مقایسه‌ی آزمایشگاهی سمیت سلولی هیدروکسید کلسیم و کلشی‌سین بر روی سلول‌های فیبروبلاست لثه‌ی انسانی

دکتر بهناز برکتین[1]، دکتر علیرضا فرهاد[2]، آیدا پدرام*[3]، دکتر بتول هاشمی[3]، فریبا حیدری[4]

چکیده

مقدمه: سازگاری نسجی مواد پانسمان یکی از مهم‌ترین خصوصیاتی از مواد دندانی است که باید مورد مطالعه قرار گیرد. از جمله پرمصرف‌ترین داروهای پانسمان هیدروکسید کلسیم می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی سمیت سلولی داروی کلشی‌سین و مقایسه‌ی آن با داروی هیدروکسید کلسیم بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی- آزمایشگاهی، از داروی کلشی‌سین و هیدروکسید کلسیم غلظت‌های ۱۰ ، ۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتری تهیه شد. سلول‌های فیبروبلاست رده C165 در محیط کشت قرار گرفت و پس از انکوبه شدن، غلظت‌های تهیه شده از مواد به محیط کشت اضافه شد. بعد از گذشت زمان‌های ۲۴ ساعت و ۷۲ ساعت و ۷ روز، نمک تترازولیوم به سلول‌ها افزوده شد وکمیت فورمازان حاصله به روش اسپکتروفوتومتری در دستگاه الیزا اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی کشندگی این دو ماده و پس از اتمام تیمار دارویی، سلول‌ها توسط محلول تریپان بلو ۰/۴ درصد رنگ‌آمیزی شده و سلول‌های زنده در زیر میکروسکوپ نوری شمارش شدند. در این مطالعه برای آنالیز داده‌ها از آزمون Kruskal-Wallis و Mann-Withney و T-TEST استفاده شد.

یافته‌ها: گروه کنترل بدون اضافه نمودن هیچ غلظتی از مواد دارای بیش‌ترین میزان جذب نوری بود. میزان جذب نوری در همه غلظت‌ها در ماده‌ی هیدروکسید کلسیم در هر سه زمان تعیین شده بالاتر از کلشی‌سین بود ($p\ value < ۰/۰۵$). هم‌چنین رنگ آمیزی تریپان بلو نشان داد که میانگین کشته شدن سلول‌های فیبروبلاست برای کلشی‌سین با اختلاف معنی‌داری بیش‌تر از کلسیم هیدروکساید بود ($p\ value < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: طبق نتایج مطالعه‌ی حاضر، میزان سمیت سلولی هر دو ماده از گروه کنترل بالاتر و در مورد ماده‌ی کلشی‌سین هم بیش‌تر از هیدروکسید کلسیم است. در نتیجه این‌طور به‌نظر می‌رسد که ماده‌ی هیدروکسید کلسیم هم‌چنان به‌عنوان مطلوب‌ترین انتخاب برای پانسمان داخل کانال در بین جلسات درمانی درمان ریشه مورد استفاده است.

کلید واژه‌ها: هیدروکسید کلسیم، کلشی‌سین، سمیت سلولی، سلول‌های فیبروبلاست

* دانشجوی دندان‌پزشکی، کمیته پژوهش‌های دانشجویان، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران (مؤلف مسؤول)
aida.pedram@gmail.com

۱: استادیار، مرکز تحقیقات دندان‌پزشکی ترابی‌نژاد، گروه اندودنتیکس، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲: استاد، مرکز تحقیقات دندان‌پزشکی ترابی‌نژاد، گروه اندودنتیکس، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳: استادیار، گروه بافت و جنین شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴: کارشناس آزمایشگاه، مرکز تحقیقات دندان‌پزشکی ترابی‌نژاد، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

این مقاله حاصل پایان‌نامه عمومی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره ۳۹۱۲۸۸ می‌باشد.

این مقاله در تاریخ ۹۲/۷/۲۹ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۹۲/۱۲/۱۵ اصلاح شده و در تاریخ ۹۲/۱۲/۲۰ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۹۳؛ ۱۰(۳)؛ ۱۹۱ تا ۲۰۱

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

هدف اصلی از درمان ریشه تا حد ممکن کاهش و حذف باکتری‌ها از سیستم کانال ریشه توسط دبریدمان مکانیکی و شیمیایی می‌باشد. طیف وسیعی از مواد ضد میکروبی بدین منظور مورد استفاده قرار گرفته‌اند[۱]. در واقع یک درمان اندودونتیک موفق بستگی به تشخیص صحیح، پاک‌سازی مؤثر و حذف عفونت و پرکردگی کافی و مناسب کانال‌های ریشه دارد[۳، ۲].

استفاده از داروهای داخل کانال در بین جلسات درمانی سال‌هاست که به‌عنوان عملی روتین در درمان ریشه و به‌عنوان عملی ضمیمه برای کنترل باکتری‌ها انجام می‌گردد. منطق استفاده از این مواد دارای دو بعد است. اول این‌که این مواد دارویی ممکن است باعث کاهش فلور میکروبی به کم‌تر از حدی شوند که قبلاً توسط شکل‌دهی و آماده سازی مکانیکی کانال به‌دست آمده است، به ویژه با نفوذ به مناطقی که امکان دسترسی به آن‌ها توسط وسایل معالجه ریشه و مواد شستشو دهنده وجود ندارد. دوم این‌که باقی ماندن یک ماده ضد میکروبی در فاصله‌ی بین جلسات درمانی، ممکن است باعث کاهش احتمال عفونی شدن دوباره کانال شود یا اینکه خطر تکثیر باکتری‌های باقیمانده را کاهش دهد[۵، ۴].

سازگاری نسجی یکی از مهم‌ترین خصوصیات مواد قرار داده شده در داخل کانال در بین جلسات درمانی و مواد پرکننده‌ی کانال می‌باشد، چرا که رها سازی اجزای مشخصی از مواد تشکیل دهنده‌ی سیلرها و مواد پانسمان ممکن است واکنش‌های مختلفی در بافت پری اپیکال ایجاد کند[۹-۶، ۳، ۲].

لزوم استفاده از مواد دارای سازگاری بافتی در دندان‌پزشکی ترمیمی و اندودانتیکس احتیاج به وجود تست‌های بررسی سمیت سلولی را ایجاب می‌کند تا خصوصیات یک ماده تحت نظر قرار گیرد و ضررهای بالقوه‌ی آن بر بافت‌های حفره‌ی دهان قبل از استفاده‌ی کلینیکی از آن‌ها مشخص گردد. تست‌های بررسی سمیت سلولی سنجشی از میزان مرگ سلولی در اثر مواد مورد بررسی یا مواد استخراج شده از آن‌ها را فراهم می‌کنند. کلمه‌ی سمیت سلولی (cytotoxicity) برای توصیف اتفاقات آبشار مولکولی استفاده می‌شود که با سنتزهای ماکرومولکولار تداخل می‌کنند و باعث آسیب‌های ساختاری و مولکولی واضحی می‌گردند[۱۰].

به‌طور واضح یکی از لازمه‌ها و خصوصیات اصلی مواد مورد استفاده در داخل کانال‌ها و هم‌چنین سیلرها، غیر سمی بودن و سازگاری آن‌ها با بافت‌های اطراف است[۱۱].

به‌منظور به حداقل رساندن عوارض موضعی و یا سیستمیک، سازگاری بافتی تمامی مواد اندودونتیک توسط تست‌های مختلف inVitro و inVivo باید قبل از استفاده کلینیکی بررسی شود[۱۲].

تست‌های آزمایشگاهی سمیت سلولی به‌عنوان اولین گام در راه آزمایش مواد دندانی و یا پزشکی جدید یا تغییر یافته مورد قبول واقع شده‌اند. با وجود این‌که تست‌های آزمایشگاهی از نظر پارامترهای اندازه‌گیری زنده ماندن سلول‌ها متفاوت می‌باشند، یکی از اهداف اصلی آن‌ها برقراری ارتباط سمیت در میان مواد است. مواد اندودونتیک به‌طور معمول در تماس با بافت‌های پری اپیکال و یا بافت‌های پالپال قرار دارند، بنابراین این مواد باید به‌طور ایده ال با این بافت‌ها سازگار باشند. مرگ سلولی گسترده و یا آغاز پاسخ التهابی شدید برای این مواد مطلوب نمی‌باشد.

سمیت سلولی می‌تواند از طریق تست رنگ‌سنجی MTT (Sigma-USA) با فرمول (Methylthiazol 3-(4,5- Dimethylthiazol-2-) (Tetrazolium Assay yl)-2,5- diphenyltetrazolium bromide, a yellow tetrazole) انجام شود. این تست تنها سلول‌های زنده را تشخیص می‌دهد که اندازه‌گیری سمیت سلولی، تکثیر و یا فعالیت سلولی را امکان‌پذیر می‌سازد[۱۳]. این تست بر قابلیت‌های آنزیم دهیدروژناز میتوکندری تمرکز دارد. این آنزیم در سلول‌های زنده قادر است tetrazolium salt 3, 4[4,5- dimethylthiazol-2-yl]-2, 5- diphenyltetrazoliumbromide را که ماده‌ای زرد رنگ و محلول در آب است به کریستال‌های formazan به رنگ آبی تیره تبدیل نماید[۱۴]. در میان مواد موجود برای پانسمان کانال در بین جلسات درمانی، هیدروکسید کلسیم رایج‌ترین استفاده را در کلینیک دارد[۱۵]. معرفی هیدروکسید کلسیم توسط Herman[۱۶] در سال ۱۹۲۰ آغاز فصل جدیدی در زمینه‌ی دندان‌پزشکی بود. موفقیت کلینیکی با این ماده به طور عمده مربوط به pH بازی آن می‌باشد و بستگی به توانایی آن در تجزیه‌ی سریع به یون‌های کلسیم (Ca^{++}) و هیدروکسیل

Archive of SID
www.SID.ir

(OH^-) دارد[۱۷]. چندین خاصیت بیولوژیکی، از جمله فعالیت ضد میکروبی[۱۸]، جلوگیری از تحلیل دندان[۲۰، ۱۹]، و القای ترمیم با تشکیل بافت سخت[۲۱] به این ماده نسبت داده شده است. مشخص شده که استفاده از کلسیم هیدروکساید در بین جلسات درمانی تأثیری بر کاهش درد ندارد. هم‌چنین استفاده از این ماده در دندان‌های با پالپ زنده مزایای کمی دارد[۲۲].

در مطالعه‌ای نشان داده شده است که سیلرهای با پایه هیدروکسید کلسیم برای سلول‌های اولیه‌ی لیگامان پریودنتال (PDL) سمی می‌باشند. این مطالعه که در سال ۲۰۰۲ توسط Huang و همکاران[۲۳] انجام شد، اثر سه سیلر، اولی با بیس رزین، دومی با بیس زینک اکساید اوژنول و سومی با بیس هیدروکسید کلسیم، از نظر اثر سمیت سلولی بر سلول‌های اولیه‌ی لیگامان پریودنتال توسط تست MTT مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه این بود که هر سه نوع سیلر برای سلول‌های لیگامان پریودنتال سمی بودند.

مطالعه‌ی دیگری در رابطه با سمیت سلولی هیدروکسید کلسیم در سال ۲۰۰۰ توسط Willershousen و همکاران[۱۱] با هدف بررسی سازگاری بیولوژیکی ۵ نوع سیلر مورد استفاده در پرکردن کانال انجام گرفت. در این مطالعه رشد سلولی، قابلیت زنده ماندن (viability) سلول‌ها، مورفولوژی سلولی، محتوای پروتئین سلول‌ها و میزان ترشح پروستاگلاندین E2 به‌عنوان پارامترهای اندازه‌گیری سمیت سلولی این سیلرها در نظر گرفته شد. محتوای پروتئین سلولی در ۵ نوع سیلر به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. اما قابلیت زنده ماندن سلول‌ها در سیلر حاوی هیدروکسید کلسیم به میزان قابل توجهی کاهش یافت.

گل حسرت با نام سورنجان تلخ گیاهی از خانواده‌ی lily به نام‌های Colchicium autumnale (autumn crocus, meadow saffron) و Gloriosa supreba (glory lily) است[۲۴]. عصاره‌ی این گیاه از ۳۱ آلکالوئید متفاوت تشکیل شده است[۲۵] که از اصلی‌ترین آن‌ها می‌توان کلشی‌سین را نام برد[۲۷، ۲۶]. استفاده از کلشی‌سین برای درمان آرتریت نقرسی، بیماری‌های دیگر مثلث مدیترانه‌ای، بیماری بهجت، پسوریازیس و سایر بیماری‌ها به زمان‌های دور برمی‌گردد[۲۹، ۲۸]. اثرات ثابت شده‌ی ضد درد و ضد التهابی داروی کلشی‌سین به دلیل فعالیت آن علیه حرکت دیاپدز و کموتاکسی نوتروفیل‌ها است[۳۰].

در مطالعه‌ای که برای بررسی اثر کلشی‌سین بر جنین انسان انجام شد به این نتیجه رسیدند که کلشی‌سین تراتوژن عمده‌ای برای انسان محسوب نمی‌شود و احتمالاً اثر سمی ندارد[۳۱]. هم‌چنین استفاده بی‌خطر آن در دوران بارداری گزارش شده است[۳۲].

با توجه به ویژگی‌های گفته شده در مورد کلشی‌سین و هیدروکسید کلسیم، هدف از این مطالعه بررسی سازگاری بافتی این دو ماده است تا شاید بتوان در آینده از داروی کلشی‌سین به عنوان داروی ضد درد و ضد التهاب در کانال دندان استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی- آزمایشگاهی، از پودر هیدروکسید کلسیم (Merck-Germany) و پودر کلشی‌سین (Sigma Aldrich-USA) استفاده شد. در این مطالعه جهت بررسی سمیت سلولی مواد مورد آزمایش با استفاده از تست MTT، سلول‌های فیبروبلاست لثه‌ای با رده‌ی C165 از انستیتو پاستور ایران تهیه گردیدند. سلول‌های انتخاب شده برای رشد در محیط کشت Roswell park memorial (RPMI 1640- Sigma Aldrich-USA) و FCS (Fetal calf serum) ده درصد با مشخصات (NY Co, USA) و آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین و استرپتومایسین) قرار گرفته و درون انکوباتور با CO2 پنج درصد و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. سلول‌ها قبل از این‌که با مواد مورد آزمایش مجاور شوند، کشت داده شدند.

وقتی‌که ۸۰ درصد فلاسک پر از سلول‌های رشد یافته شد، با استفاده از آنزیم Try/EDTA (Trypsine/ EthyleneDiamineTetraacetic Acid) سلول‌ها از کف فلاسک جدا شده و به داخل لوله‌ی فالکون ریخته شد و سانتریفوژ انجام گردید. سپس مایع فوقانی تخلیه شده و سلول‌ها در ۲ سی‌سی سوسپانسیون وارد شدند. با استفاده از لام نئوبار شمارش سلول‌ها انجام گرفت، به‌طوری که در هر پلیت ۱۰۰۰۰ (10^4) سلول کشت داده شد.

Archive of SID
www.SID.ir

برای تهیه‌ی غلظت مناسب از داروهای مورد آزمایش مقدار ۷۰۰ میلی‌گرم از پودر هیدروکسید کلسیم با ترازوی دیجیتال (OHAUS. Co- USA) وزن شده و با ۷ میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط شد. این کار باعث ایجاد یک محیط ذخیره (stock) برای مراحل بعدی کار شد. غلظت این محلول به‌دست آمده ۱۰۰ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر بود. از این ذخیره‌ی به‌دست آمده، غلظت‌های ۱۰ و ۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از دو ماده‌ی هیدروکسید کلسیم و کلشی‌سین تهیه شد.

سپس غلظت‌های ذکر شده همگی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد در اتوکلاو (Farazmehr-Iran) استریل شدند. این مراحل برای داروی کلشی‌سین هم به همین ترتیب اجرا گردید و سلول‌های کشت داده شده تریپسینه و شمارش شدند.

در پلیت ۱۲ خانه سلول‌های شمارش شده اضافه گردیدند. در هر چاهک ۱۰۰۰۰ سلول کشت داده شد و یک میلی‌لیتر هم محیط کشت RPMI (Roswell park memorial institute) اضافه گردید و پس از ۲۴ ساعت، ۷۲ ساعت و ۷ روز غلظت‌ها بررسی شدند. به‌منظور کنترل شرایط برای هر سه زمان، محیط کشت (medium) و سلول‌ها، بدون غلظت‌هایی از کلشی‌سین و هیدروکسید کلسیم در نظر گرفته شد.

تست MTT:

MTT (Sigma-USA) نمک تترازولیوم قابل حل در آب است که هنگامی که در محیط کشت آماده می‌شود و یا در آب حل می‌گردد تشکیل یک محلول زرد رنگ می‌دهد.

MTT حل شده، با شکسته شدن حلقه‌ی تترازولیوم توسط آنزیم دهیدروژناز تولید شده توسط سلول‌های زنده، به ماده‌ای به نام formazan تبدیل می‌شود که بنفش رنگ بوده و غیر قابل حل در آب است. این ماده و در نتیجه این تغییر رنگ فقط در میان سلول‌های زنده انجام می‌شود. نتایج به‌دست آمده از این تست نه تنها تعداد سلول‌های زنده را مشخص می‌کند بلکه میزان فعالیت متابولیک سلول‌ها را هم مشخص می‌کند. در نتیجه روش MTT ایندکسی حساس برای ارزیابی سمیت سلولی مواد دندانی در نظر گرفته می‌شود[۱۳].

این تست یکی از شایع‌ترین روش‌ها برای بررسی سمیت سلولی داروها، ضدعفونی کننده‌های دهان و محصولات حاوی پراکسید می‌باشد. امتیاز این روش در سادگی، سرعت و قابلیت تکرار آن است[۳۳].

هر کدام از غلظت‌ها برای هر سه زمان مورد نظر (۲۴ ساعت و ۷۲ ساعت و ۷ روز)، در نظر گرفته شد و برای هر غلظت سه چاهک اختصاص داده شد.

پس از ۲۴ ساعت و ۷۲ ساعت و ۷ روز، محیط کشت (medium) تخلیه شد و شستشو با PBS (Phosphate-buffered saline) انجام شد. سپس میزان ۴۰۰ میکرولیتر از مدیوم و ۴۰ میکرولیتر MTT افزوده شد و در انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. سپس به آرامی مدیوم تخلیه شد و ۴۰۰ میکرولیتر DMSO (Dimethyl sulfixide) اضافه گردید و به مدت ۲ ساعت در تاریکی قرار داده شد. در مرحله ی بعدی محلول به پلیت ۹۶ خانه منتقل شد و کمیت formazan حاصله به روش اکسپکتروفتومتری در طول موج ۵۷۰ نانومتر تعیین گردید.

تست شمارش سلولی:

در این آزمایش از رنگ‌آمیزی تریپان بلو برای بررسی میزان تغییر در نفوذپذیری غشاء سلولی جهت اندازه‌گیری سمیت سلولی استفاده شد. رنگ مذکور تنها زمانی می‌تواند به داخل سلول نفوذ کند که غشاء سلولی به سبب سمیت سلولی ماده‌ی مورد استفاده آسیب دیده باشد. برای انجام این آزمایش سلول‌های فیبروبلاست لثه‌ی انسانی با رده‌ی C165 در پلیت‌های ۲۴ خانه کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوبه شدن، مواد مورد آزمایش با رقت‌های مورد نظر به چاهک‌های مربوطه اضافه شدند و پس از اتمام تیمار دارویی در زمان‌های مجاورت مورد نظر (دو داروی هیدروکسید کلسیم و کلشی‌سین پس از ۲۴ ساعت و ۷۲ ساعت و ۷ روز)، سلول‌ها توسط محلول تریپان بلو ۰/۴ درصد رنگ آمیزی شده و سلول‌های زنده بر روی لام نئوبار و در زیر میکروسکوپ نوری شمارش شدند.

برای مقایسه‌ی داده‌های به‌دست آمده از تست MTT نمونه‌ها ابتدا در ۷ گروه در نظر گرفته شد.

گروه اول: شامل نمونه‌های کنترل (حاوی سلول‌های فیبروبلاست لثه و محیط کشت RPMI بدون اضافه نمودن هیچ غلظتی از مواد)

Archive of SID
www.SID.ir

گروه دوم: شامل نمونه‌های حاوی غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از هیدروکسید کلسیم

گروه سوم: شامل نمونه‌های حاوی غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از هیدروکسید کلسیم

گروه چهارم: شامل نمونه‌های حاوی غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از هیدروکسید کلسیم

گروه پنجم: شامل نمونه‌های حاوی غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از کلشی‌سین

گروه ششم: شامل نمونه‌های حاوی غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از کلشی‌سین

گروه هفتم: شامل نمونه‌های حاوی غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از کلشی‌سین

در هر یک از گروه‌ها ۹ داده به‌دست آمد. ۳ مورد از داده‌ها مربوط به انکوباسیون در ۲۴ ساعت بود (که پس از اضافه نمودن غلظت‌ها به سلول‌ها در زمان ۲۴ ساعت جذب نوری اندازه‌گیری شد). هم‌چنین ۳ مورد از داده‌ها مربوط به انکوباسیون ۷۲ ساعته بود (که در زمان ۷۲ ساعت پس از افزودن غلظت‌ها به سلول‌ها جذب نوری اندازه‌گیری شد). و ۳ داده نیز مربوط انکوباسیون ۷ روز (که این نمونه‌ها نیز پس از ۷روز جذب نوری در آن‌ها اندازه‌گیری شد).

در این مطالعه جهت تحلیل داده‌ها از آزمون Kruskal-Wallis و Mann-Whitney و T-test استفاده شد.

یافته‌ها

میانگین جذب نوری کلسیم هیدروکساید و کلشی‌سین در زمان‌ها و غلظت‌های مختلف به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ نشان داده است. در تست MTT مقایسه‌ی گروه‌های ذکر شده در بالا در زمان‌های خاص با استفاده از آزمون من–ویتنی نشان داد که بین دو گروه با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان ۲۴ ساعت (مقایسه‌ی دو ماده‌ی هیدروکسید کلسیم و کلشی‌سین) اختلاف معنی‌دار بود (p value = ۰/۰۴۵) و کلشی‌سین از هیدروکسید کلسیم سمیت بیش‌تری نشان داد. این اختلاف معنی‌دار (p value = ۰/۰۴۶) در گروه ۷۲ ساعت و ۷روز (p value = ۰/۰۴۳) هم در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دیده شد. مقایسه‌ی گروه‌های ذکر شده در بالا در زمان‌های خاص با استفاده از آزمون من–ویتنی نشان داد که بین دو گروه با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان ۲۴ ساعت (مقایسه‌ی دو ماده‌ی هیدروکسید کلسیم و کلشی‌سین) اختلاف معنی‌دار بود (p value = ۰/۰۴۵) و کلشی‌سین از هیدروکسید کلسیم سمیت بیش‌تری نشان داد. این اختلاف معنی‌دار (p value = ۰/۰۴۶) در گروه ۷۲ ساعت و ۷ روز (p value = ۰/۰۴۳) هم در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دیده شد.

جدول ۱. میانگین جذب نوری هیدروکسید کلسیم در زمان‌ها و غلظت‌های مختلف

زمان	غلظت	میانگین	انحراف معیار
۲۴ ساعت	۱۰ mg/ml	۰/۴۲	۰/۰۱۵
	۵ mg/ml	۰/۵۰	۰/۰۰۵
	۲/۵ mg/ml	۰/۴۵	۰/۰۵
۷۲ ساعت	۱۰ mg/ml	۰/۳۳	۰/۰۳
	۵ mg/ml	۱/۴۴	۰/۲۱
	۲/۵ mg/ml	۱/۸۸	۰/۲۷
۷ روز	۱۰ mg/ml	۰/۳۱۶	۰/۰۲
	۵ mg/ml	۲/۷۶	۰/۸۸
	۲/۵ mg/ml	۲/۱۶	۰/۱۵

جدول ۲. میانگین جذب نوری کلشی‌سین در زمان‌ها و غلظت‌های مختلف

زمان	غلظت	میانگین	انحراف معیار
۲۴ ساعت	۱۰ mg/ml	۰/۲۲	۰/۰۰۵
	۵ mg/ml	۰/۲۴	۰/۰۱۷
	۲/۵ mg/ml	۰/۳۲	۰/۰۲۸
۷۲ ساعت	۱۰ mg/ml	۰/۲۵	۰/۰۱۵
	۵ mg/ml	۰/۲۳	۰/۰۰۵
	۲/۵ mg/ml	۰/۳۰	۰/۰۱۵
۷ روز	۱۰ mg/ml	۰/۲۴	۰/۰۱۱
	۵ mg/ml	۰/۲۴	۰/۰۲
	۲/۵ mg/ml	۰/۲۷	۰/۰۲

در مقایسه‌ی گروه‌های ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از هر ماده (هیدروکسید کلسیم و کلشی‌سین) با آزمون Mann-Whitney در ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (p value = ۰/۰۵). در زمان‌های ۷۲ ساعت (p value = ۰/۰۴۶) و ۷ روز (p value = ۰/۰۵) هم همین نتایج به‌دست آمد.

با مقایسه‌ی گروه‌های ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتری از دو ماده‌ی هیدروکسید کلسیم و کلشی‌سین در ۲۴ ساعت (۰/۰۴۳

Archive of SID
www.SID.ir

(p value = ۰/۰۵) و ۷۲ ساعت (p value = ۰/۰۵) و ۷ روز (p value = ۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری به‌دست آمد.

به‌طور کلی مقایسه دو ماده‌ی کلشی‌سین و هیدروکسید کلسیم با استفاده از آزمون من–ویتنی اختلاف معنی‌داری در مورد میزان جذب نوری نشان داد (p value < ۰/۰۰۱).

آزمون Mann-Whitney هر یک از این گروه‌ها هم اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نشان دادند (p value < ۰/۰۰۱) در واقع بیش‌ترین درصد جذب نوری مربوط به گروه کنترل (گروه ۱) می‌باشد. در این گروه میزان جذب نوری در سه سطح زمانی ذکر شده یکسان بود.

آزمون kruskal-wallis بین غلظت‌های مختلف برای ۲۷ نمونه ماده‌ی هیدروکسید کلسیم (۱۰ و ۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) از نظر جذب نوری اختلاف معنی‌داری نشان داد (p value < ۰/۰۰۱).

این آزمون برای کلشی‌سین هم مورد استفاده قرار گرفت و برای غلظت‌های مختلف از کلشی‌سین در ۲۷ نمونه از نظر جذب نوری اختلاف معنی‌داری نشان داد (p value < ۰/۰۰۱).

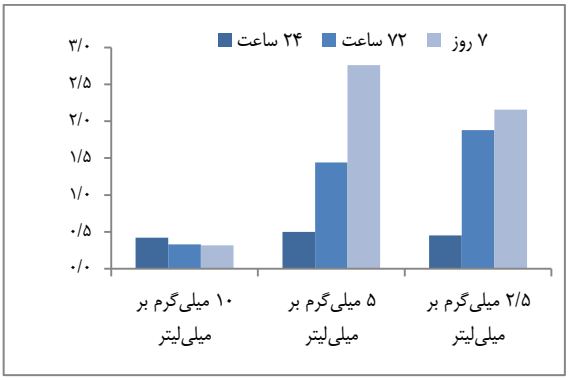
آزمون Mann-Whitney بین غلظت ۱۰ و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای ماده‌ی هیدروکسید کلسیم اختلاف معنی‌داری نشان داد (p value < ۰/۰۰۱) اما این اختلاف برای کلشی‌سین از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (p value = ۰/۷).

اختلاف بین دو غلظت ۱۰ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای هر دو ماده‌ی هیدروکسید کلسیم و کلشی‌سین معنی‌دار بود (p value < ۰/۰۰۱).

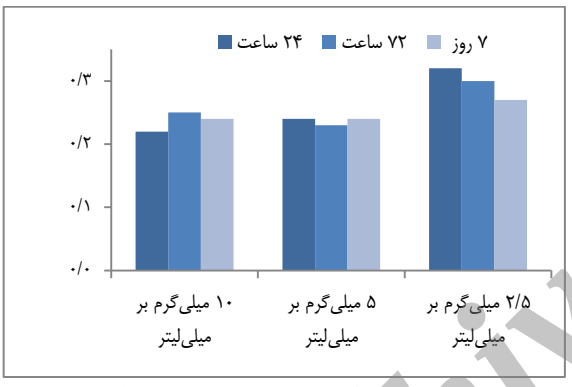
اختلاف بین دو غلظت ۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای ماده‌ی هیدروکسید کلسیم معنی‌دار نبود (p value = ۰/۸). این اختلاف برای ماده‌ی کلشی‌سین هم از لحاظ آماری معنی‌دار نشد (p value = ۰/۱).

با توجه به نمودار ۱ برای هیدروکسید کلسیم اختلاف میزان جذب نوری (Optical density) با استفاده از تست Mann-Whitney در تمام غلظت‌ها تنها بین زمان‌های ۷۲ ساعت و ۷ روز معنی‌دار نبود (p value= ۰/۱).

در مورد نمودار ۲ و ماده‌ی کلشی‌سین هم با توجه به نتایج و اعداد به‌دست آمده و مقایسه‌ی آن‌ها با استفاده از تست Mann-Whitney تفاوت معنی‌دار تنها در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و بین ۲۴ ساعت و ۷ روز اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (p value = ۰/۰۴۶).



نمودار ۱. جذب نوری هیدروکسید کلسیم در زمان‌ها و غلظت‌های مختلف



نمودار۲. جذب نوری کلشی‌سین در زمان‌ها و غلظت‌های مختلف

شمارش سلول‌ها توسط تست تریپان بلو

در بررسی کشندگی دو ماده‌ی هیدروکسید کلسیم و کلشی‌سین با استفاده از رنگ‌آمیزی تریپان بلو بعد از هر یک از زمان‌های ۲۴ ساعت و ۷۲ ساعت و ۷ روز آزمون kruskal-wallis در بین غلظت‌های مختلف از هیدروکسید کلسیم (۲۷ نمونه) اختلاف معنی‌داری نشان داد (p value = ۰/۰۰۵) این اختلاف برای کلشی‌سین (۲۷ نمونه) معنی‌دار نبود (p value = ۰/۱).

هم‌چنین با استفاده از تست من– ویتنی مشخص گردید که برای ماده‌ی هیدروکسید کلسیم، مقایسه‌ی زمان‌های ۲۴ و ۷۲ ساعت در کل در غلظت‌های مختلف اختلاف معنی‌دار بود (p value = ۰/۰۰۴). این اختلاف معنی‌دار در مقایسه‌ی زمان‌های ۲۴ ساعت و ۷ روز هم مشاهده شد (p value = ۰/۰۱). اما میان زمان‌های ۷۲ ساعت و ۷ روز اختلاف

Archive of SID
www.SID.ir

معنی‌داری مشاهده نشد (p value = ۰/۶). برای ماده‌ی کلشی‌سین تنها میان زمان‌های ۲۴ ساعت و ۷ روز اختلاف معنی‌دار بود (p value = ۰/۰۵۳).

توسط آزمون t نشان داده شد که به‌طور کلی اختلاف میانگین میزان جذب نوری بین دو ماده‌ی کلشی‌سین (۰/۹۴ ± ۱۴/۴) و هیدروکسید کلسیم (۰/۰۲۵ ± ۰/۲۶) معنی‌دار بود (p value < ۰/۰۰۱). میانگین کشندگی سلول‌های فیبروبلاست در تست تریپان بلو برای کلسیم هیدروکساید (۱۳/۴۲ ± ۱۱/۶۶) و برای کلشی‌سین (۱۵/۵۳ ± ۲۵/۶۷) بود که این دو با p value < ۰/۰۰۱ اختلاف معنی‌داری داشتند.

بحث

استفاده از داروهای ضد میکروبی داخل کانال در بین جلسات درمانی، راهی برای کنترل عفونت ریشه به شمار می‌آید. داروهای بسیاری به‌عنوان پانسمان ضد میکروبی داخل کانال در جلسات بین درمان، هم برای کاهش بار میکروبی و هم برای کاهش درد و تورم بعد از درمان ریشه به‌کار می‌روند. بر خلاف ادعاهای گوناگون، هیچ دارویی ایده‌ال نبوده و تناقضات بسیار زیادی در کارایی و درستی عملکرد آن‌ها وجود دارد[۳۴].

کتب مرجع درمان ریشه بر این موضوع اجماع نظر دارند که یک داروی داخل کانال علاوه بر این‌که باید یک داروی ضد میکروبی مؤثر باشد، نبایستی برای بافت پری اپیکال آزار دهنده و سمی باشد[۳۷-۳۵].

یکی از روش‌های ارزیابی سازگاری نسجی مواد مورد استفاده در دندان‌پزشکی، ارزیابی سمیت سلولی آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی است. اگرچه آزمایش‌های کاربردی معتبرتر می‌باشند، ولی بررسی سمیت سلولی به‌طور آزمایشگاهی و در شرایط کاملاً کنترل شده و تکرارپذیر سبب می‌شود که تأثیر رقت، زمان، و نوع ماده‌ی به‌کار برده شده به دقت مورد ارزیابی قرار گیرد[۳۸]. فیبروبلاست نوعی سلول است که ماتریکس خارج سلولی و کلاژن را سنتز می‌کند. فیبروبلاست‌ها شایع‌ترین سلول‌های بافت همبند می‌باشند[۳۹] و معمولاً برای بررسی سمیت سلولی مواد، از این سلول‌ها استفاده می‌شود.

علی‌رغم استفاده گسترده از هیدروکسید کلسیم به‌عنوان پانسمان در بین جلسات درمان به‌نظر می‌رسد این دارو توانایی حذف کامل میکروارگانیسم‌ها را ندارد. در مطالعه‌ای که توسط Waltimo و همکاران[۴۰] انجام شد مشاهده گردید که قارچ کاندیدا آلبیکانس نسبت به فرم محلول کلسیم هیدروکساید مقاوم است. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ توسط برکتین و همکاران[۴۱] با هدف مقایسه‌ی اثر ضد میکروبی کلسیم هیدروکساید و کلشی‌سین انجام شد، نشان داد که در گروه قارچ کاندیدا آلبیکانس سه غلظت ۰/۲۵، ۰/۵ و یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از داروی کلشی‌سین فعالیت بازدارنده از رشد نشان دادند و غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آن علاوه بر اثر بازدارنده از رشد، اثر کشندگی هم بر روی این قارچ داشته است، در صورتی‌که در مورد کلسیم هیدروکساید، فعالیت بازدارنده از رشدی در هیچ کدام از غلظت‌ها مشاهده نشد. بنابراین در مطالعه‌ی حاضر تصمیم بر آن شد که غلظت‌های بیش‌تر از یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شود و از آن‌جا که به‌نظر می‌رسد تاکنون مطالعه‌ی مشابهی انجام نگرفته است، غلظت‌های ۱۰ و ۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مناسب به نظر می‌آمد.

داروی کلشی‌سین به‌عنوان داروی ضد التهاب و ضد درد در درمان نقرس، تب مدیترانه‌ای و حتی آفت‌های راجعه استفاده می‌شود. این دارو اثرات ثابت شده‌ای در جلوگیری از فعالیت میتوزی دارد[۲۵، ۲۴].

در مطالعه‌ی دیگری که در سال ۲۰۱۲ توسط Pade و همکاران[۴۲] با هدف بررسی عوارض استفاده از داروی کلشی‌سین در کودکان مبتلا به تب مدیترانه‌ای انجام شد، ۱۵۳ بیمار مبتلا به تب مدیترانه‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. ۱۴ بیمار وقتی کلشی‌سین برای اولین بار برای آن‌ها تجویز شد کم‌تر از ۲ سال و ۶۸ بیمار کم‌تر از ۵ سال سن داشتند. در این میان هیچ ارتباطی بین عوارض دارو و سن بیمار، زمان شروع بیماری، طول دوره‌ی درمان و یا هیچ یک از مشخصات بیماری یافت نشد. هم‌چنین تست‌های شمارش سلول‌های خونی و تست عملکرد کلیوی در تمامی بیماران نرمال بود. هیچ کدام از بیماران استفاده از دارو را قطع نکردند. تنها عارضه‌ی این دارو آن هم فقط در تعداد کمی از بیماران (تنها ۲۲ نفر)، اسهال بود که می‌توان با کاهش دوز کلشی‌سین آن را کنترل نمود.

Archive of SID
www.SID.ir

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۰ توسط Diav-Citrin و همکاران[۳۱] با هدف بررسی اثرات جنینی کلشی‌سین انجام گرفت، ۲۳۸ فرد که در دوران حاملگی در معرض کلشی‌سین قرار گرفته بودند پی‌گیری شدند. میزان آنومالی‌ها در گروه کلشی‌سین و گروه مقایسه هر دو در حد پایه جمعیت عمومی قرار داشت. نتایج این مطالعه نشان داد که قرار گرفتن در معرض کلشی‌سین در دوران بارداری با خطر تراتوژنیک بودن در انسان مرتبط نمی‌باشد.

مطالعه‌ی دیگری در سال ۲۰۰۶ توسط Key و همکاران[۴۳] انجام شد. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی میزان سمیت سلولی چند نوع از سیلرهای جدید پرکننده‌ی کانال دندان بر روی سلول‌های فیبروبلاست لثه انسان بود.

بعد از گذشت یک ساعت میزان سلول‌های کشته شده اندازه‌گیری شد که سیلر حاوی کلسیم هیدروکساید در میان ۷ نوع سیلر در رتبه‌ی سوم قرار داشت. بعد از گذشت ۲۴ ساعت سیلر حاوی کلسیم هیدروکساید بیش‌ترین درصد سلول‌های کشته شده را به خود اختصاص داد. که نشان دهنده‌ی سمیت نسبی این ماده در مطالعه‌ی مذکور می‌باشد.

در مطالعه‌ی حاضر که با هدف بررسی سمیت سلولی کلشی‌سین و هیدروکسید کلسیم و مقایسه‌ی اثر سمی این دو به‌عنوان داروی داخل کانال انجام شد، نتایج کلی تست MTT و رنگ آمیزی تریپان بلو نشان از سمی‌تر بودن کلشی‌سین داشتند.

با توجه به نتایج به‌دست آمده در همه‌ی زمان‌های مورد نظر کلشی‌سین در هر سه غلظت و هر سه زمان در نظر گرفته شده اثر سمی بیش‌تری نسبت به هیدروکسید کلسیم بر روی سلول‌های فیبروبلاست داشت.

بررسی بین غلظت‌های مختلف از هیدروکسید کلسیم هم نشان داد که به‌طور کلی در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با افزایش زمان خواندن نتایج جذب نوری میزان OD (Optical density) خوانده شده بالا می‌رود. این بدین معناست که میزان کشندگی و سمیت آن کاهش یافته است. در مورد ماده‌ی کلشی‌سین نیز، به غیر از افزایش میزان کشندگی از ۲۴ ساعت تا ۷۲ ساعت و از ۲۴ ساعت تا ۷ روز هیچ یک از نتایج به‌دست آمده از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند. نتایج به‌دست آمده از رنگ آمیزی تریپان بلو نشان داد که غلظت‌های مختلف از ماده‌ی هیدروکسید کلسیم با طولانی شدن مدت زمان تا ۷ روز سمیت کم‌تری از خود نشان می‌دهند اما این روند یعنی کاهش سمیت سلولی با گذشت زمان برای کلشی‌سین دیده نشد.

لازم به ذکر است که بسیاری از مواد شستشوی آنتی‌باکتریال که در طی پاک‌سازی و شکل‌دهی کانال ریشه استفاده می‌شوند، داروی داخل کانال و بعضی ترکیبات موجود در مواد پرکننده کانال مثال‌هایی از محرک‌های شیمیایی بافت‌های پری رادیکولر هستند. اکثر مواد شستشو دهنده و داروهای داخل کانال سمی بوده، سازگاری نسجی ندارند[۴۵، ۴۴]. اما به هر حال از بسیاری از آن‌ها به صورت مکرر استفاده می‌شود چرا که مزایا و تأثیرات مثبت آن‌ها بر معایب و ضررهای آنها غلبه دارد. با توجه به اثر ضد قارچی قابل توجه کلشی‌سین در مطالعات قبلی، انجام مطالعات بیش‌تر و گسترده‌تر جهت بررسی و ارزیابی سمیت سلولی این ماده به صورت in vivo لازم می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده و بیش‌تر بودن سمیت سلولی کلشی‌سین نسبت به هیدروکسید کلسیم این‌طور به‌نظر می‌رسد که ماده‌ی هیدروکسید کلسیم هم‌چنان به‌عنوان اولین و مطلوب‌ترین انتخاب برای پانسمان داخل کانال در بین جلسات درمانی درمان ریشه مورد استفاده است.

Archive of SID

References

1. Safavi KE, Nichols FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. Journal of Endodontics 1993; 19(2): 76–8.
2. Bernath M, Szabo J. Tissue reaction initiated by different sealers. Int Endod J 2003; 36(4): 256-61.
3. Bouillaguet S, Wataha JC, Lockwood PE, Galgano C, Golay A, Krejci I. Cytotoxicity and sealing properties of four classes of endodontic sealers evaluated by succinic dehydrogenase activity and confocal laser scanning microscopy. Eur J Oral Sci 2004; 112(2): 182-7.

www.SID.ir

4. Gumey BF. Clinical pharmacology in endodontics and intracanal medicaments. Dent Clin North Am 1974; 18(2): 257-68.
5. Harrison JW, Bellizzi R, Osetek EM. The clinical toxicity of endodontic medicaments. J Endodon 1979; 5(2): 42-7.
6. Kaplan AE, Ormaechea MF, Picca M, Canzobre MC, Ubios AM. Rheological properties and biocompatibility of endodontic sealers. Int Endod J 2003; 36(8): 527-32.
7. Hauman CH, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 2. Root-canal-filling materials. Int Endod J 2003; 36(3): 147-60.
8. Gençoglu N, Turkmen C, Ahiskali R. A new silicon-based root canal sealer (Roekoseal-Automix). J Oral Rehabil 2003; 30: 753-7.
9. Harrison JW, Madonia JV. The toxicity of parachlorophenol. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1971; 32(1): 90-9.
10. Aldridge WN. The biochemical principles of toxicology. Exp Toxicol 1993; 5: 56-78.
11. Willershausen B, Marroquin BB, Schafer D, Schulze R. Cytotoxicity of root canal filling materials to three different human cell lines. J Endod 2000; 26(12): 703–7.
12. Geurtsen W , Leyhausen G. Biological aspects of root canal filling materials histocompatibility , cytotoxicity , and mutagenicity. Clin Oral Investtig 1997; 1(1): 5-11.
13. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983; 65(1-2): 55-63.
14. Osorio RM, Hefti A, Vertucci FJ, Shawley AL. Cytotoxicity of Endodontic Materials. J Endod 1998; 24(2): 91-6.
15. Itoh A, Higuchi N, Minami G, Yoshida T, Maseki T, et al. A survey of filling methods, intracanal medications, and instrument breakage. J Endod 1999; 25(12): 823- 4.
16. Stanley HR, Pameijer CH. Pulp capping with a new visible-light-curing calcium hydroxide. Oper Dent 1985; 10(4): 156-63.
17. Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristenson L, Russ I. PH changes in dental tissues after root filling with calcium hydroxide. J Endod 1981; 17(1): 17–21
18. Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected canals. Endod DENT Traumatol 1985; 1(5): 170-5.
19. Andersen M, Lund A, Andreasen JO, Andreasen FM. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. Endod Dent Traumatol 1992; 8(3): 104-8.
20. Hasselgern g, Olssen B, Cvek M. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. J Endod 1988; 14(3): 241-52.
21. Foreman PC, Barnes IE. Review of calcium hydroxide. Int Endod J 1990; 23(6): 283-97.
22. Walton RE, Holton IF JR, Michelich R. Calcium hydroxide as an intracanal medication: effect on posttreatment pain. J Endod 2003; 29(10): 627-9.
23. 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; 35: 153-8.
24. Putterman C, Ben-Chetrit E, Caraco Y, Levy M. Colchicine intoxication: clinical pharmacology, risk factors, features, and management. Semin Arthritis Rheum 1991; 21(3): 143-155.
25. Brossi A. The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology. New York: Academic Press; 1984. Vol. 23 p. 65-67.
26. Ondra P, Válka I, Vičar J, Sütlüpinar N, Šimánek V. Chromatographic determination of the constituents of the genus colchicium. J chromatography A 1995; 704(2): 351-356.
27. Gharaee M. The investigation of colchicum jesdianum alkaloids. [GDD Thesis]. Tehran, Iran: University of Tehran 1986. p. 107-6.
28. Cerquaglia C, Diaco M, Nucera G, La Regina M, Monttalto M, Manna R. Pharmachological and clinical basis of treatment of Familial Mediterranean Fever with colchicine or analogues: an update. Curr Drug Targets Inflamm Allergy 2005; 4(1): 117-24.
29. Schlesinger N, Schumacher R, Catton M, Maxwell L. Colchicine for acute gout. Cochrane Database Syst Rev 2006; 18(4): CD006190.
30. Schmacher H, Klippel J, Koopman W. Primer on the Rheumatic disease. 10th ed. Atlanta, Ga: Arthritis Foundation 1993; p. 22-28.
31. Diav-Citrin O, Shechtman S, Schwartz V, Avgil-Tsadok M, Finkel-Pekarsky V, Wajnberg R, Arnon J, et al. Pregnancy outcome after in utero exposure to colchicines. Am J Obstet Gynecol 2010; 144: e1-e6.
32. Cohen MM, Levy M, Eliakim M. A cytogenic evaluation of long-term colchicine therapy in the treatment of Familial Mediterranean fever (FMF). Am J Med Sci 1977; 274(2): 147-52.
33. Zhang W, Torabinejad M, Li Y. Evaluation of Cytotoxicity of MTAD Using the MTT-Tetrazolium Method. J Endod 2003; 29(10): 654-7.

Archive of SID

www.SID.ir

34. Ferguson JW, Hatton JF, Gillespie J.Effectiveness of Intracanal Irrigants and Medications against the yeast Candida albicans. J Endod 2002; 28(2): 68-71.
35. Ingle JI. Endodontics. Philadelphia: Lea and Febiger; 2008. p. 488-9.
36. Weine FS. Endodontie therapy. St. Louis: Mosby; 2004. p. 221.
37. Schilder H. Canal debridement anddisinfection. In: Cohen S, Burns RC, Editors. Pathways of the pulp. St. Louis: Mosby; 2011. p. 116.
38. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials-advantages and limitations. J Dent 1994; 22 Suppl 2: S6-11.
39. NCBI MeSH. Fibroblast. [online]. 1965 [Cited 2013]. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68005347
40. Waltimo TM, Siren EK, Orstavik D, Haapasalo MP. Susceptibility of oral Candida species to calcium hydroxide in vitro. Int Endod J 1999; 32(2): 94-8.
41. Barekatain B, Farhad A, Refaei P, Heidari F. In vitro comparison of anti microbial effects of colchicines and calcium hydroxide on salivary normal flora and five microbial strains. J Isfahan Dent Sch 2012; 7(4):409-417.
42. Pade S, Gerstein M, Berkun Y. Cholchicine Is a Safe Drug in Children with Familial Mediterranean fever. J Pediatr 2012; 161(6): 1142-6.
43. Key JE, Rahmetulla FG, Eleazer PD. Cytotoxicity of a new root canal filling material on human gingival fibriblasts. J Endod 2006; 32(8): 756-8.
44. Masillamoni CR, Kettering JD, Torabinejad M. The biocompatibility of some root canal medicaments and irrigants. Int Endod J 1981; 14(2):115
45. Bowden JR, Ethunandan M, Brennan PA. Life-threatening airway obstruction secondary to hypochlorite extrusion during root canal treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006; 101(3): 402-4.

Archive of SID

www.SID.ir

In vitro comparison of cytotoxic effect of colchicine and calcium hydroxide on human gingival fibroblast cells

Behnaz Barekatain, Alireza Farhad, Aida Pedram*, Batool Hashemi, Fariba Heidari

Abstract

Introduction: *Biocompatibility of dressing materials is one of the most important properties to be studied. Calcium hydroxide is one of the most widely used dressing materials. The aim of this study was to compare the cytotoxic effects of colchicine with those of calcium hydroxide.*
Materials and Methods: *In this experimental in vitro study, different concentrations (10, 5, 2.5 mg/mL) of calcium hydroxide and colchicine were prepared and added to C165 human gingival fibroblast cells after they were incubated in the culture medium. After 24 and 72 hours and 7 days of incubation, tetrazolium salt was added to the cells, and the amount of formazan was determined by spectrophotometry using an ELISA reader. To assess the cytotoxicity of these two materials and after drug treatment, 0.4% trypan blue dye was used to stain the cells; viable cells were counted under a light microscope. Data were analyzed using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests and t-test.*
Results: *The control group, without adding any material, had the highest optical density. Optical density of different concentrations (10, 5, 2.5 mg/mL) of calcium hydroxide at all the time intervals was higher than that of colchicine (p value < 0.05). In addition, trypan blue dye showed that the mean of fibroblast cells destroyed by colchicines was significantly higher than that by calcium hydroxide (p value < 0.001).*
Conclusion: *Based on the results of this study, the cytotoxic effects of both calcium hydroxide and colchicine were higher than the control group and cytotoxicity of colchicine was higher than that of calcium hydroxide. Therefore, it seems that calcium hydroxide is still the best choice for canal dressing between treatment sessions.*

Key words: *Calcium hydroxide, Colchicine, Cytotoxicity, Fibroblasts*

Received: 21 Oct, 2013 **Accepted:** 11 Mar, 2014

Address: Dental Student, Dental Students Research Center, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Email: aida.pedram@gmail.com

Citation: Barekatain B, Farhad A, Pedram A, Hashemi B, Heidari F. **In vitro comparison of cytotoxic effect of colchicine and calcium hydroxide on human gingival fibroblast cells.** J Isfahan Dent Sch 2014; 10(3): 191-201.

Archive of SID
www.SID.ir