

ELŻBIETA PAWŁOWSKA, JOANNA SZCZEPAŃSKA

Wpływ materiałów stomatologicznych na odpowiedź komórek miazgi – apoptoza, martwica*

Dental Materials Effect on Pulp Cells Response – Apoptosis and Necrosis

Zakład Stomatologii Wieku Rozwojowego UM w Łodzi

Streszczenie

Przedstawiono biologiczne podłoże gojenia uszkodzenia miazgi w przypadkach bezpośredniego lub pośredniego przykrycia, uwzględniając procesy apoptozy i martwicy komórek oraz chemiczno-biologiczne interakcje żywic zawartych w materiałach stomatologicznych z komórkami miazgi. Oprócz udokumentowanej cytotoksyczności dużych stężeń monomerów, małe stężenia mogą zaburzać metabolizm, proliferację, zawartość protein i różnicowanie odontoblastów, a tym samym wpływać na tworzenie mostu zębinowego. Na podstawie najnowszych badań stwierdzono, że systemy adhezyjne nie są polecane do przykrycia bezpośredniego, a w głębokich ubytkach jest wskazane zakładanie podkładów o udowodnionych właściwościach ochronnych miazgi (**Dent. Med. Probl. 2005, 42, 1, 111–115**).

Słowa kluczowe: materiały stomatologiczne, cytotoksyczność, apoptoza, martwica.

Abstract

This paper presents biological background of healing of directly or indirectly injured pulp in aspect of cell apoptosis and necrosis, and chemical-biological interactions of dental material resin with pulp cells. Apart from evidence-based cytotoxic impact of the resinous monomers at high concentrations, low concentrations can have deleterious effect on the metabolism, proliferation, protein content and differentiation of odontoblasts and therefore influence process of dentin bridge formation. Considering these events, at present dentin adhesive systems are not recommended to direct pulp capping and dentin in deep cavities should be covered by cavity liner which protects pulp (**Dent. Med. Probl. 2005, 42, 1, 111–115**).

Key words: dental materials, cytotoxicity, apoptosis, necrosis.

W miarę udoskonalania i pojawiania się nowych materiałów i preparatów stosowanych w stomatologii, oprócz oceny ich skuteczności, są przeprowadzane badania (doświadczalne – *in vitro* lub na zwierzętach oraz kliniczne) nad możliwym szkodliwym oddziaływaniem na tkanki jamy ustnej (miazgę, błonę śluzową) [1–7]. Nie ma jednak standardów, czy technik oceny długoletniego wpływu nowych materiałów na organizm człowieka. W przeciwieństwie do ostrych stanów zapalnych wywołanych dużymi stężeniami substancji, kliniczne następstwa procesów przewlekłych mogą zostać ujawnione dopiero po wielu latach. Retrospektywne dochodzenie przyczyn powstałych pa-

tologii okazuje się niemożliwe. Do klinicznego ujawnienia się guzów litych potrzeba 20 lub więcej lat od czasu ekspozycji na karcinogen chemiczny [8]. Po takim czasie związek między wystąpieniem nowotworu a wypełnieniem kompozycyjnym założonym wiele lat wcześniej jest niemożliwy do udowodnienia [9]. Rozwój technik badań toksykologicznych i ich przeprowadzanie zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* staje się koniecznością, aby wykrywać biologiczne następstwa materiałów stosowanych w stomatologii oraz ich ewentualny wpływ na powstawanie ogólnych i/lub miejscowych objawów ubocznych po dłuższym czasie [2, 3, 9].

* Praca zrealizowana w ramach pracy własnej UM nr 502-12-799.

Obecnie wielu badaczy zajmuje się oddziaływaniem związków chemicznych na komórki lub tkanki. Przeprowadzane są testy nieswoiste (m.in. cytotoksyczności, genotoksyczności), a w uzasadnionych przypadkach badania swoiste na zwierzętach i ludziach [2, 3]. W dwóch ostatnich dekadach ubiegłego wieku większość stosowanych testów służyła ocenie cytotoksyczności różnych składników zawartych w materiałach stomatologicznych na zasadzie stwierdzania obumierania komórek (np. testy MTT, NRU) [2, 10, 11].

Nowsze techniki uwzględniają badania genotoksyczności, obecności w danym materiale substancji reagujących z DNA, które mogą być mutagenne lub karcinogenne [2]. W świetle najnowszej wiedzy wiadomo, że oprócz komórek ulegających niekontrolowanej martwicy z wywoływaniem stanu zapalnego, występuje fenomen bezobjawowego zaniku komórek, nazwany apoptozą. Jest bardziej powszechnym zjawiskiem niż martwica. W wyniku apoptozy powstają ciała apoptotyczne, zawierające prawie niezmienione morfologicznie organella. Martwica natomiast, definiowana jako utrata integralności błony komórkowej, prowadzi do uwalniania w sposób niekontrolowany, zdeintegrowanej i zdegradowanej zawartości komórek, wywołując reakcję obronną organizmu z wyzwoleniem procesu zapalnego [12]. Dopiero równoległe użycie testów cytotoksyczności i metod identyfikacji apoptozy pozwala więc oszacować łączną utratę komórek w wyniku działania czynników szkodliwych [12–15].

Biologiczne podłoże gojenia uszkodzenia miazgi – śmierć komórki: apoptoza *versus* martwica

Komórka ma możliwości naprawy własnych uszkodzeń. Jest to pierwsza linia obrony przeciwko niesprzyjającym okolicznościom (*sublethal injury*) i jest określana jako programowane przeżycie komórki. Uraz wykraczający poza próg tych zdolności, niepowodujący jeszcze martwicy, wywołuje zanik komórek w wyniku apoptozy [16, 17]. Ten bezobjawowy proces jest jednym z typów śmierci komórki. Opisany jest również jako śmierć programowana komórki, samobójcza lub altruistyczna. Apoptoza jest związana z aktywacją wielu genów, wymaga nakładu energii, obejmuje pojedyncze komórki, trwa od kilku godzin do kilku dni. W rozwoju zęba apoptoza odgrywa kluczową rolę we wszystkich stadiach jego rozwoju, tj. w morfogenezie, amelogenezie, dentinogenezie i podczas wyrzynania zęba [18]. Prawidłowość naturalnego rozwoju embrionalnego zależy od

sprawnie przebiegającej apoptozy, w wyniku której są eliminowane z organizmu komórki, które nie są już potrzebne. Odgrywa istotną rolę w usuwaniu komórek uszkodzonych, nieprawidłowych, zakażonych lub obciążonych mutacjami. Apoptoza umożliwia więc utrzymanie właściwej homeostazy tkankowej. O prawidłowym funkcjonowaniu organizmu/tkanki decyduje ostatecznie zachowanie równowagi między proliferacją a śmiercią komórek. Apoptoza jest regulowana wieloma czynnikami, takimi jak: dostępność substancji odżywczych i czynników wzrostu, stężenie hormonów i cytokin, czynniki cytotoksyczne i fizyczne, uszkodzenia DNA [12, 14, 15, 17, 18].

Apoptoza jako aktywny, fizjologiczny proces, związany z naturalną odnową komórek różnicujących się z prekursorów, może wystąpić również wskutek umiarkowanego uszkodzenia komórki. Bódcze mechaniczne i chemiczne powstające podczas leczenia ubytków próchnicowych wywołują uszkodzenie pewnej liczby komórek miazgi. Usunięcie wówczas pozostałości uszkodzonych komórek przez fagocyty i makrofagi jest bardzo szybkie i nie powoduje powstania ostrej reakcji zapalnej. Stąd makrofagi są uważane bardzo ważne regulatory procesu gojenia w organizmie [14–16, 18]. Utrzymanie homeostazy przez apoptozę jest możliwe tylko do pewnego zakresu urazu miazgi. Zbyt duża indukcja apoptozy na skutek np. dużego stresu mechanicznego może spowodować zaburzenie równowagi biologicznej i doprowadzić do nieodwracalnej reakcji miazgi. Na liczbę komórek dotkniętych apoptozą mają więc wpływ czynniki mechaniczne (wielkość/głębokość ubytku) i chemiczne (rodzaj materiału do przykrycia pośredniego lub bezpośredniego) [13, 14, 19].

Podczas gojenia uszkodzenia miazgi są indukowane dwie fale apoptozy. Pierwsza dotyczy odontoblastów, a druga pozostałych komórek miazgi. Związek między apoptozą odontoblastów a różnicowaniem pozostałych komórek miazgi wskazuje na możliwość przejmowania zdolności obronnych przez komórki prekursorowe odontoblastów (*subodontoblast cell layer*) [13, 14, 20]. Kitamura, Terashita et al. [13, 14] oceniali, czy materiały stosowane do przykrycia pośredniego miazgi mają wpływ na indukcję apoptozy podczas jej gojenia. Badania przeprowadzono na szczurach, u których ubytki w zębach trzonowych wypełniano następującymi materiałami: wodorotlenek wapnia (Dycal – grupa I), ZnO z eugenolem (grupa II), żywica adhezyjna (grupa III) i grupa kontrolna IV (NF – nie stosowano żadnych wypełnień). Nie istniały różnice istotne statystycznie w liczbie odontoblastów ulegających apoptozie między 4 grupami, co wskazuje według autorów, że na pierwotną indukcję apoptozy (po godzinie) nie miał wpływu rodzaj ba-

danego materiału, tylko mechaniczne opracowywanie ubytku. Jednakże liczba komórek miazgi ulegających wtórnej apoptozie (po jednym dniu) w grupie, w której zastosowano żywicę adhezyjną była znacząco wyższa niż w grupie z ZnO, Ca(OH)₂ i NF. Wyniki badań sugerują, że żywice adhezyjne mogą aktywnie indukować wtórną apoptozę w komórkach miazgi. Na podstawie tych badań autorzy wysnuli wniosek, że proces gojenia miazgi przez regulację apoptotyczną może być związany z pewnymi czynnikami uszkodzającymi (np. mechanicznym opracowywaniem ubytku i materiałami służącymi do przykrycia pośredniego miazgi), które mogą modulować ten proces, i że apoptoza miazgi może być związana z jej regeneracją. Inne badania potwierdziły, że żywice adhezyjne hamują cykl komórkowy i indukują apoptozę komórek odpowiedzialnych za regenerację kompleksu miazgowo-zębinowego (wtórna apoptoza) [15].

Przy większym urazie miazgi może nastąpić obumarcie jej komórek (martwica) – drugi typ śmierci. Śmierć komórek na tej drodze jest uznawana za proces przypadkowy i bierny, zachodzący pod wpływem działania różnorodnych bodźców fizycznych, chemicznych lub biologicznych. Czynniki te w bardzo krótkim czasie (kilku minut) doprowadzają do pęcznienia komórek, utraty ciągłości błony i wypływu zawartości komórek do otaczającej przestrzeni pozakomórkowej, powodując powstanie reakcji zapalnej. Proces ten jest nieswoisty, dotyczy zespołu komórek i nie wymaga energii [14, 15, 17].

Próby wykorzystania systemów wiążących do bezpośredniego przykrycia miazgi

Proces gojenia miazgi po jej obnażeniu polega na zastąpieniu obumarłych odontoblastów różnicującymi się komórkami miazgi, które wraz z nieuszkodzonymi komórkami zębinotwórczymi wytwarzają most zębinowy [15, 21]. W ostatnich latach ukazały się doniesienia o możliwości zastosowania systemów wiążących do przykrycia bezpośredniego miazgi [15, 21–23].

Costa et al. [22] oceniali odpowiedź miazgi zębów szczura po przykryciu bezpośrednim systemem adhezyjnym lub ZnO z eugenolem. Po zastosowaniu obu preparatów powstawała warstwa nowych odontoblastów i następowało wytwarzanie mostu zębinowego. W przypadku pojawiania się mikroprzecieku obserwowano jednak zapalenie i brak reakcji naprawczej ze strony miazgi, stąd główny powód powikłań przypisywano zakażeniom bakteryjnym. Jednocześnie należy podkreślić,

że brak mostu zębinowego czyni miazgę bardziej podatną na zapalenia wywołane bakteriami z mikroprzecieku [15, 22]. Pozorny brak wyraźnej cytotoxyczności po zastosowaniu materiałów adhezyjnych w badaniach doświadczalnych na małpach i szczurach (wytwarzanie mostu zębinowego) sugerował, że mogą być wykorzystane w przypadkach obnażenia miazgi u ludzi [15]. Badania histologiczne miazgi zębów ludzkich wykazały, że po bezpośrednim przykryciu miazgi żywicą adhezyjną nie powstawał żaden rodzaj tkanki zmineralizowanej (most zębinowy, zębina reakcyjna, reparacyjna) i występowało ostre zapalenie miazgi [15, 24, 25].

W innych badaniach Scarano et al. [21] oceniali aktywność odontoblastów pod wpływem bezpośredniego przykrycia miazgi Ca(OH)₂ w porównaniu do dwóch różnych systemów wiążących. W zębach planowanych do usunięcia z powodów ortodontycznych wykonywano obnażenie, zakładano odpowiedni materiał, a następnie zęby usuwano po 15 dniach. Badanie histologiczne wykazało, że po wszystkich zastosowanych preparatach obserwowano ograniczone zapalenie miazgi, niewielką warstwę martwicy i podobną reakcję odontoblastów, ale w żadnym przypadku nie powstał most zębinowy [15]. Na podstawie innych badań stwierdzono, że systemy wiążące stosowane do bezpośredniego przykrycia u ludzi powodują, oprócz reakcji zapalnej miazgi, opóźnienie procesów gojenia i niewytwarzanie mostu zębinowego [23]. Badania wpływu nawet nietoksycznych stężeń monomerów na ekspresję kilku swoistych genów w komórkach różnicujących się w kierunku odontoblastów wykazały spadek syntezy kolagenu typu I i znaczące obniżenie ekspresji sialoproteiny zębinowej – DSP, odpowiedzialnej za proces powstawania i mineralizacji mostu zębinowego [7].

Obserwacje procesów zachodzących w miazdze u zwierząt doświadczalnych nie mogą być bezpośrednio ekstrapolowane na warunki kliniczne u człowieka [23]. Wiele badań potwierdziło, że śmierć komórek miazgi indukowana przez żywice adhezyjne jest apoptozą, ponieważ większość komórek wykazywała cechy charakterystyczne dla tego procesu – zaokrąglanie komórek i odciepienie się od powierzchni kolonii [15].

Chemiczno-biologiczne interakcje żywic materiałów odtwórczych z komórkami miazgi

W ostatnich latach przeprowadza się coraz więcej badań doświadczalnych nad możliwym działaniem toksycznym systemów wiążących, ma-

teriałów kompozycyjnych, glasonomerów modyfikowanych żywicą lub materiałów kompozycyjnych modyfikowanych polikwasami stosowanych do wypełniania ubytków i uszczelniania bruzd. Wykazano, że z materiałów żywicznych uwalnia się po polimeryzacji ponad 60 różnych składników organicznych (takich jak monomery i oligomery), które mogą wywoływać reakcje alergiczne lub toksyczne – cytotoksyczne, genotoksyczne, mutagenne lub przyczyniać się do mikroprzecieku. Substancje uwalniane z tych materiałów mogą oddziaływać zarówno miejscowo (miazga, dziąsło, błona śluzowa), jak i ogólnie [1, 2, 5, 6, 10, 11, 15, 17, 26, 27]. Wiele badań wskazuje, że żywice adhezyjne nie tylko po bezpośrednim kontakcie z miazgą, ale także stosowane do przykrycia pośredniego, działają szkodliwie na komórki miazgi [13–15].

Murray et al. [28] oceniali odpowiedź miazgi, po opracowaniu ubytków w zębach przedtrzonowych u pacjentów w wieku 10–16 lat, zależnie od grubości pozostałej zębiny (RDT – *remaining dentine thickness*). Analiza histomorfometryczna wykazała, że liczba odontoblastów zmniejszała się o 13,6%, jeżeli odległość od dna ubytku do granicy miazgowo-zębinowej wynosiła 2,5–0,5 mm, o 33,7% przy grubości pozostawionej zębiny 0,5–0,01 mm i o 99% przy obnażeniu miazgi. W badaniach doświadczalnych Stanleya [cyt. wg 2] wykazano, że metylmetakrylany powodują zmiany zapalne w miazdze w stopniu zależnym od głębokości ubytku. Zostało to także potwierdzone badaniami przeprowadzonymi na małpach, u których zapalenie miazgi powstawało pod wpływem działania substancji wchodzących w skład wypełnień, kiedy stosowano je bezpośrednio na zębinę, bez zakładania ochronnego podkładu.

Engelmann et al. [1] oceniali wpływ monomerów m.in. TEGDMA na metabolizm uniesmiertelnionych mysich komórek embrionalnych (fibroblastów 3T3). Komonomer TEGDMA powodował zmniejszenie lub pozbawienie komórki glutationu, ważnego antyoksydanta, który bierze udział u procesach detoksykacyjnych, usuwaniu wolnych rodników i reaktywnych cząsteczek tlenu oraz inaktywacji ksenobiotyków. Obniżenie stężenia glutationu w komórce może znacząco uszkodzić jej samobronne właściwości i odgrywa kluczową rolę we włączeniu mechanizmu apoptozy. Monomer ten przyczynia się także do usunięcia dużych sekwencji DNA z genomu komórek ssaków. Detoksykacja TEGDMA wymaga zużycia wysokoenergetycznych fosforanów, których komórka nie może

skompensować, nawet zwiększając poziom przemiany materii [17].

W badaniach Janke et al. [17] wykazano ponadto, że TEGDMA jest cytotoksyczna w stosunku do fibroblastów pobranych z ludzkiego dziąsła i hamuje wzrost komórek na zasadzie apoptozy, zależnie od stężenia i czasu oddziaływania tego monomeru.

Niespolimeryzowane monomery mogą wyciekać z wypełnienia, powodując próchnicę wtórną i podrażnienie miazgi [2, 26]. Całkowita polimeryzacja systemów wiążących w warunkach klinicznych nie jest osiągalna z powodu obecności tlenu w środowisku. W przypadku przykrycia bezpośredniego na proces polimeryzacji hamująco może wpływać także wysokie ciśnienie tlenu w miejscu przekrwienia oraz wilgotność na skutek obecności krwi, skrzepu i wysięku w miejscu obnażenia [2, 11, 15]. Monomery, tj. TEGDMA i HEMA, są uwalniane do środowiska jamy ustnej głównie w ciągu pierwszych 24 godzin po polimeryzacji, a następnie w późniejszym okresie z powodu degradacji lub erozji materiału [2, 11]. Z tego też powodu ważne jest przeprowadzanie testów mikrobiologicznych, które mają na celu sprawdzenie, czy drobnoustroje obecne w jamie ustnej mogą mieć wpływ na degradację materiałów żywicznych oraz czy materiały te przyczyniają się do hamowania lub wzrostu tych bakterii [2]. Uwolnione z materiałów kompozycyjnych substancje mogą być systematycznie rozprowadzane w organizmie i powodować ogólne objawy uboczne u pacjentów. Ze względu na małe stężenie składników uwalnianych z wypełnień żywicznych po polimeryzacji miejscowa lub ogólna ostra reakcja toksyczna nie jest brana pod uwagę w ocenie ich biokompatybilności [2].

Podsumowanie

Obecnie jest dostępnych coraz więcej informacji o biologicznych interakcjach między żywicznymi składnikami różnych materiałów do wypełnień zębów a tkankami organizmu ludzkiego. Takie interakcje mogą mieć charakter zarówno ochronny (absorpcja do zębiny), jak i niepożądany (wywoływać reakcje zapalne). Z powodu udokumentowanej cytotoksyczności takich monomerów, jak TEGDMA i HEMA, zawartych w materiałach stomatologicznych, w głębokich ubytkach jest zalecane zakładanie podkładów o udowodnionych właściwościach ochronnych miazgi [2].

Piśmiennictwo

- [1] 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.
- [2] GEURTSSEN W.: Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 2000, 11, 333–355.

- [3] GEURTSSEN W.: Biocompatibility of dental casting alloys. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 2002, 13, 71–84.
- [4] GEURTSSEN W., LEYHAUSEN G.: Chemical-biological interactions of the resin monomer triethyleneglycol-dimethacrylate (TEGDMA). J Dent. Res. 2001, 80, 2046–2050.
- [5] GEURTSSEN W., SPAHL W., LEYHAUSEN G.: Variability of cytotoxicity and leaching of substances from four light-curing pit and fissure sealants. J. Biomed. Mater. Res. 1999, 44, 73–77.
- [6] GEURTSSEN W., SPAHL W., LEYHAUSEN G.: Residual monomer/additive release and variability in cytotoxicity of light-curing glass-ionomer cements and compomers. J. Dent. Res. 1998, 77, 2012–2019.
- [7] ABOUT I., CAMPS J., MITSIDIS T. A., BATTERO M.-J., BUTLER W., FRANQUIN J.-C.: Influence of resinous monomers on the differentiation *in vitro* of human pulp cells into odontoblasts. Int. J. Biomed. Mater. Res. 2002, 63, 418–423.
- [8] LOEB L. A.: A mutator phenotype in cancer. Cancer Res. 2001, 61, 3230–3239.
- [9] GEURTSSEN W.: Toxicology of dental materials and 'clinical experience'. J. Dent. Res. 2003, 82, 500.
- [10] KAN K. C., MESSER L. B., MESSER H. H.: Variability in cytotoxicity and fluoride release of resin-modified glass-ionomer cements. J. Dent. Res. 1997, 76, 1502–1507.
- [11] RATANASATHIEN S., WATAHA J. C., HANKS., DENNISON J. B.: Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. J. Dent. Res. 1995, 74, 1602–1606.
- [12] KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ L.: Cytobiochemia. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2002.
- [13] KITAMURA C., OGAWA Y., MOROTOMI T., TERASHITA M.: Differential induction of apoptosis by capping agents during pulp wound healing. J. Endod. 2003, 29, 41–43.
- [14] TERASHITA M., KITAMURA C.: Apoptosis in pulp wound healing. Dent. Jap. 2004, 40, 43–47.
- [15] MANTELLINI M. G., BOTERO T. M., YAMAN P., DENNISON J. B., HANKS C. T., NÖR J.E.: Adhesive resin induces apoptosis and cell-cycle arrest of pulp cells. J. Dent. Res. 2003, 82, 592–596.
- [16] DISPERSYN G. D., Borgers M.: Apoptosis in the heart: about programmed cell death and survival. News Physiol. Sci. 2001, 16, 41–47.
- [17] JANKE V., VON NEUHOFF N., SCHLEGELBERGER B., LEYHAUSEN G., GEURTSSEN W.: TEGDMA causes apoptosis in primary human gingival fibroblasts. J. Dent. Res. 2003, 82, 814–818.
- [18] MATALOVA E., TUCKER A. S., SHARPE P. T.: Death in the life of a tooth. J. Dent. Res. 2004, 83, 11–16.
- [19] KITAMURA C., OGAWA Y., MOROTOMI T., TERASHITA M.: Effects of cavity size on apoptosis-induction during pulp wound healing. Oper. Dent. 2003, 28, 75–79.
- [20] MAJNO G., JORIS I.: Apoptosis, oncosis and necrosis. An overview of cell death. Am. J. Pathol. 1995, 146, 3–15.
- [21] SCARANO A., MANZON L., DI GIORGIO R., ORSINI G., TRIPODI D., PIATTELLI A.: Direct capping with four different materials in human: histological analysis of odontoblast activity. J. Endod. 2003, 29, 739–734.
- [22] COSTA C. A., MESAS A. N., HEBLING J.: Pulp response to direct capping with an adhesive system. Am. J. Dent. 2000, 13, 81–87.
- [23] COSTA C. A., HEBLING J., HANKS C. T.: Current status of pulp capping with dentin adhesive systems: a review. Dent. Mater. 2000, 16, 188–197.
- [24] HEBLING J., GIRO E. M., COSTA C. A.: Human pulp response after an adhesive system application in deep cavities. J. Dent. 1999, 27, 557–564.
- [25] HEBLING J., GIRO E. M., COSTA C. A.: Biocompatibility of an adhesive system applied to exposed human dental pulp. J. Endod. 1999, 25, 10, 676–682.
- [26] KAWAHARA T., NOMURA Y., TANAKA N., TESHIMA W., OKAZAKI M., SHINTANI, H.: Leachability of plasticizer and residual monomer from commercial temporary restorative resins. J. Dent. 2004, 32, 277–284.
- [27] SCHWEIKL H., SCHMALZ G.: Triethylene glycol dimethacrylate induced large deletions in the hprt gene of V79 cells. Mutat. Res., 1999, 438, 71–78.
- [28] MURRAY P. E., SMITH A. J., WINDSOR L. J., MÖR I. A.: Remaining dentine thickness and human pulp responses. Int. Endod. J. 2003, 36, 33–43.

Adres do korespondencji:

Elżbieta Pawłowska
Zakład Stomatologii Wieku Rozwojowego UM
ul. Pomorska 251
92-213 Łódź
tel.: +48 42 675 75 16

Praca wpłynęła do Redakcji: 16.08.2004 r.

Po recenzji: 14.09.2004 r.

Zaakceptowano do druku: 14.09.2004 r.

Received: 16.08.2004

Revised: 14.09.2004

Accepted: 14.09.2004