

مقایسه سمیت گوتاپرکای پوشش داده شده با نانوسیلور با گوتافلو و گوتاپرکای معمولی

به روش MTT بر روی سلول‌های فیبروبلاست L۹۲۹ □

دکتر یزدان شنتیایی*، دکتر سید امید دیانت**، حسین محمدخانی***، دکتر علیرضا اکبرزاده باغبان****

چکیده

سابقه و هدف: گوتاپرکا از زمان معرفی تاکنون پرمصرف‌ترین ماده مورد استفاده در پرکردن کانال بوده، به عنوان ماده خشی و غیرسمی در نظر گرفته می‌شود. گوتاپرکای جدیدی با پوشش نانوسیلور توسط محققان ایرانی ساخته شده است که طبق ادعای اولیه دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی قابل توجهی می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر، مقایسه میزان سمیت گوتاپرکای جدید پوشش داده شده با نانوسیلور، گوتافلو و گوتاپرکای معمولی بر روی سلول‌های فیبروبلاست L۹۲۹ به روش تست MTT می‌باشد.

مواد و روشها: این مطالعه به صورت آزمایشگاهی بر روی سلول‌های فیبروبلاست L۹۲۹ موش براساس کشت سلولی و تاثیر مستقیم مواد بر روی رده سلولی تحت کشت و مشاهده نتایج صورت گرفت. مواد مورد آزمایش در ۳ گروه ۳۰ تایی در ۳ بازه زمانی ۱ ساعت، ۲۴ ساعت و ۱ هفته مورد ارزیابی قرار گرفتند. در هر بازه زمانی ۱۰ نمونه به همراه ۲ مورد شاهد منفی مورد استفاده قرار گرفت. بدین ترتیب که نمونه‌ها درون تیوب قرار گرفتند و بر روی سلول‌های فیبروبلاست قرارداد شدند. سپس میزان زنده ماندن سلول‌ها با روش MTT (سمیت مواد موردنظر) مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی آماری از تحلیل واریانس دو طرفه two-way ANOVA، تحلیل واریانس one-way ANOVA و روش Tukey HSD استفاده شد.

یافته‌ها: در یک ساعت میزان سمیت ۳ ماده از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشت؛ در این زمان گوتاپرکای نانوسیلور بیشترین سمیت و گوتافلو کمترین سمیت را دارا بود ($P < 0/01$). در ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌دار بین ۳ ماده دیده نشد ($P = 0/371$)؛ اما در یک هفته بیشترین سمیت مربوط به گوتافلو و کمترین سمیت مربوط به گوتاپرکای معمولی بود ($P < 0/001$) و گوتاپرکای نانوسیلور با میزان بینابینی اختلاف معنی‌داری با گوتاپرکای معمولی نداشت ($P > 0/05$).

نتیجه‌گیری: تحت شرایط این مطالعه در گروه گوتاپرکای نانوسیلور، بالاترین سمیت پس از ۱ ساعت مشاهده شد در حالی که با گذشت زمان سمیت به سرعت کاهش یافت و پس از ۲۴ ساعت مشابه گوتاپرکای معمولی شد، اما پس از یک هفته در مقایسه با دو ماده دیگر کمترین سمیت را نشان داد.

کلید واژگان: سمیت، گوتاپرکا، گوتافلو، گوتاپرکای نانوسیلور، سلول فیبروبلاست L۹۲۹

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۱۰/۲۷ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۹۰/۲/۱۴ تاریخ تأیید مقاله: ۱۳۹۰/۳/۸

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۲۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰، ۶۸-۶۲

مقدمه

کروناالی و اپیکالی مایعات و میکروارگانیزم‌ها صورت می‌گیرد. برای رسیدن به این هدف از مواد پرکننده کانال استفاده می‌شود (۱ و ۲).

هدف از درمان کانال‌های ریشه از بین بردن میکروارگانیزم‌های داخل کانال و پرکردن کانال ریشه است. ایجاد سیل کامل سیستم کانال ریشه جهت جلوگیری از نفوذ

□ طرح مصوب مرکز تحقیقات اندودانتیکس

* استادیار گروه اندودانتیکس، مرکز تحقیقات اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

E-mail: dianat@dent.sbmu.ac.ir

** نویسنده مسئول: استادیار گروه اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

*** دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

**** استادیار گروه آمار زیستی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

دیگر با وجود این خاصیت مسأله سمیت و اثر بر روی سلول‌های بدن مطرح می‌شود (۹ و ۱۰).
موادی که جهت درمان ریشه مورد استفاده قرار می‌گیرند، در وهله اول باید سازگاری زیستی داشته باشند چرا که در صورت عبور از انتهای ریشه حین درمان ریشه در اثر تماس نزدیک با بافت بدن (نسوج نرم و سخت) عواقبی از جمله ایجاد التهاب و جلوگیری یا تاخیر ترمیم بافتی را شاهد خواهیم بود (۲ و ۱۱).

تا به حال هیچ مطالعه‌ای بر روی میزان سمیت این ماده انجام نشده است. پرداختن به این مسأله با استفاده از آزمون‌های سمیت بر روی مواد قبل از استفاده در بیماران، دندانپزشک را در تعیین گزینه درمانی بهتر و ارائه درمان‌های معتبرتر، توانگر می‌سازد. هدف مطالعه فعلی مقایسه میزان سمیت گوتاپرکای جدید پوشش داده شده با نانوسیلور، گوتافلو و گوتاپرکای معمولی بر روی سلول‌های فیبروبلاست L۹۲۹ به روش تست MTT بود.

مواد و روشها:

این مطالعه به صورت آزمایشگاهی بر روی سلول‌های فیبروبلاست L۹۲۹ موش براساس کشت سلولی و تاثیر مستقیم مواد بر روی رده سلولی تحت کشت و مشاهده نتایج صورت گرفت. بدین صورت که مواد در ۳ گروه ۳۰ تایی در ۲ بازه زمانی ۱ ساعت، ۲۴ ساعت و ۱ هفته مورد ارزیابی قرار گرفتند. در هر بازه زمانی ۱۰ نمونه به همراه ۲ مورد شاهد منفی (محیط کشت به همراه تیوب) مورد استفاده قرار گرفت. بدین ترتیب که نمونه‌ها درون تیوب قرار گرفتند و بر روی سلول‌های فیبروبلاست قرار داده شدند. سپس میزان زنده ماندن سلول‌ها (سمیت مواد مورد نظر) مورد بررسی قرار گرفت.

نحوه آماده سازی نمونه ها:

نمونه‌های مورد آزمایش شامل کن‌های گوتاپرکای معمولی (آریادنت، تهران، ایران)، گوتافلو (Coltene/Whaledent, Altstätten, Switzerland) و کن‌های گوتاپرکای پوشش داده شده با نانوسیلور بودند. گوتافلو طبق دستور کارخانه سازنده تهیه و درون تیوب‌ها قرار داده شد. در ابتدا تیوب‌ها به اندازه‌های ۱ سانتی‌متر برش داده شدند. پس از برش به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر قرار گرفتند و سپس توسط اتوکلاو استریل گردیدند. گوتاپرکاها توسط

گوتاپرکا از زمان معرفی تاکنون پرمصرف‌ترین ماده مورد استفاده در پر کردن کانال بوده، به عنوان ماده خنثی و غیرسمی در نظر گرفته می‌شود، اما برخی محققان خلاف این نظر را ثابت کرده، میزانی از توکسیسیته را برای گوتاپرکا نشان داده‌اند (۳ و ۴). با توجه به ماهیت این ماده (گوتاپرکای معمولی)، امکان آلودگی باکتریایی در پک‌های دست نخورده وجود دارد، در ضمن استریل کردن آن به روش حرارتی امکان‌پذیر نیست (۵).

اخیرا دو نوع گوتاپرکای جدید جهت بهبود کیفیت پرکردن کانال معرفی شده‌اند. گوتافلو، فرم تغییر یافته سیلر سیلیکونی (Reeko Seal) می‌باشد که در آن ذرات گوتاپرکا به عنوان فیلر به کار رفته‌اند. طبق گفته کارخانه سازنده ترکیب آن شامل گوتاپرکا، اکسید روی، zircon dioxide، روغن‌های با بیس پارافین و سیلیکون، هگزاکروپلاتینیک اسید و اسید سیلیسیک می‌باشد. گوتافلو در دمای اتاق Flowable بوده، در عرض ۳۰-۲۵ دقیقه سخت می‌شود. علیرغم راحتی کاربرد، به دلیل استفاده از سرنگ، همچنین انبساط جزئی ماده (۲٪) در حین سخت شدن بواسطه آنکه جزئی از خمیرها محسوب می‌شود، استفاده از آن با ریسک بالای overfilling همراه است. در هر حال مطالعات اندکی بر روی خاصیت سمیت این مواد انجام گرفته‌اند (۳، ۶ و ۷).
گوتاپرکای جدیدی با پوشش نانوسیلور توسط محققان ایرانی ساخته شده است که طبق ادعای اولیه دارای خاصیت ضد باکتری و ضد قارچی قابل توجهی می‌باشد (۸). نتایج بررسی نشان داد که گوتاپرکاهای پوشیده با نانوسیلور فعالیت قابل ملاحظه‌ای در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکولی، انتروکوکوس فکالیس و کاندیدا آلبیکانس و فعالیت ضد میکروبی مختصری در برابر سودوموناس آئروژینوزا دارند. گوتاهای معمولی در اکثر موارد فاقد فعالیت آنتی باکتریال بودند و در بعضی موارد حداقل فعالیت آنتی باکتریال را دارا بودند.

با توجه به مواردی همچون عدم پاکسازی کامل کانال ریشه به دلیل وجود کانال‌های فرعی، از بین رفتن سیل کرونیالی در اثر شکست تاجی و عود پوسیدگی، از بین رفتن سیل اپیکالی در اثر تحلیل ریشه ناشی از تروما، خطاهای حین درمان، Under یا Over شدن مواد پرکننده کانال ریشه، وجود حباب در کانال ریشه، آلوده شدن وسایل در زمان درمان، داشتن خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی ماده پرکننده کانال ریشه از اهمیت برخوردار است. ولی از طرف

تست MTT:

MTT (Sigma, St. Louis, U.S.) پودر زرد رنگ محلول در آب با فرمول دی‌فنیل تترازولیوم بروماید یا تیازولین تترازولیوم بروماید است. مراحل ساخت MTT به این صورت است که، به ازای هر ۵ میلی‌گرم پودر MTT، ۱ میلی‌لیتر محلول بافر PBS اضافه و از فیلتر میلی پر ۰/۲۲ نانومتر عبور داده می‌شود.

مکانیسم عملکرد MTT به این صورت است که سلول‌های زنده با گرفتن MTT آن را توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز به فرمازان احیاء می‌کنند. فرمازان به شکل بلورهای خاکستری رنگ می‌باشد.

ELISA

پس از گذشت بازه زمانی مورد انتظار، محلول MTT به پلیت حاوی سلول‌ها اضافه شده، به مدت ۲-۴ ساعت در داخل انکوباتور قرار داده می‌شود. سپس توسط سمپلر مایعی که درون پلیت روی سلول‌ها وجود داشت خارج می‌گردد. بعد از آن که مایع کاملاً خارج گردید، اسید الکل (اسید کلریدریک+الکل) به میزان ۲۰۰ میکرولیتر به خانه‌های Plate اضافه شد. مکانیسم عملکرد اسید الکل کشتن تمام سلول‌ها و خروج فرمازان از درون سلول است. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از این مایع درون پلیت ۹۶ خانه الیزا ریخته، با طول موج ۴۹۲ nm و رفرانس ۶۲۰ توسط دستگاه ELISA (Anthos 2020, Cambridge, UK Reader) تفسیر گردید. با توجه به این که در این تحقیق ارزیابی اثر دو عامل زمان و نوع ماده روی متغیر کمی میزان سمیت (سازگاری سلولی) مورد نظر بود، از تحلیل واریانس دو طرفه two-way ANOVA، تحلیل واریانس ANOVA one-way و برای مقایسه دو به دو گروه‌ها از روش Tukey HSD استفاده شد. در این تحقیق خطای نوع اول آزمون ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

مقایسه میزان سازگاری زیستی سه ماده در هر یک از زمان‌ها:

در یک ساعت میزان سمیت ۳ ماده، اختلاف آماری معنی‌دار داشت. نتیجه آزمون Tukey نشان داد که در این زمان نانوسیلور بیشترین سمیت و گوتافلو کمترین سمیت را دارا بود ($P < 0/01$). ولی گوتاپرکای معمولی اختلاف معنی‌دار آماری با هیچ کدام نداشت ($P > 0/05$).

گاز اتیلن اکساید ضد عفونی شدند. سپس آماده‌سازی نمونه‌ها و قرار گرفتن داخل تیوب‌ها در زیر هود و محیط استریل انجام شد.

نحوه کشت سلول:

هم زمان با این کار سلول‌های L۹۲۹ کشت داده شدند تا به مقدار دلخواه (۵۰۰۰۰۰/ml) برسند، سپس مقداری محیط کشت (GIBCO, Grand Island New York, U.S) به آنها اضافه شد. بعد از چندین بار تعویض محیط کشت در نهایت محتوی لوله داخل فلاسک ریخته شده، داخل انکوباتور دردمای ۳۷ درجه، رطوبت ۹۸٪ و غلظت ۵٪ CO₂ قرارداده شد. پس از ۳ الی ۴ ساعت محتوی فلاسک خارج شد تا سلول‌هایی که به کف فلاسک نچسبیده‌اند خارج گردند سپس مجدداً محیط کشت به آن اضافه گردید.

هنگامی که فلاسک از انکوباتور خارج و مایع آن دور ریخته شد به آن محلول HANKS یا PBS استریل (۲-۴cc) اضافه و مجدداً تخلیه شد تا هیچ مقداری از محیط کشت در داخل فلاسک باقی نمانده باشد. در این زمان به فلاسک عاری از محیط کشت مقدار ۱ سی‌سی تریپسین (GIBCO, Grand Island New York, U.S) آماده اضافه شد (۱x). فلاسک به مدت ۱ دقیقه در حالت سکون نگاه داشته شد. سرانجام محتویات فلاسک درون لوله فالکون استریل ریخته، با دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه درون سانتریفیوژ داده شد.

پس از اتمام سانتریفیوژ لوله در زیر هود در حال سکون قرار داده شده، مایع داخل لوله خارج و مجدداً محیط کشت اضافه گردید تا مقدار آن به ۱ میلی‌لیتر برسد. در این شرایط مقدار سلول‌های موجود در سوسپانسیون بدست آمده با استفاده از میکروسکوپ نوری و لام نئوبایر، شمارش شد. زمانی که تعداد سلول‌ها در هر پلیت (Plate) به ۵۰۰ هزار سلول در میلی‌لیتر رسید، ۱۰۰ میکرولیتر سلول به همراه ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت اضافه و به مدت ۲ ساعت داخل انکوباتور قرار گرفت. سپس پلیت مذکور در زیر میکروسکوپ invert مورد بررسی قرار گرفت تا میزان اتصال سلول به کف پلیت تعیین گردد. سپس مایع رویی Plate خارج و محیط کشت به آن اضافه شد. در این مرحله نمونه‌های مورد آزمایش بر روی پلیت و در زمان‌های مناسب ۱ ساعت، ۲۴ ساعت و ۱ هفته مورد بررسی تست سمیت قرار گرفتند.

در ۲۴ ساعت و کمترین سمیت در یک هفته دیده شد ($P < 0.001$). به علاوه میزان سمیت یک ساعت با ۲۴ ساعت، همچنین با میزان سمیت یک هفته اختلاف معنی‌دار آماری داشت. در ماده گوتافلو بیشترین سمیت در یک هفته و کمترین در یک ساعت دیده شد ($P < 0.001$). در ۲۴ ساعت نیز میزان سمیت به طور معنی‌داری با یک هفته و یک ساعت متفاوت بود. در گوتاپرکای نانوسیلور بیشترین سمیت در ۲۴ ساعت و کمترین سمیت در یک هفته دیده شد ($P < 0.001$). به علاوه میزان سمیت یک ساعت با ۲۴ ساعت، همچنین با میزان سمیت یک هفته اختلاف معنی‌دار آماری داشت (نمودار ۲).

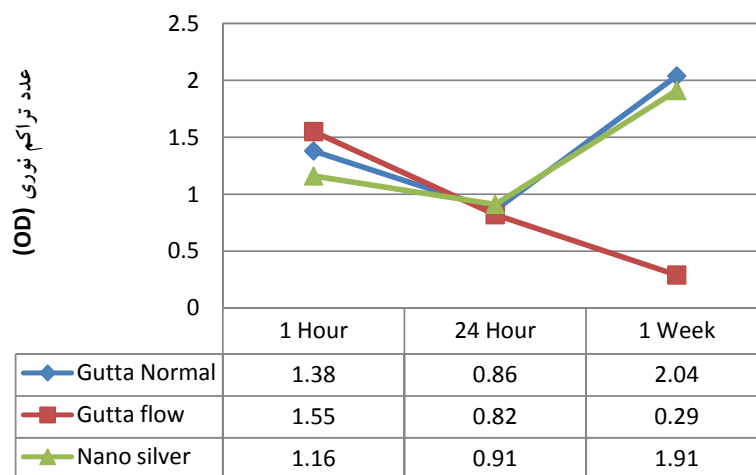
در ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری بین ۳ ماده دیده نشد ($P = 0.371$). در یک هفته میزان سمیت متفاوت بود ($P < 0.001$). در این زمان بیشترین سمیت مربوط به گوتافلو و کمترین سمیت مربوط به گوتاپرکای معمولی بود ($P < 0.001$) و نانوسیلور با میزان بینابینی، اختلاف معنی‌داری با گوتاپرکای معمولی ($P > 0.05$) نداشت اما با گوتافلو اختلاف داشت ($P < 0.001$) (جدول ۱).

مقایسه سازگاری زیستی هر ماده در طول زمان:

نتیجه واریانس یکطرفه نشان داد که هر کدام از سه ماده مورد نظر در طول زمان میزان سازگاری زیستی متفاوتی دارند ($P < 0.001$). برای ماده گوتاپرکای نرمال با استفاده از آزمون Tukey نتایج به این شرح بود که بیشترین سمیت در

جدول ۱- میانگین، انحراف معیار، حداقل و حداکثر میزان سازگاری زیستی مواد مورد مطالعه در سه بازه زمانی (عدد تراکم نوری (OD) ($N=10$)).

زمان	مواد	میانگین	انحراف معیار	مینیمم	ماکزیمم
۱ ساعت	گوتاپرکای معمولی	۱/۳۸	۰/۲۵	۱/۰۲۶	۱/۹۶۰
	گوتافلو	۱/۵۵	۰/۲۳	۱/۰۲۶	۱/۷۹۰
	نانوسیلور	۱/۱۶	۰/۱۴	۰/۸۲۷	۱/۳۰۴
۲۴ ساعت	گوتاپرکای معمولی	۰/۸۶	۰/۱۲	۰/۷۳۰	۱/۰۳۱
	گوتافلو	۰/۸۲	۰/۱۵	۰/۵۷۶	۰/۹۸۶
	نانوسیلور	۰/۹۱	۰/۱۶	۰/۵۴۸	۱/۱۰۱
۱ هفته	گوتاپرکای معمولی	۲/۰۴	۰/۱۸	۱/۸۱	۲/۴۱۰
	گوتافلو	۰/۲۹	۰/۰۷۵	۰/۱۹۱	۰/۳۹۶
	نانوسیلور	۱/۹۱	۰/۲۸	۱/۶۸۰	۲/۳۴۷



نمودار ۲- میانگین سازگاری نسبی مواد مورد مطالعه در سه بازه زمانی

بحث:

گوتاپرکای معمولی مشاهده شد که این تفاوت در مطالعات شاید از استفاده eluate ماده به صورت رقیق شده یا رقیق نشده در مواجهه با فیبروبلاست ناشی باشد که تا حدی از شرایط نرمال به دور بوده است. در مطالعه حاضر مواد مستقیمی در تماس با سلول‌های فیبروبلاست بوده‌اند و از eluate ماده استفاده نشده است (۱).

طبق مطالعه Jennifer و همکاران (۲۰۰۶) پس از ۱ ساعت میزان سمیت گوتاپرکا ۲/۶ درصد، رزیلون ۱۲/۶ درصد و اپی فانی ۵۶/۸ درصد نشان داده شد ($P < 0.0001$). اما بعد از ۲۴ ساعت میزان سمیت رزیلون ۸/۲ درصد، گوتاپرکا ۸/۸ درصد و اپی فانی ۳۲/۲ درصد گزارش شد ($P < 0.0001$). در این بررسی از سلول‌های فیبروبلاست ژینژیوال انسانی و رنگ‌آمیزی با تریپان بلو استفاده شد. نظر به نتایج بدست آمده در این بررسی، همچنین مطالعه قبلی و نتایج بدست آمده در بررسی‌های محققین شایان زکراست و با توجه به این نکته که گوتاپرکا خنثی است اما با تغییرات جزئی در این مطالعات سمیت‌های متفاوتی از گوتاپرکا مشاهده می‌شود. در این مطالعه از تریپان بلو برای بررسی میزان سازگاری زیستی سلول‌ها با استفاده شده که نسبت به بررسی با MTT دارای خطای بیشتری است (۶).

همچنین طبق مطالعه Susini و همکاران (۲۰۰۶)، رزیلون و اپی فانی پس از ۱ روز ۵۳ درصد سمیت داشتند که بیشتر از گوتاپرکا و Reoko seal (۱۲ درصد) و بیشتر از گوتاپرکا و Sealite (۰/۳ درصد) بود ($P < 0.0001$).

در روز دوم میزان سمیت گوتاپرکا و Reoko seal (۶ درصد) و گوتاپرکا و Sealite (۱ درصد) بود که سمیتی کمتر از رزیلون و اپی فانی داشتند (۳۱ درصد) ($P < 0.0001$). اما در بازه زمانی ۷ تا ۳۰ روز تفاوت معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد. در این بررسی از سلول‌های فیبروبلاست L۹۲۹ استفاده شد و اندازه‌گیری به روش MTT صورت گرفت و نتایج بر طبق استاندارد Iso10993-5 مورد بررسی قرار گرفتند. با بررسی نتایج بدست آمده در این مطالعه و مقایسه با سایر بررسی‌ها علاوه بر پی بردن به تفاوت جزئی در نوع مطالعات، سمیت گوتاپرکا در ساعات اولیه و کاهش آن با گذشت زمان در یک بازه زمانی خاص مشاهده شد که نتایج بدست آمده با مطالعه حاضر همخوانی دارند (۱۰).

سلول‌های مورد استفاده در مطالعات اندودانتیکس عبارتند از: فیبروبلاست‌ها، سلول‌های اپیتلیالی و لنفوبلاست‌ها که برای کشت به صورت سلول‌های اولیه یا سلول‌های HeLa و فیبروبلاست سارکوما (L۹۳۹) که برای کشت به صورت استقرار سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرند. فیبروبلاست‌ها سلول‌های اصلی بافت همبند هستند و توانایی تولید و حمایت ماتریس همبندی را دارا می‌باشند. در طول فاز التهاب، فیبروبلاست‌ها مواد سمی التهاب‌زا و محصولات باکتری‌ها را دریافت کرده، آن‌ها را از بین می‌برند. کشت‌های سلولی فیبروبلاست‌ها برای اندازه‌گیری سمیت و واکنش منطقه‌ای مواد دندانپزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند که به دو صورت سلول‌های اولیه و سلول‌های مستقر در یک لایه کشت داده می‌شوند.

سلول‌های متفاوتی برای ارزیابی سمیت (سازگاری زیستی) مورد استفاده قرار می‌گیرند. یکی از متداول‌ترین آنها سلول‌های فیبروبلاست L۹۲۹ است. این سلول‌ها به راحتی آماده شده، رشد پیدا می‌کنند بدون آنکه تفاوتی با سلول‌های اولیه داشته باشند. در این مطالعه فیبروبلاست‌های مورد استفاده به صورت تک لایه‌ای بودند (mono layer).

در این مطالعه همچنین برای بررسی سازگاری زیستی (سمیت) مواد پرکننده کانال بر روی سلول‌های فیبروبلاست از روش اندازه‌گیری سمیت MTT استفاده شد.

MTT ماده‌ای است با فرمول (دی فنیل تترازولیوم برماید یا تیازولین تترازولیوم) که با تبدیل فرمازان (بنفش رنگ) توسط جذب نوری (optical density) امکان تفسیر سمیت مواد مورد نظر را ایجاد می‌نماید. بدین صورت که میتوکندری سلول‌ها MTT را جذب کرده، توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز به فرمازان احیاء می‌کند، پس با افزایش احیاء فرمازان و اندازه‌گیری آن توسط OD میزان زنده ماندن سلول‌ها در نظر گرفته می‌شود.

طبق مطالعه Scoti و همکاران (۲۰۰۸) میزان سمیت گوتاپرکا بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به گونه‌ای بود که باعث کاهش سلول نشد در صورتی که در مورد پلی‌اترها کاهش زیستی سلول‌ها مشاهده شد که نشان دهنده خنثی بودن گوتاپرکای معمولی می‌باشد. در این بررسی سمیت از سلول‌های فیبروبلاست ژینژیوال انسانی و اندازه‌گیری به روش MTT استفاده شد. اما در مطالعه حاضر کاهش سلولی و سمیت متفاوت در بازه‌های زمانی متفاوت در

ساعت سمیت گوتاپرکا کمتر از نانو سیلور و بیشتر از گوتافلو بوده، در ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است و با توجه به میزان سمیت طی ۱ هفته که تفاوت معنی‌داری بین گوتاپرکای معمولی و نانو سیلور نداشته و با در نظر گرفتن سمیت کمتری که این دو ماده با گوتا فلو دارند، ماده پیشنهادی جدید با توجه به خصوصیات آنتی باکتریال و آنتی فانگال و سمیت مشابه گوتاپرکا نرمال قابلیت بررسی و پیگیری‌های *invivo* و بررسی‌های کلینیکال وسیع تر را مقدور می‌سازد.

نتیجه‌گیری:

تحت شرایط این مطالعه میزان سمیت گوتاپرکای نانو سیلور در ابتدا بیشترین بوده ولی با گذشت زمان تفاوت معنی داری با گوتا پرکای معمولی نداشته، اما سمیت آن از گوتافلو کمتر می‌باشد.

قدردانی و تشکر:

مقاله حاضر منتج از پایان نامه دانشجویی حسین محمدخانی به استاد راهنمایی دکتر یزدان شنتیایی و طرح مصوب مرکز تحقیقات اندودانتیکس دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی می‌باشد. بنابراین محققان بر خود لازم می‌دانند بدینوسیله از زحمات کلیه عزیزانی که در اجرای این تحقیق یاری رساندند سپاسگزاری نمایند.

طبق مطالعه اشرف و همکاران (۲۰۱۰) میزان سمیت گوتافلو در طی ۲۴ ساعت بیشترین (۰/۲۹۰±۰/۰۶۰۹) و در ۷۲ ساعت کمترین بود (۰/۰۵۶۰±۰/۰۵۲۰). در بررسی‌های دو به دو مواد، در بازه زمانی ۱ ساعت تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد. اما در ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌داری بین دو ماده مورد ارزیابی مشاهده شد. در بازه زمانی ۷۲ ساعت میزان جذب نوری در گوتاپرکای معمولی کمتر از گوتافلو بود که این نشان‌دهنده سمیت کمتر گوتافلو نسبت به گوتاپرکای معمولی است اما در این بررسی میزان سمیت گوتافلو در بازه زمانی ۱ ساعت کمتر بود ولی تفاوت معنی‌داری با گوتاپرکای معمولی نداشت اما در بازه زمانی ۱ هفته دارای بیشترین سمیت بود (۴).

طبق مطالعه Donadio و همکاران (۲۰۰۸) در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت میزان سمیت GP، active GP و رزیلون مورد بررسی قرار گرفت. سلول‌های زنده در گروه رزیلون بیشتر از گروه GP و GP active بود ($P < 0.05$) ولی بین GP و GP active تفاوتی از نظر میزان سلول‌های زنده مشاهده نشد ($P > 0.05$)، در مطالعه حاضر با توجه به نتایج بدست آمده در مورد گوتاپرکای معمولی، به سمیت آن در بازه‌های زمانی متفاوت پی برده می‌شود که با بررسی‌های قبلی صورت گرفته بر روی گوتاپرکای معمولی متفاوت است (۹). در این بررسی سمیت از سلول‌های فیبروبلاست L۹۲۹ استفاده شد و اندازه‌گیری آنها به روش MTT صورت گرفت.

این مطالعات نشان دادند میزان سمیت گوتاپرکا همانند مطالعه حاضر می‌باشد ولی با توجه به این نکته که طی ۱

References

1. Scotti R, Tiozzo T, Parisi C, Croce MA, Baldissara P: Biocompatibility of various root canal filling materials ex vivo. *Int Endod J* 2008; 41:651-657.
2. Eldeniz AU, Mustafa K, Ørstavik D, Dahl JE: Cytotoxicity of new resin-, calcium hydroxide- and silicone-based root canal sealers on fibroblasts derived from human gingiva and L929 cell lines. *Int Endod J* 2007; 40:329-337.
3. Ashraf H, Taherian A, Kerdar A N: Evaluation of cytotoxicity of two root canal filling materials by MTT assay. *Aust Endod J* 2010; 36: 24-28.
4. Moorer WR, Genet JM: Evidence for antibacterial activity of endodontic gutta-percha cones. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 53: 503-7.
5. Redmerski R, Renata J, Moreno T, Botelho L, Cardoso CL: Disinfection of gutta-percha cones with chlorhexidine. *Braz J Microbiol* 2007; 38:649-655.
6. Key JE, Rahemtulla FG, Eleazer PD: Cytotoxicity of a new Root canal filling Material on Human gingival fibroblasts. *J Endod.* 2006; 32:756-758.

7. Zhang FQ, She WJ, Fu YF: Comparison of the cytotoxicity in vitro among six types of nano-silver base inorganic antibacterial agents. *Zhonghua Kou Giang Yi Xue Za Zhi* 2005; 40: 504-7.
8. Dianat SO, Ataei M: [Synthesis of nanosilver coated gutta-percha]. Iran Patent Certificate No. 56019; 1 Jan 2009. [Persian]
9. Donadio M, Jiang J, Safavi KE, Zhu Q: Cytotoxicity evaluation of Active GP and Resilon cone invitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod* 2008; 106:76-79.
10. Susini G, About I, Tran-Hung L, Camps J: Cytotoxicity of Epiphany and Resilon with a root model. *Int Endod J*. 2006; 39:940-944.
11. Szep S, Grumann L, Ronge K, Schriever A, Schultze M, Heidemann D: In vitro cytotoxicity of Medicated and Non-medicated Gutta-percha points in cultures of gingival Fibroblasts. *J Endod*. 2003; 29:36-40.