بررسی آزمایشگاهی جهش‌زایی و سمیت سلولی چهار سیلر مختلف کانال ریشه

دکتر محمد ضرابیان[†]*- دکتر سید ناصر استاد- دکتر منصوره عباسی***- دکتر مهران محسنی*****

*دانشیار گروه آموزشی اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی و عضو مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

**دانشیار گروه سم شناسی و داروشناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

***اندودنتیست

****دستیار تخصصی گروه کنترل دارو و غذای دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

Title: In vitro evaluation of mutagenicity and cytotoxicity of four root canal sealers

Authors: Zarrabian M. Associate Professor*, Ostad SN. Associate Professor**, Abbasi M. Endodontist, Mohseni M. Resident***.

Address: *Department of Endodontics, School of Dentistry, Medical Sciences/ University of Tehran

**Department of Toxicology, School of Pharmacy, Medical Sciences/ University of Tehran

***Department of Food and Drug Control, School of Pharmacy, Medical Sciences/ University of Tehran

Background and Aim: Root filling materials are usually in close contact with living tissues. So their biological properties like mutagenicity and cytotoxicity are important. These properties help us determine the potential damage to periapical tissues, or potential DNA mutations, and malignant transformation of the cells. The aim of this study was to evaluate the mutagenicity and cytotoxicity of four root canal sealers: AH Plus (Dentsply, DeTrey), Ketac-Endo Aplicap (3M ESPE), Sankin Apatite III (Sankin K.K), and Tubli-Seal EWT (Kerr).

Materials and Methods: In this experimental in vitro study fresh and set specimens from AH Plus, Ketac-Endo Aplicap, Sankin Apatite III, and Tubli-Seal EWT were immersed in culture medium for 1, 2 and 7 days. Cytotoxicity was assessed using tetrazolium bromide reduction assay (MTT) after 1, 2 and 7 days exposure of diluted extracts to L929 cells. Extracts of sealers in phosphate buffer saline (PBS) were used to examine the mutagenic effects by sos-umu test according to standard procedures. Data were analyzed using one way ANOVA, Kruskall Wallis, Mann Whitney and Post hoc tests with $P<0.05$ as the level of significance.

Results: Extracts of all freshly mixed sealers were cytotoxic. Ketac-Endo Aplicap and Sankin Apatite III showed the lowest toxicity respectively and Tubli-Seal EWT the highest. In contrast to other sealers, the cytotoxicity of Tubli-Seal showed no decrease with time. β-galactosidase did not increase significantly thus none of the sealers showed mutagenic effects.

Conclusion: Based on the results of this study, Tubli-Seal EWT showed the highest cytotoxicity with time. Other sealers showed decreasing cytotoxicity with time. No mutagenicity effects was observed in none of tested materials.

Key Words: Mutagenicity; Cytotoxicity; Root canal sealers

چکیده

زمینه و هدف: مواد پرکننده کانال ریشه باید سازگاری بیولوژیک داشته باشند و به خوبی توسط بافت‌های اطراف ریشه تحمل شوند، زیرا این مواد معمولاً به مدت طولانی در تماس نزدیک با بافت‌های زنده اطراف ریشه قرار دارند. مواد جهش‌زا پتانسیل القای آسیب به DNA را دارند و احتمالاً می‌توانند تغییرات بدخیمی در سلول‌ها ایجاد کنند. مواد سایتوتوکسیک می‌توانند باعث ایجاد پاسخ‌های التهابی و آسیب بافتی شوند. مطالعه تجربی حاضر با هدف ارزیابی جهش‌زایی و سمیت سلولی چهار سیلر مختلف AH Plus (Dentsply, DeTrey)، Ketac-Endo Aplicap (3M ESPE)، Sankin Apatite III (Sankin K.K) و Tubli-Seal EWT (Kerr) انجام شد.

[†] مؤلف مسؤول: نشانی: تهران- خیابان انقلاب- خیابان قدس- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران- دانشکده دندانپزشکی- گروه آموزشی اندودنتیکس تلفن: ۶۶۴۰۲۶۴۰ نشانی الکترونیک: Mohammad Zarrabian@yahoo.com

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-04-24]

روش بررسی: در این تحقیق تجربی آزمایشگاهی سیلرها در دو حالت تازه مخلوط شده و سخت شده مورد بررسی قرار گرفتند. جهت بررسی سمیت سلولی، مواد به مدت ۱، ۲ و ۷ روز در محیط کشت قرار گرفتند. سپس رقت‌های مختلف از عصاره‌های حاصل تهیه و به صورت ۱، ۲ و ۷ روز در تماس با سلول‌های فیبروبلاست L929 قرار داده شدند. سمیت سلولی به روش رنگ سنجی MTT ارزیابی شد. جهت بررسی جهش‌زایی مواد، سیلرها داخل بافر فسفات (PBS) به مدت ۱، ۲ و ۷ روز قرار داده شدند و جهش‌زایی به کمک آزمایش sos-umu با استفاده از باکتری سالمونلا تیفی موریوم TA1535PSK1002 بررسی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های ANOVA یک‌طرفه Kruskall Wallis, Mann Whitney و Post hoc مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری درنظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره تمام سیلرها وقتی تازه مخلوط شده‌اند، سایتوتوکسیک هستند. سیلر Ketac-Endo Aplicap و به دنبال آن Sankin Apatite III کمترین سمیت و سیلر Tubli-Seal بیشترین سمیت را نشان دادند. برخلاف سیلرهای دیگر سمیت Tubli-Seal EWT با گذشت زمان کاهش نیافت. فعالیت آنزیم بتاگالاکتوزیداز توسط سیلرها به طور قابل توجهی افزایش نیافت و هیچ کدام از سیلرها در هیچ حالتی جهش‌زا نبودند.

نتیجه‌گیری: از بین سیلرهای بررسی شده، Tubli-Seal EWT بیشترین سمیت در زمان‌های طولانی را نشان داد و سمیت بقیه سیلرها با گذشت زمان کاهش یافت. هیچ کدام از سیلرها فعالیت جهش‌زایی نشان ندادند.

کلید واژه‌ها: جهش‌زایی؛ سمیت سلولی؛ سیلرهای کانال ریشه

وصول: ۸۵/۰۳/۱۶ اصلاح نهایی: ۸۶/۰۶/۲۵ تأیید چاپ: ۸۶/۰۷/۰۳

مقدمه

هدف از درمان کانال ریشه، حذف عفونت از سیستم کانال و پرکردن سه بعدی فضای کانال ریشه است (۱). در واقع مرحله نهایی درمان کانال ریشه، پرکردن سیستم کانال و تمام نقاط آناتومیکی پیچیده آن است. روش‌های مختلفی جهت پرکردن کانال ریشه پیشنهاد شده‌اند که رایج‌ترین آنها استفاده از مواد نیمه جامد همچون گوتاپرکا همراه با یک خمیر یا سیلر می‌باشد (۲). از خصوصیات ایده‌آل ماده پرکننده ریشه می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: توانایی چسبیدن به عاج، مهر و موم سیستم کانال، غیرسمی بودن، ثبات ابعادی و حلالیت پایین (۳).

مواد پرکننده ریشه معمولاً در تماس نزدیک با بافت‌های زنده هستند، بنابراین خواص بیولوژیک این مواد بسیار مهم است. مواد دارای پتانسیل جهش‌زایی، می‌توانند باعث القای جهش در DNA شوند و در نتیجه تغییرات بدخیمی در سلول‌ها ایجاد کنند. مواد سایتوتوکسیک نیز می‌توانند باعث ایجاد پاسخ‌های التهابی و آسیب بافتی شوند (۴). سیلرها باید به خوبی توسط بافت‌های پری‌اپیکال تحمل شوند و ضمن این که ترمیم بافتی را به تأخیر نیندازند، ترمیم ساختارهای آسیب دیده را نیز تحریک کنند (۵).

در آزمایشات سمیت مواد دندانپزشکی سه سطح وجود دارد. در سطح اول، مواد از نظر سمیت توسط روش‌های کشت سلول در آزمایشگاه، غربالگری می‌شوند. در سطح دوم آزمایش بر روی حیوانات، جهت ارزیابی پاسخ بافت یا استخوان میزبان صورت می‌گیرد. سطح سوم، مشابه شرایط بالینی است و تحت عنوان آزمایشات کاربردی شناخته می‌شود. آزمایش کشت سلول، جهت تعیین سمیت سیلرهای کانال ریشه کاربرد فراوانی دارد (۶). از فواید این روش کنترل بسیاری از عوامل و متغیرها (۷) و همچنین درجه اطمینان و قابلیت تکرار نتایج مطالعه می‌باشد (۸). آزمایشات مختلفی جهت تعیین جهش‌زایی مواد معرفی شده‌اند. رایج‌ترین و ساده‌ترین این آزمایش‌ها روش Ames است (۹). با این حال نتایج مثبت آزمایش Ames به تنهایی برای تخمین خطر سرطان‌زایی مواد کافی نیست (۱۰). ژنوتوکسیسیته مواد دندانپزشکی باید با استفاده از سایر آزمایشات مانند micronucleus test، chromosomal aberration assay، sos-umu test و V79/hprt mutation assay نیز بررسی شود (۱۱).

سیلرهای مختلفی جهت استفاده همراه با مواد پرکننده جامد یا نیمه جامد استفاده شده‌اند. سیلرها در ترکیب‌های مختلفی مثل اپوکسی رزین، اکسیدروی- اوژنول، گلاس اینومر و فسفات کلسیم در دسترس هستند. AH26 (Dentsply,Germany) یک سیلراپوکسی رزین است و به دلیل خواص مطلوبی که دارد بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳،۱۲). با این حال، این سیلر به علت آزاد کردن فرمالدئید سایتوتوکسیک است (۱۴). بدین جهت کارخانه سازنده، AH Plus را معرفی کرد که طبق ادعای آن، خواص فیزیکی و کلینیکی آن به علت آزاد نکردن فرمالدئید بهتر از AH26 است (۱).

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-04-24]

اگرچه سیلرهای اکسید روی- اوژنول سال‌ها مورد استفاده قرارگرفته‌اند، ولی غلظت‌های سمی اوژنول و اکسید روی از آنها آزاد می‌شود (۱۶،۱۵). همچنین علیرغم باند شدن سیلرهای گلاس اینومر به ساختمان دندان، ممکن است باعث آزاد شدن پروستاگلاندین‌ها در بافت‌های پری‌اپیکال شوند (۱۷).

سیلرهای کلسیم فسفات به عنوان سیلر و همچنین پرکننده کامل کانال معرفی شده‌اند و به نظر می‌رسد که این سیلرها در نهایت در بدن به هیدروکسی آپاتیت تبدیل خواهند شد (۱۸).

تا امروز، اطلاعات کم و متناقضی در مورد جهش‌زایی و سمیت سلولی انواع مختلف سیلرهای کانال ریشه در دسترس .می‌باشد. Miletic و همکاران سمیت سلولی و جهش‌زایی سیلر AH26 و AH Plus را بررسی کردند. این دو ماده جهش‌زا نبودند و سمیت AH Plus بیشتر از AH26 بود و در حالت سخت شده، هر دو ماده سمیت کمتری داشتند (۱). Huang و همکاران سمیت سلولی سیلرهای اکسید روی- اوژنول و هیدروکسید کلسیم را بر روی سلول‌های PDL و سلول‌های V79 بررسی کردند. تمام سیلرها برای هر دو سلول سمی بودند (۵). Telli و همکاران سمیت سلولی سیلرهای مختلف را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که سیلر Sankin Apatite برخلاف بقیه سیلرها در هیچ زمانی اثر سمی نشان نداد (۱۹).

مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات جهش‌زایی و سمیت سلولی سیلرهای AH Plus (سیلر اپوکسی رزین)، Ketac-Endo Aplicap (سیلر گلاس اینومر)، Sankin Apatite Sealer III (سیلر کلسیم فسفات) و Tubli-Seal EWT (سیلر اکسید روی- اوژنول) انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی چهار سیلر مختلف تحت بررسی قرار گرفتند که عبارت بودند از:

- AH Plus (Dentsply, DeTray, Germany)
- Ketac-Endo Aplicap (3M/ESPE, Seefeld, Germany)
- Sankin Apatite III (Sankin K.K, Japan)
- Tubli-Seal EWT (Kerr, Sybron Endo, MO, USA)

سیلرها طبق دستور کارخانه سازنده و در شرایط آسپتیک مخلوط شدند و در دو حالت تازه مخلوط شده و کاملاً سخت شده تحت بررسی قرار گرفتند.

- آماده‌سازی سیلرها جهت ارزیابی سمیت سلولی

۰/۱ گرم از هر سیلر، بلافاصله پس از مخلوط کردن یا ۲۴ ساعت پس از سخت شدن در دمای $37^{o}C$ و فشار CO_2 ۵٪، در تماس با ۴ میلی‌لیتر محیط کشت (حاوی ۸۹٪ DMEM، ۱۰٪ سرم جنین گاوی و ۱٪ پنی سیلین- استرپتومایسین) به مدت ۱، ۲ و ۷ روز قرار گرفت. سپس رقت‌های مختلف (از ½ تا ...½) از عصاره‌های حاصل تهیه شد. در یک مطالعه pilot، غلظت ۲۵mg/ml برای سلول‌ها سمی نشان داده شد، بنابراین رقت‌های مختلف از آن تهیه شد تا دوزهایی که اثر سایتوتوکسیک قابل توجهی ندارند مشخص شود.

- آماده سازی سیلرها جهت ارزیابی جهش‌زایی

۰/۱ گرم از هر سیلر در دو حالت تازه مخلوط شده و کاملاً سخت شده (همانند پروتوکل قبلی) در تماس با ۴ میلی‌لیتر بافر فسفات (PBS) قرار گرفت و تا زمان آزمایش در فریزر در دمای $-20^{o}C$ نگهداری شد. در هنگام آزمایش دمای آن توسط حمام آب گرم به $37^{o}C$ رسانده شد.

- بررسی سمیت سلولی

سلول‌های مورد آزمایش، فیبروبلاست پوست موش L929 با کد NCBIC161 بودند. سلول‌ها به صورت یک لایه در فلاسک‌های T-25 کشت داده شدند و در دمای $37^{o}C$ در اتمسفر CO_2 ۵٪ و در رطوبت نسبی ۱۰۰٪ نگهداری شدند. سلول‌های دارای شماره‌های پاساژ ۳-۶ مورد استفاده قرار گرفتند.

محیط کشت شامل ۸۹٪ DMEM، ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) و ۱٪ پنی‌سیلین- استرپتومایسین بود. سلول‌ها هر روز تحت بررسی قرار گرفتند تا یک لایه سلولی، کف فلاسک را کاملاً پرکند. سپس سلول‌ها از کف فلاسک با استفاده از تریپسین EDTA جدا شدند. سوسپانسیون سلولی با غلظت 1×10^{4} سلول در هر میلی‌لیتر تهیه و در پلیت‌هایی با ۹۶ چاهک کاشته شد (۱۰۰ μl در هر چاهک)، سپس پلیت‌ها در انکوباتور $37\ ^{o}C$ و فشار CO_2 ۵٪ به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. پس از ۲۴ ساعت محیط کشت تمام چاهک‌ها تخلیه شد و ۱۰۰ μl از رقت‌های مختلف تهیه شده از سیلرها به هر چاهک اضافه شد.

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-04-24]

در چاهک مربوط به کنترل مثبت، غلظت ۱ میکرومولار سیتوزین آرابینوزید اضافه شد و در گروه مربوط به کنترل منفی، هیچ ماده‌ای اضافه نشد (محیط کشت + سلول). سپس پلیت‌ها به مدت ۱، ۲ و ۷ روز در انکوباتور قرار گرفتند و در زمان‌های فوق، حیات سلولی به روش MTT تحت بررسی قرار گرفت. هر آزمایش ۳ بار تکرار شد.

روش MTT یک روش ساده رنگ سنجی است که حیات و تکثیر سلولی را بررسی می‌کند.

محلـــول 3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl)- 2, 5- (MTT) diphenyltetrazolium bromide بـا غلظـت ۵ mg/ml در بـافر فسفات تهیه گردید. در هنگام آزمـایش، ۲۵ μl رنـگ MTT بـه هـر چاهک اضافه شد و به مدت ۴ ساعت در انکوبـاتور بـا فـشار CO_2 ۵٪، انکوبـه شـد. پـس از حـل شـدن رنـگ بـا dimethyl sulfoxide (DMSO)، جذب نوری محلول با اسـتفاده از اسـپکتروفوتومتر در ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

- بررسی جهش‌زایی

گونه باکتری مورد استفاده در این مطالعه، سالمونلا تیفی موریوم TA1535 pSK1002 بود. پس از کشت overnight باکتری فوق در محیط کشت LB، ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری در ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت TGA (که ۵۰۰ μl گلوکز ۲۰۰mg/ml و ۲۵۰ μl آمپی‌سیلین ۴mg/ml به آنها اضافه شده بود) رقیق شد. این محلول سپس به مدت ۱/۵– ۲ ساعت در ۳۷°C با سرعت ۱۵۰rpm– ۱۷۰ انکوبه شد تا OD_{600} معادل ۰/۲۵–۰/۳ حاصل آید. سپس به ۲/۳۸ میلی‌لیتر از محیط TBA و باکتری در لوله‌های آزمایش، ۲۰ μl از عصاره هر سیلر اضافه شد و مجدداً در ۳۷°C با سرعت ۱۷۰rpm به مدت ۲ ساعت انکوبه شدند.

به ۱/۸ میلی‌لیتر Z بافر حاوی مرکاپتواتانل به ترتیب، ۲۰۰ μl از محتوای لوله‌های آزمایش اول، ۱۰۰ μl محلول SDS ۰/۲٪ همراه با کلروفرم، ۰/۲ میلی‌لیتر ONPG و ۱ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۱ مولار اضافه و در بن ماری ۲۸°C به مدت ۱۰ دقیقه پس از هر مرحله قرار داده شد.

جذب نوری لوله‌های آزمایش اول در طول موج ۶۰۰ نانومتر و جذب نوری لوله‌های آزمایش نهایی در طول موج ۴۲۰ و ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر تعیین شد.

فعالیت β -گالاکتوزیداز طبق فرمول زیر اندازه‌گیری شد:

$$۱۰۰۰ \times (OD_{۴۲۰} - ۱/۷۵ \times OD_{۵۵۰}) / T \times V \times OD_{۶۰۰}$$

T=reaction time (10min)

V=ratio of culture solution in reaction mixture (0.1)

پس از جمع‌آوری اطلاعات، داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. نتایج آزمایش جهش‌زایی توسط آزمون One way ANOVA و Post hoc و نتایج سمیت سلولی توسط آزمون Kruskall Wallis و Mann Whitney مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سیلر AH Plus تازه مخلوط شده در غلظت‌های بالاتر از ۳/۱۲mg/ml در زمان بررسی ۲۴ و ۴۸ ساعت سمیت قابل توجهی نشان داد، ولی سیلر سخت شده AH Plus در غلظت ۱۲/۵mg/ml و ۲۵mg/ml پس از قرار گرفتن به مدت ۱ هفته داخل محیط کشت در زمان‌های بررسی ۲۴ و ۴۸ ساعت سمیت زیادی نشان داد (P<۰/۰۵).

سیلر Ketac-Endo Aplicap تازه مخلوط شده تنها در غلظت ۲۵mg/mlدر زمان بررسی ۲۴ و ۴۸ ساعت سمی بود (P<۰/۰۵) و در حالت سخت شده در هیچ غلظت و زمانی، سمیت نداشت.

سیلر Apatite Sankin III تازه مخلوط شده در غلظت ۲۵mg/ml در زمان بررسی ۲۴ و ۴۸ ساعت سمیت متوسطی نشان داد و در حالت سخت شده، در هیچ غلظت و زمانی سمی نبود.

سیلر تازه مخلوط شده Tubli-Seal EWT در غلظت ۱۲/۵mg/ml و ۲۵ در تمام زمان‌های بررسی سمیت شدیدی داشت (P<۰/۰۵). این سیلر در حالت سخت شده در غلظت ۲۵mg/ml، سمیت شدیدی نشان داد و در غلظت‌های ۱۲/۵mg/ml و ۶/۲۵mg/ml پس از ۱ هفته نگهداری داخل محیط کشت، در تمام زمان‌های بررسی سمیت شدیدی داشت.

در سیلرهای تازه مخلوط شده، بیشترین سمیت زمانی دیده شد که سیلرها به مدت ۲۴ ساعت داخل محیط کشت قرار داشتند، ولی در سیلرهای سخت شده، وقتی سیلرها به مدت ۱ هفته داخل محیط کشت قرار گرفتند، بیشترین سمیت مشهود بود.

سیلرها در زمان بررسی ۴۸ ساعت سمیت بیشتری نسبت به زمان

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-04-24]

بررسی ۲۴ ساعت و ۱ هفته نشان دادند.

جدول۱- میانگین فعالیت انزیم بتا-گالاکتوزیداز مربوط به سیلرهای مختلف کانال ریشه و گروه کنترل مثبت و منفی

ماده	تعداد نمونه	Subset for alpha = .05		
		۱	۲	۳
Water	۳	۱۱۳/۱۰		
PBS	۳		۱۶۰/۷۵	
DMSO	۳		۱۶۴/۳۶	
AH Plus	۱۸		۱۶۹/۴۵	
Ketac Endo	۱۸		۱۷۹/۱۲	
Tubli-Seal	۱۸		۱۸۱/۳۲	
Sankin	۱۸		۱۸۷/۲۹	
4NQO	۳			۱۵۷۷/۲۷

Overall p-value < 0.001

در جدول۱ نتایج فعالیت آنزیم بتا- گالاکتوزیداز در سیلرهای مختلف و مواد کنترل مثبت و منفی مشخص شده است. بین گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۰۱). بدین صورت که فعالیت آنزیمی 4NQO (کنترل مثبت) به طور معنی‌داری بیشتر از تمام سیلرها و کنترل منفی بود. از طرفی فعالیت آنزیمی آب مقطر به طور معنی‌داری کمتر از سیلرها بود (P<۰/۰۵). از نظر فعالیت آنزیمی بین سیلرها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

از آنجا که فعالیت آنزیمی تا دو برابر کنترل منفی، مثبت در نظر گرفته می‌شود، هیچ کدام از سیلرها فعالیت جهش‌زایی نشان ندادند.

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه، جهش‌زایی و سمیت سلولی چهار سیلر Apatite Sankin III، Ketac-Endo Aplicap، AH Plus و Tubli-Seal EWT به صورت in vitro مورد بررسی قرار گرفت.

از نظر کلینیکی، سیلرها به صورت تازه مخلوط شده یا در مرحله پلیمریزاسیون ناکامل وارد دهان می‌شوند، ولی حتی پس از سخت شدن، این احتمال وجود دارد که ترکیبات بالقوه سمی از این مواد پس از تماس با مایعات بافتی آزاد شود (۵). در این تحقیق آزمایش‌های سمیت سلولی بر روی مواد تازه مخلوط شده و سخت شده، انجام شد.

سمیت سلولی به غلظت، تازه یا سخت بودن و سیلر مورد استفاده بستگی دارد. تمام مواد وقتی سخت شدند و طولانی‌تر در محیط کشت قرار گرفتند، سمیت نشان دادند. ولی بیشترین سمیت در مواد تازه مخلوط شده در حالی بود که ۲۴ ساعت داخل محیط کشت قرار گرفته بودند.

Tubli-Seal EWT به طور قابل توجهی سمیت بیشتر و طولانی‌تری نسبت به سیلر Ketac-Endo و Apatite Sankin III نشان داد. این نتایج بر این نکته دلالت دارد که موادی که در سیلرهای تازه مخلوط شده سمیت ایجاد می‌کنند، اغلب حین ۲۴ ساعت اول آزاد می‌شوند، ولی پس از سخت شدن مواد، با گذشت زمان و تماس بیشتر سیلر با مایعات (۷ روز)، مواد سمی از آنها آزاد می‌شود. Schweikel و Schmalz گزارش کردند که پس از قرارگیری سلول‌ها در معرض غلظت ۳۰mg/ml سیلر AH Plus، حیات سلولی به ۵۰٪ کاهش یافت (۱۵). این نتیجه مطابق با یافته‌های مطالعه حاضر است. آنها ادعا کردند که محیطی که سیلر داخل آن قرار می‌گیرد، اثر قابل توجهی بر سمیت سلولی مواد مورد آزمایش دارد، بدین صورت که کمترین سمیت زمانی که AH Plus در سدیم کلراید ۰/۹٪ قرار گرفت و بیشترین سمیت وقتی که AH Plus در DMSO قرار گرفت، دیده شد (۱۵). از این رو در مطالعه حاضر جهت حذف اثر احتمالی DMSO، سیلرها داخل محیط کشت سلولی قرار داده شدند.

در این تحقیق، سازگاری بیولوژیک سیلر Ketac-Endo Aplicap و Sankin Apatite III نسبتاً خوب بود. Bilginer و همکاران نیز عنوان کردند که Sankin Apatite III که حاوی یدوفرم است، علیرغم این که یدوفرم خواص آنتی سپتیک و باکتریسیدال دارد، دارای سمیت کمتری نسبت به سیلرهای حاوی اوژنول است (۱۶). Curson گزارش کرد که استفاده از یدوفرم به عنوان dressing استخوان پری اپیکال، می‌تواند تکثیر اپی تلیوم را مهار کند و ترمیم حفره آبسه را سرعت بخشد (۱۷).

Kolokuris و همکاران نیز تأیید کردند که Ketac-Endo به خوبی توسط بافت تحمل می‌شود و واکنش التهابی نسبت به آن خفیف است، ولی Tubli-Seal باعث نکروز بافت‌های اطراف می‌شود (۱۸). از طرفی Telli و Spangberg ابراز داشتند که Ketac-Endo تا حدی سمی است (۱۹). Barbosa و همکاران نتیجه گرفتند که سمیت AH Plus و Ketac-Endo با گذشت زمان افزایش می‌یابد (۷) این

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-04-24]

مطلب مطابق یافته‌های مطالعه حاضر است. در تحقیق ما، سمیت تمام سیلرها در زمان بررسی ۴۸ ساعت بیشتر از زمان بررسی ۲۴ ساعت بود و سپس در زمان بررسی ۱ هفته سمیت مجدداً کاهش یافت. دلیل این امر احتمالاً سرعت بالای رشد سلول‌های باقیمانده می‌باشد، بدین معنی که سلول‌هایی که پس از ۴۸ ساعت مجاورت با عصاره زنده مانده‌اند به سرعت تکثیر شده و امکان بررسی سمیت در زمان ۱ هفته را غیرممکن می‌سازند.

روش MTT که توسط Mosmann در ۱۹۸۳ معرفی شد، روشی حساس برای ارزیابی سمیت مواد دندانی می‌باشد. این روش براساس ظرفیت آنزیم دهیدروژناز میتوکندری در سلول‌های زنده برای تبدیل نمک تترازولیوم محلول در آب به کریستال‌های فرمازان آبی رنگ استوار است. مقدار فرمازان تشکیل شده با فعالیت آنزیم میتوکندری سلول‌های زنده متناسب است (۲۰). تعداد زیادی مطالعات in vitro بر روی سازگاری بیولوژیک سیلرهای کانال ریشه انجام شده است. بسیاری از آنها از روش‌های کشت سلولی استفاده کرده‌اند، ولی مقایسه نتایج مشکل یا حتی غیرممکن است، زیرا متغیرهای زیادی در شرایط آزمایشی مانند نوع سلول، روش تماس سلول- ماده و زمان exposure وجود دارد.

در مطالعه حاضر، از غلظت۲۵mg/ml سیلرها که سمیت شدیدی با روش MTT نشان دادند، جهت بررسی اثر جهش‌زای مواد در حالت تازه مخلوط شده و سخت شده استفاده شد. نتایج نشان داد که در هیچ حالتی سیلرها باعث افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم بتا- گالاکتوزیداز نشدند.

اطلاعات منتشر شده در مورد اثرات جهش‌زای این سیلرها متناقض است. Schweikl و Schmalz با استفاده از القای micronuclei در سلول‌های V79 هامستر چینی مشاهده کردند که عصاره AH Plus تازه مخلوط شده در DMSO جهش‌زای است، ولی پس از ۲۴ ساعت سخت شدن، جهش‌زایی نشان نمی‌دهد (۱۵).

Schweikl و همکاران نشان دادند که جهش‌زایی AH26 به علت اپوکسی رزین بیس فنول A دی گلیسیریل اتر است که در AH Plus هم وجود دارد، اما آنها هیچ فعالیت جهش‌زایی در AH Plus پیدا نکردند (۲۱). یافته Miletic و همکاران نشان داد که سیلرهای AH26 و AH Plus هیچ فعالیت جهش‌زایی ندارند (۱).

Ersev و همکاران، اثر جهش‌زای مواد پرکننده کانال ریشه با استفاده از آزمایش Ames را پایین می‌دانند. آنها عنوان کردند، موادی که حاوی اکسید روی- اوژنول یا فرمالدئید هستند، جهش‌زا نمی‌باشند (۲۲).

طبق یافته‌های مطالعه Schweikl و همکاران، اثرات جهش‌زایی مواد با افزایش زمان سخت شدن در هر دو سیستم ارزیابی باکتری و سلول‌های انسانی، کاهش می‌یابد (۲۱). هر چند در تحقیق حاضر سیلرها فعالیت جهش‌زایی نداشتند، ولی با افزایش زمان سخت شدن فعالیت آنزیمی کاهش یافت.

در مطالعه Ersev و همکاران، Ketac-Endo و Tubli-Seal نیز فعالیت جهش‌زایی نشان ندادند (۲۲) که مطالعه حاضر این یافته را تأیید می‌کند. به طور کلی اگرچه مطالعات، فعالیت جهش‌زایی اندک این مواد را نشان می‌دهند، ولی یک آنالیز کوتاه مدت نمی‌تواند تغییرات جهش‌زایی را که طی سال‌ها و نسل‌ها صورت می‌گیرد به طور قطعی تعیین کند. همچنین دوزهایی که بررسی شد ممکن است به طور قابل توجهی از دوزهای واقعی متفاوت باشد، بنابراین پیشنهاد می‌شود که آزمایش‌های جهش‌زایی وسمیت سلولی با روش‌های دیگر نیز تحت بررسی قرار گیرد.

منابع:

1- Miletic I, Jukic S, Anic I, Zeljezic D, Garaj-Vrhovac V, Osmak M. Examination of cytotoxicity and mutagenicity of AH26 and AH Plus sealers. Int Endod J. 2003 May; 36(5):330-335.

2- Beltes P, Koulaouzidou E, Kolokuris I, Kortsaris A. In vitro evaluation of the cytotoxicity of two glass-ionomer root canal sealers. J Endod. 1997 Sep;23(9):572- 4.

3- Gartner AH, Dorn SO. Advances in endodontics surgery. Dent Clin North Am. 1992 Apr;36(2):357- 78.

4- Bertram JS. The molecular biology of cancer . Mol Aspects Med. 2000 Dec;21(6):167- 223.

5- Huang FM, Tai KW, Chou MY, Chang YC. Cytotoxicity of resin-zinc oxide-eugenol-and calcium hydroxide-based root canal sealers on human periodontal ligament cells and permanent V79 cells. Int Endod J. 2002 Feb;35(2):153- 8.

6- Oztan MD, Yilmaz S, Kalayci A, Zaimoğlu L. A comparision of the in vitro cytotoxicity of two root canal sealers. J Oral Rehabil. 2003 Apr;30(4):426- 9.

7- Barbosa SV, Araki K, Spångberg LS. Cytotoxicity of some modified root canal sealers and their leachable components. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1993 Mar;75(3):357-61.

8- Arenholt-Bindslev D, Bleeg H. Characterization of two types of human oral fibroblast with a potential application to cellular toxicity studies: tooth pulp fibroblasts and buccal

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-04-24]

mucosa fibroblasts. Int Endod J. 1990 Mar;23(2):84- 91.
9- Lewis BB, Chestner SB. Formaldehyde in dentistry: a review of mutagenic and carcinogenic potential. J Am Dent Assoc. 1981 Sep;103(3):429- 34.
10- Cross NG, Taylor RF, Nunez LJ. "Single-step" orthodontic bonding systems: possible mutagenic potential.Am J Orthod. 1983 Oct;84(4):344- 50.
11- Garaj-Vrhovac V, Zeljezic D. Cytogenetic monitoring of croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. Toxicology. 2001 Aug;28;165(2-3):153-62.
12- Miletić I, Anić I, Pezelj-Ribarić S, Jukić S. Leakage of five root canal sealers. Int Endod J. 1999 Sep;32(5):415- 8.
13- Wu MK, Wesselink PR, Boersma J. A 1-year follow-up study on leakage of four root canal sealers at different thicknesses. Int Endod J. 1995 Jul;28(4):185- 9.
14- Koch MJ. Formaldehyde release from root-canal sealers: influence of method. Int Endod J. 1999 Jan;32(1):10- 6.
15- Schweikl H, Schmalz G. The induction of micronuclei in V79 cells by the root canal filling material AH plus. Biomaterials. 2000 May;21(9):939- 44.
16- Bilginer S, Esener T, Söylemezoğlu F, Tiftik AM. The investigation of biocompatibility and apical microleakage of tricalcium phosphate based root canal sealers. J Endod. 1997 Feb;23(2):105-9.
17- Curson I. Root canal filling.Br Dent J. 1966 Nov; 1;121(9):424- 8.
18- Kolokuris I, Beltes P, Economides N, Vlemmas I. Experimental study of the biocompatibility of a new glass-ionomer root canal sealer (Ketac-Endo). J Endod. 1996 Aug;22(8):395- 8.
19- Telli C, Serper A, Dogan AL, Guc D. Evaluation of the cytotoxicity of calcium phosphate root canal sealers by MTT assay. J Endod. 1999 Dec;25(12):811- 3.
20- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods. 1983 Dec;16;65 (1-2):55- 63.
21- Schweikl H, Schmalz G, Stimmelmayr H, Bey B. Mutagenicity of AH26 in an in vitro mammalian cell mutation assay. J Endod. 1995 Aug;21(8):407- 10.
22- Ersev H, Schmalz G, Bayirli G, Schweikl H. Cytotoxic and mutagenic potencies of various root canal filling materials in eukaryotic and prokaryotic cells in vitro. J Endod. 1999 May;25(5):359- 63.

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-04-24]