer for cytokrom P450 (CYP) 2E1 (et fase I metabolisme-enzym) forhindret den observerte kondenseringen effektivt. Biotransformasjon av HEMA til et mer reaktivt molekyl foreslås som mekanisme for den observerte responsen i disse cellene.

De konsentrasjonene av monomer som er brukt i studiene, er høyere enn de som kan forventes i en klinisk situasjon. Mange av celledødsprosesser som er observert må likevel antas å oppstå ved langt lavere eksponerings-konsentrasjoner enn de som er benyttet. Det foreligger ikke data som kan gi svar på betydningen av effektene ved slike lave konsentrasjoner. Det er alltid vanskelig å overføre funn fra cellekultur til menneske.



Figur 1: Mikroskopibilder av cellekultur med alveolære type 2 celler fra rotte. Figur a viser celler rett før eksponering for 1 mM HEMA. Figur b viser bilde av det samme område i cellekulturen etter 6 timer. Pilene viser celler med kondensert cellekjerne.

Referanser:

1. Samuelsen JT: Toxicity of resin based dental restorative materials in vitro, doktorgrads-avhandling, Det odontologiske fakultet, april 2011, ISBN 978-82-91757-70-4
2. Samuelsen JT, Dahl JE, Karlsson S, Morisbak E and Becher R: Apoptosis induced by the monomers HEMA and TEGDMA involves formation of ROS and differential activation of the MAP kinases p38, JNK and ERK. *Dental materials* 2007 Jan;23(1):34-9
3. Samuelsen JT, Holme JA, Becher R, Karlsson S, Morisbak E and Dahl JE: HEMA reduces cell proliferation and induces apoptosis in vitro. *Dent Mater.* 2008 Jan;24(1):134-40
4. Samuelsen JT, Kopperud HM, Holme JA, Dragland IS, Christensen T, Dahl JE: Role of thiol-complex formation in 2-hydroxyethyl- methacrylate-induced toxicity in vitro. *J Biomed Mater Res A.* 2011 Feb;96(2):395-401
5. Samuelsen JT, Schwarze PE, Huitfeldt HS, Thrane EV, Låg, M, Refsnes M, Skarpen E, and Becher R: Regulation of rat alveolar type 2 cell proliferation in vitro involves type II cAMP-dependent protein kinase. *Am J Physiol* 2007 Jan 292(1):L232-9
6. Samuelsen JT, Holme JA, Låg M, Schwarze PE, Dahl JE, Becher R: Biotransformation enzymes and lung cell response to 2-hydroxyethylmethacrylate, *J Biomed Mater Res A* (in press)

