

Ispitivanje biokompatibilnosti materijala na bazi polimetil metakrilata implantiranih u koštano tkivo

SGS YU ISSN 0039-1743-
COBISS. SR-ID 8417026

Biocompatibility of Pmma-based Material Implanted in Bone Tissue

KRATAK SADRŽAJ

Cilj ovog rada je bio da se ispita efekt materijala za punjenje kanala na bazi PMMA na koštano tkivo laboratorijskih životinja. U femoralnu kost laboratorijskih pacova Wistar soja implantirane su paste za opturaciju kanala SEALAPEX (Kerr, Romulus, USA), AH-26(DeTrey, Zurich, Switzerland) i SPONGIO CEMENT preparat na bazi polimetilmetakrilat(PMMA)-(Tomić, 1981, US PATENT 4296209). Kao kontrolni materijal korišten je stomatološki roze vosak. Životinje su žrtvovane nakon 60 dana, a materijal je pripreman za patohistološka istraživanja standardnom tehnikom i bojen hematoksiline-ozinom. Mikroskopski nalaz je pokazao da je Spongio cement u direktnom kontaktu sa zrelom košću. Paste Ah-26 i Sealapex implantirane u koštano tkivu su okruženi zapaljenskim infiltratom. Roze vosak je okružen kapsulom ožiljnog vezivnog tkiva. Ovaj nalaz ukazuje na biokompatibilnost materijala na bazi polimetil metakrilata(PMMA).

Ključne reči: biokompatibilnost, polimetil metakrilat, inflamacija, koštano tkivo.

**Branislav Karadžić¹, S. Bojović²,
Radojica Dražić³**

Stomatološki fakultet, Beograd,

¹ Klinika za bolesti zuba

² Institut za patologiju

³ Klinika za oralnu hirurgiju

ORIGINALNI RAD (OR)

Stom Glas S, 2004; 51:183-187

Ispitivanja biokompatibilnosti dentalnih materijala najčešće su bazirana na ispitivanjima njihove citotoksičnosti u in vitro uslovima (na kulturi tkiva i ćelija) i in vivo, tj. njihovim implantiranjem u meko i čvrsto tkivo eksperimentalnih životinja¹.

Ova ispitivanja dentalnih materijala su obavezna prilikom uvođenja novih materijala u praksu kako bi se ocenila njihova biološka prihvatljivost na živa tkiva. Testovi histokompatibilnosti ne mogu u potpunosti zameniti klinička istraživanja, ali mogu ukazati na neka opšta svojstva određenih materijala pre njihovog uvođenja u kliničku praksu.¹

Materijali za punjenje kanala korena često u sebi sadrže hemijske komponente koje se oslobađaju u toku vezivanja, i neposredno posle unošenja, a koje mogu nadražajno uticati na periapeksno tkivo. Tako preparati na bazi cink oksida sadrže kao iritativnu komponentu eugenol. Međutim pasta N2 i Endomethasone u sebi sadrži i paraformaldehid koji takođe deluje iritativno. Paste Ah-26 sadrže u tečnom delu epoksi bis fenoličnu smolu, koja se polimerizuje u prisustvu meten amina iz praha, a u toku vezivanja oslobađa i form aldehid, koji mogu imati nadražajno dejstvo na tkivo^{2,3,4,5,6,7,23}.

Podaci o primeni akrilatnih smola u endodontskoj terapiji su vrlo oskudni. Tako Smith⁸ i Zmener⁹, McComb

i sar.¹⁰ definitivno pune kanale cijan akrilnim cementom, i dokazuju da je atezija ovog materijala za dentin značajno jača od ostalih silera. U toku punjenja kanala korena, oni prebacuju manju količinu materijala u periapeks, ali ne zapažaju nikakve štetne efekte na periapeksno tkivo. Torabinejad i sar.¹¹ i Barkhordar i sar.¹² predlažu cijanakrilatne cimente za kanalna i retrogradna punjenja kanala, zbog njihove biokompatibilnosti.

Pored cijanakrilnog cementa u literaturi se nalazi takozvana poly-HEMA (Hydron, NPD dental systems INC, New Brunchwire, NY), u vidu hidrofilnog gela (poly-2-hidroxy etyl metacrylate). Ovaj materijal prebačen u periapeks ne pokazuje nikakve toksične efekte, ali pokazuje izvestan antibakterijski efekat^{13,14,15,16,17,18}. Ahlberg i Ty¹⁹, koristeći materijal na bazi polietil metakrilata za punjenje kanala korena ukazuju na njegovu histokompatibilnost i osteoinduktivnost i činjenicu da potpomaže reparaciju obolelog periapeksnog tkiva.

Osnovni cilj preduzetih eksperimentalnih istraživanja bio je da se prouči i analizira odgovor koštanog tkiva laboratorijskih pacova na implantirani preparat na bazi PMMA, „Spongio cement“ (US pat. 4296209, Tomić, 1981.) i uporedi sa efektima najčešće korišćenih sredstava za opturaciju kanala korena pasti AH-26 i Sealapeks.

Materijal i metod

Istraživanja histokompatibilnosti materijala za opturaciju kanala korena obavljena su na 24 eksperimentalne životinje, laboratorijskim homozigotnim pacovima muškog pola Wistar soja.

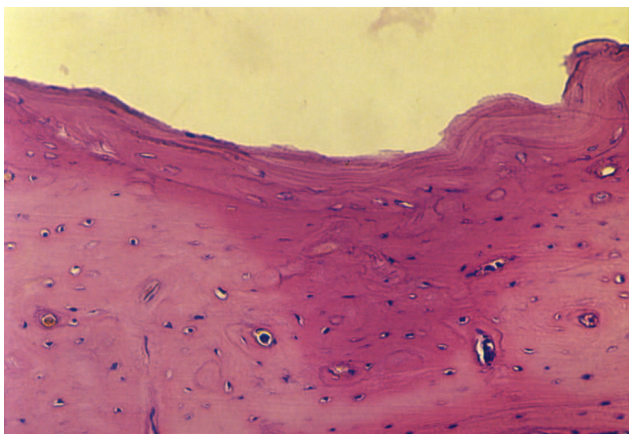
U istraživanju su korišćeni materijali:

- Spongio cement (US pat. 4296209, Tomić, 1981.),
- Ah-26 (DeTrey, AG Zürich),
- Sealapex (KERR, MFG Co, Romulus, Mich.).

Sterilni stomatološki Roze vosak korišćen je kao kontrolni materijal.

U svakoj grupi bilo je po četiri životinje, a eksperimentalni observacioni period od 60 dana.

Eksperimentalne životinje su najpre uvođene u opštu anesteziju Nesdonalom, intraperitonealno, u dozi od 5mg na 100g telesne težine. Nakon fiksiranja životinje na operativnoj daščici, koža na butu desne noge je obrijana, a operaciono polje dezinfikovano jodnom tinkturom. Potom je urađena incizija na koži u dužini oko 3cm, skalpelom u pravcu butne kosti i to od zgloba kuka prema kolenu. Pristup butnoj kosti je vršen kroz međufascijalni prostor, tj. žleb n. ishiadicusa, koji čine biceps femoris i m. semi-membranosus i identifikovana je butna kost. Na spoljnoj strani butne kosti okruglim borerom br. 2, uz stalno hlađenje fiziološkim rastvorom, napravljena je preparacija dubine 1 – 1,5 mm, prečnika oko 2 mm, vodeći računa da se ne uđe u koštanu srž (Slika 1). Ispitivani materijali su posebnim špricem unošeni u defekt, a zatvaranje rane je obavljano ušivanjem periosta, fascija i mišića, resorptivnim koncem, a zatim i kože, pojedinačnim šavovima.



Slika 1. Mesto kontakta materijala na bazi PMMA sa novostvorenom kosti. (HE, x 60)

Figure 1. Contact of the PMMA-based material with the newly formed bone tissue

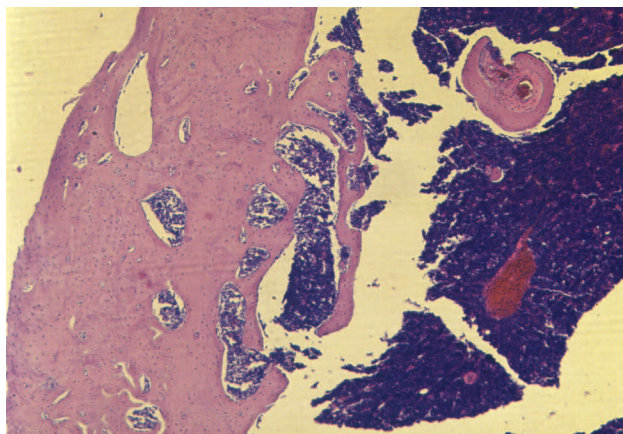
Nakon eksperimentalnog perioda od 30 i 60 dana, životinje su žrtvovane dekapitacijom. Uklonjene su butne kosti desne noge i deo m. biceps femorisa iz leve noge, u koje je implantiran materijal. Kost su fiksirani neutralnim 7% formalinom. Materijal je pripreman za patohistološka istraživanja standardnom tehnikom. Koštano tkivo je dekalcifikovano u mravljoj kiselini i natrijum citratu. Standardni parafinski blokovi sečeni su na mikrotomu, debljine 4 do 7 μ . Isečci su bojeni standardnom metodom sa Mayer hematoksilin eozinom (H&E). us. Dobijeni rezultati procenjivani su na osnovu prisustva ili odsustva reakcije čvrstog tkiva na strano telo na periferiji koštano i defekta u kontaktu sa implantiranim materijalom. U ovakvo postavljenom eksperimentu biokompatibilnost se ispoljava prisustvom novonastalih koštanih gredica u direktnom kontaktu sa ispitivanim materijalom. Nalaz inflamatornog infiltrata, fibroplazije i granulacija ukazuje da materijal nije histokompatibilan (Minić i sar, 1987).

Rezultati

Dobijeni rezultati prikazani su na slikama 1-4.

Mikroskopski pregled defekta butne kosti u kome je bio Spongio cement pokazuje da je ovaj materijal u direktnom kontaktu sa novostvorenom zreloom lamelarnom kosti (Slika 1)

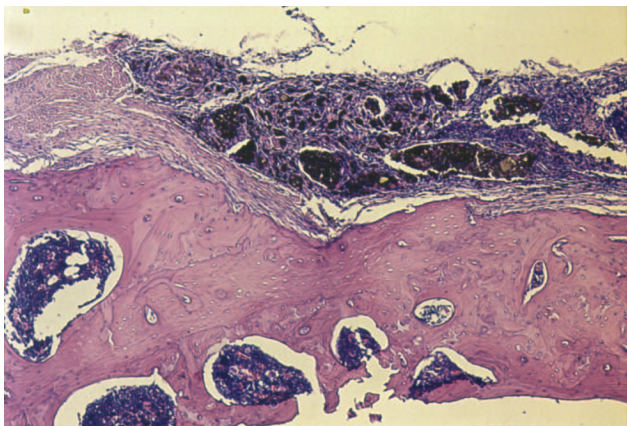
Pasta AH-26 u koštanom defektu butne kosti pacova pokazuje umnožene sitne krvne sudove, zapaljenski infiltrat, a defekt je delimično ispunjen koštanim gredicama.



Slika 2. Kod impalantiranja paste AH-26 u kosti se nalaze umnoženi krvni sudovi, uz prisutan zapaljenski infiltrat (HE, x130).

Figure 2. After implanting AH26 paste there are multiplied blood vessels and inflammation infiltrate

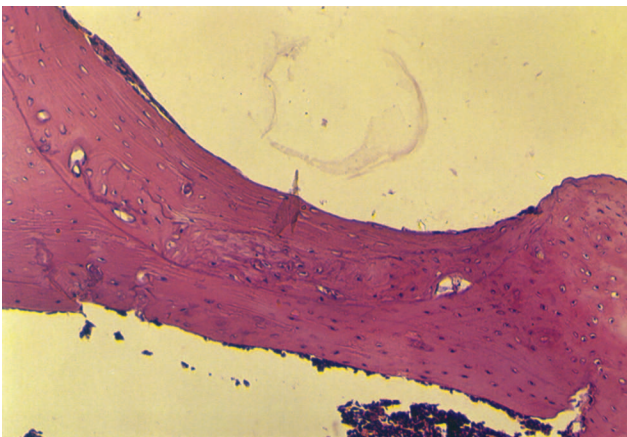
Pasta Sealapeks implantirana u butnu kost nakon 60 dana je okružena hroničnom granulomatoznom reakcijom tipa stranog tela. Defekt je delimično popunjen koštanim tkivom (Slika 3)



Slika 3. Novostvorena kost, sa granulomatoznom reakcijom oko materijala. (HE, x20).

Figure 3. Newly formed bone tissue, with granulomatous reaction around the material

Koštani defekt ispunjen voskom na periferiji pokazuje zrelu lamelarnu kost, a neposredno oko njega nalazi se sloj ožiljnog vezivnog tkiva



Slika 4. Novostvorena kost na mestu implantacije materijala, sa jasnom granicom ka staroj kosti i zrelim fibrozim tkivom na kontaktu sa materijalom (HE, x40)

Figure 4. Newly formed bone tissue at the site of material implantation, with the distinctive border towards the old bone and mature fibrous tissue in contact with material

Diskusija

Ispitivanja reakcije koštanog tkiva preduzeto je u cilju utvrđivanja reakcije ovih tkiva na implantiran materijal. Prema nalazima ovog istraživanja pasta Ah-26 u koštano tkivu izaziva zapaljenje tkiva, što predstavlja posledicu nadražajnog dejstva materijala i njegovih sastavnih komponenti (meten amin, paraform aldehid)²⁰. Takođe i nakon implantacije Sealapexa uočava se izražen nalaz zapaljenskog infiltrata stvaranje jasno vidljivog osteoida u proširenim Haverzovim kanalima.^{21,22,23}

Implantacija Spongio cementa u koštana tkiva pacova pokazuje direktan kontakt materijala sa novostvorenom zreloom kosti, a ovo potvrđuju nalazi drugih autora^{24,25,26,27,28}.

Istraživanje Lindena, Heeley-a i Tomića²⁶ pokazuje da reparacija periapexne kosti pacova počinje već petog dana po unošenju Spongio cementa, znatno ranije nego kod drugih materijala (Ah-26, N2, Hydron, ZOE). Unesen u koštano tkivo Spongi cement pokazuje najmanje oštećenje i najbržu reparaciju periapexnog tkiva pacova. Linder²⁰ takođe posle 10 dana od unošenja materijala na bazi PMMA (koštanog cementa) u koštano tkivo eksperimentalne životinje, nalazi ostrvca novostvorene kosti, dok je posle 70 dana implantirani materijal bio u direktnom kontaktu sa kosti, i bez hronične inflamacije.

Unesen u koštano tkivo PMMA odnosno Spongio cement, u prvom momentu deluje iritativno. Ova reakcija potiče od njegovih sastavnih delova (polimer, rezidualni monomer, inicijator, benzoil peroksid, hidrohinon i pigmenti). Osim toga, ovaj materijal ima i termički efekat na tkivo, jer je reakcija polimerizacije egzotermna i traje od 6 do 10 minuta, koliko i stvrdnjavanje materijala. Oslobođena temperatura iznosi oko 70°C u količini koja se koristi za cementiranje proteza kuka (količina 40 gr praha + 20 ml monomera). Njen efekat u tako maloj količini koja se unosi u kost eksperimentalnih životinaja sigurno značajno manja²⁹. Termički efekat verovatno produžuje vreme reparacije koštanog tkiva, ali generalno materijal je biokompatibilan što pokazuje i ovo istraživanje

Zaključak

Rezultati in vivo istraživanja reakcije koštanog tkiva pacova na implantirani Spongio cement ukazuju na njegovu biokompatibilnost. Spongio cement unesen u koštano tkivo pacova pokazuje direktan kontakt materijala sa novostvorenom zreloom lamelarnom koseti.

Paste Ah-26 i Sealapex unesene u kost pacova nisu pokazale biokompatibilne osobine.

Literatura

1. Geurtsen W., Leyhausen G. Biological aspects of root canal filling materials-histocompatibility, citotoxicity, and mutagenicity. *Clin Oral Invest.* 1997. 1:5-11.
2. Gerosa R., Menegazzi G., Borin M., Cavalleri G. Cytotoxicity evaluation of six root canal sealer, 1995. *JOE.* 21. 9:446-448.
3. Feiglin B. Effect Of Some Endodontic Sealers On Cell Migration In Experimental Granulomas, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1987. , 63, 371-4
4. Granchi D, Stea S, Ciapetti G, Cavedagna D, Stea S, Pizzoferrato A. Endodontics Cements Induce Alteration In The Cell Cycle Of The In Vitro Cultured Osteoblasts, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1995. , 79, 359-66
5. Schmalz G. Modification Of Rabbit Implantation Tests For Biological Testing Of Root Canal Filling Materials, 1987. , *Zahnärztl. Prax* 10, 366-8
6. Spangberg LSW. Endodontic Filling Materials. In: Smith DC, Williams DF, EDS. Biocompatibility Of Dental Materials Vol. III Biocompatibility Of Dental Restorative Materials, Boca Raton Florida: CRC Press, 1982. , 161-222
7. Yesylsoy C, Koren LZ, Morse DR, Kobajashi C. A Comparative Tissue Toxicity Evaluation Of Established And Newer Root Canal Sealers, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1988., 65, 459-67
8. Smith ZZ, Smith DC. A New Dental Cement *Br Dent J*, 1968: 124, 381-4
9. Zmener O. Evaluation Of The Apical Seal Obtained With Endodontic Implant Stabilizers And Different Cementing Materials *Oral Surg.* 1981. , 52, 635-40
10. McComb D, Smith DC. Comparison Of Physical Properties Of Polycarboxylate Based And Conventional Root Canal Sealers *J Endodon*, 1976. , 2, 228-35
11. Torabinejad M, Kahn H, Bankes D. Isoporopil Cyanoacrylate As A Root Canal Sealer, *J Endod*, 1984. , 10, 304-7
12. Barkhordar RA, Javid B, Abbasi J, Watanabe LG. Cyanoacrylate As A Retro Filling Material, *Oral Surg Oral Med Oral Pat*, 1988. , 65, 468-73
13. Benkel BH, Rising DW, Goldman LB, Rosen H, Goldman M, Kronman JH. The Use Of A Hydrophilic Plastic As A Root Canal Filling Material, *J Endodon*, 1976. , 2, 7
14. Gerstein H. Techniques In Clinical Endodontics, W. B. Saunders Co. Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Janeiro, Sidney, Tokyo, 1983.
15. Goldman LB, Goldman M, Kronman JH, Letourneau JM. Adaptation And Porosity Of Poly-HEMA in A Model System Using Two Microorganisms, *J Endodon*, 1980. , 6, 8
16. Kronman JH, Goldman M, Goldman LB, Coleman E, Klimment CK. Microbiologic Evaluation Of Poly HEMA Root Canal Filling Material, *Oral Surg*, 1979. , 48, 2
17. Murrin JR, Reader A, Foreman DW, Beck FM, Meyers WJ. Hydron Versus Gutta-percha and Sealer: A Study Of Endodontic Leakage Using The Scanning Electron Microscope And Energy Dispersive Analysis, *J Endodon*, 1985. , 11, 101-9
18. Weine F. S. Endodontic Therapy, 4th edition, The CV Mosby Co, St Lois, Baltimore, Toronto, 1989.
19. Ahlberg KMF, Tay WM. A MetacrylateBased Cement Used As A Root Canal Sealer, *Int Endod J*, 1996. , 31, 15-21
20. Linder L. Bone Cement Monomer. Experimental In Vitro And In Vivo Studies On The Monomer Leakage From Polymerising Bone Cements And Its Effects On Soft Tissue And Bone, Gegeborg, 1976.
21. Kawakami T, Nakamura C, Hasegawa H, Akahane S, and Eda S. Ultrastructural study of initial. calcification in rat subcutaneous tissues elicited by root canal filling material. *Oral Surg. , Oral Med. , Oral Pathol.* 1987, 63:360-5
22. Verniex A. Calcium Hydroxyde Induced Healing Of Periapical Lesions: A Study Of 78 Non Vital Teeth, *J Br Endod Society*, 1978. , 11, 2
23. Vajrabhaya L. , Sithisarn P. , Wilairat P. , Leelaphiwat S. Comparison between Sulphorhodamine-B dye staining and 51 Cr-release method in cytotoxicity assay of endodontic sealers. 1997. *JOE.* 23, 6:355-7.
24. Alvas J. Comparison of Selected Alloplast And Allograft Materials Utilized for Repair of Artificially Created Alveolar Bone Defect In Dogs, Doktorska teza, Faculty of Medicine Harvard University, dept. of Histology and Histochemistry, Forsyth Institute for research and advanced study in Dentistry, 1982.
25. Heeley JD, Tomić D. Histocompatibility of Subcutaneously Implanted Bone Cement in Rats. Mart 1981. *J Dent Research*, Vol. 60, abstracts 59th General Session and Annual Session of IADR and AADR, Chicago, Illinois
26. Linden JW, Heeley JD, Tomić D. Biocompatibility of A New Root Canal Filling Material In Rat Periapical Tissue. Mart 1981. *J Dent Research*, Vol. 60, abstracts 59th General Session and Annual Session of IADR and AADR, Chicago, Illinois
27. Tomić D. Alveoimplant – Sofortimplantation nach der Zahnexaktion, *Dtsch. Zahnärztl. Z.* , 1977. , 32, 191
28. Tomić D. Incorporated Implantation As Preprosthetic Treatment, Abstracts IV Congress of European Association of Maxillofacial Surgery, Venice, 1978
29. Crenshaw AH. Campbells Operative Orthopaedics, 1987. , 7th edition
30. Karadžić B. Primena polimetil metakrilata u endodontskoj terapiji hroničnih apeksnih paradodontita:1999. , Doktorska disertacija, Beograd.
31. Magnusson BC, Linde A. Alkaline Phosphatase 5-nucleotidase And ATP-ase Activity In The Molar Region Of The Mouse, *Histochemistry*, 1971. , 42, 221-232
32. Weisenseel JA, Hicks ML, Pelleu GB. Calcium Hydroxyde As An Apical Barrier, *J Endodon*, 1987. , 13, 1-5
33. Dylewski J. Apical Closure Of Nonvital Teeth, *Oral Surgery*, 1971. , 32, 82-9
34. Heithersay GS. Stimulation Of Root Formation In Completely Developed Pulpless Teeth, *Oral Surg*, 1970. , 29, 620-30

BIOCOMPATIBILITY OF PMMA-BASED MATERIAL IMPLANTED IN BONE TISSUE**SUMMARY**

The aim of histopathological investigations was to evaluate the effect of PMMA based material on bone tissue of experimental animals. In the femoral bone of laboratory Wistar rats pastes were implanted for canal obturation SEALPEX (Kerr, Romulus, USA), AH-26 (DeTrey, Zurich, Switzerland) and poly methyl metacrylate (PMMA) based material, called SPONGI CEMENT (Tomic, 1981, US PATENT 4296209). As control material steril wax was used. The rats were sacrificed 60 days after implantation, and the material was prepared by standard histological method and hematoxylin eosine stained. The results of microscopic investigations suggested that implanted PMMA based material was in direct contact with the new completely formed bone. SEALPEX and AH-26 implanted in bone tissue of rats was surrounded with inflamed infiltrate. Implantation of wax produced fibrous tissue capsule around the material. These findings suggest biocompatibility of polymethyl metacrylate material (PMMA).

Key words: biocompatibility, polymethyl methacrylate, inflammation, bone tissue.

**Branislav Karadžić, S. Bojović,
Radojica Dražić**

Address for correspondence

Branislav Karadžić
School of Dentistry
Dept. of conservative dentistry and endodontics
Rankeova 4
11000 Belgrade
Serbia