

ELŻBIETA PAWŁOWSKA¹, KATARZYNA LOBA², JANUSZ BŁASIAK², JOANNA SZCZEPAŃSKA¹

Właściwości i ryzyko stosowania metakrylanu bisfenolu A i dimetakrylanu uretanu – podstawowych monomerów kompozytów stomatologicznych*

Properties and Risk of the Use of Bisphenol A-Glycidyl Methacrylate and Urethane Dimethacrylate – Basic Monomers of Dental Restorative Materials

¹ Zakład Stomatologii Wieku Rozwojowego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

² Katedra Genetyki Molekularnej Uniwersytetu Łódzkiego

Streszczenie

Żywiec metakrylanowe ze względu na zdolność do łączenia się ze strukturą zęba są substancjami powszechnie stosowanymi w stomatologii. Początkowy sukces kliniczny tych materiałów odsunął niepokoje związane z ryzykiem biologicznym ich stosowania, gdyż zakładano, że materiały te były w formie polimerów, ściśle związanych ze strukturą zęba. Proces polimeryzacji nie zawsze jest jednak kompletny, a monomery mogą być także uwalniane z polimerów i penetrować nabłonek jamy ustnej i miążgę, skąd mogą przemieszczać się do innych tkanek i narządów. Miejscowe stężenia monomerów metakrylanowych mogą osiągać kilkanaście milimoli na litr, co jest wystarczające do wywoływania niepożądanych działań biologicznych. Wyniki wielu badań sugerują, że monomery, będące skutkiem niekompletnej polimeryzacji lub uwalniania z polimerów, mogą działać cyto- i genotoksycznie. Metakrylan bisfenolu A (Bis-GMA) i metakrylan uretanu (UDMA) są podstawowymi monomerami metakrylanowymi stosowanymi w produkcji stomatologicznych materiałów złożonych. Mogą wywoływać wiele skutków niekorzystnych, takich jak: zaburzenia układu odpornościowego i nerwowego, oraz promować mutacje i niestabilność genomową. Istnieje zatem potrzeba intensyfikacji badań nad szkodliwym działaniem monomerów metakrylanowych oraz zapewnieniem odpowiedniej ochrony pacjentom i personelowi stomatologicznemu przed takim działaniem (*Dent. Med. Probl.* 2009, 46, 4, 477–485).

Słowa kluczowe: kompozyty, metakrylany, Bis-GMA, UDMA, działanie biologiczne.

Abstract

Restorative dentistry uses methacrylate resin-based materials which can be bonded to the tooth structure. The initial clinical success of these materials partly put aside the concern about biological risk associated with their use, because it was assumed that these materials are in the form of polymers tightly bound to the tooth structure. However, the process of polymerization not always is complete and the polymer itself may release monomers, which can penetrate oral cavity and pulp, from where they can reach virtually any organ of the organism. The local concentration of monomers can be in the millimolar range, high enough to induce a variety of adverse biological effects. A large body of evidence suggest that monomers resulting from incomplete polymerization or released from the polymer may exert cytotoxic and genotoxic effects. Bisphenol A-glycidyl methacrylate (Bis-GMA) and urethane dimethacrylate (UDMA) are basic monomers used in forming dental restorative composites. They may induce several undesired effects, affecting immunological and nervous systems, promoting mutations and genomic instability. Therefore, there is a need to intensify the research on adverse biological effects of methacrylate monomers and on efficient protection of dental personnel and patients against such effects (*Dent. Med. Probl.* 2009, 46, 4, 477–485).

Key words: dental materials, methacrylates, Bis-GMA, UDMA, biological compatibility.

* Praca wykonana w ramach projektu finansowanego przez MNiSW (nr grantu: N N403188134).

Stomatologiczne materiały kompozytowe oparte na żywicach dimetakrylanowych powstały jako alternatywa amalgamatów, cementów krzemowych oraz wypełnień z metali szlachetnych. Kompozyty dentystyczne są mieszaniną składającą się z żywicznej matrycy polimerowej oraz nieorganicznego wypełniacza, najczęściej związków krzemu, baru, strontu i cyrkonu. W skład matrycy polimerowej wchodzi jedno- i wielofunkcyjne monomery dimetakrylanowe. Wyróżnia się dwa rodzaje monomerów: monomery podstawowe oraz komonomery. Monomery podstawowe charakteryzują się dużą masą cząsteczkową oraz lepkością, są przede wszystkim odpowiedzialne za usieciowanie matrycy polimerowej oraz odpowiednie właściwości mechaniczne wypełnienia. Do tego typu monomerów zalicza się: Bis-GMA (2,2-bis-[4-(2-hydroksy-3-metakryloksypropoksy)-fenylo]propan), Bis-EMA, czyli etoksylogowany dimetakrylan bisfenolu A oraz UDMA (1,6-bis-(metakryloksy-2-etoksy karbonyloamino)-2,4,4-trimetyloheksan [1–4]). Komonomery natomiast są związkami o mniejszej masie cząsteczkowej oraz lepkości, pełnią więc funkcję fazy rozpraszającej monomery podstawowe, a ich obecność powoduje skuteczniejszą polimeryzację wypełnienia. Do najczęściej używanych komonomerów należą: HEMA (metakrylan 2-hydroksyetylu), EGDMA (dimetakrylan monoglikolu etylenowego), DEGDMA (dimetakrylan diglikolu etylenowego) oraz TEGDMA (dimetakrylan triglikolu etylenowego) [1–4].

Oprócz monomerów podstawowych oraz komonomerów, w skład kompozytów wchodzi inicjatory polimeryzacji, np. nadtlenek benzoilu (DBPO) (polimeryzacja chemiczna) lub chinon kamforowy (fotopolimeryzacja), koinicjatory, np. N,N-dihydroksyetylo-p-toluidyna, N,N-dimetylo-p-toluidyna, dimetyloamino-metakrylan etylu (DMAEMA), 4-dimetyloamino-benzoesan etylu (DMABEE), antyutleniacze będące najczęściej pochodnymi fenolu z dwiema lub trzema grupami alkilowymi, np. 2,6-di-tert-butylo-p-krezol (BHT), 2-tert-butylo-p-hydroksyanizol (BHA) oraz fotostabilizatory chroniące wypełnienie przed zmianą barwy, np. pochodne benzotriazolu oraz pochodne benzofenonu zawierające grupę wodorotlenową w położeniu *orto*. W materiałach kompozytowych stosuje się również plastyfikatory, np. ftalan dibutyloowy lub ftalan dicykloheksyloowy [1–5].

Innymi składnikami kompozytów są wypełniacze mineralne i mieszane (organiczne, nieorganiczne) nazywane również makro- i mikrowypełniaczami. Makrowypełniacze mają postać sproszkowanego kwarcu (SiO₂), szkła (aluminiumowego, sodowego, krzemowego) lub ceramiki, mikrowypełniacze natomiast to amorficzna pirolityczna krzemionka. W materiałach hybrydowych wyko-

rzystuje się szlachetniejsze gatunki szkielek, np. borowe, strontowe [5].

Do produkcji kompozytów dentystycznych zaczęto stosować także spiroortowęglany, cykliczne estry, cykliczne acetylo oraz siarczki allilu. Monomery te mają lepsze właściwości mechaniczne, co w znacznym stopniu poprawia jakość wypełnień z materiałów złożonych [6].

Fotopolimeryzacja kompozytów dentystycznych

Fotopolimeryzacja jest to reakcja łańcuchowa polegająca na produkcji podczas reakcji fotochemicznej wolnych rodników, które zapoczątkowują przebieg procesu polimeryzacji wypełnienia. Monomery dimetakrylanowe łatwo tworzą przestrzenną sieć polimerową ze względu na obecność wiązań podwójnych. Fotopolimeryzacja kompozytów dentystycznych opartych na żywicach dimetakrylanowych przebiega najbardziej skutecznie z użyciem światła niebieskiego o długości fali 450–500 nm, która jest absorbowana przez chinon kamforowy wykazujący maksimum absorpcji przy λ 470 nm. Ponieważ sam chinon kamforowy w obecności monomeru fotoinicjuje reakcję polimeryzacji stosunkowo powoli, to w celu jej przyspieszenia dodaje się aminy aromatyczne (koinicjatory). Fotopolimeryzacja monomerów zazwyczaj jest inicjowana przez rodnik koinicjatora [7]. Reakcja rozpoczyna się i jest kontynuowana, kiedy natężenie światła jest wystarczające, aby utrzymać stan wzbudzony chinonu kamforowego [8]. Zwykle do polimeryzacji kompozytu jest niezbędne użycie światła o gęstości mocy 500–800 mW/cm² przez 30–40 s (15–24 J/cm²). Teoretycznie podczas tworzenia sieci przestrzennej kompozytu jest możliwa 100% konwersja monomerów, szacuje się jednak, że 20–50% nienasyconych grup metakrylanowych pozostaje niepolimeryzowana [9–11]. Niepolimeryzowane monomery mogą wydostawać się z matrycy polimerowej oraz dyfundować do otaczających tkanek, gdzie mogą prowadzić do ich uszkodzenia.

Bis-GMA i UDMA – podstawowe monomery stosowane do produkcji kompozytów

Do produkcji stomatologicznych materiałów kompozytowych opartych na żywicach metakrylanowych najczęściej stosuje się dwa podstawowe

monomery: Bis-GMA i UDMA (ryc. 1). Bis-GMA można otrzymać w wyniku reakcji GMA i bisfenolu A. Jest to wielocząsteczkowy dimetakrylan mający w swej strukturze sztywny centralny łańcuch oraz wolne grupy hydroksylowe, które biorą udział w tworzeniu wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych, których obecność zwiększa lepkość kompozytów zawierających Bis-GMA.

Sukces Bis-GMA jest zdeterminowany przede wszystkim jego właściwościami fizykochemicznymi. Jako duży, dwufunkcyjny monomer charakteryzuje się względnie niewielkim skurczem polimerazyjnym, około 6%, oraz szybko ulega utwardzaniu na skutek wolnorodnikowej reakcji polimeryzacji. Kompozyty oparte na Bis-GMA mają dobre właściwości mechaniczne, Bis-GMA wykazuje jednak mały stopień polimeryzacji wiązań podwójnych, tworzących przestrzenną sieć polimerową [6].

W 1974 r. wprowadzono dimetakrylan uretanu (UDMA), jako monomer do produkcji kompozytów dentystycznych, będący alternatywą stosowanego Bis-GMA. UDMA, czyli 1,6-bis-(2-metakryloksy-2-etoksy karbonyloamino)-2,2,4-trimetyloheksan (ryc. 1) w łatwy sposób może być syntetyzowany w wyniku reakcji metakrylanu 2-hydroksyetylu, HEMA oraz 2,2,4-trimetyloheksametyloheksametyleno diisocyanianu TMDI [12].

UDMA (masa molowa 470 g/mol) w porównaniu z Bis-GMA charakteryzuje się mniejszą lepkością (8–10 Pas, 23°C). UDMA jednak wykazuje większą lepkość niż komonomery z powodu wiązań wodorowych wytwarzanych między grupami -NH- oraz >C=O [13]. Kompozyty, w których skład wchodzi tylko monomery dimetakrylanu uretanu wykazują lepsze właściwości mechaniczne w porównaniu z kompozytami produkowanymi z monomerów Bis-GMA [14].

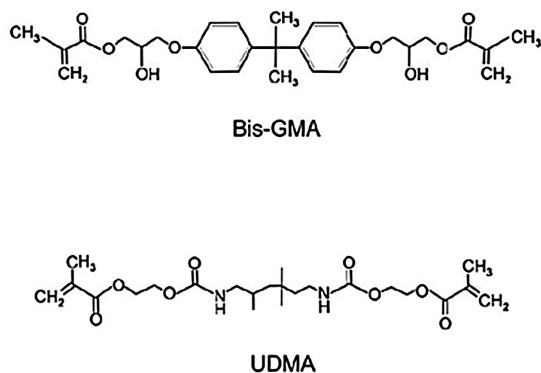
Jedną z niekorzystnych właściwości żywic dimetakrylanowych, także UDMA, jest sorpcja wo-

dy, gdy znajdują się w środowisku wodnym. Polimery zawierające w swym składzie monomery UDMA wykazują podobną lub mniejszą sorpcję wody, w porównaniu z kompozytami opartymi na monomerach Bis-GMA, wykazują jednak większą sorpcję wody niż kompozyty oparte na etoksyloowanych analogach Bis-GMA, takich jak Bis-EMA [15, 16]. Nadmierna sorpcja wody może prowadzić do hydrolitycznej degradacji matrycy polimerowej oraz zmniejszenia właściwości mechanicznych polimerów [17]. W związku z tym prowadzi się badania mające na celu poprawienie tych właściwości kompozytów dentystycznych. Modyfikowane dimetakrylany uretanu po wprowadzeniu aromatycznych oraz alifatycznych podstawników wykazują ograniczenie sorpcji wody o 25–40%, w porównaniu z komercyjnie dostępnym UDMA [18].

Kolejną niekorzystną cechą Bis-GMA i UDMA jest skurcz polimerazyjny będący wynikiem kurczenia się podczas polimeryzacji żywicznej fazy matrycy polimerowej, co w konsekwencji prowadzi do powstania szczeliny brzeżnej, do której mogą przedostawać się bakterie oraz produkty ich metabolizmu. Skurcz polimerazyjny jest wynikiem konwersji wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań van der Waasa między monomerami do wiązań kowalencyjnych. Prawie wszystkie kompozyty kurczą się liniowo 0,6–1,4% w zależności od typu i natury wypełniacza [19, 20]. W celu zwiększenia zgodności biologicznej żywic dentystycznych zostały zsyntetyzowane nowe monomery dimetakrylanu uretanu. Wykazują mniejszy skurcz polimerazyjny oraz większy stopień konwersji monomerów w porównaniu z dostępnymi komercyjnie żywicami dimetakrylanowymi [21].

Biologiczne ryzyko stosowania żywic dimetakrylanowych

Biologiczne ryzyko stosowania żywic dimetakrylanowych opiera się przede wszystkim na możliwości przedostawania się niespolimeryzowanych monomerów przez zębinę do otaczających tkanek, a także do krwiobiegu, w następstwie narażając organizm na ogólne szkodliwe działanie [22, 23]. Toksyczność monomerów metakrylanowych jest ściśle uzależniona od ich typów oraz ilości, jaka dyfunduje z matrycy polimerowej. Przepuszczalność zębiny jest ważnym czynnikiem decydującym o wnikanii składników kompozytów do miazgi i ich toksyczności, gdyż związki te, penetrując przez tkankę zębinową, przedostają się do miazgi i uszkadzają jej komórki [5]. W badaniach *in vitro*



Ryc. 1. Struktura metakrylanu bisfenolu A (Bis-GMA) i dimetakrylanu uretanu (UDMA)

Fig. 1. Structure of bisphenol A-glycidyl methacrylate (Bis-GMA) and urethane dimethacrylate (UDMA)

Hanks et al. [24] wykorzystali model krążka zębinowego o różnej grubości, aby zbadać wpływ przepuszczalności zębiny na stopień uszkodzenia komórek miazgi. Z jednej strony krążek pokryto hodowlami komórkowymi, z drugiej – substancją badaną. Krążki zębinowe, ograniczając dyfuzję czynnika badanego do hodowli komórkowej, imitowały warunki panujące *in vivo*. Hanks et al. wykazali, że bariera zębiny o grubości 1,5 mm chroniła komórki hodowli przed cytotoksycznym wpływem kompozytów, zastosowanie krążków o grubości 0,5 mm prowadziło natomiast do znacznego upośledzenia procesów metabolicznych badanych komórek. Wyniki tych badań sugerują, że odpowiednio gruba warstwa zębiny zmniejsza szkodliwy wpływ substancji badanej na miazgę.

Czynnikami mającymi wpływ na emisję związków chemicznych pochodzących z wypełnień kompozytowych są: stopień konwersji monomerów w polimer, erozja płynna, degradacja enzymatyczna wypełnienia, czynniki organiczne zawarte w pożywieniu, charakter czynników wypłukujących, skurcz polimeryzacyjny.

Duże znaczenie dla stabilności budowy materiału kompozytowego ma stopień konwersji monomerów w polimer, który może wynosić 70–99% [5]. Według Peutzfelda [25] oraz Santerre'a et al. [26] tylko 60% z całkowitej liczby cząsteczek monomerów jest związanych w spolimeryzowanym kompozycie. Niezwiązane monomery oraz inne składniki kompozytów, dyfundujące przez kanaliki zębinowe w głąb miazgi, mogą prowadzić do jej uszkodzenia. Na optymalny stopień konwersji ma wpływ wiele czynników, m.in. rodzaj stosowanych monomerów i oligomerów. Materiały o dużej zawartości sztywnego monomeru Bis-GMA charakteryzują się mniejszym stopniem konwersji. Duża lepkość takiej żywicy w znacznym stopniu ogranicza kinetykę reaktywnych cząsteczek, zmniejszając w ten sposób prawdopodobieństwo ich udziału w budowie polimeru. Stopień konwersji materiałów kompozytowych zależy również od rodzaju zastosowanego wypełniacza oraz warunków polimeryzacji, takich jak: temperatura otoczenia, rodzaj inicjatora, intensywność naświetlania itp. [5].

Materiały kompozytowe obecne w jamie ustnej są narażone na stałą ekspozycję na uszkodzające czynniki obecne w ślinie lub pożywieniu. Czynniki te mogą być magazynowane przez płytkę bakteryjną lub kamień nazębny oraz mogą przenikać do szczeliny brzeżnej, co może doprowadzić do tworzenia się mikropęknięć na linii połączenia lub w samym kompozycie. Proces ten przyspiesza degradację materiału wypełniającego [5].

Kompozyty zbudowane z żywicy Bis-GMA lub

UDMA są podatne na oddziaływanie związków chemicznych, takich jak etanol, co może powodować nasilenie procesu rozkładu tych materiałów. Wiązania krzyżowe żywic dimetakrylanowych wydają się odporne na wypłukiwanie, ale mogą zostać rozerwane w odpowiednich roztworach. Sugeruje się, że roztwory organiczne mają większą zdolność degradacji kompozytów niż woda. Prawdopodobnie jest to spowodowane ich zdolnością penetracji do wnętrza wypełnienia, co prowadzi do rozszerzenia lub spęcznienia materiału, a w konsekwencji rozrywania wiązań krzyżowych polimerów [5]. Równie istotne jest pH roztworu wypłukującego. Wraz ze spadkiem pH rozpuszczalnika zwiększa się ilość uwolnionych związków [27]. Zmiana odczynu roztworu wypłukującego od pH 8 do pH 4 spowodowała prawie 6-krotne zwiększenie ilości związków uwolnionych z kompozytów. Wypłukiwanie jonów nieorganicznych z wypełniaczy może mieć negatywny wpływ na hydrolityczną stabilność wiązania między matrycą polimeru a cząsteczkami wypełniacza, a także na mechaniczne właściwości kompozytów [5].

Związki dimetakrylanowe mogą dodatkowo podlegać degradacji enzymatycznej. Źródłem enzymów w jamie ustnej jest przede wszystkim ślina wydzielana przez gruczoły ślinowe oraz enzymy wytwarzane przez drobnoustroje. Wyniki badań sugerują, że po 48 godz. od zasiedlenia powierzchni kompozytów przez szczep bakteryjny wydzielający enzym z grupy esteraz dochodzi do znacznego pogorszenia się właściwości wypełnienia z powodu uwalniania się dużych ilości kwasu metakrylanowego [28]. Z drugiej strony niektóre monomery stymulują zwiększenie liczby bakterii [29].

Skurcz polimeryzacyjny materiałów kompozytowych powoduje powstawanie wewnątrz wypełnienia naprężeń odrywających go od ścian ubytku, powodując powstawanie szczeliny brzeżnej, która może być zasiedlana przez bakterie, co prowadzi do rozwoju wtórnej próchnicy [30]. Bakterie wytwarzają wiele metabolitów, w tym kwas mlekowy lub octowy, które powodują naruszenie struktury kompozytu i zwiększają podatność wypełnień na abrazję i wchłanianie barwników. Podczas stosowania materiałów złożonych zawierających dużą liczbę cząsteczek wypełniacza zaobserwowano mniejszy skurcz polimeryzacyjny, niż podczas stosowania kompozytów z małą ilością cząsteczek wypełniacza [5].

Badania Nakamura et al. [31] ujawniły, że monomery metakrylanowe mogą przenikać przez różnego typu rękawice jednorazowe stosowane przez personel stomatologiczny [29]. Oprócz identyfikacji tego szlaku penetracji organizmu, ważne jest,

aby lekarze i technicy dentyści byli uświadomieni, że powszechnie stosowane rękawice nie chronią ich całkowicie przed wnikaniem szkodliwych monomerów.

Nowoczesne akrylany i metakrylany stosowane w stomatologii (dimetakrylan etylenoglikolu, metakrylan 2-hydroksyetylu, metakrylan 2-hydroksypropylu, epoksy akrylany, akrylany uretanowe) mogą wywoływać uczulenia. Zauważono, że związki te powodują charakterystyczne reakcje alergiczne ze zmianami na opuszkach palców rąk w postaci złuszczeń naskórka i głębokich pęknięć [32]. Liczne badania wykazały, że żywice dimetakrylanowe mogą mieć wpływ na miejscowe reakcje immunologiczne, estrogenność, a także działać jako potencjalne kancerogeny [33, 34].

Wyniki badań Geurtsena et al. [35], którzy oceniali potencjał cytotoksyczny ponad 35 składników wypełnień, wskazują na dużą cytotoksyczność monomerów podstawowych Bis-GMA i UDMA, które powodowały zahamowanie podziałów komórkowych. Wśród komonomerów toksyczne okazały się DEGDMA i TEGDMA, a wśród pozostałych składników kompozytów potencjał cytotoksyczny wykazały BHT oraz ftalan dicykloheksylu.

Estrogenność składników kompozytów badał Wada et al. [36]. Stwierdzili oni dużą estrogenność dla takich związków, jak: bisfenol A, BHT, 2-hydroksy-4-metoksybenzofenon (fotostabilizator) i 2,2-dimetoksy-2-fenylacetofenon (inicjator). Właściwości estrogenne tych związków zostały potwierdzone w badaniach Jakubaszko [37]. Niektórzy autorzy podważają jednak szkodliwy wpływ bisfenolu A, którego zawartość zmniejsza się po zakończeniu polimeryzacji i występuje w postaci związków pochodnych [5].

Genotoksyczność opisuje szkodliwy wpływ różnych czynników na materiał genetyczny komórki. Integralność oraz stabilność DNA są niezbędne do właściwego funkcjonowania komórek. Czynniki genotoksyczne oddziałując z cząsteczką DNA, powodują wytworzenie pierwotnych uszkodzeń. Powstają one zarówno na skutek ekspozycji komórkowego DNA na czynniki zewnętrzne (środowiskowe), jak i genotoksyczne związki powstające podczas endogennych procesów komórkowych (np. wolne rodniki tlenowe powstające na skutek peroksydacji lipidów). Substancje genotoksyczne są potencjalnymi mutagenami, oddziałując z DNA, mogą wywoływać jego uszkodzenia, które nienaprawione po replikacji prowadzą do powstania mutacji, różnego rodzaju rearanżacji oraz aberracji chromosomowych. Rearanżacje chromosomowe mogą skutkować powstawaniem genów fuzyjnych, a w konsekwencji białek fuzyjnych, które nie spełniają swoich funkcji fizjolo-

gicznych, a często mają charakter onkogeny. Mutacje w DNA są przyczyną transformacji nowotworowej na skutek powstawania genów fuzyjnych, inaktywacji genów supresorowych lub aktywacji onkogenów.

Żywice dimetakrylanowe stosowane do produkcji kompozytów dentystrycznych mogą mieć potencjalne działanie genotoksyczne. Jak wykazano w badaniach, powodują znaczne zwiększenie poziomu pęknięć jednoniciowych w DNA limfocytów krwi obwodowej oraz komórkach gruczołów ślinowych [38, 39]. Może to mieć związek ze zwiększonym ryzykiem kancerogenezy. Nie stwierdzono jednak bezpośredniego oddziaływania żywic dimetakrylanowych na powstawanie chorób nowotworowych. Wyniki niektórych badań udowodniły, że żywice dimetakrylanowe mają wpływ na powstawanie zwiększonej liczby mikrojąder oraz mostków nukleoplazmatycznych, co sugeruje indukcję przerw w chromosomach oraz ich rearanżacje [34]. Stwierdzono również, że komonomery mogą powodować zahamowanie wzrostu komórek oraz wpływać na ich różnicowanie, a także zmieniać poziom ekspresji wielu genów biorących udział w odpowiedzi na stres oksydacyjny [34, 40].

Działania biologiczne indukowane przez Bis-GMA i UDMA

Bis-GMA

Działania biologiczne zarówno Bis-GMA, jak i UDMA obejmują szeroki zakres zjawisk dotyczących wielu układów i organów. Zaobserwowano, że Bis-GMA powodował zmniejszenie żywotności fibroblastów dziąsła i keratynocytów HaCaT, nie wywoływał jednak uwalniania interleukiny IL-1 β , co może wskazywać na jego złożone działanie [41]. Bis-GMA zmieniał także właściwości wielu enzymów, w tym mitochondrialnej dehydrogenazy i fosfatazy alkalicznej w osteoblastach MC3T3-E1 [42] i fibroblastach dziąsła, w których obserwowano hamowanie aktywności dehydrogenazy mleczanowej [43]. W badaniach tych stwierdzono również hamowanie proliferacji tych komórek. U myszy, którym podawano Bis-GMA w dawce do 100 g/kg masy ciała przez 28 dni zaobserwowano zwiększoną częstość resorpcji płodów [44]. Stwierdzono, że Bis-GMA może wywoływać uszkodzenia DNA, bez wpływu jednak na cykl komórkowy, co sugeruje, że Bis-GMA nie zaburza mechanizmów naprawy DNA [45].

Konsekwencje biologiczne powodowane przez Bis-GMA mogą mieć związek z wytwarzaniem reaktywnych form tlenu (ROS) i azotu, które może być stymulowane promieniowaniem UV w procesie polimeryzacji [46, 47]. Stwierdzono, że metabolity Bis-GMA są mniej toksyczne od związku wyjściowego, w kategoriach cytotoxyczności, estrogenności i mutagenności [48]. Bis-GMA zaś okazał się bardziej cytotoxyczny niż HEMA, TEGDMA i UDMA, był jednak mniej cytotoxyczny od uwalnianych z amalgamatów związków rtęci [49]. Indukcję uszkodzeń DNA, mierzonych testem kometkowym, obserwowano dla Bis-GMA w stężeniu 100 μ M [39]. Zauważono, że Bis-GMA może wykazywać aktywność estrogenną z powodu powinowactwa do receptorów estrogenowych, co zostało następnie potwierdzone w badaniach preparatów dostępnych komercyjnie [36, 50]. Kompozyty mogą więc uwalniać związki wykazujące działanie przypisane hormonom. W badaniach przeprowadzonych na pacjentach mających wypełnienia kompozytowe stwierdzono podwyższony poziom uszkodzeń DNA w limfocytach krwi obwodowej w stosunku do badań kontrolnych [51]. Interesujące, że poziom uszkodzeń DNA u tych osób był zbliżony do poziomu obserwowanego u osób z wypełnieniami amalgamatowymi.

Wykazano, że Bis-GMA hamowało syntezę DNA, co potwierdza jego zdolność do wywoływania działań genotoksycznych [52]. Mogą one prowadzić do niestabilności genomowej, sprzyjać indukcji, promocji i progresji transformacji nowotworowej. Poza tym, w przeciwieństwie do klasycznej toksykologii, działania genotoksyczne często nie zależą od stężenia wywołujących je substancji. Jedna cząsteczka wystarczy do zainicjowania transformacji nowotworowej w jednej komórce, która na skutek rozwoju klonalnego może decydować o nabywaniu fenotypu nowotworowego przez organizm wielokomórkowy.

UDMA

Wiele działań biologicznych powodowanych przez monomery metakrylanów i dimetakrylowanych może być wywoływanych na skutek indukowania przez te substancje reaktywnych form tlenu (ROS) i azotu lub, może bardziej ogólnie, przez zaburzenie równowagi redoks [40, 53–56]. W badaniach własnych stwierdzono, że metakrylan glicydyli (GMA) może indukować działania cytotoksyczne w limfocytach krwi obwodowej człowieka, przez mechanizmy obejmujące utlenienie zasad azotowych w DNA [57].

Sugeruje się, że zaburzenie równowagi redoks przez metakrylany wynika ze zmniejszenia puli

glutationu [54, 58–61]. Glutation (GSH, γ -glutamylcysteinylglycyna) jest tripeptydem obecnym we wszystkich komórkach zwierzęcych w stosunkowo dużym stężeniu, sięgającym 10 mM [62]. GSH ulega szybkiej regeneracji w komórkach i jest skuteczną ochroną przed toksycznym działaniem ksenobiotyków i endogennych substancji szkodliwych. Dzieje się tak dlatego, że GSH łatwo ulega utlenieniu, reaguje z wolnymi rodnikami i bierze udział w odtwarzaniu uszkodzonych elementów komórkowych [63]. GSH zatem jest elementem ochronnym i nieodnawialne zmniejszenie jego zawartości w komórce może prowadzić do stresu oksydacyjnego. Spadek taki może wywoływać peroksydację lipidów i zmiany reakcji komórki na uszkodzenia DNA [64–66]. Skutkiem tych zdarzeń może być apoptoza. Lee et al. [67] przeprowadzili badania *in vitro* dotyczące biologicznych skutków ubocznych działania monomerów uwalnianych z żywicznych materiałów stomatologicznych. Wykazano, że cytotoxyczność UDMA w komórkach miazgi była hamowana przez *N*-acetylocysteinę, substancję mającą właściwości antyoksydacyjne. Na podstawie tego sformułowano wniosek, że UDMA może indukować apoptozę przez stres oksydacyjny.

Z badań Volk et al. [68] wynika, że UDMA powodował zmniejszanie stężenia GSH w fibroblastach pochodzących z dziąseł człowieka. Co więcej, działanie UDMA było bardziej szkodliwe niż HEMA i TEGDMA, a stężenie, przy którym obserwowano zmniejszenie zawartości GSH o 50%, wynosiło 0,1 mM. Skutkiem działania UDMA w stężeniach przekraczających 0,25 mM było zmniejszenie żywotności fibroblastów dziąsła, co potwierdziły także inne badania [69]. Ponieważ UDMA jest związkiem o dużej lipofilności, dlatego łatwo penetruje błony komórkowe, w których może indukować różnorodne niekorzystne zmiany [70, 71].

Podsumowanie

Sukces kliniczny nowych technik stomatologicznych był przypisywany, oprócz znakomych właściwości fizykochemicznych i estetycznych materiałów złożonych, także założeniu o braku niepożądanych działań biologicznych, mogących wynikać z obecności żywic metakrylanowych w organizmie człowieka. Szczegółowa analiza procesu polimeryzacji oraz kinetyki uwalniania monomerów z polimerów sugeruje, że miejscowe stężenie monomerów metakrylanów w miazdze może być wystarczająco duże dla indukcji działania toksycznego. Miazga i nabłonek jamy ustnej mogą być jedynie pierwszym etapem migracji

metakrylanów, które mogą przemieszczać się do innych tkanek i narządów. Niektóre małe monomery metakrylanowe mogą jednak swobodnie dyfundować przez rękawiczki jednorazowe, co stwarza zagrożenie również dla personelu stomatologicznego.

Wydaje się, że najbardziej szkodliwy wpływ ze strony monomerów może być widoczny po długim okresie utajenia, w postaci efektów mutagennych lub rakotwórczych. Skutki biologiczne wywoływa-

ne przez Bis-GMA i UDMA – najczęściej stosowane monomery metakrylanowe, obejmują szeroki zakres działań cyto- i genotoksycznych mogących prowadzić do indukcji transformacji nowotworowej i śmierci komórki. Aby temu zapobiec, należy zintensyfikować badania nad negatywnymi skutkami monomerów metakrylanowych w organizmie człowieka, opracowywać nowe materiały stomatologiczne, a także wprowadzać technologie służące zabezpieczeniu personelu stomatologicznego.

Piśmiennictwo

- [1] SPAHL W., BUDZIKIEWICZ H.: Qualitative analysis of dental resin composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. *Fresenius J. Anal. Chem.* 1994, 350, 684–691.
- [2] MICHELSEN V.B., LYGRE H., SKÅLEVIK R., TVEIT A.B., SOLHEIM E.: Identification of organic eluates from four polymer-based dental filling materials. *Eur. J. Oral. Sci.* 2003, 111, 263–271.
- [3] GEURTSSEN W.: Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 2000, 11, 333–355.
- [4] GEURTSSEN W.: Substances released from dental resin composites and glass ionomer cements. *Eur. J. Oral. Sci.* 1998, 106, 687–695.
- [5] JODKOWSKA E., MAŁKIEWICZ K.: Potencjał cytotoksyczny stomatologicznych materiałów wypełnieniowych i nadtenku wodoru. Wydawnictwo Czelej, Lublin 2008.
- [6] MOSZNER N., SALZ U.: New developments of polymeric dental composites. *Prog. Polym. Sci.* 2001, 26, 535–576.
- [7] CAUGHMAN W.F., RUEGGEBERG F.A., CURTIS J.W. Jr.: Clinical guidelines for photocuring restorative resins. *J. Am. Dent. Assoc.* 1995, 126, 9, 1280–1282.
- [8] TASDELEN M.A., MOSZNER N., YAGCI Y.: The use of poly(ethylene oxide) as hydrogen in type II photoinitiated free radical polymerization. *Polym. Bull.* 2009, 63, 173–183.
- [9] ASMUSSEN E.: Factors affecting the quantity of remaining double bonds in restorative resin polymers. *Scand. J. Dent. Res.* 1982, 90, 490–496.
- [10] IMAZATO S., MCCABE J.F., TARUMI H., EHARA A., EBISU S.: Degree of conversion of composites measured by DTA and FTIR. *Dent. Mater.* 2001, 17, 178–183.
- [11] BOULLAGUET S.: Biological risks of resin – based materials to the dentin – pulp complex. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 2004, 15, 47–60.
- [12] MOSZNER N., VOLKEL T., FISCHER U.K., KLESTER A., RHEINBERGER V.: Synthesis and polymerisation of new multifunctional urethane methacrylates. *Angew. Makromol. Chem.* 1999, 265, 31–35.
- [13] SIDERIDOU I., TSERKI V., PAPANASTASIOU G.: Effect of chemical structure on degree of conversion in light-cured dimethacrylate-based dental resin. *Biomaterials* 2003, 23, 1819–1829.
- [14] STANSBURY J.W., ANTONUCCI J.M.: Dimethacrylate monomers with varied fluorine contents and distributions. *Dent. Mater.* 1999, 15, 166–173.
- [15] RENZ S., DICKENS B.: NIR-spectroscopic investigation of water sorption characteristics of dental resins and composites. *J. Biomed. Mater. Res.* 1991, 25, 1231–1248.
- [16] BRADEN M., DAVY K.W.: Water absorption characteristics of some unfilled resins. *Biomaterials* 1986, 7, 474–575.
- [17] FERRACANE J.L.: Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent. Mater.* 2006, 22, 211–222.
- [18] KERBY R.E., KNOBLOCH L.A., SCHRICKER S., GREGG B.: Synthesis and evaluation of modified urethane dimethacrylate resins with reduced water sorption and solubility. *Dent. Mater.* 2009, 25, 302–313.
- [19] DE GEE A.F., FEIZLER A.J., DAVIDSON C.L.: True linear polymerization shrinkage of unfilled resins and composites determined with a linometer. *Dent. Mater.* 1993, 9, 11–14.
- [20] DAVIDSON C.L., DE GEE A.J.: Light-curing units, polymerization, and clinical implications. *J. Adhes. Dent.* 2000, 2, 167–173.
- [21] ATAI M., AHMADI M., BABANZADEH S., WATTS D.C.: Synthesis, characterization, shrinkage and curing kinetics of new low-shrinkage urethane dimethacrylate monomer for dental applications. *Dent. Mater.* 2007, 23, 1030–1041.
- [22] POLYDOROU O., TRITTLER R., HELLWING E., KUMMERER K.: Elution of monomers from two conventional dental composite materials. *Dent. Mater.* 2007, 23, 1535–1541.
- [23] GERZINA T.M., HUME W.R.: Effect of dentine on release of TEGDMA from resin composite *in vitro*. *J. Oral. Rehabil.* 1994, 21, 463–468.
- [24] HANKS C.T., CRAIG R.G., DIEHL M.L., PASHLEY D.H.: Cytotoxicity of dental composites and other materials in a new *in vitro* device. *J. Oral Pathol.* 1988, 17, 396–403.
- [25] PEUTZFELD A.: Resin composites in dentistry the monomer system. *Eur. J. Oral Sci.* 1997, 105, 97–116.
- [26] SANTERRE J.P., SHAJI Z., LEUNG B.W.: Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 2001, 12, 136–151.
- [27] ORTENGREN U., LUNDGREN T., LANGER S., GÖRANSON A.: Influence of pH and time on organic substance release from a model dental composite: a fluorescence spectrophotometry and gas chromatography/mass spectrometry analysis. *Eur. J. Oral Sci.* 2004, 112, 530–537.

- [28] MUNKSGAARD E.C., FREUD M.: Enzyme hydrolysis of (di)methacrylates and their polymers. *Scand. J. Dent Res.* 1990, 98, 261–267.
- [29] HANDEL C., LEYHAUSEN G., MAI U.E., GEURTSSEN W.: Effects of various resin composite (co)monomers and extracts of two caries-associated microorganisms *in vitro*. *J. Dent. Res.* 1998, 77, 60–67.
- [30] DE UNCK J., VAN LANDUYT K., PEUMANS M., POITEVIN A., LAMBRECHT P., BRAEM M., VAN MEERBEK B.: A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J. Dent. Res.* 2005, 84, 118–132.
- [31] NAKAMURA M., OSHIMA H., HASHIMOTO Y.: Monomer permeability of disposable dental gloves. *J. Prosthet. Dent.* 2003, 90, 81–85.
- [32] KIEĆ-ŚWIERCZYŃSKA M.: Alergiczne kontaktowe zapalenie skóry. *Alergia Astma Immunol.* 1998, 3, 61–65.
- [33] SCHAFER T.E., LAPP C.A., HANES C.M., LEWIS J.B., WATAHA J.C., SCHUSTER G.S.: Estrogenicity of bisfenol A and bisfenol A dimethacrylate *in vitro*. *J. Biomed. Mater. Res.* 1999, 45, 192–197.
- [34] SCHWEIKL H., HILLER K.A., BOLAY C., KREISSL M., KREISMANN W., NUSSER A., STEINHAUSER S., WIECZOREK J., VASOLD R., SCHMALZ G.: Cytotoxic and mutagenic effects of dental composite materials. *Biomaterials* 2005, 26, 1713–1719.
- [35] Geurtsen W., SPAHL W., MÜLLER K., LEYHAUSEN G.: Aqueous extracts from dentin adhesives contain cytotoxic chemicals. *J. Biomed. Mater. Res.* 1999, 48, 772–777.
- [36] WADA H., TURAMI H., IMAZATO S., NARIMATSU M., EBISU S.: *In vitro* estrogenicity of resin composites. *J. Dent. Res.* 2004, 83, 222–226.
- [37] JAKUBASZKO E.: Substancje o działaniu estrogennym uwalniane w środowisku jamy ustnej z materiałów złożonych. *Dent. Med. Probl.* 2002, 39, 285–288.
- [38] KLEINSASSER N.H., SCHMID K., SASSEN A.W., HARREUS U.A., STAUDENMAIER R., FOLWACZNY M., GLAS J., REICHL F.X.: Cytotoxic and genotoxic effect of resin monomers in human salivary gland tissue and lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (Comet) assay. *Biomaterials* 2006, 27, 1762–1770.
- [39] KLEINSASSER N.H., WALLNER B.C., HARREUS U.A., KLEINJUNG T., FOLWACZNY M., HICKEL R., KEHE K., REICHL F.X.: Genotoxicity and cytotoxicity of dental materials in human lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (comet) assay. *J. Dent.* 2004, 32, 229–234.
- [40] MOHARAMZADEH K., VAN NOORT R., BROOK I.M., SCUTT A.M.: Cytotoxicity of resin monomers on human gingival fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *Dent. Mater.* 2007, 23, 40–44.
- [41] IMAZATO S., HORIKAWA D., OGATA K., KINOMOTO Y., EBISU S.: Responses of MC3T3-E1 cells to three dental resin-based restorative materials. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2006, 76, 765–772.
- [42] ISSA Y., WATTS D.C., BRUNTON P.A., WATERS C.M., DUXBURY A.J.: Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts *in vitro*. *Dent. Mater.* 2004, 20, 12–20.
- [43] DARMANI H., AL-HIYASAT A.S.: The effects of BIS-GMA and TEG-DMA on female mouse fertility. *Dent. Mater.* 2006, 22, 353–358.
- [44] KOSTORYZ E.L., WETMORE L.A., BROCKMANN W.G., YOURTEE D.M., EICK J.D.: Genotoxicity assessment of oxirane-based dental monomers in mammalian cells. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2004, 68, 660–667.
- [45] SPAGNUOLO G., ANNUNZIATA M., RENGO S.: Cytotoxicity and oxidative stress caused by dental adhesive systems cured with halogen and LED lights. *Clin. Oral Investig.* 2004, 8, 81–85.
- [46] DEMIRCI M., HILLER K.A., BOSL C., GALLER K., SCHMALZ G., SCHWEIKL H.: The induction of oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity by dental adhesives. *Dent. Mater.* 2008, 24, 362–371.
- [47] KOSTORYZ E.L., EICK J.D., GLAROS A.G., JUDY B.M., WELSHONS W.V., BURMASTER S., YOURTEE D.M.: Biocompatibility of hydroxylated metabolites of BISGMA and BFDGE. *J. Dent. Res.* 2003, 82, 367–371.
- [48] REICHL F.X., SIMON S., ESTERS M., SEISS M., KEHE K., KLEINSASSER N.: Cytotoxicity of dental composite (co)monomers and the amalgam component Hg²⁺ in human gingival fibroblasts. *Arch. Toxicol.* 2006, 80, 465–472.
- [49] TARUMI H., IMAZATO S., NARIMATSU M., MATSUO M., EBISU S.: Estrogenicity of fissure sealants and adhesive resins determined by reporter gene assay. *J. Dent. Res.*, 2000, 79, 1838–1843.
- [50] DI PIETRO A., VISALLI G., LA MAESTRA S., MICALE R., BALUCE B., MATARESE G., CINGANO L., SCOGGIO M.E.: Bio-monitoring of DNA damage in peripheral blood lymphocytes of subjects with dental restorative filling. *Mutat. Res.* 2008, 650, 115–122.
- [51] HEIL J., REIFFERSCHIED G., WALDMANN P., LEYHAUSEN G., GEURTSSEN W.: Genotoxicity of dental materials. *Mutat. Res.* 1996, 368, 181–194.
- [52] SCHWEIKL H., HILLER K.A., ECKHARDT A., BOLAY C., SPAGNUOLO G., STEMPL T., SCHMALZ G.: Differential gene expression involved in oxidative stress response caused by triethylene glycol dimethacrylate. *Biomaterials* 2008, 29, 1377–1387.
- [53] WALTHER U.I., SIAGIAN I.I., WALTHER S.C., REICHL F.X., HICKEL R.: Antioxidative vitamins decrease cytotoxicity of HEMA and TEGDMA in cultured cell lines. *Arch. Oral Biol.* 2004, 49, 125–131.
- [54] STANISLAWSKI L., LEFEUVRE M., BOURD K., SOGEILI-MAJD E., GOLDBERG M., PERIANIN A.: TEGDMA-induced toxicity in human fibroblasts is associated with early and drastic glutathione depletion with subsequent production of oxygen reactive species. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2003, 66, 476–482.
- [55] SAMUELSEN J.T., DAHL J.E., KARLSSON S., MORISBAK E., 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. *Dent. Mater.* 2007, 23, 34–39.
- [56] NOCCA G., LUPI A., DE SANTIS F., GIARDINA B., DE PALMA F., CHIMENTI C., GAMBARINI G., DE SOLE P.: Effect of methacrylic monomers on phagocytes reactive oxygen species: a possible BDDMA modulating action. *Luminescence* 2008, 23, 54–57.

- [57] POPLAWSKI T.: Cytotoxicity and genotoxicity of glycidylmethacrylate. *Chem. Biol. Interact.* 2009, 180, 69–78.
- [58] ENGELMANN J., JANKE V., VOLK J., LEYHAUSEN G., VON NEUHOFF N., SCHLEGELBERGER B., GEURTSSEN W.: Effects of BisGMA on glutathione metabolism and apoptosis in human gingival fibroblasts *in vitro*. *Biomaterials* 2004, 25, 4573–4580.
- [59] ENGELMANN J., LEYHAUSEN G., LEIBFRITZ D., GEURTSSEN W.: Metabolic effects of dental resin components *in vitro* detected by NMR spectroscopy. *J. Dent. Res.* 2001, 80, 869–875.
- [60] 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, 469–474.
- [61] SOHEILI-MAJD E., GOLDBERG M., STANISLAWSKI L.: *In vitro* effects of ascorbate and trolox on the biocompatibility of dental restorative materials. *Biomaterials* 2003, 24, 3–9.
- [62] MEISTER A., ANDERSON M.E.: Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.* 1983, 52, 711–760.
- [63] DICKINSON D.A., FORMAN H.J.: Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem. Pharmacol.* 2002, 64, 1019–1026.
- [64] CEJAS P., CASADO E., BELDA-INIESTA C., DE CASTRO J., ESPINOSA E., REDONDO A., SERENO M., GARCÍA-CABEZAS M.A., VARA J.A., DOMÍNGUEZ-CÁCERES A., PERONA R., GONZÁLEZ-BARÓN M.: Implications of oxidative stress and cell membrane lipid peroxidation in human cancer. *Cancer Causes Control.* 2004, 15, 707–719.
- [65] MIYAMOTO Y., KOH Y.H., PARK Y.S., FUJIWARA N., SAKIYAMA H., MISONOU Y., OOKAWARA T., SUZUKI K., HONKE K., TANIGUCHI N.: Oxidative stress caused by inactivation of glutathione peroxidase and adaptive responses. *Biol. Chem.* 2003, 384, 567–574.
- [66] LANDER H.M., TAURAS J.M., OGISTE J.S., HORI O., MOSS R.A., SCHMIDT A.M.: Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21(ras)-dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. *J. Biol. Chem.* 1997, 272, 17810–17814.
- [67] LEE D., LIM B., LEE Y., YANG H.: *In vitro* biological adverse effects of dental resin monomers and endodontic root canal sealers. *Curr. App. Phys.* 2007, 7, e130–e134.
- [68] VOLK J., ENGELMANN J., LEYHAUSEN G., GEURTSSEN W.: Effects of three resin monomers on the cellular glutathione concentration of cultured human gingival fibroblasts. *Dent. Mater.* 2006, 22, 499–505.
- [69] GEURTSSEN W., LEHMANN F., SPAHL W., LEYHAUSEN G.: Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. *J. Biomed. Mater. Res.* 1998, 41, 474–480.
- [70] FUJISAWA S., KADOMA Y., KOMODA Y.: Changes in ¹H-NMR chemical shifts of Bis-GMA and its related methacrylates induced by their interaction with phosphatidylcholine/cholesterol liposomes. *Dent. Mater. J.* 1991, 10, 121–127.
- [71] AHLERS J., CASCORBI I., FORET M., GIES A., KOHLER M., PAULI W., RÖSICK E.: Interaction with functional membrane proteins – a common mechanism of toxicity for lipophilic environmental chemicals? *Comp. Biochem. Physiol. C.* 1991, 100, 111–113.

Adres do korespondencji:

Joanna Szczepańska
Zakład Stomatologii Wieków Rozwojowego UM
ul. Pomorska 251
92-216 Łódź
tel.: +48 42 675 75 16
e-mail: stomat100@poczta.onet.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 6.04.2009 r.

Po recenzji: 14.05.2009 r.

Zaakceptowano do druku: 13.10.2009 r.

Received: 6.04.2009

Revised: 14.05.2009

Accepted: 13.10.2009