Archive of SID

بررسی اثر سمیت بافتی آمالگام و مینرال تری اکساید اگریگیت در محیط کشت رده سلولی فیبروبلاست موشی L_{929}

دکتر جلیل توکل افشاری*، دکتر جمیله قدوسی**•، دکتر الهام بهفروزی***، میترا خلیلی****
* دانشیار گروه ایمونولوژي و مرکز تحقیقات بوعلي دانشگاه علوم پزشکي مشهد
** دانشیار گروه اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکي و مرکز تحقیقات دندانپزشکي دانشگاه علوم پزشکي مشهد
*** اندودنتیست
**** کارشناس ارشد مرکز تحقیقات بوعلي دانشگاه علوم پزشکي مشهد
تاریخ ارائه مقاله : ۸۴/۲/۱۲ – تاریخ پذیرش : ۸۴/۱۱/۲

Title: Cytotoxic effect of amalgam and mineral trioxide aggregate on L_{929} cell line culture

Authors:
Tavakol Afshari J. Associate Professor*, Ghoddusi J. Associate Professor•**, Behforuzi E. Endodontist, Khalili M. Research Assistant***

Address:
* Dept of Immunology, Medical School, Bu Ali Research Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
** Dept of Endodontics, School of Dentistry and Dental Research Center of Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
*** Bu Ali Research Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Introduction:
In many cases of endodontic treatment like retrograde surgery and perforation correction, because the materials are placed adjacent to vital connective tissue, biocompatibility and non cytotoxicity are of great importance and improve healing process.
Among so many introduced materials, amalgam has been used for many years as a low cytotoxic material.
Mineral Trioxide Aggregate (MTA) has been introduced as a new material with high biocompatibility and cementogenesis stimulation.
The purpose of this study was the comparison of the cytotoxicity of amalgam and MTA on L_{929} cell culture using light microscope.

Materials & Methods:
Different dilutions of fresh and set materials were placed adjacent to flasks of L_{929} in DMEM media for 24h, 48h, 72h and 4 and 6 days. Then qualitative evaluation of cell morphology by light microscope were done.

Results:
In qualitative evaluation on L_{929} cells with light microscope, fresh-neat amalgam had a moderate cytotoxic effect as proliferation inhibition, whereas fresh MTA had a low cytotoxic effect. Set materials had no cytotoxic effects.

Conclusion:
According to our findings, MTA revealed a lower degree of cytotoxicity than amalgam. Thus MTA could be used nearby the vital connective tissue.

Key words:
Amalgam, mineral trioxide aggregate, tissue cytotoxicity, L_{929} cell lines culture.

• **Corresponding Author: jamileh_ghoddusi@yahoo.com**

Journal of Dentistry. Mashhad University of Medical Sciences, 2006; 29: 177-186.

• مولف مسؤول ، آدرس : مشهد دانشکده دندانپزشکي، بخش اندودنتیکس، تلفن ۱۷ – ۸۸۲۹۵۰۱ - ۰۵۱۱

www.SID.ir

Archive of SID

چکیده

مقدمه:

در بسیاری از درمان های اندودنتیک از جمله جراحی های رتروفیل جهت تصحیح پرفوراسیون ها، از موادی استفاده می شود که در مجاورت نسج زنده قرار می گیرند و بنابراین بایستی دارای سازگاری بافتی و عدم سمیت سلولی باشند. این ویژگی ها باعث افزایش فرآیند ترمیم می گردند.

از میان بسیاری از مواد معرفی شده، آمالگام سالیان زیادی مورد استفاده قرار گرفته است و دارای سمیت سلولی کمی بوده است. مینرال تری اکساید اگریگیت (MTA) ماده نسبتاً جدیدی است که با خاصیت سازگاری نسجی بالا و تحریک روند سمنتوژنز معرفی گردیده است.

هدف از این مطالعه مقایسه سمیت سلولی آمالگام و MTA بر روی محیط کشت ساول های فیبروبلاست L_{929} توسط میکروسکوپ نوری بود.

مواد و روش ها:

در این مطالعه آزمایشگاهی ابتدا سلول های فیبروبلاست موشی L_{929} در فلاسک های ۵۰cc کشت سلولی، کشت داده شدند و سپس رقتهای مختلف از آمالگام و MTA در حالت تازه مخلوط شده (Fresh) و سخت شده (Settled) به مدت ۲۴ ، ۴۸ ، ۷۲ ساعت، ۴ و ۶ روز در محیط کشت (DMEM) و در مجاورت با سلول های L_{929} قرار گرفتند. سپس وضعیت سلول ها از نظر کیفی و مورفولوژی سلولی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته ها:

در بررسی انجام شده برروی سلول های L_{929} توسط میکروسکوپ invert، آمالگام در حالت تازه مخلوط شده، اثر سیتوتاکسیسیتی متوسطی در غلظت Neat داشت و این اثر به صورت مهار پرولیفراسیون مشاهده شد، در حالیکه MTA در حالت تازه مخلوط شده اثر سیتوتاکسیسیتی بسیار کمی را نشان داد. این مواد در حالت سخت شده اثر سیتوتاکسیک نداشتند.

نتیجه گیری:

با توجه به ارزیابی کیفی انجام شده MTA نسبت به آمالگام سازگاری بافتی بیشتری داشت و می‌تواند در مجاورت بافت های همبند زنده استفاده گردد.

واژه‌های کلیدی:

آمالگام، مینرال تری اکساید اگریگیت، سمیت بافتی، رده سلولی فیبروبلاست موشی L_{929}.

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد / سال ۱۳۸۴ جلد ۲۹ / شماره ۳و۴

مقدمه:

مطالعات گذشته نگر متعددی در خصوص میزان موفقیت درمان ریشه در طی چند دهه گذشته، موفقیت درمان ریشه را بین ۹۵-۵۲٪ گزارش نموده اند[۳-۱].

بنابراین انتظار می رود تعدادی از موارد درمان ریشه با عدم موفقیت مواجه شود که می تواند ناشی از مقاومت میکروبی و تولیدات آنها در سیستم کانال ریشه باشد. اگرچه بسیاری از موارد عدم موفقیت درمان ریشه بطور موفقیت آمیزی با یک درمان جراحی قابل نگهداری می باشد، اما از آنجائی که بسیاری از موارد عدم موفقیت به دلیل پاکسازی ناقص و هجوم آنتی ژن ها به کانال ریشه می باشد، اکثر محققین قرار دادن ماده پرکننده انتهای ریشه را علاوه بر قطع ریشه توصیه نموده اند[٤]. نقش اولیه مواد پرکننده انتهای ریشه، سیل کامل سیستم کانال ریشه بوده که مانع نفوذ مواد محرک از داخل کانال به بافت های اطراف ریشه می گردد[٤].

از خصوصیات ایده آل مورد نیاز، جهت مواد پرکننده انتهای ریشه، می توان خاصیت چسبندگی و سیل کنندگی کانال در ابعاد مختلف را نام برد. علاوه

www.SID.ir

Archive of SID

بر این، این مواد می بایست غیرسمی بوده و توسط بافت های پری رادیکولار به خوبی تحمل گردد. ثبات، غیر قابل جذب بودن و مقاومت در مقابل رطوبت نیز از جمله خواص آن می بایست باشد[۵]. تاکنون مواد متعددی جهت پرکردن انتهای ریشه پیشنهاد شده است که از جمله می توان به: گوتاپرکا، زینک اکساید اژنول، کاویت، کامپوزیت رزین، گلدفویل و گلاس آینومر اشاره نمود[۶]. از میان مواد معرفی شده تاکنون هیچیک کلیه خصوصیات مورد نظر جهت یک ماده پرکننده انتهای ریشه را نداشته اند[٤].

مینرال تری اکساید اگریگیت (MTA)[1] جدیدترین ماده ای است که جهت سیل راه های ارتباطی میان سیستم کانال ریشه و سطح خارجی دندان معرفی شده است. توانایی آن در سیل کردن بخش قطع شده کانال بصورت آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفته است[۷] و زمانی که در سگ ها به عنوان ماده پرکننده انتهای ریشه بکار رفته است، سمنتوم روی سطح اکسپوژر تشکیل شده است[۸].

سمیت بافتی آن در محیط کشت فیبروبلاست های لثه انسان (HGF) در مقایسه با IRM و Super EBA کمتر ولی از آمالگام بیشتر گزارش شده است[۹].

همچنین گزارش شده است که در محیط کشت فیبروبلاست های انسانی، MTA در حالت تازه و پس از ٢٤ ساعت، از آمالگام و Super EBA سمیت کمتری داشته است[۱۰].

هدف از مطالعه حاضر ارزیابی سازگاری بافتی MTA بر روی محیط کشت سلول های فیبروبلاست L_{929} توسط میکروسکوپ نوری بود.

مواد و روش ها:

در این مطالعه آزمایشگاهی، به منظور بررسی اثرات سیتوتاکسیسیتی آمالگام و MTA بر روی سلول های L_{929}، ارزیابی مورفولوژی سلولی توسط میکروسکوپ نوری معکوس انجام شد.

ارزیابی کیفی (Qualitative evaluation):

در بررسی انجام شده، ابتدا سلول های فیبروبلاست موشی L_{929} (بانک سلولی- انستیتوپاستور ایران) در محیط کشت DMEM[2] (Gibco BRL, Scotland) در فلاسک های کشت سلولی ۲۵ سی سی (Nunc, Denmark) همراه با 10% FCS، ۲mμ آل – گلوتامین، ۱۰۰Iu/ml پنی سیلین، ۱۰۰μg/ml استرپتومایسین، 12.5mμ HEPES (Gibco BRL, Scotland) و در دمای 37^{oC} و 5% CO_2 کشت و پاساژ[3] داده تا اینکه سلول ها از لحاظ تعداد و مورفولوژی به حد مطلوب[4] برسند (پس از ٤-۳ پاساژ). پس از جدا کردن سلول ها از سطح فلاسک توسط تریپسین – EDTA (Gibco BRL, Scotland)، شمارش و ارزیابی حیاتی سلول ها با استفاده از تست trypan blue exclusion test، انجام شد و تعداد 5×10^4cell/ml در چاهک های پلیت ٦ خانه مخصوص کشت سلولی (Nunc، Denmark، 6well plate) به همراه و یا بدون مواد مورد ارزیابی کشت داده شدند. سپس وضعیت مورفولوژیک این سلول ها در مجاورت با MTA (Proroot-dentsply) و آمالگام (سینا، ایران) افزوده شده در محیط کشت در حالت های تازه مخلوط شده (Fresh) و سخت شده (Settled) توسط میکروسکوپ (Zimens, Germany) Invert مورد ارزیابی قرار گرفت.

۱) ارزیابی کیفی اثرات سیتوتاکسیسیتی آمالگام تازه مخلوط شده (Fresh) بر سلول های L_{929}:

یک کپسول یک واحدی آمالگام حاوی ۰/٤gr پودر و ۰/٤gr جیوه طبق دستور کارخانه مخلوط شد. سپس ۰/٥cc محیط کشت DMEM به آمالگام تازه مخلوط شده اضافه شد. سپس محیط کشت DMEM

1. Mineral trioxide aggregate

2. Dulbecco's Modified Eagle's Medium
3. Passage
4. Confluent

www.SID.ir

Archive of SID

جمع آوری و به عنوان محلول مبنا (Neat) در نظر گرفته شد. سپس از آن رقتهای $\frac{1}{2}$ و $\frac{1}{100}$ با استفاده از محیط کشت DMEM تهیه شد. مقدار ۱۰۰µl از محلول neat و رقتهای مختلف را به ۳ فلاسک حاوی سلول های L_{929} که کاملاً طبیعی و انبوه (Confluence) بودند، افزوده شد. سپس تغییرات مورفولوژی و خصوصیات عمومی سلولها پس از ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت و همچنین پس از ٤ و ٦ روز بعد از افزودن آمالگام تازه مخلوط شده به محیط کشت، از نظر قابلیت اتصال به سطح پلیت[1] و میزان گرانولیتی[2] با استفاده از میکروسکوپ نوری معکوس مورد ارزیابی قرار گرفته و با استفاده از دوربین دیجیتال ثبت گردید.

۲) ارزیابی کیفی اثرات سیتوتاکسیسیتی آمالگام سخت شده بر سلولهای L_{929}:

یک کپسول یک واحدی آمالگام طبق دستور کارخانه سازنده مخلوط شد و پس از ۲٤ ساعت در رطوبت ۱۰۰٪ و درجه حرارت ۳۷°c به‌منظور سخت شدن (settled) انکوبه گردید. سپس ٥cc محیط کشت DMEM به آن افزوده و مجدداً به مدت ۲٤ ساعت انکوبه شد. پس از انکوباسیون مقادیر ۳ و ۱/٥، ۰/٥ سی سی از محلول رویین آمالگام سخت شده (محیط کشت DMEM) را برداشته و به ۳ فلاسک سلولی L_{929} که انبوه (confluence) بود افزودیم، به طوریکه حجم کلی هر فلاسک به وسیله محیط کشت DMEM به ٥cc رسید. سپس نتایج بعد از گذشت ۲٤ ساعت، ٤۸ ساعت، ۷۲ ساعت و ٤ روز از نظر قابلیت اتصال به سطح پلیت و میزان گرانولیتی با استفاده از میکروسکوپ نوری معکوس مورد ارزیابی قرار گرفته و با استفاده از دوربین دیجیتال ثبت گردید.

۳) ارزیابی کیفی اثرات سیتوتاکسیسیتی MTA بر سلول های L_{929} در حالت تازه مخلوط شده (Fresh):

۱۰mg از پودر MTA در ۱cc محیط کشت DMEM حل شد به طوری که غلظت نهایی ۱۰mg/ml بدست آمده که به عنوان مبنا (neat) در نظر گرفته شد. سپس از آن رقتهای $\frac{1}{10}$ و $\frac{1}{100}$ با استفاده از محیط کشت DMEM تهیه شد و بقیه مراحل، مطابق ارزیابی آمالگام انجام گردید.

۴) ارزیابی کیفی اثرات سیتوتاکسیسیتی MTA در سلول های L_{929} در حالت سخت شده:

مقدار ۱۰mg از پودر MTA در ۱cc محیط کشت DMEM مخلوط و مطابق با ارزیابی آمالگام انجام گردید.

یافته ها:

بررسی نتایج ارزیابی کیفی:

سلول های فیبروبلاست از لحاظ مورفولوژی، دوکی شکل، وابسته به سطح (Anchorage dependent)، بدون گرانول و دارای انتشار یکنواخت می باشند. بنابراین گردشدن سلول ها، گرانولاسیون و جدا شدن سلول ها از کف به معنی شرایط نامساعد و غیرطبیعی برای رشد آنها می‌باشد. در ارزیابی کیفی مطالعه به صورت توصیفی بوده و تحلیل آماری انجام نشد.

۱) نتایج ارزیابی کیفی اثرات سیتوتاکسیسیتی آمالگام در حالت تازه مخلوط شده (Fresh):

کلیه فلاسک ها تا ٤ روز بعد از افزودن ماده، تفاوت قابل توجهی نداشتند. پس از ٤ روز در غلظت Neat، سلول ها چسبیده به کف (adherent) به تعداد کم و سلول های جدا شده از کف و مدور (round) به تعداد فراوان مشاهده شد. در رقت $\frac{1}{2}$ وضعیت سلول ها طبیعی تر بود. اما سلول ها به صورت انبوه (Confluence) نبودند و سلول های گرد و معلق نیز مشاهده شد. اما در رقت $\frac{1}{100}$ وضعیت کاملاً طبیعی

1. Anchorage dependent
2. Granulation

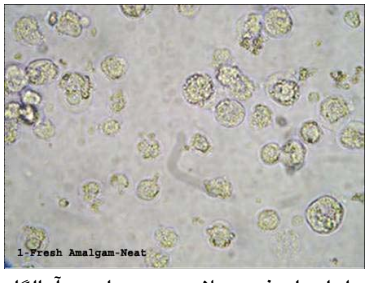
www.SID.ir

Archive of SID

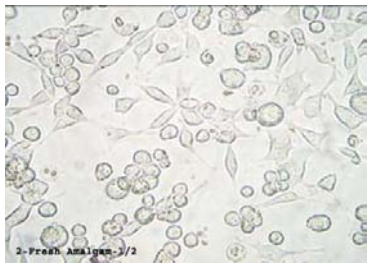
بود. بعد از گذشت ٦ روز از افزودن ماده، در غلظت Neat سلولهای چسبیده به کف به تعداد بسیار کم و سلولهای مدور، گرانوله با غشاء به تعداد بسیار زیاد مشاهده شد و وضعیت سلول ها نسبت به روز چهارم بدتر بود (شکل ۱). در رقت $\frac{1}{2}$، سلول های چسبیده به کف (adherent) به تعداد زیاد و سلول های مدور به مقدار کمتر مشاهده شد اما میزان تراکم سلولی به طور واضحی کمتر از رقت $\frac{1}{100}$ بود (شکل ۲). در رقت $\frac{1}{100}$ سلول ها کاملا" انبوه و دارای وضعیت طبیعی بودند (شکل ۳). در نتیجه آمالگام در حالت تازه مخلوط شده بر روی سلول های L_{929} اثر سیتوتاکسیسیتی دارد (قابل توجه است که محیط کشت فلاسک ها به مدت یک هفته تعویض نشده بود).

۲) نتایج ارزیابی کیفی اثرات سیتوتاکسیسیتی آمالگام در حالت سخت شده (Settled) بر سلول های L_{929}:

کلیه سلول ها در ٢٤ ساعت، ٤٨ ساعت، ٧٢ ساعت و ٤ روز بعد توسط میکروسکوپ نوری بررسی شدند و تا روز چهارم از نظر رشد و پرولیفراسیون سلولی در وضعیت مناسبی بودند و تفاوت قابل توجهی بین غلظت های ۳cc و ۱/۵ و ۰/۵ مشاهده نشد. در نتیجه آمالگام در حالت سخت شده بر سلول های L_{929} اثر سیتوتاکسیسیتی ندارد (اشکال٤و٥و٦).

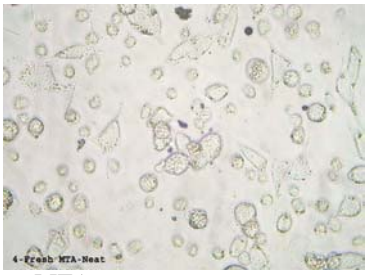


شکل ۱ : سلول های فیبروبلاست در مجاورت آمالگام تازه مخلوط شده (غلظت Neat). سلول ها گرد تخریب شده اند.

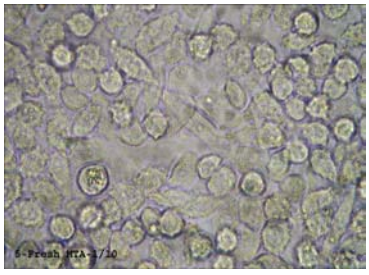


شکل ۲ : سلول های فیبروبلاست در مجاورت آمالگام تازه مخلوط شده (غلظت $^{1}/_{2}$). تعدادی از سلول ها گرد تخریب شده اند. تعداد زیادی سلول های فعال و سالم مشاهده می شود.

شکل ۳ : سلول های فیبروبلاست در مجاورت آمالگام تازه مخلوط شده (غلظت $^{1}/_{100}$). سلول ها اکثرا بصورت فعال و سالم می باشند.



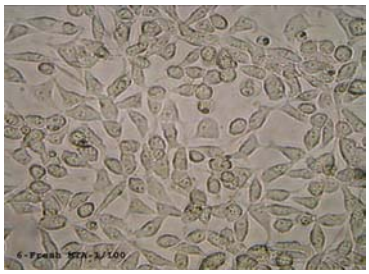
شکل ۴ : سلول های فیبروبلاست در مجاورت MTA تازه مخلوط شده (غلظت Neat). تعداد زیادی از سلولها بصورت گرد و تخریب شده، مشاهده می شود..



شکل ۵ : سلولهای فیبروبلاست در مجاورت MTA تازه مخلوط شده (غلظت $^{1}/_{2}$). تعدادی از سلولها بصورت گرد و تخریب شده است.

www.SID.ir

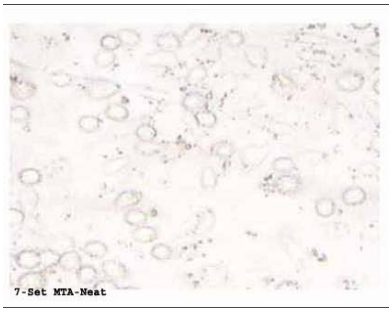
Archive of SID



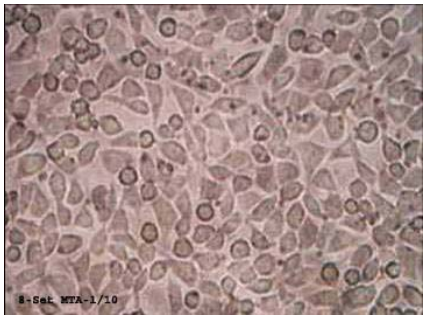
شکل ۶ : سلول های فیبروبلاست در مجاورت MTA تازه مخلوط شده (غلظت $^1/_{10}$). اکثر سلولهای بصورت سالم و فعال است.

۳) نتایج ارزیابی کیفی اثرات سیتوتاکسیسیتی MTA در حالت تازه مخلوط شده بر سلولهای L_{929}:

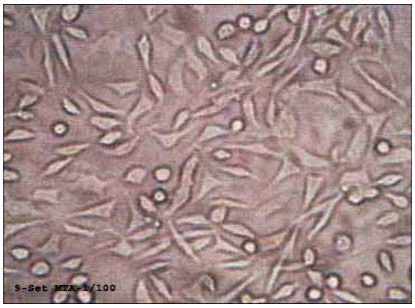
تا روز چهارم تفاوت معنی داری در دو فلاسک با رقت های $\frac{1}{10}$ و $\frac{1}{100}$ وجود نداشت، اما در فلاسک Neat به علت رسوب MTA سلول های مدور (round) و جدا شده از کف به تعداد بیشتر مشاهده شد. ٦ روز پس از افزودن ماده به محیط کشت سلول ها، در رقت $\frac{1}{100}$ سلولها کاملاً انبوه (Confluence)، نرمال و چسبیده به کف (adhearent) بودند و پرولیفراسیون مشاهده نشد. در رقت $\frac{1}{10}$، تعدادی از سلولها مدور (round) و گرانوله شده بودند و وضعیت نرمال نبود. در غلظت Neat، سلول ها بیشتر به حالت مدور (round)، پراکنده و با تراکم سلولی کم حضور داشتند و وضعیت پرولیفراسیون سلولی تحت تاثیر قرار گرفته بود. بنابراین MTA در حالت Fresh دارای اثر سیتوتاکسیسیتی کم بر سلول های L_{929} است و اثر مهاری آن بر روی پرولیفراسیون سلولی نسبت به آمالگام کمتر می‌باشد و قابل توجه نیست (اشکال ۷و۸و۹ و ۱۰).



شکل ۷ : سلولهای فیبروبلاست تخریب شده در مجاورت MTA ست شده (غلظتNeat) مشاهده می شود.



شکل ۸ : سلولهای فیبروبلاست سالم و فعال که تعدادی کمی گرد شده اند در مجاورت MTA ست شده (غلظت $^1/_{10}$) مشاهده می شود.



شکل ۹ : سلولهای فیبروبلاست سالم و فعال که تعدادی کمی گرد شده اند در مجاورت MTA ست شده (غلظت $^1/_{100}$) مشاهده می شود.

شکل ۱۰ : سلول های فیبروبلاست دست نخورده (گروه کنترل) مشاهده می شود.

www.SID.ir

Archive of SID

۴) نتایج ارزیابی اثر سیتوتاکسیسیتی MTA بر سلول های L_{929} در حالت سخت شده:

نتایج پس از ۲٤ ساعت، ۳ روز، ٤ روز و ٦ روز تحت ارزیابی قرار گرفت، اما تا روز ششم نتایج قابل توجه نبود. پس از ٦ روز از افزودن ماده در رقت ۰/۵cc و ۱/۵cc اختلاف قابل توجهی مشاهده نشد. در رقت ۳cc سلولها انبوه (Confluence) بودند، اما حالت نرمال نداشتند و وضعیت سلول ها نسبت به دو رقت دیگر کمی نامناسب تر بود در نتیجه در بررسی کلی MTA به حالت سخت شده بر روی سلول های L_{929} اثرات سیتوتاکسیسیتی نداشت.

بحث:

در این مطالعه ما به بررسی مقایسه ای سمیت سلولی دو ماده آمالگام و MTA پرداختیم زیرا این دو ماده امروزه در بسیاری از درمان های اندودنتیک استفاده شده در تماس مستقیم با نسج زنده قرار می گیرند و بایستی دارای خاصیت سازگاری بافتی باشند. از دیرباز آمالگام به عنوان ماده ای شناخته شده که دارای سمیت نسجی می باشد. MTA نیز نه تنها دارای خاصیت سازگاری بافتی بوده بلکه روند سمنتوژنز را تقویت می نماید. مطالعات دیگر نیز اهمیت سازگاری بافتی این دو ماده را مدنظر قرار دادند[۱۰-۱۳].

در این مطالعه جهت بررسی سمیت سلولی مواد را در دو حالت تازه مخلوط شده و سخت شده بررسی نمودیم. زیرا مواد تازه مخلوط شده سمیت بیشتری داشته و در ضمن سخت شدن مواد متابولیکی را آزاد می نمایند که ممکن است سیتوتوکسیک باشند ولی در حالت سخت شده، ترکیب کلی ماده به یک ثبات شیمیایی رسیده است. در مطالعه دکتر ترابی نژاد در سال ۱۹۹۵[۹]، Osorio در سال ۱۹۹۸[۱۲] و Keiser در سال ۲۰۰۰[۱۰] نیز مواد در این دو حالت بررسی شده اند.

در رابطه با متد بدست آورن رقتهای موثر مواد از روش Serial Dilution استفاده نمودیم که مطابق با روش آقای Keiser در سال ۲۰۰۰ بوده است[۱۰].

به طور کلی برای تعیین سیتوتوکسیسیتی مواد در دندانپزشکی روشهای متنوعی وجود دارد:

- آزمایشات قابلیت نفوذ که یکپارچکی و تمامیت غشای سلول را بوسیله Vital dye یا آزاد کردن مواد نشان دار اندازه گیری می کنند.
- آزمایشات و مطالعات مرفولوژیک که تغییرات سلول را بررسی می کنند.
- آزمایشات Replication که مواد ناشی از پرولیفراسیون را بررسی می کنند
- آزمایشات Functional assay که مواد ناشی از سلول را برای تامین انرژی مورد نیاز یا فعالیت های آنابولیک بررسی می کنند.

در این مطالعه ارزیابی کیفی بصورت بررسی مرفولوژیک با میکروسکوپ نوری صورت گرفت. مطالعات هیستولوژیک Christopher در سال ۱۹۹٦[۱۱] و دکتر ترابی نژاد در سال ۱۹۹۷[۱٤] براساس پاسخ بافت پری آپیکال بوده و مطالعه Qiang Zhu[۱۲] بر روی پاسخ سلولی استئوبلاست در مجاورت مواد رتروفیل به صورت invitro بوده و همگی جنبه کیفی داشته اند، در حالیکه مطالعه آقای Osorio و همکارانش در سال ۱۹۹۸[۱۲] که بررسی با MTT Assay و Crystal violet و مطالعه دکتر ترابی نژاد در سال ۱۹۹۵[۹] با دو تکنیک Agar Overlay و Radio chromium release method و مطالعه آقای Keiser در سال ۲۰۰۰[۱۰] با تکنیک MTT Assay به بررسی کمی سمیت سلولی مواد پرداخته اند.

www.SID.ir

Archive of SID

در این مطالعه سلول فیبروبلاست را جهت بررسی برگزیدیم، زیرا اولاً این سلول در پروسه ترمیم اکثر نسوج همبندی مهمترین نقش را دارد و از نظر متابولیک بسیار فعال می باشد. ثانیاً به میزان فراوان در بافت های همبندی حضور دارند و در درمان های اندودنتیک در مجاورت مواد قرار می گیرند. ثالثاً سلول فیبروبلاست سلول مهم PDL است و مسئول ترمیم بافت های اطراف دندان در درمان های پرفوراسیون و رتروفیل می باشد. چهارم اینکه از نظر تکنیک های کشت سلولی قابل تولید بوده و از خصوصیات لازم برخوردار است. در این مطالعه از سلول های فیبروبلاست موش رده L929 استفاده نمودیم.

Osorio در ۱۹۹۸[۱۲] از فیبروبلاست های لثه انسانی استفاده نمود. نتایج این مطالعه نشان داد که آمالگام و MTA سخت شده هیچ اثر سیتوتوکسیک بر سلولهای HGF ندارد. همچنین MTA سمیت سلولی کمتری در مقایسه با آمالگام در حالت تازه مخلوط شده نشان داد که این نتایج با نتایج مطالعه دکتر ترابی نژاد در ۱۹۹۵[۹] با روش آزادسازی کرومیوم نشاندار موافق ولی با روش Agar overlay مخالف بود.

از آنجا که نتایج در Agar overlay assay به میزان انتشار مواد لیکیج یافته حاصل از مواد مورد آزمایش، همچنین به وزن مولکولی آنها و میزان حلالیتشان در آب بستگی دارد، این فاکتورها و فقدان تماس کامل بین مواد و سلول ها می تواند در درجه سمیت سلولی آنها موثر واقع شود، به طوریکه یک ماده با درجه سمیت بالا ولی انتشار پایین ناحیه لیز سلولی کمی را نسبت به ماده ای با درجه سمیت کمتر ولی انتشار بیشتر نشان می دهد.

نتایج مطالعه Osorio در سال ۱۹۹۸[۱۲] نشان داد که همه مواد مورد آزمایش از جمله آمالگام دارای سمیت سلولی بودند به جز MTA که هیچ سمیت سلولی در کل تستها نشان نداد. نتایج مطالعه ما سمیت سلولی کمی برای MTA نشان داد.

در مطالعه Keiser در سال ۲۰۰۰[۱۰] که برروی فیبروبلاست PDL انجام شد، نشان داده شد که MTA تازه مخلوط شده سمیت سلولی کمتر از Super EBA و آمالگام دارد و در حالت سخت شده بین MTA و آمالگام هیچ تفاوتی از نظر سمیت سلولی وجود نداشت که با نتایج مطالعه ما کاملاً مشابهت دارد.

نتیجه گیری:

در بررسی کیفی بر روی سلول های L_{929} توسط میکروسکوپ invert، آمالگام در حالت تازه مخلوط شده، اثر سیتوتاکسیسیتی متوسطی در غلظت Neat داشت و این اثر به صورت مهار پرولیفراسیون مشاهده شد، در حالی که MTA در حالت تازه مخلوط شده اثر سیتوتاکسیسیتی بسیار کمی را نشان داد. این دو ماده در حالت سخت شده اثر سیتوتاکسیک نداشتند.

از آنجا که نتایج مطالعات سمیت سلولی به صورت آزمایشگاهی (invitro) نسبی هستند، بنابراین به طور مستقیم قابل انطباق با وضعیت کلینیک نمی باشند زیرا در وضعیت کلینیکی ممکن است فاکتورهای دیگری در مقایسه مواد با هم تداخل نمایند یا خصوصیات و جنبه های مختلفی علاوه بر سازگاری نسجی مثلاً کیفیت سیل، غیرقابل حل بودن یا غیرقابل جذب بودن و ... مطرح باشد، بنابراین نیاز است که تحقیقات پیرامون مواد اندودنتیک ادامه یابد تا همه خصوصیات مواد ایده آل بهتر شناخته شوند.

www.SID.ir

Archive of SID

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که هزینه های این پروژه را تقبل و پرداخت نموده اند و همچنین از پرسنل محترم پژوهشکده بوعلی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که بدون مساعدت ایشان این تحقیق به سرانجام نمی رسید تشکر و قدر دانی می گردد.

منابع:

1. Friedman S. Retrograde approaches in endodontic therapy. Endod Dent Traumatol 1991; 7: 97-107.
2. Pekruhn RB. The incidence of failure following single-visit endodontic therapy. J Endod 1986; 12: 68-72.
3. Jokinen MA, Kotilainen R, Poikkeus P, Poikkeus R, Sorki L. Clinical and radiographical study of pulpectomy and root canal therapy. Scand J Dent Res 1978; 86: 363-73.
4. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. The sealing ability of a mineral trioxide aggregate as a root end filling material. J Endod 1993; 19: 591-5.
5. Gartner AH, Dorn SO. Advances in endodontic surgery. Dent Clin North Am 1992; 36: 357-79.
6. Gutmann JL, Harrison JW. Surgical endodontics. St. Louis: Ishiyaku Euro American Inc; 1994. P. 203.
7. Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt TR. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. J Endod 1995; 21: 109-12.
8. Torabinejad M, Hong CU, Lee SJ, Monsef M, Pitt Ford TR. Investigaton of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. J Endod 1995; 21: 1603-8.
9. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Cytotoxicity of four root end filling materials. J Endod 1995; 21: 489-92.
10. Keiser K, Johnson CH, Tipton DA. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. J Endod 2000; 26: 288-91.
11. Christopher F, Cornes L, Carlos E, Rio E. Longitudinal sealing ability of MTA as a root-end filling material. J Endod 1996; 22: 575-78.
12. Osorio R, Hefti A, Verucci J. Cytotoxity of endodontic materials. J Endod 1998; 2: 91-96.

www.SID.ir

Archive of SID

13. Zhu Q, Haglund R, Safavi K, Spandberg LS. Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials. J Endod 2000; 26: 404-6.

14. Torabinejad M, Pitt Ford T. Histological assessment of mineral trioxide aggregate as a root end filling in monkeys. J Endod 1997; 23: 225-28.

www.SID.ir