بررسی سازگاری نسجی آلیاژهای بیس متال و نابل روی فیبروبلاست لثه ی انسانی

معظمه رحمانی [۱]، میثم مهابادی [۲]*، اکرم گوهری فر [۳]

[۱] دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران

[۲] استادیار گروه پروتزهای دندانی، دانشکده دندانپزشکی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران

[۳] دستیار تخصصی گروه گروه پروتزهای دندانی، دانشکده دندانپزشکی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران

تاریخ ارائه مقاله: ۹۸/۹/۷ – تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۲۱

Evaluation of the Biocompatibility of Base Metal and Noble Alloys on Human Gingival Fibroblast

Moazame Rahmani [1], Meysam Mahabadi [2]*, Akram Goharifar [3]

[1] Dentist, Isfahan, Iran.

[2] Assistant Professor of Prosthodontics, School of Dentistry, Islamic Azad University (Khorasgan), Isfahan, Iran.

[3] Postgraduate Student of Prosthodontics, School of Dentistry, Islamic Azad University of Isfahan (Khorasgan), Isfahan, Iran

Received: 28 November 2019; Accepted: 10 February 2020

Introduction: All dental alloys release some elements into the oral cavity which may have negative effects on body cells. The purpose of the present study was to evaluate the effects of base metal and noble alloys on the survival rate of human gingival fibroblasts.

Materials and Methods: For the purposes of the study, fibroblasts were isolated from healthy human gingival tissue during crown lengthening surgery. In the third passage, fibroblasts were exposed to different concentrations of two base metal alloys (i.e., VeraBond 2, Commend) and two noble alloys (i.e., Degubond 4, Pal Kermit 2). To ensure the repeatability of the results, at least six samples of each material were prepared (n=18) and the survival rate of fibroblasts was evaluated using the MTT assay after 9 and 15 days. The collected data were statistically analyzed in SPSS software (version 20) using the ANOVA test.

Results: According to the findings, the alloy type, alloy concentration, and the duration affected the remaining-cell ratio. The most and least remaining cells were observed in the presence of Degubond 4 and VeraBond 2 alloys, respectively. Moreover, the average percentage of the remaining cells at the concentration of 20 was significantly more than that at the concentration of 60 which was, in turn, more than that at the concentration of 100. Besides, the average percentage of the remaining cells in Degubond 4 and Commend on day 9 of the research was significantly more than that on day 15. Furthermore, no significant difference was observed in Pal Kermit 2 and VeraBond 2 on days 9 and 15 of the research.

Conclusion: VeraBond 2 base metal alloy decreases the survival rate of fibroblasts, based on the concentration, significantly more than the other alloys. Degubond 4 noble alloy has significantly the lowest negative effect on the survival rate of fibroblasts. Therefore, given the average percentage of the remaining cells, VeraBond 2 alloy has mild toxicity, and the other ones are biocompatible.

Key words: Base metal alloy, Biocompatibility, Fibroblast, Noble alloy

Corresponding Author: meysam.mahabadi@yahoo.com

J Mash Dent Sch 2020; 44(2): 138-48 .

چکیده

مقدمه: از تمام آلیاژهای دندانی عناصری به حفره دهان آزاد می شود که می تواند تأثیرات منفی بر سلول‌های بدن داشته باشد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر آلیاژهای بیس متال و نابل بر بقای فیبروبلاست های لثه انسان بود.

مواد و روش ها: فیبروبلاست های بدست آمده از لثه سالم انسان حین جراحی افزایش طول تاج، کشت داده شد. در پاساژ سوم، فیبروبلاست ها در معرض غلظت‌های مختلف دو نوع آلیاژ بیس متال (وراباند ۲، کامند) و دو نوع آلیاژ نابل (دگوباند ۴، پال کرمیت ۲) قرار گرفتند. برای تکرارپذیری نتایج از هر ماده حداقل شش نمونه تهیه شد (n=18) و پس از گذشت ۹ و ۱۵ روز میزان بقای فیبروبلاست‌ها با روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با آزمون ANOVA و نرم افزار SPSS ویرایش ۲۰ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته ها: هم نوع آلیاژ، هم غلظت آلیاژ و هم مدت زمان، بر درصد سلول‌های باقیمانده مؤثر بود. حداکثر و حداقل سلول های باقیمانده به ترتیب در مجاورت آلیاژهای دگوباند۴ و وراباند۲ بود. میانگین درصد سلول های باقیمانده در غلظت ۲۰ به طور معناداری بیشتر از غلظت ۶۰ و در غلظت

---

* مولف مسؤول، نشانی: اصفهان، دانشگاه خوراسگان، دانشکده دندانپزشکی، گروه پروتزهای دندانی، کدپستی ۰۹۱۳۱۱۷۰۹۷۸، تلفن: ۰۳۱۳۶۲۰۵۵۹۰

E-mail: meysam.mahabadi@yahoo.com

۶۰ به طور معناداری بیشتر از غلظت ۱۰۰ بود. میانگین درصد سلول های باقیمانده در دگوباند ۴ و کامند در روز ۹ به طور معناداری بیشتر از روز ۱۵ بود. اختلاف معناداری در آلیاژ پال کرمیت ۲ و وراباند ۲ در روز ۹ و ۱۵ دیده نشد.

نتیجه‌گیری: آلیاژ بیس متال وراباند ۲ به طور قابل توجهی بیش از سه نوع آلیاژ دیگر بقای فیبروبلاست‌ها را به صورت وابسته به غلظت کاهش داد. آلیاژ نابل دگوباند ۴، نسبت به سه نوع آلیاژ دیگر به طور قابل توجهی کمترین اثر منفی را بر بقای فیبروبلاست‌های زنده داشت. بنابراین با توجه به میانگین درصد سلولهای باقی مانده، آلیاژ وراباند ۲ دارای سمیت خفیف و سه نوع آلیاژ دیگر زیست سازگارهستند.

کلمات کلیدی: زیست سازگاری، فیبروبلاست، آلیاژ نابل، آلیاژ بیس متال

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۹ دوره ۴۴ / شماره ۲ : ۴۸-۱۳۸ .

مقدمه

اکثر موادی که جهت ترمیم یا بازسازی دندان های آسیب دیده به کار می روند، از آلیاژهایی تشکیل شده اند که حاوی مقادیر متنوعی از فلزات هستند.[۱] آلیاژها به دلیل خواص مناسب و کاربرد متنوع در رشته های مختلف دندانپزشکی به ویژه پروتز دارای اهمیت و جایگاه ویژه ای می‌باشند. یک آلیاژ، ترکیبی از دو یا چند فلز است که نوع و مقدار فلزات تشکیل دهنده در تعیین خصوصیات آن مؤثر می‌باشد.[۲]

زیست سازگاری از مهمترین فاکتور های مورد نیاز برای یک آلیاژ در پروتز های دندانی می باشد چرا که این مواد تماس نزدیک و طولانی مدت با بافت های دهان دارند. زیست سازگاری به معنی توانایی یک ماده در اجرای فانکشن مطلوبش بدون اثرات موضعی یا سیستمیک نامطلوب می باشد. کروژن آلیاژ اهمیت اساسی در زیست سازگاری آن دارد زیرا آزادسازی عناصر از آلیاژ تقریبا همیشه اثرات بیولوژیکی ناخوشایندی مثل سایتوتوکسیتی داشته که به عنوان اولین تظاهر از زیست سازگاری ضعیف یک ماده است که منجر به مرگ سلولی به شکل آپوپتوز یا نکروز می شود.[۳-۵] کروژن یک فرآیند شیمیایی پیوسته بین محیط دهان و آلیاژهای دندانی است که باعث آزادسازی مداوم یون ها و در نتیجه واکنش های ناخوشایند مثل افزایش حساسیت و درماتیت تماسی می شود و اثراتی بر دیگر ویژگی های یک آلیاژ از جمله زیبایی، استحکام و زیست سازگاری دارد.[۱و۶] پاسخ بیولوژیکی به عناصر آزاد شده بستگی به نوع و مقدار عنصر آزاد شده و طول مدت تماس با بافت دارد.[۳] مطالعات نشان داده‌اند که مواد فلزی در دندانپزشکی می توانند به دلیل کروژن اثرات ژنوتوکسیک و جهش زا را در سلول‌ها القا کنند.[۷] همچنین مطالعات انجام شده بیان می‌کنند بدون شک از تمام آلیاژهای دندانی عناصری به حفره دهان آزاد می‌شود.[۹] این عناصر می‌توانند در بزاق حل شده و یا توسط معده و روده جذب شوند.[۱۰]

در دندانپزشکی فلزات به دو گروه نابل و بیس متال تقسیم می‌شود. آلیاژهای نابل و بیس متال دستخوش درجاتی از کروژن می شوند. عناصری مثل نیکل، کروم، مس و روی شایع ترین عناصری هستند که دچار کروژن می شوند.[۱۰]

در آلیاژهای ریختگی دندانپزشکی فلزات بیس متال شامل تیتانیوم (Ti)، نیکل (Ni)، مس (Cu)، نقره (Ag)، روی (Zn) و غیره می‌باشند. این فلزات به علت استحکام، قیمت مناسب و خواص سایشی مورد نیاز، در رستوریشن‌های دندانی مصرف بالاتری نسبت به فلزات نابل دارند. آلیاژهایی با بیس طلا و پالادیوم میزان حل شوندگی کمتری داشته و بنابراین مقاومت به کروژن بیشتری نسبت به آلیاژهای بیس متال مثل Ni-Cr یا Cr-Co دارند.[۱۱]

در دندانپزشکی رستوریشن های متال سرامیک به علت خصوصیات مکانیکی و زیبایی عالی هنوز هم به عنوان یک انتخاب مناسب برای پروتز های ثابت در نظر گرفته می شوند.[۱] آلیاژهای نیکل-کروم به علت قیمت مناسب و ماهیت عالی در رستوریشن های ونیر شونده، سال های زیادی است که استفاده می شوند. با وجود عملکرد بالینی بسیار خوب رستوریشن های نیکل-کروم در طول زمان، زیست سازگاری آلیاژهایی با پایه نیکل در حفره دهان به دلیل کروژن بالا و واکنش های آلرژیک احتمالی مرتبط با یون نیکل باعث نگرانی هایی شده است.[۱۲] نیکل به ویژه به عنوان عامل آلرژی زایی مهمی شناخته شده است.[۱۳] تقریباً پنج درصد مردم به نیکل حساسیت دارند و این حساسیت در زنان ده برابر شایع‌تر از مردان است.[۱۴] حساسیت به نیکل را در تشخیص هر نوع تغییرات نسج نرم که بعد از جایگزینی روکش رخ می‌دهد، باید در نظر داشت.[۱۶] برخی از آلیاژها نظیر آلیاژهای پایه نیکل حاوی بریلیوم، میزان بیشتری از کروژن را به خصوص در PH پایین نشان داده‌اند. آلیاژهای نابل و های نابل چندان توسط PH پایین تحت تاثیر قرار نمی گیرند.[۱۷] مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که استفاده از آلیاژهای بیس متال باعث ایجاد عوارضی از قبیل سرطان زایی در حیوانات کوچک و ایجاد حساسیت بافتی در انسان شده است که به دلیل کروژن و متعاقب آن آزادسازی عناصری نظیر نیکل، بریلیوم و کروم می‌باشد.[۱۸و۱۹]

مطالعات آزمایشگاهی در زمینه سازگاری نسجی، واکنش‌های بیولوژیک مواد را وقتی داخل سلول یا روی نسوج قرار داده می‌شوند، بررسی می‌کنند. این آزمایشات عموماً سایتوتوکسیسیتی مواد مورد آزمایش را ارزیابی می‌کنند، در عین حال ممکن است جهت تشخیص اثرات پاتوژنیسیته برخی مواد نیز مفید باشند.[۲۰]

مطالعات آزمایشگاهی به خوبی ثابت کرده‌اند که تعدادی از آلیاژهای دندانی به سلول‌ها در محیط کشت آسیب می‌رسانند.[۲۱و۲۲] بیشتر این مطالعات بر روی سلول‌های فیبروبلاست که سلول اصلی لثه می‌باشند، انجام شده است. تغییر در متابولیسم سلولی و کاهش تکثیر سلولی در سلول‌هایی که در معرض آلیاژهایی با پایه نیکل قرار گرفته‌اند، مشاهده شده است.[۲۳]

این نوع مطالعات به وضوح نشان می‌دهند که آزاد سازی یون‌های فلزی لازمه آسیب سلولی می‌باشند، اما تعیین نمی‌کند که حتماً آسیب سلولی اتفاق بیفتد. این که آیا آسیب سلولی رخ دهد یا نه به نوع عناصر، غلظت عناصر آزاد شده و مدت مواجهه، سلول بستگی دارد.[۸] آزادسازی عناصر از آلیاژهای دندانی به صورت بالینی هم اثبات شده است.[۲۴] به صورت بالینی عناصر موجود در آلیاژ، در بزاق و سلول‌های زبان و بافت‌های لثه ای یافت شده‌اند.[۲۵و۲۶] در مقادیر کافی، عناصر آزاد شده، به ویژه نیکل و مس و بریلیوم می‌توانند باعث التهاب در بافت‌های پریودنتال و مخاط دهان شوند. اگرچه مدارکی دال بر تغییر پاسخ‌های ایمنی در نتیجه آزاد سازی یون‌های فلزی مختلف به صورت آزمایشگاهی وجود دارد اما نقش این یون‌ها در بیماری التهابی نظیر ژنژیویت و پریودنتیت هنوز ناشناخته است. وقوع واکنش‌های آلرژیک در تماس با آلیاژهای فلزی نیز به اثبات رسیده است.[۱۳]

با توجه به کاربرد گسترده عناصر فلزی در مواد دندانی و ناکافی بودن تحقیقات انجام شده در این زمینه هدف از این مطالعه مقایسه و ارزیابی آزمایشگاهی تأثیر چهار نوع آلیاژ متفاوت مورد مصرف در دندانپزشکی بر سلول‌های فیبروبلاست لثه ای انسان با روش MTT بود.

مواد و روش ها

تهیه و آماده سازی نمونه سلولی– از لثه‌ی جدا شده بیماری که جهت جراحی زیبایی افزایش طول تاج به دانشکده دندانپزشکی آزاد اصفهان مراجعه کرده بود و کلیه شرایط آن سالم بود، نمونه ای به ابعاد ۱×۱×۲ میلیمتر برداشته شد. نمونه به لوله محتوی فسفات بافرسالین (GIBCO,USA) انتقال داده و به آزمایشگاه ارسال شد. بافت با فسفات بافرسالین شستشو داده شد و به قطعات ۱ تا ۲ میلی متری خرد گردید. ۳ میلی گرم بر میلی‌لیتر از کلاژناز تیپ ۱ (Sigma, Germany) به آن اضافه و به مدت ٦۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه قرار داده شد سپس به مدت ده دقیقه با دور 1800 rpm سانتریفوژ (EBA20 Hettich Zentrifugen,Germany) و از فیلتر رد شد. دو بار با فسفات بافر سالین استریل شسته و مجدداً به مدت ده دقیقه سانتریفوژ گردید. فیبروبلاست‌های به دست آمده به محیط HemeF12 # DMEM (GIBCO,USA) غنی شده با ۱۰ درصد سرم جنین گوساله، ال گلوتامین ۱ درصد، پنی‌سیلین G، استرپتومایسین و آمفوتریسین B انتقال داده و در انکوباتور با کربن دی اکسید ۵ درصد و دمای ۳۷ درجه به مدت ۳ هفته نگهداری شد. هر ۳ روز یک بار مدیوم عوض شد تا سلول‌ها به تراکم ۸۰ درصد برسند. در پاساژ سوم سلول‌ها تریپسینه گردید. 10^5 سلول به پلیت ۲٤ خانه (GREINRE,Germany) اضافه و به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور حاوی دی اکسید کربن ۵ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

مجاورت آلیاژها با سلول– برای بررسی اثر فلزات مختلف، آلیاژهای مورد استفاده با فرز فیشور تنگستن–کارباید (Tungsten carbide bur, Meisinger, USA) میکروموتور (Marathon 702, Germany) پودر شد و ۲۰۰ میلی گرم آلیاژهای دگوباند ٤، پال کرمیت ۲، کامند و وراباند ۲ در ۲ سی سی آب انالار حل شد و به مدت ۲ ساعت سونیکیت (Bandelin, Sonorex Digitec,) و ۲٤ ساعت در انکوباتور شیکردار تکان داده شد. ماده حاصل از فیلتر رد و در غلظت‌های ۲۰ میکرولیتر، ٦۰ میکرولیتر و ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک افزوده شد. بعد از تماس آلیاژها با محیط کشت مجدداً سلول‌ها دو بار با فسفات بافر سالین شستشو داده شدند تا سلول‌های مرده خارج شوند. ۲۰ میکرولیتر ماده MTT (۵ میلی گرم بر میلی لیتر) (Sigma,Germany) به هر خانه پلیت اضافه شد. سپس ٤ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و دی اکسید کربن ۵ درصد صورت گرفت.

جدول ۱ : آلیاژهای مورد استفاده در مطالعه و ترکیبات شیمیایی آنها

نوع آلیاژ	کارخانه سازنده	ترکیب شیمیایی
Degubond 4	Degu Dent (Germany)	Au 49.6%, Pd 29%, Ag 17.5%, Sn 3%, Ga 2%
Pal Kermit 2	Nobil Metal (Italy)	Au 2.0%, Pd 60.0%, Ag 26.0%, In 6.0%, Sn 5.0%, Ga <1.0%, Ir <1.0%, Au&PGM 62.1%
Verabond 2	Alba Dent (USA)	Ni 76.5%, Cr 11.5%, Mo 3.5%, Al, Nb, Si, Ti
Commend	Dentsply (USA)	Ni 77%, Cr 14%, Mo 4.7%, Al 2%, Be 1.8%, سایر موارد 0.5%

MTT assay- سمیت سلولی با ارزیابی رنگ سنجی و تولید نمک تترازولیوم با روش MTT صورت گرفت. این ترکیب یک نمک تترازولیوم زرد رنگ است که در سلول‌های زنده با آنزیم‌های میتوکندری احیاء می‌شود و به علت شکستن حلقه تترازولیوم به فرمازان آبی رنگ نامحلول تبدیل میشود که قادر به عبور از غشای پلاسمایی سلول نیست. برای این منظور بعد از ٤ ساعت انکوباسیون، ۲۰۰ میکرولیتر از دی متیل سولفوکساید به هر چاهک برای محلول کردن فرمازان آبی رنگ درون سلولی اضافه شد.

دانسیته نوری در هر ظرف با به کار بردن طول موج ۵۵۰ nm با اسپکترو فوتومتر خوانده شد. در این مطالعه درصد سلول‌های باقیمانده به صورت نسبی (نسبت به گروه کنترل) سنجیده شد.

پلیت های حاوی فیبروبلاست بدون افزودن آلیاژهای بیس- متال و نابل به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. پاسخ‌های سمیت سلولی به صورت کیفی زیاد (کمتر از ۳۰ درصد)، متوسط (بین ٦۰-۳۰ درصد)، کم (بین ۹۰-٦۰ درصد) و غیر سمی (بیشتر از ۹۰ درصد) طبقه بندی شدند. برای هر آلیاژ یک گروه کنترل و جهت تکرارپذیری نتایج از هر ماده در هر گروه غلظتی حداقل شش نمونه (n=۱۸) تهیه شد و پس از گذشت ۹ و ۱۵ روز مورفولوژی زیستایی و تکثیر سلول‌ها مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با آزمون ANOVA و نرم افزار SPSS ویرایش ۲۰ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته ها

بررسی سمیت سلولی غلظت‌های متفاوت آلیاژهای بیس- متال و نابل بر فیبروبلاست‌ها با غلظت ۲×۱۰^{٤} سلول در میلی لیتر صورت گرفت. این سنجش برای هر یک از ترکیبات با غلظت‌های متفاوت ٦ مرتبه به طور مستقل تکرار شد و میانگین آن‌ها ثبت شد. سپس میزان بقای سلولی در هر مرتبه به وسیله روش *MTT* مشخص شد. میزان بقا نسبت به گروه کنترل سنجیده و میزان رشد در گروه کنترل ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد.

آزمون آنالیز واریانس سه طرفه نشان داد که نوع آلیاژ ($P<۰/۰۰۱$)، غلظت آلیاژ ($P=۰/۰۱$) و مدت زمان نگهداری ($P=۰/۰٤$) بر درصد سلول های باقیمانده موثر بوده اند. ضمنا اثر متقابل سه متغیر آلیاژ، غلظت و مدت زمان نیز معنا دار بود ($P=۰/۰۳٦$) (جدول ۲).

اثر نوع آلیاژ بر درصد سلول های باقیمانده در روز های مختلف و غلظت های مختلف یکسان نبوده است. بیشترین و کمترین میانگین درصد سلول باقی مانده به ترتیب در آلیاژ نابل دگوباند ٤ و آلیاژ بیس متال وراباند ۲ بود. میانگین درصد سلول های باقیمانده در آلیاژ وراباند ۲ به طور معناداری کمتر از سه آلیاژ دیگر بود ($P>۰/۰۰۱$) اما بین سه آلیاژ پال کرمیت ۲، دگوباند٤ و کامند اختلاف معنادار مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$).

اثر غلظت بر درصد سلول های باقیمانده در آلیاژهای مختلف و همچنین مدت زمان نگهداری یکسان نبوده است. میانگین درصد سلول های باقیمانده در آلیاژ وراباند ۲ بین غلظت های مختلف تفاوت معنادار داشت ($P>۰/۰۰۱$)، اما در سه آلیاژ پال کرمیت ۲ ($P=۰/۲۵$)، دگوباند ٤ ($P=۰/۰۸$) و کامند ($P=۰/۲۹$) بین غلظت های مختلف تفاوت معنادار وجود نداشت. در آلیاژ وراباند ۲ میانگین درصد سلول های باقیمانده در غلظت ۲۰ به طور معناداری بیشتر از دو غلظت ٦۰ ($P=۰/۰۰۱$) و ۱۰۰ ($P>۰/۰۰۱$) بود اما بین دو غلظت ٦۰ و ۱۰۰ اختلاف معنادار وجود نداشت ($P=۰/۰۸$)

اثر زمان بر درصد سلول های باقیمانده در آلیاژهای مختلف و غلظت های مختلف یکسان نبوده است. میانگین درصد سلول های باقیمانده در هر چهار آلیاژ بین روزهای مختلف تفاوت معنادار داشت ($P>۰/۰۰۱$). میانگین درصد

سلول های باقیمانده در دو آلیاژ دگوباند ٤ (P>۰/۰۰۱) و کامند (P=۰/۰۰۳) در روز ۹ به طور معناداری بیشتر از روز ۱۵ بود اما در دو آلیاژ پال کرمیت ۲ (P=۰/۵۹) و ورابانـد (P=۰/۳۰) بین دو روز ۹ و ۱۵ اختلاف معنادار مشاهده نشد.

جدول ۲ : میانگین درصد سلول‌های باقیمانده بر حسب نوع آلیاژ، غلظت و مدت زمان

Group	Concentration	Day	Mean	S.D
Palkermit 2	۲۰	۹	۸۷/۳۷	۱۲/۳
		۱۵	۱۰۳/۷۱	٦/۷
	٦۰	۹	۱۰۸/۹۹	۲/٤
		۱۵	۱۰۵/٤۵	۳/۰۲
	۱۰۰	۹	۱۱۵/۱۲	۱۳/۸
		۱۵	۱۰۰/۳٦	۵/۳
Degubond 4	۲۰	۹	۱۰۹/۹٦	٦/۹
		۱۵	۱۰۸/٦۹	٦/۸
	٦۰	۹	۱۱۷/۵۷	٤/۹
		۱۵	۱۰٦/۵٤	۷/۰۱
	۱۰۰	۹	۱۲٦/۵۸	۲/۹
		۱۵	۱۰۷/۷۱	٤/۳
Commend	۲۰	۹	۸۷/۵۱	۳۸/۰۸
		۱۵	۹۳/۸٤	۵/٤
	٦۰	۹	۱۲۱/۱۰	۷/۳۷
		۱۵	۹۰/۸۸	٦/٤
	۱۰۰	۹	۱۳۲/۸۹	٦/۰۵
		۱۵	۹۹/٤۹	٤/۷
Verabond 2	۲۰	۹	۱۰۰/۸۱	۳/۸
		۱۵	٦۸/۱۱	۷/٤
	٦۰	۹	٦۹/۱۹	۱۰/۸
		۱۵	۱۸٦/۵۵	۲/۷
	۱۰۰	۹	٦۰/۳۱	۵/۲
		۱۵	٦۹/٤٤	٦/۱

بحث

سازگاری زیستی بیانگر توانایی عملکرد یک ماده در شرایط خاص در حضور پاسخ مناسب میزبان است. استفاده از مواد دارای سازگاری نسجی در دهان، ضرورت بررسی‌های سیتوتوکسیسیتی را اثبات می‌کند. بررسی‌های

آزمایشگاهی اساساً برای ارزیابی سیتوتوکسیسیتی یا ژنوتوکسیسیتی مواد کاربرد دارند.[۲۷]

به دلیل اینکه پروتزهای ثابت و متحرک به مدت طولانی در مجاورت پریودنشیوم قرار دارند و همچنین سلول‌های فیبروبلاست لثه ای انسان نقش مهمی در ساخت الیاف کلاژن و فعالیت‌های متابولیک پریودنشیوم به عهده دارند، این سلول‌ها معمولا جهت بررسی سازگاری نسجی آلیاژهای مورد استفاده در ساخت پروتزها انتخاب می شوند.[۲۸] در آزمایشات کشت سلولی معمولا از دو نوع سلول فیبروبلاست لثه انسانی و فیبروبلاست موش جهت بررسی تخریب سلولی توسط مواد دندانی استفاده شده است.[۲۹] با این حال مطالعات قبلی نشان داده اند که در مقایسه با دیگر رده های سلولی، فیبروبلاست های لثه انسانی حساسیت کمتری نسبت به اثرات سمی فلزات دارند.[۳۰]

در برخی از مطالعات اثر یون‌های فلزی بر فیبروبلاستهای L-929 موش مورد بررسی قرار گرفته است.[۳۳-۳۱] فیبروبلاست L-929 و فیبروبلاست لثه انسان پاسخی مشابه به کاتیون فلزی نشان دادند.[۳۳]

در مطالعه حاضر میانگین درصد سلول‌های باقیمانده با افزایش غلظت آلیاژ کاهش می‌یابد. در مطالعه Schedle نشان داده شده است که درجه آسیب سلولی بسته به غلظت و نوع کاتیون فلزی دارد.[۳۳] در مطالعه آنتونی نشان داده شد که هر چه غلظت فلز در محیط کشت افزایش می یابد، میزان آسیب DNA نیز افزایش می یابد.[۳٤] Sestini و همکاران[۳۵] به مقایسه‌ی دو نوع آرچ وایر با آلیاژ دارای نیکل و کروم و بدون آن پرداختند. نتایج نشان داد که در استفاده از آرچ وایر حاوی غلظت‌های بالاتر نیکل و کروم، آسیب بیشتری به استئوبلاست و فیبروبلاست‌ها وارد می‌شود. بر اساس مطالعات جداگانه ای که توسط Sjaren[۲] و Paasche و همکاران[۳٦] انجام گرفت، افزایش غلظت یون‌ها در محیط روی سمیت مؤثر است.

فواصل زمانی که جهت بررسی سمیت سلولی استفاده می شوند باید با دقت انتخاب شوند، چرا که قویا می تواند بر نتایج به دست آمده اثرگذار باشند.[۳۰] در این مطالعه با افزایش زمان نگهداری سلول ها در محیط کشت درصد سلول های باقیمانده کاهش می یابد. در مطالعه Pereira و همکاران[۳۷] و Mohammed و همکاران[۳۸] با پیشرفت درمان ارتودنسی کاهش حیات و متابولیسم سلولی گزارش شد. مطالعات نشان داده اند که میزان یون های آزاد شده به مایعات بیولوژیک (بزاق، خون و ادرار) طی درمان ارتودنسی به طور مشخصی کمتر از جذب متوسط این یون ها از طریق رژیم غذایی است و به سطح توکسیک نمی رسد. اما این موضوع نمی تواند به تمام موارد تعمیم داده شود چرا که ممکن است غلظت غیرسمی یون های فلزی آزاد شده، به اندازه کافی جهت القای اثرات بیولوژیک مهم بر سلول های مخاط دهان موثر باشد.[۳۸]

نقره و مس به عنوان علل اولیه در سمیت سلولی در نظر گرفته می شوند.[۳۰] در مطالعات مختلف نشان داده شده است که اثرات سمیت شدید نقره به دلیل مهار تکثیر، رشد و تکامل سلولی است.[۳۹و۳۰] در مطالعه Schedle و همکاران[۳۳]، نقره یکی از مهار کننده‌های قوی در عملکرد سلول‌های فیبروبلاست در شرایط آزمایشگاهی است. در این مطالعه پلاتین و نقره به میزان بیشتر و پالادیوم و کرومیوم به میزان متوسط اثرات سمی را نشان داده اند. نقره و به میزان کمتر طلا باعث ترشح مدیاتور سمی در ماست سل انسان شدند. در مطالعه حاضر بین دو آلیاژ نابل، آلیاژ دگوباند ٤ عملکرد بهتری نسبت به آلیاژ پال کرمیت ۲ داشت و این می‌تواند به علت کمتر بودن نقره و بیشتر بودن طلا در آلیاژ دگوباند ٤ نسبت به آلیاژ پال کرمیت ۲ و همچنین

بیشتر بودن پالادیوم آلیاژ پال کرمیت ۲ نسبت به آلیاژ دگوباند ٤ باشد. در مطالعه Reuling و همکاران[٤٠] نیز آلیاژهای طلای دارای فلزات قیمتی کمتر، واکنش‌های بافتی شدیدتری نسبت به آلیاژهای طلای دارای فلزات قیمتی بیشتر ایجاد می‌نماید.

در این مطالعه میانگین درصد سلول‌های باقی مانده آلیاژهای دگوباند ٤، پال کرمیت ۲ و کامند بالای ۹۰ درصد بود. در مواردی که میانگین درصد سلول‌های باقی مانده بیش از ۹۰ باشد آلیاژ به عنوان زیست سازگار در نظر گرفته می‌شود. در مطالعه Matsuno و همکاران[٤١] که بر روی آلیاژهای مختلف انجام شد نیز نتایج مشابه حاصل شد.

در این مطالعه آلیاژ بیس- متال وراباند ۲ بدترین عملکرد را داشت. از آن‌جائی‌که میانگین درصد سلول‌های باقیمانده بین ۹۰-٦۰ بود، این آلیاژ دارای سمیت خفیف است. این امر می‌تواند به دلیل وجود نیکل بیشتر در ترکیب این آلیاژ باشد. در مطالعات انجام شده نیکل به عنوان بزرگ‌ترین و بیشترین علت مسمومیت، سرطان‌زایی و جهش زایی شناخته شده است. بین میزان نیکل موجود در آلیاژ و مقدار تخریب سلولی ارتباط مستقیمی وجود دارد.[٤٢و٣٤]

در این تحقیق بین دو آلیاژ بیس- متال، آلیاژ وراباند ۲ دارای سمیت خفیف و آلیاژ کامند زیست سازگار است. این موضوع می‌تواند به دلیل محتوای بیشتر نیکل، مولیبدن، بریلیوم، آلومینیوم و کبالت در آلیاژ وراباند ۲ باشد. نتایج مشابه در سایر مطالعات[٤٤و٤٣] نیز به دست آمده است.

مطالعات نشان داده‌اند که نیکل می‌تواند به DNA متصل شود و باعث تغییر در ساختار و مهار تکثیر و رونویسی شود[٤٢] و به عنوان مهار کننده در فرایندهای آنزیمی دخیل در سنتز پروتئین نقش داشته باشد.[٤٥] یون‌های نیکل می‌توانند وارد سلول شوند و باعث کاهش عملکردهای سلولی از جمله فعالیت سوکسینات دهیدروژناز شوند.[٤٦] علاوه بر این نیکل به عنوان یک میانجی قوی ایمنی عمل می‌کند و باعث واکنش‌های افزایش حساسیت شدید می‌شود.[٤٧]

نیکل و کروم باعث آپوپتوز سلول می‌شوند.[٤٨] در مطالعه Chen و همکاران[٤٩]، کروم شش ظرفیتی و نیکل باعث اشکال نامنظم هسته، و بریلیوم و نیکل باعث کاهش تعداد میتوکندری شده‌اند. با توجه به اینکه درصد نیکل به کار رفته در آلیاژ وراباند ۲ نسبت به آلیاژ کامند خیلی بالاتر نیست، شاید یکی از دلایل نتایج بدست آمده نوع ساخت آلیاژ باشد که در آزادسازی عناصر تأثیرگذار است.[٥٠] با توجه به نتیجه بدست آمده، این موضوع را می‌توان به ترکیب آلیاژ، درجه حرارت ذوب آلیاژ، نوع اینوستمنت و میزان انبساط آن، درجه حرارت ریخته گری، تعداد دورهای چرخش دستگاه سانتریفوژ، تجهیزات ریخته گری، نوع منبع حرارتی، مایع اینوستمنت اضافی، افزایش زمان Burn out و اشتباهات شخصی نسبت داد. به نظر می‌آید در بین همگی این عوامل درجه حرارت ذوب آلیاژ دارای اهمیت بیشتری باشد.[٥١]

سازگاری زیستی آلیاژها اساساً با کروژن آن‌ها مرتبط است. در مطالعات ثابت شده است که مواد با محتوای نیکل بالاتر به کروژن حساس‌تر هستند.[٥٣و٥٢] هر آلیاژی، که کروژن بیشتر داشته باشد، عناصر فلزی بیشتری را در بدن آزاد می‌سازد و خطر واکنش‌های ناخواسته با بافت را افزایش می‌دهد. درباره‌ی آلیاژهای مصرفی در دهان، این واکنش‌های ناخواسته باعث احساس مزه‌ی نامطبوع، تحریک، حساسیت، آلرژی و مانند آن می شود. البته آزاد شدن هر گونه عنصر فلزی، لزوماً سبب ایجاد مشکلات مهم و چشمگیر نمی‌شود.[٥٤]

به طور کلی هیچ ماده‌ای وجود ندارد که وقتی درون بدن قرار می‌گیرد، عنصری آزاد نکند. اگر عناصر آزاد شده از آلیاژ، همان عناصری باشند که در رژیم غذایی روزانه وجود دارند، در این صورت به نظر نمی‌رسد که آن عنصر در ایجاد سمیت سیستمیک، نقش مهمی داشته باشد. براساس مطالعات Bryne مقدار روی آزاد شده از آلیاژهای دندانی ۰/۱ میکروگرم در روز است که به مراتب پایین‌تر از مقداری است که از طریق رژیم غذایی دریافت می‌شود یا میزان مس آزاد شده از یک روکش ممکن است به ۰/۲ میکروگرم در روز برسد که در مقایسه با میزان مس دریافتی از رژیم غذایی بسیار ناچیز است.[۵۵] نیکل با غلظت بسیار کم در بدن انسان یافت می شود، اما افزایش غلظت آن می تواند خطرناک باشد.[۵٦] مسیرهای اصلی جذب روزانه نیکل از طریق دریافت از رژیم غذایی روزانه و استنشاق است که میزان آن در حدود ۷٤ میکرو گرم در روز است.[۵۷]

این مطالعه نشان داد که آلیاژهای دندانی می‌توانند باعث تخریب سلولی شوند. ولی همواره باید در نظر داشت که منافع استفاده از آلیاژ بیشتر است یا مضرات حاصل از آزاد شدن عناصر. اکثر محققین معتقدند که منافع حاصل از کاربرد آلیاژهای دندانی بیش از خطر آزاد شدن عناصر از آنان است.[۸]

درجه حرارت و PH بر مقاومت به کروژن اثرگذار است. مطالعات انجام شده در مورد اثر PH روی آزادسازی عناصر حاکی از تأثیر PH اسیدی در افزایش مقدار آزادسازی عناصر از آلیاژهای با پایه‌ی نیکل می‌باشد که در این تحقیق در نظر گرفته نشده است، به این دلیل که اندازه گیری PH محیط کشت در شرایط اتمسفری با ۵ درصد دی اکسید کربن در هوا مشکل می باشد.[۵٦و۵۵]

در نهایت اینکه، تحقیق حاضر یک مطالعه آزمایشگاهی کوتاه مدت است که نمی‌تواند معرف مطالعات بالینی و آزمایشگاهی دراز مدت باشد. نتایج مطالعات آزمایشگاهی کوتاه مدت اهمیت دارند، اما مقادیر اولیه تنها می‌توانند بخشی از نمای سمیت یک آلیاژ باشند. به صورت بالینی، مواجهه کوتاه مدت عنصر با بافت لثه ای آسیب دیده همانند مطالعه‌ی حاضر، ممکن است دوره‌ی مهمی در نمای سمیت کلی یک آلیاژ باشد.[۵۷] رده های سلولی مختلف، سطوح سمیت سلولی مختلفی دارند. بنابراین پیشنهاد شده است که بیش از یک رده سلولی جهت ارزیابی سمیت سلولی استفاده شود.[۳۰]

نتیجه گیری

سازگاری زیستی آلیاژها با میزان خوردگی آن ها مرتبط است. آلیاژ دگوباند ٤ بیشترین درصد سلول باقیمانده را داشت و بهترین عملکرد را نشان داد. آلیاژ بیس- متال وراباند ۲ کمترین درصد سلول باقیمانده را داشت و بدترین عملکرد را نشان داد. میانگین درصد سلول‌های باقیمانده با افزایش غلظت آلیاژ کاهش می‌یابد.

تشکر و قدر دانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکتری عمومی شماره ٦٦۹ سال تحصیلی ۹۳-۹۲ دانشکده دندانپزشکی اصفهان (واحد خوراسگان) گرفته شده است. بدینوسیله نویسندگان مقاله مراتب سپاس خود را از پژوهشکده دانشکده ی دندانپزشکی خوراسگان و مشاور بخش نرم افزاری تحقیق جناب آقای مهندس اکبر حسن زاده اعلام می دارند.

منابع

1. Muris J, Kleverlaan CJ. Hypersensitivity to dental alloys. Metal allergy. Basel, Switzerland: Springer; 2018. P. 285-300.

2. Sjogren G, Dent D. Cytotoxicity of dental alloys, metals and ceramics assessed by Millipore Filter agar overlog and MTT tests. J Prosthet Dent 2000; 84(2):229-36.
3. Elshahawy W, Watanabe I. Biocompatibility of dental alloys used in dental fixed prosthodontics. Tanta Dent J 2014; 11(2):150-9.
4. Pan Y, Jiang L, Lin H, Cheng H. Cell death affected by dental alloys: modes and mechanisms. Dent Mater J 2017; 36(1):82-7.
5. Jenny N, Naorema S, Naorema K, Singh PD. Know about biocompatibility of dental materials: a review. Pyrex J 2017; 4(5):33-43.
6. Zoidis P. Polyetheetherketone overlay prosthesis over high noble ball attachments to overcome base metal sensivity: a clinical report. J Prosthodont 2018; 27(8):688-93.
7. Baricevic M, Ratkaj I, Mladinic M, Zeljezic D, Kraljevic SP, Loncar B, et al. In vivo assessment of DNA damage induced in oral mucosa cells by fixed and removable metal Prosthodontic appliances. Clin Oral Investig 2012; 16(1):325-31.
8. Wataha JC. Biocompatibility of dental casting alloys: a review. J Prosthet Dent 2000; 83(2):223-34.
9. Schuster GS, Lefebvre CA, Wataha JC, White SN. Biocompatibility of posterior restorative materials. J Calif Dent Assoc 1996; 24(9):17-31.
10. Issa Y, Brunton P, Waters CM, Watts DC. Cytotoxicity of metal ions to human oligodendroglial cells and human gingival fibroblasts assessed by mitochondrial dehydrogenase activity. Dent Mater 2008; 24(2):281-7.
11. Hong MH, Hanawa T, Song SH, Min BK, Kwon TY. Enhanced biocompatibility of a Ni-Cr alloy prepared by selective laser melting: a preliminary in vitro study. J Mater Res Technol 2018; 8(1):1587-92.
12. Liliana P, Elena SC, Virgil CL, Laurentiu DM, Daniel PS. Corrosion behavior of Ni-Cr dental casting alloys. Int J Electrochem Sci 2018; 13:410-23.
13. Geurtsen W. Biocompatibility of dental casting alloy. Crit Rev Oral Biol Med 2002; 13(1):71-84.
14. Zhang X, Wei LC, Wu B, Yu LY, Wang XP, Liu Y. A comparative analysis of metal allergens associated with dental alloy prostheses and the expression of HLA-DR in gingival tissue. Mol Med Rep 2016; 13(1):91-8.
15. Tai Y, De Long R, Goodkind RJ, Douglas WH. Leaching of nickel, chromium and beryllium ions from base metal alloy in an artificial environment. J Prosthet Dent 1992; 68(4):692-7.
16. Kelly JR, Rose TC. Non precious alloys for use in fixed prosthodontics: aliterature review. J Prosthet Dent 1983; 49(3):363-70.
17. Geurtsen W. Biocompatibility of dental casting alloy. Crit Rev Oral Biol Med 2002; 13(1):71-84.
18. Wataha JC, Craig RG, Hanks CT. The release of elements of dental casting alloys in to cell-culture medium. J Dent Res 1991; 70(6):1014-8.
19. Covington JS, McBride MA, Slayle WF. Quantization of nickel and beryllium leakage from base metal casting alloys. J Prosthet Dent 1985; 54(1):127-36.
20. Caughman WF, Caughman GB, Dominy WT, Schuster GS. Glass ionomer and composite resin cements: effects on oral cells. J Prosthet Dent 1990; 63(5):513-21.
21. Wataha JC, Mankc CT, Craig RG. The in vitro effects of metal casting on eukaryotic cell metabolism. J Biomed Mat Res 1991; 25(9):1133-49.
22. Wataha JC, Craig RG, Hanks CT. Precision of and new methods for testing in vitro alloy cytotoxicity. Dent Mater 1992; 8(1):65-70.
23. Kandi Bidgoli M, Mirfazaelian A, Ostald SN. Biocompatibility evaluation of Minalux and VeraBond2 in-vitro. J Dent Med 2005; 18(1):40-50.
24. Wataha JC, Lockwood PE, Frazier KB, Khajotia SS. Effect of tooth brushing on elemental release from dental casting alloys. J Prosthodont 1999; 8(4):245-51.
25. Stenberg T. Release of cobalt from cobalt chromium alloy constructions in the oral cavity of man. Scand J Dent Res 1982; 90(6):472-9.
26. Convington S, McBride MA, Slagle WF, Disney AL. Quantization of nickel and beryllium leakage from base metal casting alloys. J Prosthet Dent 1985; 54(1):127-36.
27. Williams DF. On the mechanism of biocompatibility. Biomaterials 2008; 29(20):499-53.
28. Waters MD, Gardner DE, Aranyi C, Coffin DL. Metal toxicity for rabbit alveolar macrophages in vitro. Env Res 1975; 9(1):32-47.
29. Craig RG, Hanks CT. Reaction of fibroblasts to various dental casting alloys. Oral Pathol 1988; 17(7):341-7.
30. Jacoby LS, Rodrigues Junior VD, Campos MM, Macedo de Menezes L. Cytotoxic outcomes of orthodontic bands with and without silver solder in different cell lineages. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2017; 151(5):957-63.

31. Heidenau F, Mittelmeier W, Detsch R, Haenle M, Stenzel F, Ziegler G, et al. A novel antibacterial titania coating: metal ion toxicity and in vitro surface colonization. J Mater Sci Mater Med 2005; 16(10):883-8.
32. Yamamoto A, Honma R, Sumita M. Cytotoxicity evaluation of 43 metal salts using murine fibroblasts and osteoblastic cells. J Biomed Mater Res 1998; 39(2):331-40.
33. Schedle A, Samorapoompichit P, Rausch-Fan XH, Franz A, Füreder W, Sperr WR, et al. Response of L-929 fibroblasts, human gingival fibroblasts, and human tissue mast cells to various metal cations. J Dent Res 1995; 74(8):1513-20.
34. Ortiz AJ, Fernández E, Vicente A, Calvo JL, Ortiz C. Metallic ions released from stainless steel, nickel-free, and titanium orthodonticalloys: toxicity and DNA damage. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2011; 140(3):e115-22.
35. Sestini S, Notarantonio L, Cerboni B, Alessandrini C, Fimiani M, Nannelli A, et al. In vitro toxicity evaluation of silver soldering, electrical resistance and laser welding of orthodontic wires. Eur J Orthod 2006; 28(6):567-72.
36. Paasche G, Ceschi P, Lobler M, Rosl C, Gomes P, Hahn A, et al. Effects of metal ions on fibroblasts and spiral ganglion cells. J Neurosci Res 2011; 89(4):611-7.
37. Pereira BR, Tanaka OM, Lima AA, Guariza-Filho O, Maruo H, Camargo ES. Metal and ceramic bracket effects on human buccal mucosa epithelial cells. Angle Orthod 2009; 79(2):373-9.
38. Mohammed A, Shetty A, Abraham JB, Sneha E, Nayak US, Shetty A. Assessment of metal ion toxicity, cellular viability and deoxyribonucleic acid damage induced by orthodontic appliances. Int J Oral Care Res 2017; 5(2):113-22.
39. Gonçalves TS, Menezes LM, Trindade C, Machado Mda S, Thomas P, Fenech M, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of orthodontic bands with or without silver soldered joints. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen 2014; 762:1-8.
40. Reuling N, Pohl-Reuling B, Keil M. Biocompatibility of precious metal dental alloys. ZWR 1991; 100(3):146-50.
41. Matsuno H, Yokoyama A, Watari F, Uo M, Kawasaki T. Biocompatibility and osteogenesis of refractory metal implants, titanium, hanfnium, niobium, tantalium and rhenium. Biomaterials 2001; 22(11):1253-62.
42. Bennett MR, Evan GI, Schwartz SM. Apoptosis of human vascular smooth muscle cells derived form normal vessels and coronary atherosclerotic plaques. J Clin Invest 1995; 95(5):2266-74.
43. Fini M, Nicoli Aldini N, Torricelli P, Giavaresi G, Borsari V, Lenger H, et al. A new austenitic stainless steel with negligible nickel content: an in vitro and in vivo comparative investigation. Biomaterials 2003; 24(27):4929-39.
44. Eliades T, Athanasiou AE. In vivo aging of orthodontic alloys: implications for corrosion potential, nickel release, and biocompatibility. Angle Orthod 2002; 72(3):222-37.
45. Faccioni F, Franceschettip, Cerplloni M, Fracasso ME. In vivo study on metal release from fixed orthodontic appliances and DNA damage in oral mucos cells. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2003; 124(6):687-94.
46. Gristina AG. Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. Science 1987; 237(4822):1588-95.
47. Wataha JC, Hanks CT, Craig RG. In vitro effects of metal ions on cellular metabolism and correlation between these effects and uptake of the ions. J Biomed Mater Res 1994; 28(4):427-33.
48. Oh KT, Kim KM. Iron release and cytotoxicity of stainless steel wires. Eur J Orthod 2005; 27(6):533-40.
49. Chen F, Vallyathan V, Castranova V, Shi X. Cell apoptosis induced by carcinogenic metals. Mol Cell Biochem 2001; 222(1-2):183-8.
50. Gill P, Munroe N, Pulletikurthi C, Pandya S, Haider W. Effect of manufacturing process on the biocompatibility and mechanical properties of Ti-30Ta alloy. J Mater Eng Perform 2011; 20(4):819-23.
51. Haselton Dr, Diaz-Arnold A, Vargas MA. Flexural strength of provisional crown and fixed partial denture resins. J Prosthet Dent 2002; 87(2):225-8.
52. Tufekci E1, Mitchell JC, Olesik JW, Brantley WA, Papazoglou E, Monaghan P. Inductively coupled plasma-mass spectroscopy measurement of elemental release from 2 high Palladium dental casting alloys in to a corrosion testing medium. J Prosthet Dent 2002; 87(1):80-5.
53. Tomakidi P, Koke U, Kern R, Erdinger L, Kruger H, Kohl A, et al. Assessment of acute cyto- and genotoxicity of corrosion eluates obtained from orthodontic material using monolayer cultures of immortalized human gingival keratinocytes. J Orofac Orthop 2000; 61(1):2-19.
54. Alvarez K, Hyun SK, Fujimoto S, Nakajima H. In vitro corrosion resistance of lotus-type porous Ni-free stainless steels. J Mater Sci Mater Med 2008; 19(11):3385-97.
55. Brune D. Metal release from dental biomaterials. Biomaterials 1986; 7(3):163-75.

56. Mercieca S, Caligari Conti M, Buhagiar J, Camilleri J. Assessment of corrosion resistance of cast cobalt- and nickel-chromium dental alloys in acidic environments. J Appl Biomater Funct Mater 2018; 16(1):47-54.
57. Petoumenou E, Arndt M, Keilig L, Reimann S, Hoederath H, Eliades T, et al. Nicklel concentration in the saliva of patients with nickel-titanum orthodontic appliances. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2009; 135(1):59-65.