

PRIMENA TESTA DIREKTOG KONTAKTA U ISPITIVANJU CITOTOKSIČNOSTI STOMATOPROTETSKIH AKRILATA

Milena Kostić¹, Stevo Najman², Jelena Najdanović², Nebojša Krunic³ i Ivan Kostić²

Upotreba akrilata široko je rasprostranjena u stomatološkoj praksi. Pošto u ustima pacijenta imaju ulogu morfološkog i funkcionalnog supstituenta, akrilati se svrstavaju u grupu biomaterijala. Sa druge strane, klinička praksa pokazuje da pojedini toksični sastojci akrilata mogu dovesti do neželjenih promena lokalnog, a znatno ređe i sistemskog karaktera. Cilj istraživanja bio je ispitivanje citotoksičnog efekta različitih akrilatnih stomatoprotetskih materijala testom direktnog kontakta sa ćelijskom kulturom. Ispitivan je efekat četiri različite vrste akrilatnih materijala na HeLa ćelijsku kulturu. Nakon svetlosno mikroskopske analize urađen je MTT test, bez prethodnog uklanjanja uzoraka materijala. Dobijene vrednosti MTT-a ukazuju na zavisnost ćelijske proliferacije od vrste akrilatnog stomatoprotetskog materijala. Hladno polimerizovani akrilati pokazali su blagi infibitorni efekat na rast ćelijske kulture. U slučaju toplo polimerizovanog akrilata nisu opservirani znaci toksičnosti. *Acta Medica Medianae* 2012; 51(1):66-72.

Ključne reči: akrilati, test direktnog kontakta, HeLa ćelije

Odeljenje za stomatološku protetiku, Stomatološka klinika Niš, Srbija¹
Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Institut za biologiju sa humanom genetikom, Srbija²
Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Odsek stomatologija, Srbija³

Kontakt: Milena Kostić
Odeljenje za stomatološku protetiku, Klinika za stomatologiju
Bulevar dr Zorana Đinđića 52, 18000 Niš, Srbija
E-mail: koticmilena@sbb.rs

Uvod

Akrilati se u stomatološkoj protetici koriste već punih osamdeset godina i još uvek su nezamenljivi za svoje indikaciono područje (1). Kao građivni materijali akrilati se koriste za izradu pločastog dela mobilnih zubnih proteza, veštačkih zuba, privremenih krunica i mostova, mobilnih ortodontskih aparata, opturatora i maksilofacijalnih proteza, kao i za potrebe podlaganja i reparatura ovih nadoknada (2). Pošto u ustima pacijenta imaju ulogu morfološkog i funkcionalnog supstituenta, akrilati se svrstavaju u grupu biomaterijala (3,4). Međutim, klinička praksa pokazuje da pojedini toksični sastojci akrilata mogu dovesti do neželjenih promena lokalnog, a znatno ređe i sistemskog karaktera (5-8). Step en osetljivosti tkiva na akrilate povećava se sa porastom procenta potencijalno toksičnih supstanci u materijalu (9,10). Ove materije imaju sposobnost napuštanja protetske nadoknade i difuzije u pljuvačku posredstvom koje deluju na sluzokožu usne duplje (11-14). Količina potencijalno toksičnih supstanci u akrilatnom materijalu je različita i zavisi od tipa i vremena polimerizacije (11, 15-17).

Testiranje bioloških osobina u uslovima in vitro omogućava komparaciju različitih akrilata dostupnih na tržištu, a samim tim i lakši izbor materijala i polimerizacionog postupka u svakodnevnom radu sa pacijentima. Kontakt između

ćelijske kulture i ispitivanog materijala ostvaruje se direktnim i indirektnim putem, posredstvom ekstrakata (18). U slučaju direktnog kontakta, citotoksičnost se meri stopom ćelijske smrti u funkciji vremena ekspozicije i udaljenosti od uzorka koji je u čvrstom agregatnom stanju (19). Najčešće komplikacije in vitro testova sa direktnim kontaktom su bakterijska kontaminacija kulture i mehaničko oštećenje ćelija neposrednim dodiranjem sa materijalom (19,20).

Cilj istraživanja bio je ispitivanje citotoksičnog efekta različitih akrilatnih stomatoprotetskih materijala testom direktnog kontakta sa ćelijskom kulturom.

Materijal i metode

Ispitivani materijal

Ispitivani materijal je obuhvatio tri tvrda i tri meka akrilata koji se koriste u stomatološkoj protetici za izradu i readaptaciju mobilnih zubnih nadoknada. U istraživanju su korišćeni hladno, toplo i svetlosno polimerizovani akrilati (Tabela 1).

Napravljeno je po 6 uzoraka svakog ispitivanog akrilatnog materijala, čiji je oblik i veličina odgovarala polovini dna pojedinačnog polja na ploči za kultivaciju sa 48 mesta (polukrug prečnika 1 cm). Materijal je na ploču za kultivaciju nanošen u testastom stanju, tako da se njegovo definitivno vezivanje obavljalo unutar pojedinačnih polja. Uzorci toplo polimerizovanih akrilata polimerizovani su pre unošenja u polja ploče za kultivaciju ćelija (Slika 1). Modeli uzoraka prvobitno su napravljeni u stomatološkom roze vosku (Vomogal-S, Galenika, Srbija). Uzorci za ispitivanje izrađivani su neposredno pred početak svakog od eksperimenata, kako bi se izbegle promene nastale eventualnim starenjem materijala.

Tabela 1. Ispitivani akrilatni stomatoprotetski materijali

Ispitivani materijal	Proizvođač	Vrsta akrilata	Sastav	
			prah	tečnost
Bosforth Trusoft	HG Bosworth Company USA	meki hladno polimerizovani akrilat	poli(etil metakrilat)	etil alkohol, butil benzil phthalate
Lang Flexacryl	Lang Dental MFG.Co. USA	meki hladno polimerizovani akrilat	poli(etil metakrilat)	n-butil metakrilat
Lang Immediate	Lang Dental MFG.Co. USA	meki hladno polimerizovani akrilat	poli(etil metakrilat)	metil metakrilat
Lucitone 199	Dentsply International Inc. USA	svetlosno polimerizovani akrilat	poli(metil metakrilat)	metil metakrilat
Triplex Cold	Ivoclar Vivadent, Lihtenštajn	tvrdi hladno polimerizovani akrilat	poli(metil metakrilat)	metil metakrilat etilen glikol dimetil metakrilat
Triplex Hot	Ivoclar Vivadent, Lihtenštajn	toplo polimerizovani akrilat	poli(metil metakrilat)	metil metakrilat etilen glikol dimetil metakrilat



Slika 1. Polimerizacija uzoraka topopolimerizovanog akrilata u standardnoj metalnoj kiveri (Changsha Zhongbang Medical Instruments Co., China)

HeLa ćelijska kultura

Korišćena je HeLa ćelijska linija održavana u hranljivom medijumu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Minimal Essential Medium, PAA Laboratories GmbH) obogaćenom dodatkom l-glutamina, penicilin-streptomocina (100 IU/ml) i 10% fetalnog goveđeg seruma (FBS). Svaki rad sa ćelijama obavljan je u vertikalnoj sterilnoj komori (Bioair Instruments, Italija). Ćelijska kultura održavana je u inkubatoru (Binder, Nemačka), u atmosferi zasićenoj vodenom parom, sa 5% CO₂, na temperaturi od 37°C.

Ekperimentalni dizajn

Ploča za kultivaciju sa 48 polja sa uzorcima ispitivanih akrilatnih materijala sterilisana je u vertikalnoj komori jednodnevnim dejstvom UV zraka (21).

U svako pojedinačno polje sađeno je po 104 ćelija u 100 µl hranljivog medijuma, nakon čega je sledila jednodnevna inkubacija ćelija i materijala u atmosferi zasićenoj vodenom parom, sa 5% CO₂ na 37°C.

Kontrolnu grupu činile su ćelije uzgajane bez prisutnog materijala. Nakon mikroskopske analize urađen je MTT test, bez prethodnog uklanjanja uzoraka materijala.

Svetlosno mikroskopska analiza

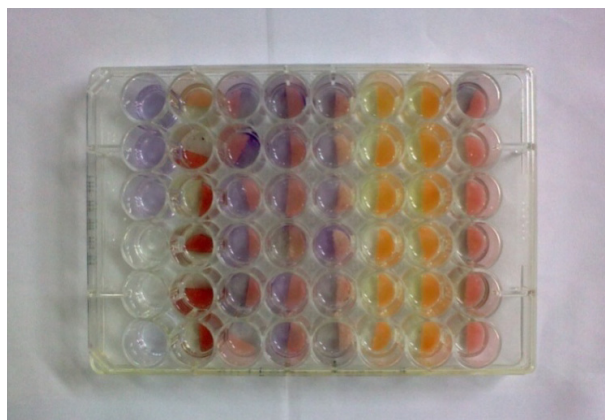
Vijabilnost, gustina i epitelna organizacija HeLa ćelija opservirane su pod invertnim mikroskopom (Observer Z1, Carl Zeiss, Nemačka).

Gustina ćelija određivana je brojanjem u tri vertikalno postavljena kvadranta vidnog polja za svako pojedinačno mesto sa ispitivanim uzorkom i kontrolnu grupu. Ćelije sa promenjenim fenotipom odvojene od podloge brojane su kao mrtve.

S obzirom da je ispitivani materijal zauzimao četvrtinu svakog od opserviranih kvadranta vidnog polja, gustina ćelija u kontrolnoj grupi predstavljena je kao 75% njenog ukupnog ćelijskog rasta.

MTT test

U vijabilnim ćelijama aktivan je enzim sukcinat-dehidrogenaza koji je sastavni deo mitohondrijalnog respiratornog lanca. Pomenuti enzim redukuje žutu tetrazolijumovu so - MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2)-2,5-difeniltetrazolijum bromid) do formazana, jedinjenja plave boje koje se u vidu kristala taloži u ćelijama. Liziranje membrane je izopropanolom, formazan je rastvara. Postoji direktna proporcionalnost između broja vijabilnih ćelija i intenziteta plave boje (Slika 2).



Slika 2. U MTT testu postoji direktna proporcionalnost između broja živih ćelija i intenziteta plave boje

Medijum u kome su inkubirane ćelije izvučen je po završetku inkubacije, ćelije su isprane sa 100 μ l PBS-a (fosfatna puferisana so) i dodato im je po 20 μ l MTT-a. Nakon 4h inkubacije na 37°C, nastali kristali formazana rastvoreni su sa 100 μ l izopropanola. Spektrofotometrijsko merenje intenziteta redukcije MTT-a vršeno je na optičkoj gustini od 540 nm, na višekanalnom fotometru (Multiskan Ascent No354, Thermo Labsystems, Finska).

Interpretacija rezultata

Kvantitativne promene u ćelijskoj proliferaciji predstavljene su opisno: necitotoksični (>90%), blago citotoksični (60-90%), umereno citotoksični (30-59%), ozbiljno citotoksični (<30% vijabilnosti i rasta ćelija u odnosu na kontrolu) (22). S obzirom na jednodnevnu inkubaciju, rezultati su prezentirani kao procenat vijabilnosti i proliferacije ćelijske kulture ispitivanih grupa u odnosu na kontrolu. S obzirom da su HeLa epitelne, adherentne ćelije, smanjenje adherentnog fenotipa smatralo se znakom toksičnog efekta.

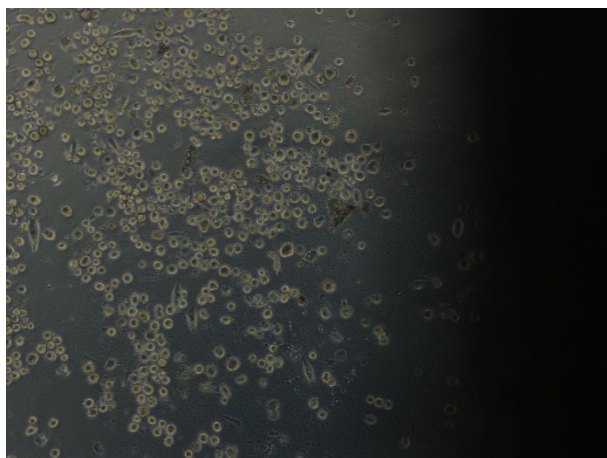
Za vrednosti dobijene MTT testom obavljena je statistička analiza citotoksičnosti ispitivanih materijala u poređenju sa kontrolnim testiranjem i uzorcima međusobno. Korišćena je ANOVA ($p < 0,05$) i Post Hoc analiza.

Vijabilnost i proliferacija ćelija netretirane kontrolne grupe predstavljene su kao 100% rasta ćelija.

Rezultati

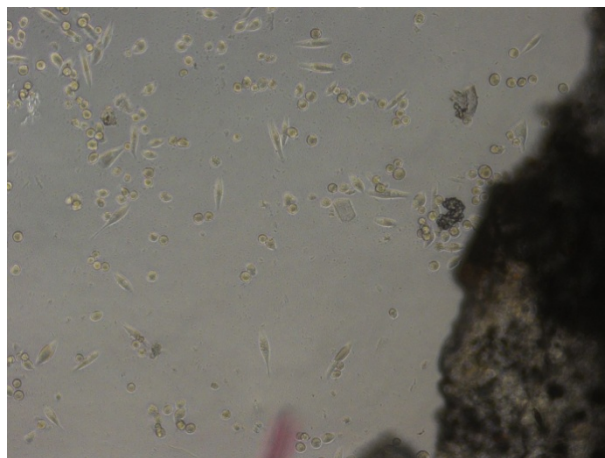
Na slikama 3-6 prikazana je ćelijska vijabilnost, proliferacija i epitelna organizacija u neposrednom kontaktu sa uzorcima ispitivanih materijala. Može se uočiti da u blizini materijala ćelije menjaju oblik. Okrugle ćelije odvojene od podloge sagledavane su kao mrtve.

Srazmerno udaljavanju od uzorka materijala raste gustina HeLa ćelija i one se organizuju u gomilice karakteristične za epitelno tkivo.

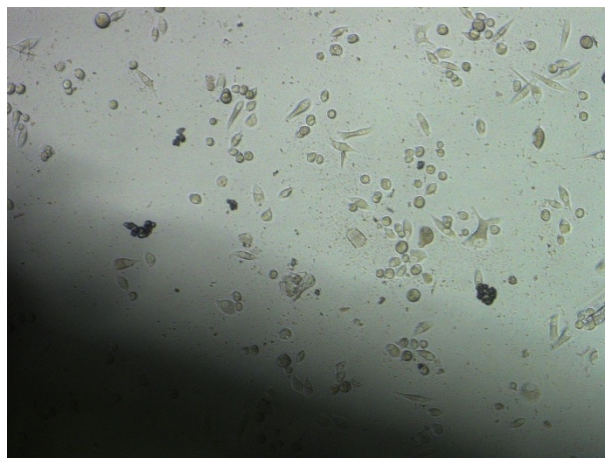


Slika 3. Rast i epitelna organizacija HeLa ćelija u prisustvu uzorka Bosworth Trusoft (uveličanje $\times 20$)

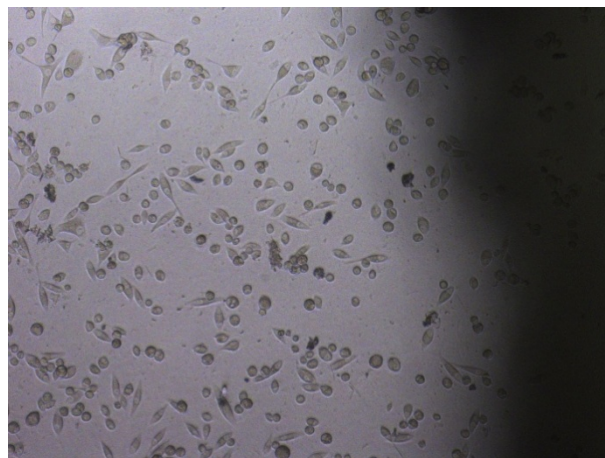
Na Grafikonu 1 prikazan je procenat živih HeLa ćelija kultivisanih u kontaktu sa uzorcima ispitivanih akrilatnih materijala, u odnosu na kontrolu. Kontrola je predstavljena kao 75% ukupnog rasta ćelija.



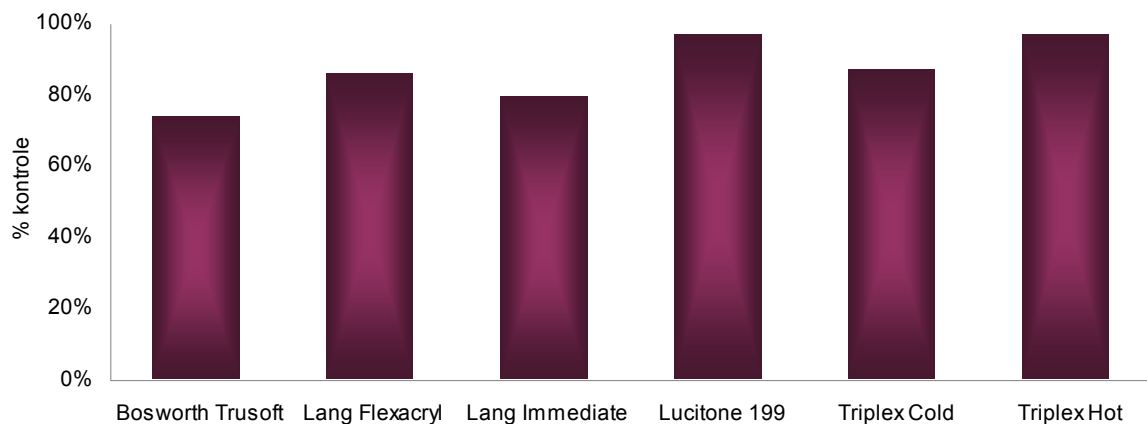
Slika 4. Rast i epitelna organizacija HeLa ćelija u prisustvu uzorka Lucitone 199 (uveličanje $\times 20$)



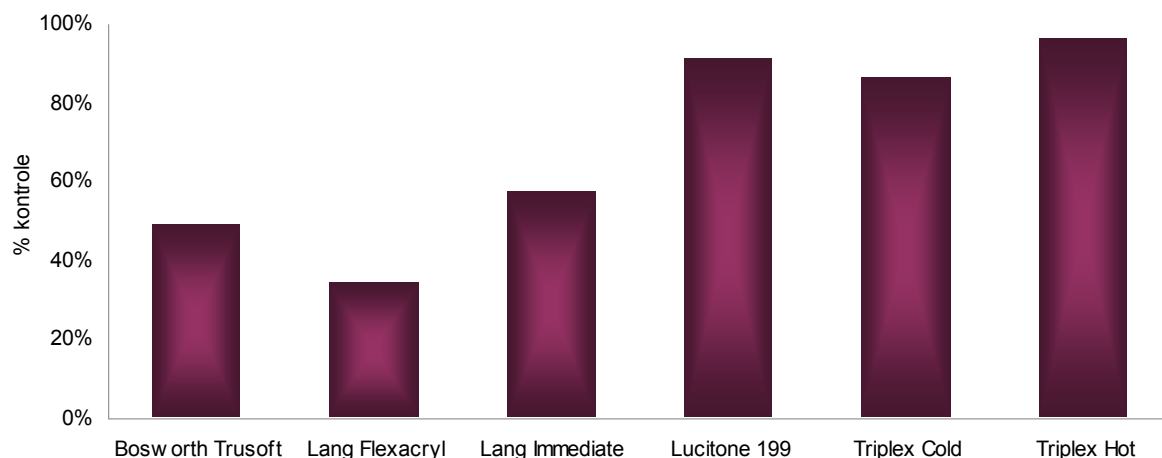
Slika 5. Rast i epitelna organizacija HeLa ćelija u prisustvu uzorka Triplex Cold (uveličanje $\times 20$)



Slika 6. Rast i epitelna organizacija HeLa ćelija u prisustvu uzorka Triplex Hot (uveličanje $\times 20$)



Grafikon 1. Procenat živih ćelija u odnosu na kontrolu, nakon jednodnevnog direktnog kontakta sa akrilatnim materijalima



Grafikon 2. Procenat epitelne organizacije HeLa ćelija u odnosu na kontrolu, nakon jednodnevnog direktnog kontakta sa akrilatnim materijalima

Tabela 2. Procenat intenziteta redukcije MTT-a ispitivanih akrilatnih materijala u odnosu na kontrolu

Ispitivani materijal	N	X	±	SD	Cv	SE	95	%	CI	Min	Max
Bosworth Trusoft	6	78,71	±	8,72	11,08	3,56	69,56	-	87,85	90,71	11,08
Lang Flexacryl	6	98,42	±	22,72	23,08	9,27	74,58	-	122,26	118,58	23,08
Lang Immediate	6	79,94	±	15,05	18,82	6,14	64,15	-	95,73	105,24	18,82
Lucitone 199	6	96,35	±	7,04	7,31	2,88	88,95	-	103,74	106,13	7,31
Triplex Cold	6	96,40	±	13,80	14,31	5,63	81,91	-	110,88	120,95	14,31
Triplex Hot	6	* 99,70	±	9,51	9,54	3,88	89,73	-	109,68	110,57	9,54

* - $p < 0,05$ vs Bosworth Trusoft

Na Grafikonu 2 prikazan je stepen epitelne organizacije HeLa ćelijske kulture, u neposrednom prisustvu uzoraka akrilatnih materijala, u odnosu na kontrolu. Kontrola je predstavljena kao 75% ukupnog epitelnog grupisanja HeLa ćelija.

Dobijene vrednosti MTT testa ukazuju na zavisnost procenta ćelijske vijabilnosti i proliferacije u odnosu na vrstu akrilatnog materijala (ANOVA, $p < 0,05$). Tamhaneovim testom u Post Hoc analizi utvrđeno je da je intenzitet redukcije MTT-a za ispitivane uzorke Triplex Hot najviši, pri čemu statistička značajnost postoji u odnosu na uzorke Bosworth Trusoft.

Vrednost intenziteta MTT-a za uzorke Bosworth Trusoft materijala je najniža, a Tamhaneovim testom je utvrđeno da je u odnosu na ispitivani Lucitone 199 ta razlika veoma blizu praga statističke značajnosti ($p = 0,0505$).

U Tabeli 2 prikazan je intenzitet redukcije MTT-a u zavisnosti od vrste ispitivanog akrilatnog materijala.

Diskusija

Testovi ćelijske kulture su od izuzetnog značaja za razumevanje biološkog ponašanja

materijala. Ograničenja ovakvih ispitivanja su, pre svega, nemogućnost simuliranja in vivo situacije, kao i teškoće u izvođenju verodostojnih zaključaka iz dobijenih rezultata. Zato i predstavljaju inicijalnu ili screening metodu ispitivanja biokompatibilnosti novih materijala, ali i onih koji su već u kliničkoj upotrebi.

Potencijalno toksičan efekat akrilata sagledan je direktnim kontaktom ispitivanih materijala i ćelija u kulturi. HeLa ćelije se mogu smatrati analogima epitelnih ćelija oralne sluzokože što je, pored mogućnosti njihovog uspešnog kultivisanja u laboratorijskim uslovima i lakog umnožavanja, razlog za njihov izbor u ovom istraživanju. Ćelije su sađene direktno na uzorcima, što se pokazalo najefikasnijom metodom ispitivanja materijala u uslovima in vitro. Ćelijska reakcija, u tom slučaju, ne reflektuje samo citotoksični odgovor tkiva, već zavisi i od osobina površine materijala (19).

U blizini materijala ćelije su menjale oblik. Okrugle ćelije odvojene od podloge sagledavane su kao mrtve. Srazmerno udaljavanju od uzorka materijala raste gustina HeLa ćelija i one se organizuju u gomilice karakteristične za epitelno tkivo. Na osnovu rezultata dobijenih brojanjem evidentno je da je efekat mekih akrilata i Triplex Cold na HeLa ćelijsku kulturu blago citotoksičan, tj. da prisustvo ovih materijala prvog dana nakon kliničke aplikacije dovodi do smanjenja proliferacije epitelnih ćelija (73-87%). S druge strane, materijali Lucitone 199 i Triplex Hot nakon testa direktnog kontakta mogu biti označeni kao netoksični (97%).

S obzirom da je epitelno povezivanje ćelija karakteristika HeLa kulture, svako odstupanje od normalne fenotipske organizacije moglo bi se smatrati negativnim uticajem aplikovanog materijala. Najmanji procenat grupisanja HeLa ćelija uočen je u direktnom kontaktu kulture sa mekim akrilatima (35-60%). Prisustvo hladno polimeri-

zovanog Triplex Cold (85%) pokazalo je nešto niži stepen ćelijske organizacije u odnosu na svetlosno polimerizovani Lucitone 199 (92%). Najveći stepen epitelne organizacije uočen je u slučaju ispitivanog Triplex Hot (96%), što govori u prilog njegove zanemarljive citotoksičnosti.

Rast ćelija u kulturi prikazan je i intenzitetom redukcije MTT-a. Dobijene vrednosti MTT-a ukazuju na zavisnost ćelijske proliferacije od vrste akrilatnog stomatoprotetskog materijala. Najniže vrednosti pokazao je Bosworth Trusoft, a najviše Triplex Hot. Odlične biološke karakteristike Triplex Hot mogu se pripisati i njegovoj ravnoj površinskoj strukturi i minimalnoj poroznosti (16). Dobijeni rezultati u saglasnosti su sa rezultatima in vitro ispitivanja potencijalne toksičnosti akrilata testom indirektnog kontakta sa kulturom (22-29). Suprotno, in vitro ispitivanja Huang i sar. i Melilli i sar. su potvrdila veću toksičnost toplo u odnosu na svetlosno polimerizovane akrilate (30,31). Hladno polimerizovani Triplex Cold imao je veći inhibitorski potencijal u poređenju sa toplo i svetlosno polimerizovanim akrilatima, što je u saglasnosti sa rezultatima drugih grupa autora (28,29,32,33). Rezultati istraživanja govore o većem inhibitorskom efektu mekih akrilata u odnosu na ostale ispitivane grupe, što je u korelaciji sa nalazima Okita i sar. (34). Veća citotoksičnost hladno polimerizovanih akrilata može se objasniti njihovom slabijom polimerizacijom i poroznijom strukturom (35,36).

Zaključak

Stomatoprotetski akrilati mogu se smatrati biokompatibilnim materijalima, što opravdava njihovu svakodnevnu upotrebu u kliničkoj praksi. Hladno polimerizovani akrilati pokazali su toksičniji efekat na ćelijsku kulturu u odnosu na toplo i svetlosno polimerizovane akrilate.

Literatura

1. Krunic N, Kostić M, Anđelković M. Akrilati-još uvek nezamenjivi materijali u stomatološkoj protetici. *Acta Stomatol Naissi*. 2007 ; 23(56): 747-52.
2. Strang R, Whitters CJ, Brown D, Clarke RL, Curtis RV, Hatton PV, et al. Dental materials: 1996 literature review. Part 2. *J Dent*. 1998 ; 26(4): 273-91. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Frazer RQ, Byron RT, Osborne PB, West KP. PMMA: an essential material in medicine and dentistry. *J Long Term Eff Med Implants*. 2005 ; 15(6): 629-39. [[PubMed](#)]
4. Veličković S, Stamenković D. Polimerni materijali u stomatologiji. In: Stamenković D i sar, editors. *Gradivni stomatološki materijali (dostignuća i perspektive)*. Beograd: Stomatološki fakultet; 2007. Serbian.
5. Freitas JB, Gomez RS, De Abreu MH, Ferreira E, Ferreira E. Relationship between the use of full dentures and mucosal alterations among elderly Brazilians. *J Oral Rehabil*. 2008 ; 35(5): 370-4. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. LeSueur BW, Yiannias JA. Contact stomatitis. *Dermatol Clin*. 2003 ; 21(1): 105-14. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Sadoh DR, Sharief MK, Howard RS. Occupational exposure to methyl methacrylate monomer induces generalised neuropathy in a dental technician. *Br Dent J*. 1999 ; 186(8): 380-1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Davis CC, Squier CA, Lilly GE. Irritant contact stomatitis: a review of the condition. *J Periodontol*. 1998 ; 69(6): 620-31. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Phoenix RD, Mansueto MA, Ackerman NA, Jones RE. Evaluation of mechanical and thermal properties of commonly used denture base resins. *J Prosthodont*. 2004 ; 13(1): 17-27. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Wataha JC, Lockwood PE, Bouillaguet S, Noda M. In vitro biological response to core and flowable dental restorative materials. *Dent Mater*. 2003 ; 19(1): 25-31. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Kostić M, Krunic N, Nikolić L, Nikolić V, Najman S, Kocić J. [Residual monomer content determination in some acrylic denture base materials and

- possibilities of its reduction]. *Vojnosanit Pregl.* 2009 ; 66(3): 223-7. [\[PubMed\]](#)
12. Koda T, Tsuchiya H, Hoshino Y, Takagi N, Kawano J. High-performance liquid chromatographic estimation of eluates from denture base polymers. *J Dent.* 1989 ; 17: 84-9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 13. Lamb DJ, Ellis B, Priestley D. Loss into water of residual monomer from autopolymerizing dental acrylic resin. *Biomaterials.* 1982 ; 3: 155-9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 14. Vallittu PK, Miettinen V, Alakuijala P. Residual monomer content and its release into water from denture base materials. *Dent Mater.* 1995 ; 11(6): 338-42. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 15. Krunic N, Nikolic Lj, Kostic M, Najman S, Nikolic V, Najdanovic J. In vitro examination of oral tissue conditioners potential toxicity. *Chem Ind.* 2011 ; 65(6): 697-706.
 16. Kostic M, Krunic N, Nikolic Lj, Nikolic V, Najman S, Kostic I, Rajkovic J, Manic M, Petkovic D. Influence of residual monomer reduction on acrylic denture base resins quality *Chem Ind.* 2011 ; 65(2): 171-7.
 17. Bartoloni JA, Murchison DF, Wofford DT, Sarkar NK. Degree of conversion in denture base materials for varied polymerization techniques. *J Oral Rehabil.* 2000 ; 27(6): 488-93. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 18. Dee KC, Puleo DA, Bizios R. Wound healing. In: *An introduction to tissue-biomaterial interactions.* Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc.; 2002. p.165-214. [\[CrossRef\]](#)
 19. Polyzois GL. In vitro evaluation of dental materials. *Clin Mater.* 1994 ; 16(1): 21-60. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 20. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials--advantages and limitations. *J Dent.* 1994 ; 22 Suppl 2: S6-11. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 21. Moharamzadeh K, Brook IM, Van Noort R. Biocompatibility of Resin-based Dental Materials. *Materials.* 2009 ; 2(2): 514-48. [\[CrossRef\]](#)
 22. Nakamura M, Kawahara H. Long-term biocompatibility test of denture base resins in vitro. *J Prosthet Dent.* 1984 ; 52(5): 694-9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 23. Dahl JE, Frangou-Polyzois MJ, Polyzois GL. In vitro biocompatibility of denture relining materials. *Gerodontology.* 2006 ; 23(1): 17-22. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 24. Jorge JH, Giampaolo ET, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Biocompatibility of denture base acrylic resins evaluated in culture of L929 cells, Effect of polymerisation cycle and post-polymerisation treatments. *Gerodontology.* 2007 ; 24(1): 52-7. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 25. Campanha NH, Pavarina AC, Giampaolo ET, Machado AL, Carlos IZ, Vergani CE. Cytotoxicity of hard chairside relined resins: effect of microwave irradiation and water bath postpolymerization treatments. *Int J Prosthodont.* 2006 ; 19(2): 195-201. [\[PubMed\]](#)
 26. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Cytotoxicity of denture base resins: effect of water bath and microwave post polymerization heat treatments. *Int J Prosthodont.* 2004 ; 17(3): 340-4. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 27. Vallittu PK, Ekstrand K. In vitro cytotoxicity of fibre-polymethyl methacrylate composite used in dentures. *J Oral Rehabil.* 1999 ; 26(8): 666-71. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 28. Lefebvre CA, Knoernschild KL, Schuster GS. Cytotoxicity of eluates from light-polymerized denture base resins. *J Prosthet Dent.* 1994 ; 72(6): 644-50. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 29. Kostic M, Najman S, Kocić J, Krunic N, Ajduković Z, Petrović D, Anđelković M. Efekat ekstraktata akrilata za bazu pločaste zubne proteze na rasta HeLa ćelija in vitro. *Hemijska industrija.* 2008 ; 62(3): 217-22.
 30. Huang FM, Tai KW, Hu CC, Chang YC. Cytotoxic effects of denture base materials on a permanent human oral epithelial cell line and on primary human oral fibroblasts in vitro. *Int J Prosthodont.* 2001 ; 14(5): 439-43. [\[PubMed\]](#)
 31. Melilli D, Curro G, Perna AM, Cassaro A. Cytotoxicity of four types of resins used for removable denture bases: in vitro comparative analysis. *Minerva Stomatologica.* 2009 ; 58(9): 425-34. [\[PubMed\]](#)
 32. Gough JE, Downes S. Osteoblast cell death on methacrylate polymers involves apoptosis. *J Biomed Mater Res.* 2001 ; 57(4): 497-505. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 33. Cimpan MR, Matre R, Cressey LI, Tysnes B, Lie SA, Gjertsen BT, Skaug N. The effect of heat- and auto-polymerized denture base polymers on clonogenicity, apoptosis, and necrosis in fibroblasts: denture base polymers induce apoptosis and necrosis. *Acta Odontol Scand.* 2000 ; 58(5): 217-28. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 34. Okita N. In vitro cytotoxicity of tissue conditioners. *J Prosthet Dent.* 1991 ; 66: 656-9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 35. Bayraktar G, Guvener B, Bural C, Uresin Y. Influence of polymerization method, curing process, and length of time of storage in water on the residual methyl methacrylate content in dental acrylic resins. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2006 ; 76(2): 340-5. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
 36. Lung CY, Darvell BW. Methyl methacrylate monomer-polymer equilibrium in solid polymer. *Dent Mater.* 2007 ; 23(1): 88-94. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

APPLICATION OF DIRECT CONTACT TEST IN EVALUATION OF CYTOTOXICITY OF ACRYLIC DENTURE BASE RESINS

Milena Kostić, Stevo Najman, Jelena Najdanović, Nebojša Krunić and Ivan Kostić

The use of acrylic denture base resins is widely spread in dental practice. They belong to the group of biomaterials due to their role of morphological and functional substituent in the mouth. However, clinical practice has shown that some toxic ingredients of these materials may lead to adverse local and even systemic changes.

The aim of the study was to evaluate cytotoxic effect of various denture base resins on cell culture using direct contact test.

The effect of four different acrylic materials on HeLa cell structure was evaluated. Upon light microscopy analysis, MTT test was performed without previous removal of material samples.

The obtained values of MTT indicate that cell proliferation is dependant on the type of acrylic denture base resins. Cold polymerization denture base resins showed mild inhibitory effect on the cell culture growth. The signs of toxicity were not observed in heat polymerization denture base resins. *Acta Medica Medianae 2012; 51(1):66-72.*

Key words: *acrylic denture base resins, direct contact test, HeLa cells*