

Özgün araştırma makalesi

Kendinden bağlanabilen yeni bir akışkan kompozitin sitotoksitesinin dentin bariyer testi ile değerlendirilmesi

Hayriye Esra Ülker,^{1*} Mustafa Ülker,¹ Erhan Özcan²

¹Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, ²Endodonti Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Konya, Türkiye

[Abstract in English is at the end of the manuscript]

ÖZET

AMAÇ: Bu çalışmanın amacı kendinden bağlanabilen yeni bir akışkan kompozitin (Vertise Flow) sitotoksitesini, sıgır dental pulpasından elde edilmiş hücrelerin üç-boyutlu kültürlerinin kullanıldığı bir dentin bariyer test düzeneği ile değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM: Yapay hücre kültürü perfüzyon odaları 500 µm kalınlığındaki dentin diskleri ile iki kompartmana ayrıldı. Alt kompartmanda, üç-boyutlu hücre kültürleri dentine temas edecek şekilde yerleştirilerek pulpa odası kısmı oluşturuldu. Üst kompartmanda ise test materyalleri, dentin diskinin kavite kısmı üzerine üretici firmanın önerdiği şekilde uygulandı. Negatif ve pozitif kontrol materyalleri sırası ile President ve Vitrebond idi. Daha sonra, pulpal kısımdaki hücre kültürlerinin kültür ortamı ile perfüzyonları sağlandı. Yirmi dört saat sonra hücre canlılığı MTT testi ile değerlendirildi. Veriler Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testleri kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi.

BULGULAR: Vertise Flow ve Vitrebond (pozitif kontrol) gruplarının hücre canlılık oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$). Ancak, Vertise Flow ile President (negatif kontrol) gruplarının hücre canlılık oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$)

SONUÇ: Vertise Flow, sıgır dental pulpasından elde edilmiş hücrelerin canlılığı üzerine negatif kontrol grubuna benzer bir etki gösterdi. Kalan dentin tabakası kalınlığının en az 0.5 mm olması durumunda, Vertise Flow'dan salınması muhtemel biyolojik olarak aktif bileşenlerin pulpa hücrelerini etkilemeyebileceği düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Dental adezivler; dentin bariyer testi; diş pulpası; kendinden bağlanabilen akışkan kompozit; sitotoksitesite

KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN: Ülker HE, Ülker M, Özcan E. Kendinden bağlanabilen yeni bir akışkan kompozitin sitotoksitesinin dentin bariyer testi ile değerlendirilmesi. *Acta Odontol Turc* 2013;30(3):140-4

Makale gönderiliş tarihi: 13 Mayıs 2013; Yayına kabul tarihi: 23 Ağustos 2013
*İletişim: Hayriye Esra Ülker, Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Konya, Türkiye; e-posta: botsalie@hotmail.com

GİRİŞ

Adeziv diş hekimliği baş döndürücü bir hızla gelişimini sürdürmektedir. Bu gelişimi sürükleyen iki temel etken vardır. Birincil etken, hastaların diş rengindeki restoratif materyallere giderek artan talebidir. Diğer etken ise hekimlerin minimum girişim ile restoratif işlemleri gerçekleştirmek istemeleridir.^{1,2} Adeziv rezin/kompozit rezin kombinasyonu günümüz diş hekimliği pratiğinde en sık kullanılan restoratif sistemdir.² Adeziv sistemler temel olarak iki gruba ayrılırlar: 'etch&rinse' ve 'self-etch' adezivler. Ayrı bir asitleme ve yıkama basamağı gerektirdiği için etch&rinse adezivlerin klinik uygulama zamanı oldukça uzundur.¹⁻³ Halbuki, hekimler en kısa sürede restorasyonlarını bitirmek durumundadırlar. Asitleme ve yıkama basamağını elimine eden, primerinde zayıf asidik monomerler ihtiva eden self-etch adezivler bu nedenle şimdilerde oldukça popülerdir. Özellikle asitleme, primerleme ve adeziv rezin uygulama basamaklarının hepsini birleştiren tek basamaklı self-etch (all in one) adezivler, klinik uygulama zamanının kısaltılmasında çok başarılıdırlar.^{3,4} Kullanıcı dostu adezivler olarak adlandırılmaktadırlar. Ancak, tek basamaklı self-etch adezivler bile azımsanmayacak bir klinik uygulama zamanına ve kendilerine ait bazı teknik hassasiyetlere sahiptirler.^{5,6}

Herhangi bir adeziv sistem kullanımı gerektirmeden diş sert dokularına kendisi doğrudan bağlanabilen restoratif materyallerin geliştirilmesi konusunda heyecan verici gelişmeler olmaktadır. Bu amaçla üretilen ilk materyal bir akışkan kompozit olmuştur (Vertise Flow, Kerr, Orange, CA, ABD) ve çok yakın bir zaman önce hekimlerin kullanımına sunulmuştur. Akışkan kompozit ile all in one adeziv sistemin bir araya getirildiği ve sonuçta ayrı bir adeziv sistem uygulama basamağının elimine edildiği, tümüyle yeni, bu kompozit restoratif materyale 'kendinden bağlanabilen akışkan kompozit' ismi verilmiştir.⁷ Bu materyalin diş dokularına bağlanma performansı ve restorasyon kenarlarını sızıntıya karşı kapatabilme kabiliyeti literatürde tartışılmıştır.⁸⁻¹¹ Ancak, bildiğimiz kadarıyla, kendinden bağlanabilen akışkan kompozitin

biyoyoumluğu konusunda literatürde herhangi bir veri yoktur. Bu materyal canlı pulpa-dentin kompleksi ile uzun süre yakın ilişkide olacağı için pulpa dokusu üzerine etkileri çok önemlidir ve araştırılması gerekir. Dentin bariyer düzeneği günümüzde dental materyallerin sitotoksitesini değerlendirilmede *in vivo* durumu iyi bir şekilde taklit edebildiği için sıklıkla kullanılmaktadır. Dentin bariyer düzeneğinde negatif kontrol materyali olarak bir polivinil siloksan ölçü maddesi, pozitif kontrol materyali olarak ise toksik etkisi çalışmalarla kanıtlanmış bir rezin modifiye cam iyonomer siman kullanılır.^{12,13}

Bu *in vitro* çalışmanın amacı kendinden bağlanabilen yeni bir akışkan kompozitin (Vertise Flow) sitotoksitesini, sığır dental pulpasından elde edilmiş hücrelerin üç-boyutlu kültürlerinin kullanıldığı bir dentin bariyer test düzeneği ile değerlendirmektir. Bu çalışmanın sıfır hipotezi şudur: kendinden bağlanabilen akışkan kompozit, sığır dental pulpasından elde edilmiş hücreler üzerine sitotoksik değildir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Test materyalleri

Bu çalışmada kendinden bağlanabilen yeni bir akışkan kompozit test edildi: Vertise Flow (Kerr, Orange, CA, ABD). Negatif ve pozitif kontrol materyalleri olarak da sırası ile President (Coltene AG, Alstatten, İsviçre) ve Vitrebond (3M ESPE, Seefeld, Almanya) kullanıldı. Çalışmada kullanılan materyaller, içerikleri, lot numaraları ve üretici firmaları Tablo 1'de gösterilmektedir.

Hücre Kültürü

Sığır dental pulpasından elde edilmiş hücreler, MEM α (Minimum Essential Medium Alpha, Gibco Invitrogen, Paisley, İngiltere), %20 fetal sığır serumu (Biological Industries, Beit Haemek, İsrail), 150 IU/ml penisilin, 150 mg/ml streptomisin (Biological Industries) ve 0.1 mg/ml genetsin (Gibco Invitrogen) içeren büyüme ortamında 37°C'de, %5 CO₂'li ortamda inkübe edildi.^{12,13} Üç-boyutlu kültürleri oluşturmak üzere poliamid hasırlar üzerinde hazırlandı.

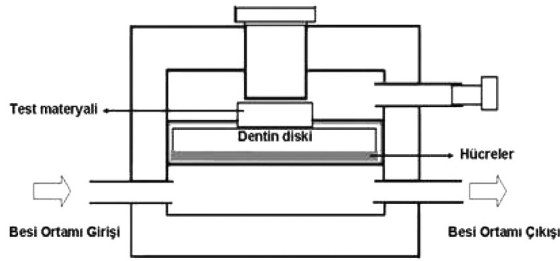
Poliamid hasırlar (0.5 cm²; Reichelt Chemietechnik, Heidelberg, Almanya) 30 dakika boyunca 0.1 M asetik asit içerisinde bekletildi, fosfat tamponlu tuz çözeltisi ile üç kez yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Daha sonra hasırlar fibronektin (0.03 mg/ml; Sigma, Deisenhofen, Almanya) ile kaplandı ve kurumaya bırakıldı. Hasırların üzerine hücre kaplamak için hücre kültürü filtreleri (Millipore, Eschborn, Almanya), her bir yuva içinde 1.25 ml kültür ortamı (%20 fetal sığır serumu içeren MEM α) bulunan altı-yuvalı hücre kültürü kabına yerleştirildi. Stabilizasyon sağlamak için hasırlar hücre kültürü filtreleri üzerine yerleştirildi ve hasırların üzerine 25 μ l hücre süspansiyonu (8x10⁴ hücre/hasır) eklendi. Kırk sekiz saatlik inkübasyon sonrası (37°C, %5 CO₂, %100 nemlilik) hasırlar 24-kuyucuklu hücre kültürü plakları içerisine aktarıldı ve sitotoksikite deneyleri için kullanılabilecek kadar (14±2 gün) inkübe edildi. Kültür ortamı (0.05 mg/ml askorbik asit ilave edilmiş büyüme ortamı) haftada üç kez değiştirildi.¹³

Sitotoksikite testi

Sığır keser dişleri düşük hızda çalışan elmas bir separe ile (Isomet; Buehler, Lake Bluff, IL, ABD) su soğutması altında kesilerek 500±20 μ m kalınlığında dentin diskleri elde edildi. Dentin disklerinin pulpal yüzeyleri %50'lik sitrik asit ile 30 sn asitlendi ve distile su içerisine alınarak otoklavda steril edildi. Hücre kültürü perfüzyon odaları (Minucells&Minutissue GmbH, Bad Abbach, Almanya) dentin diskleri ile iki ayrı kompartımana ayrıldı. Alt kompartımanda, üç-boyutlu hücre kültürleri dentine temas edecek şekilde yerleştirilerek pulpa odası kısmı oluşturuldu. Üst kompartımanda ise test materyalleri dentin diskinin 'kavite' kısmı üzerine üretici firmanın önerdiği şekilde uygulandı. *In vitro* pulpa odası kısmının inkübasyon süresi boyunca (37°C'de 24 saat) kültür ortamı (2 ml/saat) ile perfüzyonları sağlandı (Şekil 1). Her materyal sekiz kez test edildi, 24 saat sonra üç-boyutlu hücre kültürlerinin canlılığı mitokondrial enzim aktivitelerinin belirlenmesi esasına dayanan MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) testi ile değerlendirildi. Yapay pulpa odalarından pulpa hücrelerini taşıyan hasırlar çıkartıldı. Karanlık ortamda hasırlar 24-kuyulu hücre kültürü kabına her kuyuya 0.5

Tablo 1. Çalışmada kullanılan materyaller, içerikleri, lot numaraları ve üretici firmaları

Materyal	Materyal içeriği	Lot numarası	Üretici Firma
Vertise Flow (Kendinden bağlanabilen akışkan kompozit)	GPDM, HEMA, 4-Metoksi fenol, Nano-iterbiyum florür, baryum cam, nano-boyutta koloidal silis, çinko oksit, aktivatör, stabilizatör ve renklendiriciler	3488779	Kerr, Orange, CA, ABD
Vitrebond (Rezin modifiye cam iyonomer siman)	Toz: iyon salabilen flooroaluminosilikat Likit: Modifiye poliakrilik asit, HEMA, BIS-GMA, su, aktivatör, stabilizatör	N246883	3M ESPE, Seefeld, Almanya
President Regular (Silikon esaslı ölçü maddesi)	Polivinil siloksan, silikon elastomer	0096028	Coltene AG, Alstatten, İsviçre

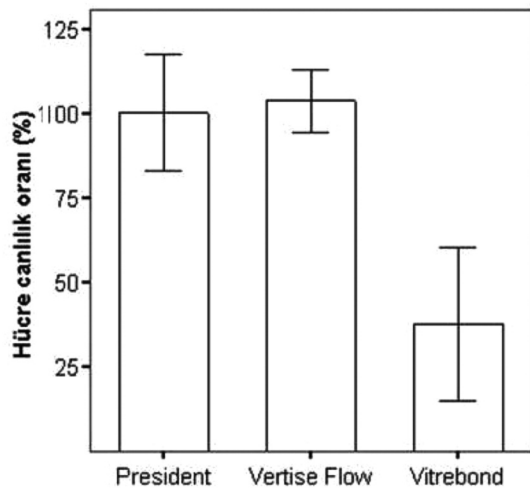


Şekil 1. Yapay pulpa odası

mg/ml'lik 500 µl MTT solüsyonu eklenerek 37°C'de %5 CO₂'li ortamda 2 saat bekletildi. MTT uzaklaştırılarak 200 µl dimetil sülfoksit eklenerek karanlık ortamda 30 dk çalkalandı. ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) okuyucu ile 540 nm dalga boyunda okutuldu. Medyan değerleri arasındaki farklılıklar Kruskal Wallis one-way analysis of variance (ANOVA) ve Mann Whitney U testleri kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi ($\alpha=0.05$; SPSS 13.0, Chicago, IL, ABD).

BULGULAR

Dentin bariyer sitotoksiste testi sonuçları Şekil 2'de gösterildi. Vertise Flow ve Vitrebond gruplarına ait hücre canlılık oranları sırası ile %103.5 ve %37.4 idi. Vertise Flow ve Vitrebond (pozitif kontrol) gruplarının hücre canlılık oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.003$). Ancak, Vertise Flow ile President (negatif kontrol) gruplarının hücre canlılık oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).



Şekil 2. Dentin bariyer sitotoksiste testi sonuçları. Barlar ortalama yüzde hücre canlılık oranını, hata çubukları ise standart sapmayı göstermektedir (n=8)

TARTIŞMA

Bir dental materyal geliştirilirken, fiziksel ve estetik özellikleri kadar biyoyoumluluk özelliği de dikkate alın-

malıdır. Biyoyoumluluk, bir materyalin kendine özgü uygulamaları sonrası, uygun konak doku cevabı oluşturabilme yeteneği şeklinde tanımlanır.¹⁴ Her materyal kullanıma sunulup, hastalar üzerinde uygulanmadan önce biyoyoumluluğu test edilmiş olmalıdır. Biyoyoumluluğu bağımsız araştırmacılar tarafından da onaylanan materyaller daha güvenilirdir. Biyoyoumluluğun araştırılmasında standart, basit ve kısa sürede sonuç veren bir test yönteminin kullanımı tercih edilmelidir.¹⁵ Güvenilir, tekrar edilebilir, test koşulları kontrol edilebilir bir yöntem olan hücre kültürü deneyleri biyoyoumluluğun araştırılmasında sıklıkla kullanılmaktadır.^{15,16}

Bu çalışmada *in vivo* koşulları en uygun düzeyde taklit ettiği ispatlanmış olan üç boyutlu hücre kültürü ve dentin bariyerini içeren sitotoksiste testleri kullanılmıştır.^{12,13,17,18} Bir restoratif tedavide, materyal ve pulpa dokusu arasında hidrofobik monomerlerin pulpaya geçişini önleyen bir dentin bariyer mevcuttur. Dentin bariyer testinde de test materyali ile hedef hücreler arasında bir difüzyon veya adsorpsiyon bariyeri olarak dentin yerleştirilmektedir. Ayrıca pulpal kan akımını taklit edebilmek için hücreler üzerinden besi ortamının perfüzyonu sağlanmaktadır. Pulpal kan akımı pulpa içine sızan toksik bileşenlerin seyreltilmesinde çok önemli bir işlev görür.¹⁷⁻¹⁹ Üç-boyutlu hücre kültürü testi ile çeşitli kimyasalların sitotoksitesi üzerine yapılan daha önceki çalışmalar laboratuvar içi tekrarlanabilirlik göstermiştir. Hayvan deneylerinden elde edilen *in vivo* çalışmaların sonuçları ile de uyumlu olduğu görülmüştür.^{16,18} Üç-boyutlu hücre kültürleri ile pulpanın çok katmanlı hücre yapısı taklit edilmeye çalışılmakta ve *in vitro* ortamda *in vivo* koşullara en yakın sonuçlar elde edilmeye çalışılmaktadır.

Dentin bariyer sitotoksiste testi ISO 7405 standardında önerilen bir test yöntemidir.²⁰ Pozitif kontrol materyali hücre canlılığını 24 saatin sonunda en az %50 azaltmalıdır. Pek çok çalışmada pozitif kontrol grubu olarak kullanılan Vitrebond bu çalışmada da pozitif kontrol materyali olarak kullanılmıştır.^{12,13} Negatif kontrol materyalinin ise hücreler üzerinde herhangi bir toksik etkisi olmamalıdır. Bu standartlar ile uyumlu olarak bu *in vitro* çalışmada President herhangi bir toksik etki göstermezken, Vitrebond hücre canlılığını %37.4'e kadar düşürdü.

Bu çalışmada biyoyoumluluğu test edilen Vertise Flow materyali pulpa kaynaklı hücreler üzerinde negatif kontrol grubundan farklı değildi. Vertise Flow içeriğinde iki esas monomer dikkati çekmektedir. Birincisi fosfat bazlı bir self-etch asidik fonksiyonel monomer olan gliserofosfat dimetakrilatdır (GPDM) ve görevi, mine ve dentini dağıtarak tutuculuk için gerekli pürüzlü yüzeyi oluşturmak ve oluşturduğu bu pürüzlü yüzeyin ıslanabilirliğini artırmaktır. Yakın bir zaman önce Vajrabhaya ve ark. fonksiyonel monomer olarak GPDM içeren bir dental adeziv olan Optibond Solo Plus SE primer'in (Kerr, ABD) sito-

toksitesini dentin bariyer testi ile değerlendirmişler ve Optibond Solo Plus SE primer'in sitotoksik etki göstermediğini bildirmişlerdir.²¹ Ülker ve ark.²² GPDM içerikli bir rezin siman olan Maxcem'in (Kerr, ABD) kristal viyole sitotoksitesinde iki boyutlu pulpa hücreleri üzerine ciddi toksik etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir.

Vertise Flow içeriğindeki diğer önemli fonksiyonel monomer ise hidroksi-etil metakrilatdır (HEMA). HEMA ıslanabilirliği artırmak ve rezinin dentine penetrasyonunu kolaylaştırmak için birçok dental adezivün içeriğine eklenen bir monomerdır. HEMA'nın metakrilat bazlı rezin kompozitlerden salınabildiği ve fizyolojik konsantrasyonların bile pulpa hücrelerini etkileyebileceği gösterilmiştir.^{23,24} Diğer taraftan, küçük hidrofilik bir monomer olan HEMA'nın sklerotik dentinden bile difüze olabildiği bildirilmiştir.²⁵ Pawlowska ve ark.²⁶ ise HEMA'nın DNA hasarı, apoptozis ve hücre siklusünde gecikme gibi zararlı biyolojik etkileri indükleyebileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre ise sertleştirilmiş Vertise Flow içerisindeki artık monomerlerin veya diğer zararlı bileşenlerinin dentinden difüze olarak pulpa hücrelerini etkilemesi zordur.

SONUÇ

Vertise Flow, sıgır dental pulpasından elde edilmiş hücrelerin canlılığı üzerine negatif kontrol grubuna benzer bir etki gösterdi. Eğer kalan dentin tabakasının kalınlığı 0.5 mm veya daha fazla ise, Vertise Flow'dan salınması muhtemel biyolojik olarak aktif bileşenler pulpa hücrelerini etkilemeyebilir.

TEŞEKKÜR VE ANMA

Bu çalışma 3-6 Mayıs 2012 tarihleri arasında Arnavutluk'un Tiran kentinde düzenlenen 17. Balkan Stomatological Society (BASS) kongresinde sunulmuştur. Kitapçık sayfa no:83

Çıkar çatışması: Yazarlar bu çalışmayla ilgili herhangi bir çıkar çatışmalarının bulunmadığını bildirmişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P, *et al.* Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Oper Dent* 2001;26 Suppl 6:S119-44.
2. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, *et al.* Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003;28:215-35.
3. Ülker M, Özcan M, Sengün A, Ozer F, Belli S. Effect of artificial aging regimens on the performance of self-etching adhesives. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010;93:175-84.
4. Ülker M, Belli S. Self-etch adeziv sistemler: Diş sert dokularına bağlanma. *SÜ Dişhek Fak Derg* 2006;15:116-22.

5. Ermiş RB. Günümüzdeki Adezivlerde Teknik Hassasiyet: I. Asitlenen ve Yıkanan Adezivler. *Dişhekimliğinde Klinik* 2008;23:48-53.
6. Ermiş RB. Günümüzdeki Adezivlerde Teknik Hassasiyet: II. Kendinden Asitli Adezivler. *Dişhekim Bilimsel* 2008;29:12-6.
7. Poss SD. Utilization of a new self-adhering flowable composite resin. *Dent Today* 2010;29:104-5.
8. Rengo C, Goracci C, Juloski J, Chieffi N, Giovannetti A, Vichi A, *et al.* Influence of phosphoric acid etching on microleakage of a self-etch adhesive and a self-adhering composite. *Aust Dent J* 2012;57:220-6.
9. Vichi A, Margvelashvili M, Goracci C, Papacchini F, Ferrari M. Bonding and sealing ability of a new self-adhering flowable composite resin in class I restorations. *Clin Oral Investig* 2013;17:1497-506.
10. Fu J, Kakuda S, Pan F, Hoshika S, Ting S, Fukuoka A, *et al.* Bonding performance of a newly developed step-less all-in-one system on dentin. *Dent Mater J* 2013;32:203-11.
11. Bektas OO, Eren D, Akin EG, Akin H. Evaluation of a self-adhering flowable composite in terms of micro-shear bond strength and microleakage. *Acta Odontol Scand* 2013;71:541-6.
12. Korsuwanawong S, Srichan R, Vajrabhaya LO. Cytotoxicity evaluation of self-etching dentine bonding agents in a cell culture perfusion condition. *Eur J Dent* 2012;6:408-14.
13. Schmalz G, Schuster U, Thonemann B, Barth M, Esterbauer S. Dentin barrier test with transfected bovine pulp-derived cells. *J Endod* 2001;27:96-102.
14. Wataha JC. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J Prosthet Dent* 2001;86:203-9.
15. Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Invest* 1997;1:154-62.
16. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials--advantages and limitations. *J Dent* 1994;22 Suppl 2:S6-11.
17. Schmalz G, Schuster U, Koch A, Schweikl H. Cytotoxicity of low pH dentin bonding agents in a dentin barrier test in vitro. *J Endod* 2002;28:188-92.
18. Schuster U, Schmalz G, Thonemann B, Mendel N, Metz C. Cytotoxicity testing with three-dimensional cultures of transfected pulp-derived cells. *J Endod* 2001;27:259-65.
19. Wiegand A, Buchholz K, Werner C, Attin T. In vitro cytotoxicity of different desensitizers under simulated pulpal flow conditions. *J Adhes Dent* 2008;10:227-32.
20. International Organization for Standardization. ISO 7405:2008: Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry. Geneva: ISO; 2008.
21. Vajrabhaya LO, Korsuwanawong S, Bosl C, Schmalz G. The cytotoxicity of self-etching primer bonding agents in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;107:e86-90.
22. Ülker HE, Hiller KA, Schweikl H, Seidenader C, Sengun A, Schmalz G. Human and bovine pulp-derived cell reactions to dental resin cements. *Clin Oral Investig* 2012;16:1571-8.
23. Noda M, Wataha JC, Kaga M, Lockwood PE, Volkmann KR, Sano H. Components of dentinal adhesives modulate heat shock protein 72 expression in heat-stressed THP-1 human monocytes at sublethal concentrations. *J Dent Res* 2002;81:265-9.
24. Michelsen VB, Moe G, Skålevik R, Jensen E, Lygre H. Quantification of organic eluates from polymerized resin-based dental restorative materials by use of GC/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007;850:83-91.
25. Hamid A, Hume WR. Diffusion of resin monomers through human carious dentin in vitro. *Endod Dent Traumatol* 1997;13:1-5.
26. Pawlowska E, Poplawski T, Ksiazek D, Szczepanska J, Blasiak J. Genotoxicity and cytotoxicity of 2-hydroxyethyl methacrylate. *Mutat Res* 2010;696:122-9.

Cytotoxicity evaluation of a new self-adhering flowable composite by dentin barrier test

ABSTRACT

OBJECTIVE: The aim of this study was to evaluate the cytotoxicity of a new self-adhering flowable composite (Vertise Flow) in a dentin barrier test device using three-dimensional cultures of bovine dental pulp derived cells.

MATERIALS AND METHOD: Artificial cell culture perfusion chambers were separated into two compartments using a 500 µm dentin disc. In the lower compartment, a pulp chamber was created by placing the three-dimensional cultures onto the dentin disc. Test materials were introduced into the upper compartment in direct contact with the cavity side of the dentin discs following the manufacturers' directions. Negative and positive controls were President and Vitrebond, respectively. Subsequently, the

pulpal part of the perfusion chamber containing the cell culture was perfused with a culture medium. After an exposure period of 24 hours, cell survival was determined by using the MTT assay. Statistical analyses were performed using the Kruskal-Wallis and Mann Whitney U tests.

RESULTS: The difference in survival rates between Vertise Flow and Vitrebond groups (positive control) was statistically significant ($p<0.05$). However, the difference in survival rates between Vertise Flow and President groups (negative control) was not statistically significant ($P>0.05$).

CONCLUSION: Vertise Flow and the negative control group showed similar effects on the survival of the bovine dental pulp-derived cells. Toxic substances released from Vertise Flow may not influence the pulpal cells in case the residual dentin layer is at least 0.5 mm thick.

KEYWORDS: Cytotoxicity; dental adhesives; dental pulp; dentin barrier test; self-adhering flowable composite