

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

معظمه رحمانی<sup>۱</sup>، میثم مهابادی<sup>۲\*</sup>، اکرم گوهری فر<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران

<sup>۲</sup> استادیار گروه پروتزهای دندانی، دانشکده دندانپزشکی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران

<sup>۳</sup> دستیار تخصصی 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<sup>1</sup>, Meysam Mahabadi<sup>2\*</sup>, Akram Goharifar<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dentist, Isfahan, Iran.

<sup>2</sup> Assistant Professor of Prosthodontics, School of Dentistry, Islamic Azad University (Khorasgan), Isfahan, Iran.

<sup>3</sup> 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 سلول های بدن داشته باشد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر آلیاژهای بیس متال و نابل بر بقای فیبروبلاست های لته انسان بود.

**مواد و روش ها:** فیبروبلاست های بدست آمده از لته سالم انسان حین جراحی افزایش طول تاج، کشت داده شد. در پاساژ سوم، فیبروبلاست ها در معرض غلظت های مختلف دو نوع آلیاژ بیس متال (وراباند ۲، کامند) و دو نوع آلیاژ نابل (دگوباند ۴، پال کریمیت 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 فیبروبلاست ها با روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. داده ها 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 سلول های باقیمانده مؤثر بود. حداکثر و حداقل سلول های باقیمانده به ترتیب در مجاورت آلیاژهای دگوباند ۴ و وراباند ۲ بود. میانگین درصد سلول های باقیمانده در غلظت ۲۰ به طور معناداری بیشتر از غلظت ۶۰ و در غلظت

\* مولف مسؤل، نشانی: اصفهان، دانشگاه خوراسگان، دانشکده دندانپزشکی، گروه پروتزهای دندانی، کدپستی ۰۹۱۳۱۱۷۰۹۷۸، تلفن: ۰۲۱۳۶۲۰۵۵۹۰

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.

**نتیجه گیری:** آلیاژ بیس متال وراباند ۲ به طور قابل توجهی بیش از سه نوع آلیاژ دیگر بقای فیبروبلاست ها 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 فیبروبلاست های زنده داشت. بنابراین با توجه به میانگین درصد سلولهای باقی مانده، آلیاژ وراباند ۲ دارای سمیت خفیف و سه نوع آلیاژ دیگر زیست سازگار هستند.

**کلمات کلیدی:** زیست سازگاری، فیبروبلاست، آلیاژ نابل، آلیاژ بیس متال  
مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۹ دوره ۴۴ / شماره ۲: ۴۸-۱۳۸.

## مقدمه

دیگر ویژگی های یک آلیاژ از جمله زیبایی، استحکام و زیست سازگاری دارد.<sup>(۱)</sup> پاسخ بیولوژیکی به عناصر آزاد شده بستگی به نوع و مقدار عنصر آزاد شده و طول مدت تماس با بافت دارد.<sup>(۳)</sup> مطالعات نشان داده اند که مواد فلزی در دندانپزشکی می توانند به دلیل کروژن اثرات ژنوتوکسیک و جهش زا را در سلول ها القا کنند.<sup>(۷)</sup> همچنین مطالعات انجام شده بیان می کنند بدون شک از تمام آلیاژهای دندانی عناصری به حفره دهان آزاد می شود.<sup>(۹)</sup> این عناصر می توانند در بزاق حل شده و یا توسط معده و روده جذب شوند.<sup>(۱۰)</sup>

در دندانپزشکی فلزات به دو گروه نابل و بیس متال تقسیم می شود. 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.<sup>(۱۰)</sup>

در آلیاژهای ریختگی دندانپزشکی فلزات بیس متال شامل تیتانیوم (Ti)، نیکل (Ni)، مس (Cu)، نقره (Ag)، روی (Zn) و غیره می باشند. این فلزات به علت استحکام، قیمت مناسب و خواص سایشی مورد نیاز، در رستوریشن های 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.<sup>(۱۱)</sup>

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.<sup>(۱)</sup> آلیاژها به دلیل خواص مناسب و کاربرد متنوع در رشته های مختلف دندانپزشکی به ویژه پروتز دارای اهمیت و جایگاه ویژه ای می باشند. یک آلیاژ، ترکیبی از دو یا چند فلز است که نوع و مقدار فلزات تشکیل دهنده در تعیین خصوصیات آن مؤثر می باشد.<sup>(۲)</sup>

زیست سازگاری از مهمترین فاکتورهای مورد نیاز برای یک آلیاژ در پروتزهای 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 تقریباً 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.<sup>(۳-۵)</sup> 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

مطالعات آزمایشگاهی به خوبی ثابت کرده‌اند که تعدادی از آلیاژهای دندانی به سلول‌ها در محیط کشت آسیب می‌رسانند.<sup>(۲۱،۲۲)</sup> 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.<sup>(۲۳)</sup>

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.<sup>(۸)</sup> آزادسازی عناصر از آلیاژهای دندانی به صورت بالینی هم اثبات شده است.<sup>(۲۴)</sup> به صورت بالینی عناصر موجود در آلیاژ، در بزاق و سلول‌های زبان و بافت‌های لثه ای یافت شده‌اند.<sup>(۲۵،۲۶)</sup> در مقادیر کافی، عناصر آزاد شده، به ویژه نیکل و مس و برلیوم می‌توانند باعث التهاب در بافت‌های پریدنتال 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 پریدونتیت هنوز ناشناخته است. وقوع واکنش‌های آلرژیک در تماس با آلیاژهای فلزی نیز به اثبات رسیده است.<sup>(۱۳)</sup>

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.

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.<sup>(۱)</sup> 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.<sup>(۱۲)</sup> نیکل به ویژه به عنوان عامل آلرژی زایی مهمی شناخته شده است.<sup>(۱۳)</sup> تقریباً پنج درصد مردم به نیکل حساسیت دارند و این حساسیت در زنان ده برابر شایع تر از مردان است.<sup>(۱۴)</sup> حساسیت به نیکل را در تشخیص هر نوع تغییرات نسج نرم که بعد از جایگزینی روکش رخ می‌دهد، باید در نظر داشت.<sup>(۱۶)</sup> برخی از آلیاژها نظیر آلیاژهای پایه نیکل حاوی برلیوم، میزان بیشتری از کروژن را به خصوص در PH پایین نشان داده‌اند. آلیاژهای نابل و های نابل چندان توسط PH پایین تحت تاثیر قرار نمی‌گیرند.<sup>(۱۷)</sup> 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، برلیوم و کروم می‌باشد.<sup>(۱۸،۱۹)</sup>

مطالعات آزمایشگاهی در زمینه سازگاری نسجی، واکنش‌های بیولوژیک مواد را وقتی داخل سلول یا روی نسوج قرار داده می‌شوند، بررسی می‌کنند. این آزمایشات عموماً سایتوتوکسیسیته مواد مورد آزمایش را ارزیابی می‌کنند، در عین حال ممکن است جهت تشخیص اثرات پاتوژنیسته برخی مواد نیز مفید باشند.<sup>(۲۰)</sup>

## مواد و روش‌ها

**تهیه و آماده سازی نمونه سلولی** - از لتهی 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  $1 \times 1 \times 2$  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 ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه قرار داده شد سپس به مدت ده دقیقه با دور 1800 rpm سانتریفوژ (EBA20 Hettich Zentrifugen, Germany) از فیلتر رد شد. دو بار با فسفات بافر سالین استریل شسته و مجدداً به مدت ده دقیقه سانتریفوژ گردید. فیروپلاست‌های 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. ۱۰<sup>۵</sup> سلول به پلیت ۲۴ خانه (GREINRE, Germany) اضافه و به مدت ۲۴ 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 ۴، پال کرمیت ۲، کامند و ورباند ۲ در ۲ سی سی آب انالار حل شد و به مدت ۲ ساعت سونیکیت (Bandelin, Sonorex Digitec) و ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار تکان داده شد. ماده حاصل از فیلتر رد و در غلظت‌های ۲۰ میکرولیتر، ۶۰ 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 ۴ 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%

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 ( $P < 0/001$ )، غلظت آلیاژ ( $P = 0/01$ ) و مدت زمان نگهداری ( $P = 0/04$ ) بر درصد سلول های باقیمانده موثر بوده اند. ضمناً اثر متقابل سه متغیر آلیاژ، غلظت و مدت زمان نیز معنا دار بود ( $P = 0/036$ ) (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 ۴ و آلیاژ بیس متال ورباند ۲ بود. میانگین درصد سلول های باقیمانده در آلیاژ ورباند ۲ به طور معناداری کمتر از سه آلیاژ دیگر بود ( $P > 0/001$ ) اما بین سه آلیاژ پال کرمیت ۲، دگوباند ۴ و کامند اختلاف معنادار مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

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 ورباند ۲ بین غلظت های مختلف تفاوت معنادار داشت ( $P > 0/001$ )، اما در سه آلیاژ پال کرمیت ۲ ( $P = 0/25$ )، دگوباند ۴ ( $P = 0/08$ ) و کامند ( $P = 0/29$ ) بین غلظت های مختلف تفاوت معنادار وجود نداشت. در آلیاژ ورباند ۲ میانگین درصد سلول های باقیمانده در غلظت ۲۰ به طور معناداری بیشتر از دو غلظت ۶۰ ( $P = 0/001$ ) و ۱۰۰ ( $P > 0/001$ ) بود اما بین دو غلظت

۶۰ و ۱۰۰ اختلاف معنادار وجود نداشت ( $P = 0/08$ )

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 ( $P > 0/001$ ). میانگین درصد

*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 سلول های زنده با آنزیم های میتوکندری احیاء می شود 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 ۴ ساعت انکوباسیون، ۲۰۰ میکرولیتر از دی متیل سولفوکساید به هر چاهک برای محلول کردن فرمازان آبی رنگ درون سلولی اضافه شد.

دانشیته نوری در هر ظرف با به کار بردن طول موج ۵۵۰ nm با اسپکترو فوتومتر خوانده شد. در این مطالعه درصد سلول های 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. پاسخ های سمیت سلولی به صورت کیفی زیاد (کمتر از ۳۰ درصد)، متوسط (بین ۳۰-۶۰ درصد)، کم (بین ۶۰-۹۰ 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 ( $n=18$ ) تهیه شد و پس از گذشت ۹ و ۱۵ روز مورفولوژی زیستایی و تکثیر سلول ها مورد بررسی قرار گرفت. داده ها با آزمون ANOVA و نرم افزار SPSS ویرایش ۲۰ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

#### یافته ها

بررسی سمیت سلولی غلظت های متفاوت آلیاژهای بیس - متال و نابل بر فیبروبلاست ها با غلظت  $2 \times 10^4$  سلول در میلی لیتر صورت گرفت. این سنجش برای هر یک از ترکیبات با غلظت های متفاوت ۶ مرتبه به طور مستقل تکرار شد و میانگین آن ها ثبت شد. سپس میزان بقای سلولی در

سلول های باقیمانده در دو آلیاژ دگوباند ۴ ( $P > 0/001$ ) و پالکرمیت ۲ ( $P = 0/059$ ) و وراپاند ۱۵ ( $P = 0/003$ ) در روز ۹ به طور معناداری بیشتر از روز ۹ و ۱۵ بود اما در دو آلیاژ پال کرمیت ۲ ( $P = 0/059$ ) و وراپاند ۱۵ اختلاف معنادار مشاهده نشد.

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

S.D	Mean	Day	Concentration	Group
۱۲/۳	۸۷/۳۷	۹	۲۰	Palkermit 2
۶/۷	۱۰۳/۷۱	۱۵		
۲/۴	۱۰۸/۹۹	۹	۶۰	
۳/۰۲	۱۰۵/۴۵	۱۵		
۱۳/۸	۱۱۵/۱۲	۹	۱۰۰	
۵/۳	۱۰۰/۳۶	۱۵		
۶/۹	۱۰۹/۹۶	۹	۲۰	Degubond 4
۶/۸	۱۰۸/۶۹	۱۵		
۴/۹	۱۱۷/۵۷	۹	۶۰	
۷/۰۱	۱۰۶/۵۴	۱۵		
۲/۹	۱۲۶/۵۸	۹	۱۰۰	
۴/۳	۱۰۷/۷۱	۱۵		
۳۸/۰۸	۸۷/۵۱	۹	۲۰	Commend
۵/۴	۹۳/۸۴	۱۵		
۷/۳۷	۱۲۱/۱۰	۹	۶۰	
۶/۴	۹۰/۸۸	۱۵		
۶/۰۵	۱۳۲/۸۹	۹	۱۰۰	
۴/۷	۹۹/۴۹	۱۵		
۳/۸	۱۰۰/۸۱	۹	۲۰	Verabond 2
۷/۴	۶۸/۱۱	۱۵		
۱۰/۸	۶۹/۱۹	۹	۶۰	
۲/۷	۱۸۶/۵۵	۱۵		
۵/۲	۶۰/۳۱	۹	۱۰۰	
۶/۱	۶۹/۴۴	۱۵		

از مواد دارای سازگاری نسجی در دهان، ضرورت بررسی های سیتوتوکسیسیته را اثبات می کند. بررسی های

**بحث**  
سازگاری زیستی بیانگر توانایی عملکرد یک ماده در شرایط خاص در حضور پاسخ مناسب میزبان است. استفاده

و Paasche و همکاران<sup>(۳۶)</sup> انجام گرفت، افزایش غلظت یون‌ها در محیط روی سمیت مؤثر است.

فواصل زمانی که جهت بررسی سمیت سلولی استفاده می‌شوند باید با دقت انتخاب شوند، چرا که قویا می‌تواند بر نتایج به دست آمده اثرگذار باشند.<sup>(۳۰)</sup> در این مطالعه با افزایش زمان نگهداری سلول‌ها در محیط کشت درصد سلول‌های باقیمانده کاهش می‌یابد. در مطالعه Pereira و همکاران<sup>(۳۷)</sup> و Mohammed و همکاران<sup>(۳۸)</sup> با پیشرفت درمان ارتودنسی کاهش حیات و متابولیسم سلولی گزارش شد. مطالعات نشان داده‌اند که میزان یون‌های آزاد شده به مایعات بیولوژیک (بزاق، خون و ادرار) طی درمان ارتودنسی به طور مشخصی کمتر از جذب متوسط این یون‌ها از طریق رژیم غذایی است و به سطح توکسیک نمی‌رسد. اما این موضوع نمی‌تواند به تمام موارد تعمیم داده شود چرا که ممکن است غلظت غیرسمی یون‌های فلزی آزاد شده، به اندازه کافی جهت القای اثرات بیولوژیک مهم بر سلول‌های مخاط دهان مؤثر باشد.<sup>(۳۸)</sup>

نقره و مس به عنوان علل اولیه در سمیت سلولی در نظر گرفته می‌شوند.<sup>(۳۰)</sup> در مطالعات مختلف نشان داده شده است که اثرات سمیت شدید نقره به دلیل مهار تکثیر، رشد و تکامل سلولی است.<sup>(۳۰،۳۹)</sup> در مطالعه Schedle و همکاران<sup>(۳۳)</sup>، نقره یکی از مهارکننده‌های 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 داده‌اند. نقره و به میزان کمتر طلا باعث ترشح مدياتور سمی در ماست سل انسان شدند. در مطالعه حاضر بین دو آلیاژ نابل، آلیاژ دگوباند ۴ عملکرد بهتری نسبت به آلیاژ پال کرمیت ۲ داشت و این می‌تواند به علت کمتر بودن نقره و بیشتر بودن طلا در آلیاژ دگوباند ۴ نسبت به آلیاژ پال کرمیت ۲ و همچنین

آزمایشگاهی اساساً برای ارزیابی سیتوتوکسیسیته یا ژنوتوکسیسیته مواد کاربرد دارند.<sup>(۲۷)</sup>

به دلیل اینکه پروتئین‌های ثابت و متحرک به مدت طولانی در مجاورت پرپودنشیوم قرار دارند و همچنین سلول‌های فیبروبلاست لته ای انسان نقش مهمی در ساخت الیاف کلاژن و فعالیت‌های متابولیک پرپودنشیوم به عهده دارند، این سلول‌ها معمولاً جهت بررسی سازگاری نسبی آلیاژهای مورد استفاده در ساخت پروتزها انتخاب می‌شوند.<sup>(۲۸)</sup> در آزمایشات کشت سلولی معمولاً از دو نوع سلول فیبروبلاست لته انسانی و فیبروبلاست موش جهت بررسی تخریب سلولی توسط مواد دندانپزشکی استفاده شده است.<sup>(۲۹)</sup> با این حال مطالعات قبلی نشان داده‌اند که در مقایسه با دیگر رده‌های سلولی، فیبروبلاست‌های لته انسانی حساسیت کمتری نسبت به اثرات سمی فلزات دارند.<sup>(۳۰)</sup>

در برخی از مطالعات اثر یون‌های فلزی بر فیبروبلاستهای L-929 موش مورد بررسی قرار گرفته است.<sup>(۳۱-۳۳)</sup> فیبروبلاست L-929 و فیبروبلاست لته انسان پاسخی مشابه به کاتیون فلزی نشان دادند.<sup>(۳۳)</sup>

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.<sup>(۳۳)</sup> در مطالعه آنتونی نشان داده شد که هر چه غلظت فلز در محیط کشت افزایش می‌یابد، میزان آسیب DNA نیز افزایش می‌یابد.<sup>(۳۴)</sup> Sestini و همکاران<sup>(۳۵)</sup> 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 جداگانه‌ای که توسط Sjaren<sup>(۲)</sup>

سلولی از جمله فعالیت سوکسینات دهیدروژناز شوند.<sup>(۴۶)</sup> علاوه بر این نیکل به عنوان یک میانجی قوی ایمنی عمل می‌کند و باعث واکنش‌های افزایش حساسیت شدید می‌شود.<sup>(۴۷)</sup>

نیکل و کروم باعث آپوپتوز سلول می‌شوند.<sup>(۴۸)</sup> در مطالعه Chen و همکاران<sup>(۴۹)</sup>، 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 و راباند 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.<sup>(۵۰)</sup> 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 ریخته‌گری، تعداد دورهای چرخش دستگاه سانتریفوژ، تجهیزات ریخته‌گری، 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.<sup>(۵۱)</sup>

سازگاری زیستی آلیاژها اساساً با کروژن آن‌ها مرتبط است. در مطالعات ثابت شده است که مواد با محتوای نیکل بالاتر به کروژن حساس‌تر هستند.<sup>(۵۲ و ۵۳)</sup> 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 می‌شود. البته آزاد شدن هر گونه عنصر فلزی، لزوماً سبب ایجاد مشکلات مهم و چشمگیر نمی‌شود.<sup>(۵۴)</sup>

بیشتر بودن پالادیوم آلیاژ پال کرمیت ۲ نسبت به آلیاژ دگوباند ۴ باشد. در مطالعه Reuling و همکاران<sup>(۴۰)</sup> 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 ۴، 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<sup>(۴۱)</sup> که بر روی آلیاژهای مختلف انجام شد نیز نتایج مشابه حاصل شد.

در این مطالعه آلیاژ بیس- متال و راباند ۲ بدترین عملکرد را داشت. از آنجائی که میانگین درصد سلول‌های باقیمانده بین ۶۰-۹۰ 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 جهش‌زایی شناخته شده است. بین میزان نیکل موجود در آلیاژ و مقدار تخریب سلولی ارتباط مستقیمی وجود دارد.<sup>(۳۴ و ۴۲)</sup>

در این تحقیق بین دو آلیاژ بیس- متال، آلیاژ و راباند 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 و راباند ۲ باشد. نتایج مشابه در سایر مطالعات<sup>(۴۳ و ۴۴)</sup> 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<sup>(۴۲)</sup> و به عنوان مهار کننده در فرایندهای آنزیمی دخیل در سنتز پروتئین نقش داشته باشد.<sup>(۴۵)</sup> یون‌های نیکل می‌توانند وارد سلول شوند و باعث کاهش عملکردهای



محیط کشت در شرایط اتمسفری با ۵ درصد دی اکسید کربن در هوا مشکل می باشد.<sup>(۵۶)</sup>

در نهایت اینکه، تحقیق حاضر یک مطالعه آزمایشگاهی کوتاه مدت است که نمی تواند معرف مطالعات بالینی و آزمایشگاهی دراز مدت باشد. نتایج مطالعات آزمایشگاهی کوتاه مدت اهمیت دارند، اما مقادیر اولیه تنها می توانند بخشی از نمای سمیت یک آلیاژ باشند. به صورت بالینی، مواجهه کوتاه مدت عنصر با بافت لثه ای آسیب دیده همانند مطالعه حاضر، ممکن است دوره‌ی مهمی در نمای سمیت کلی یک آلیاژ باشد.<sup>(۵۷)</sup> 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.<sup>(۳۰)</sup>

#### نتیجه گیری

سازگاری زیستی آلیاژها با میزان خوردگی آن ها مرتبط است. آلیاژ دگوباند ۴ بیشترین درصد سلول باقیمانده را داشت و بهترین عملکرد را نشان داد. آلیاژ بیس- متال ورباند ۲ کمترین درصد سلول باقیمانده را داشت و بدترین عملکرد را نشان داد. میانگین درصد سلولهای باقیمانده با افزایش غلظت آلیاژ کاهش می یابد.

#### تشکر و قدر دانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکتری عمومی شماره ۶۶۹ 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.

به طور کلی هیچ ماده‌ای وجود ندارد که وقتی درون بدن قرار می گیرد، عنصری آزاد نکند. اگر عناصر آزاد شده از آلیاژ، همان عنصری باشند که در رژیم غذایی روزانه وجود دارند، در این صورت به نظر نمی رسد 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 پایین تر از مقداری است که از طریق رژیم غذایی دریافت می شود 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.<sup>(۵۵)</sup> نیکل با غلظت بسیار کم در بدن انسان یافت می شود، اما افزایش غلظت آن می تواند خطرناک باشد.<sup>(۵۶)</sup> مسیرهای اصلی جذب روزانه نیکل از طریق دریافت از رژیم غذایی روزانه و استنشاق است که میزان آن در حدود ۷۴ میکرو گرم در روز است.<sup>(۵۷)</sup>

این مطالعه نشان داد که آلیاژهای دندانی می توانند 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.<sup>(۸)</sup>

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 پایه ی نیکل می باشد که در این تحقیق در نظر گرفته نشده است، به این دلیل که اندازه گیری PH

#### 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, hafnium, niobium, tantalum and rhenium. *Biomaterials* 2001; 22(11):1253-62.
42. Bennett MR, Evan GI, Schwartz SM. Apoptosis of human vascular smooth muscle cells derived from 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. Nickel concentration in the saliva of patients with nickel-titanium orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2009; 135(1):59-65.