



FARKLI İÇERİKLİ KÖK KANAL PATLARININ SİTOTOKSİSİTELERİNİN İN VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

IN VITRO EVALUATION OF THE CYTOTOXIC EFFECTS OF ROOT CANAL SEALERS WITH DIFFERENT CHEMICAL COMPOSITIONS

Dt. Ali KELEŞ*
Yrd. Doç.Dr. K. Meltem ÇOLAK TOPÇU*

Prof. Dr. Mustafa KÖSEOĞLU*
Dt. Ö. Faruk BAYRAK*

ÖZET

Bu çalışmamızın amacı, farklı sertleşme sürelerine sahip değişik içerikli kanal patlarının, 3T3 fare fibroblastları üzerinde oluşturdukları sitotoksitenin in vitro olarak incelenmesi ve karşılaştırılmasıdır.

AH Plus, AH 26, Endomethasone N, RSA ve Sealapex üreticilerinin talimatları doğrultusunda steril şartlarda karıştırılarak önceden hazırlanan 2 mm çapında ve 10 mm uzunluğundaki standart steril cam kalıplara yerleştirildi. Test örnekleri, taze, 3. gün ve 7. günde değerlendirilmek üzere 3 gruba ayrıldı. Farklı sertleşme zamanına sahip örnekler, 1 günlük, 4 günlük ve 7 günlük ekstraksiyon periyotları için 10 ml'lik kültür ortamda dilüe edildiler. Her dilüsyon periyodundan sonra ekstre alındı, 0.22 µm lik filtrede steril edildi ve 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 oranlarında seyreltilerek, 1 günlük inkübasyon süresince 3T3 fare fibroblastlarına uygulandı. Yaşayabilen hücre oranları MTS (tetrazolium salt) analizi yapılarak değerlendirildi. Araştırmamızı oluşturan çeşitli değişkenler, oluşturdukları sitotoksositeye göre, hem kendi aralarında hem de kendi içlerinde istatistiksel olarak değerlendirildi. Araştırmamızda, her kanal patının, her sertleşme ve ekstraksiyon süresinin ve her seyreltme oranının kendi aralarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar gösterdiği bulundu ($p<0,05$). Kanal patları, sitotoksosite derecelerine göre, Sealapex > AH 26 > Endomethasone N > AH Plus > RSA olarak sıralandı. Ayrıca çalışmada sertleşme zamanı ve seyreltilme oranı arttıkça, sitotoksosite azalırken, ekstraksiyon süresi uzadıkça sitotoksitenin arttığı görüldü.

Anahtar kelimeler: Biyouyumluluk, Kök kanal patları, Sitotoksosite

ABSTRACT

The present study aimed to compare different canal sealers in different setting times in terms of the cytotoxicity they induce on 3T3 mouse fibroblasts.

AH Plus, AH 26, Endomethasone N, RSA and Sealapex were put into glass moulds in 2 mm diameter and 10 mm length prepared previously after mixing under sterilized condition according to manufacturer's instructions. Test samples were divided into three groups; in the first group canal sealers were freshly prepared and in the others, canal sealers were set for 3-days and 7-days. Samples with different setting times were diluted in 10 ml culture medium for extraction periods of 1, 4, and 7 days. Extracts were taken after each dilution period, sterilized by 0.22 µm filter, diluted 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, and applied to 3T3 mouse fibroblasts during one-day incubation. MTS (tetrazolium salt) analysis was performed to evaluate viable cell rates. Different variables included in our study were statistically evaluated both in relation to each other and independently in terms of the cytotoxicity they induced. The results confirmed that all the sealer samples and each setting and extraction times, and each dilution showed statistically significant differences in relation to each other ($p<0,05$). Canal sealers were listed as Sealapex > AH 26 > Endomethasone N > AH Plus > RSA according to their cytotoxicity levels. Furthermore, it was observed that as setting time and dilution rate increase, cytotoxicity decreases, while the longer the extraction time, the greater the cytotoxicity.

Key words: Biocompatibility, Cytotoxicity, Root canal sealers



GİRİŞ VE AMAÇ

Endodontik tedavinin ana hedefi, kök kanal sisteminin uygun bir şekilde kemomekanik temizlenmesi ve şekillendirilmesini takiben boşluğun inert, boyutsal olarak stabil ve biyouyumlu bir materyalle sıkı sıkıya doldurulmasıdır. ¹ Kök kanal tedavisinde dolgu materyali olarak sıklıkla gutta-perka kullanılır. Ancak, bu materyallerin tek başına kullanıldığında kanal duvarlarına yetersiz adhezyonu ve kök kanal sistemindeki anatomik düzensizliklerine adaptasyonunun iyi olmaması, kök kanal duvarları ile gutta-perka arası ve yine konlar arası boşluklardan sızıntıların olabileceği, bu nedenle kök kanal dolgu patlarıyla birlikte kullanımı önerilmiştir. ²⁻⁴

Kök kanal dolgusunun yapımında gutta-perka ile birlikte kullanılmak üzere birçok kök kanal patı geliştirilmiştir. Bu materyallerin özellikle biyolojik olmak üzere, fiziksel, kimyasal ve klinik kullanım avantajları gibi bir takım özelliklere sahip olması beklenir. Biyouyumluluk bir maddenin canlı dokunun biyolojik fonksiyonlarıyla, toksik ve zararlı etkiler göstermeden uyumlu olabilmesi durumudur. ⁵ İdeal kök kanal patının, periapikal dokular tarafından iyi tolare edilebilen ⁶, apikal dokuları tahriş etmeyen ve tamir işlemi engelleyen, hatta teşvik edici özelliklerde olması gerektiği bildirilmiştir. ^{4,7}

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyouyumluluğu, hayvan çalışmalarını içeren in vitro uygulamalar ile insanlardaki kliniksel çalışmaları içeren sitotoksitesite ve genotoksitesite testleri ile değerlendirilir. ⁸ Direkt temas veya kültür ekstresi testleri dental materyallerin sitotoksitesitesinin test edilmesi için tavsiye edilmiştir. ⁹

Bu çalışmada, kök kanal patlarının sertleşmesi esnasında ve sertleşmesinden sonraki farklı zamanlardaki sitotoksitesitesite değerlendirildi. Ayrıca bu sertleşme zamanlarına ait örneklerin farklı periyotlarda ekstraksiyona maruz bırakılmalarıyla da belirli oranda sertleşen bir kanal patının sitotoksik özelliğinin zamana bağlı olarak etkisi incelendi.

MATERYAL ve METOD

Test materyallerinin hazırlanması

Çalışmamıza dahil edilen kanal patları Tablo 1' de verildi. Kök kanal patları üretici firma talimatları doğrultusunda steril şartlarda (Dikey akışlı steril kabin, Thermo Forma, Marietta, OH, USA) karıştırılarak

önceden hazırlanan 2 mm çapında ve 10 mm uzunluğundaki standart steril cam kalıplara yerleştirildi. Kanal patlarının her birinden, sitotoksitesitesite değerlendirilecek her değişken için 3 örnek hazırlandı. Taşan materyal steril spatül ile uzaklaştırıldı. Hazırlanan örnekler UV altında 30 dk bekletilerek sterilize edildi. Örnekler, kanal patlarının, taze hazırlandığı, sertleşme sürecinin 3. günü ve 7. günü olmak üzere 3 ayrı gruba ayrıldı. Birinci gruptaki örnekler steril edildikten hemen sonra karbondioksit inkübatöründe (% 5 CO₂ Atm, 37 °C) 1 günlük, 4 günlük ve 7 günlük periyotlarda 10 ml'lik kültür medyumda ekstraksiyona maruz bırakıldılar. Diğer gruplardaki örnekler 37 °C de %95 nemli ortamda ¹⁰ bekletilerek, 3. ve 7. gün de inkübatörde 1, 4 ve 7 günlük periyotlarda 10 ml'lik kültür medyumda ekstraksiyona maruz bırakıldılar. Her ekstraksiyon periyodundan sonra ekstre alınarak, 0.22 µm' lik filtrede sterilize edildi ve 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 oranlarında seyreltildi. Elde edilen ekstreler – 20 °C de saklandı.

Tablo 1: Çalışmaya dahil edilen kök kanal patları.

Patın tipi	Kanal patları	Üretici	İçerik
Epoksi rezin	AH 26	Dentsply, DeTrey GmbH, Konstanz, Germany	Likit: Bisfenol A diglisidil eter Toz: Bizmut oksit, metenamin
	AH Plus	Dentsply, DeTrey GmbH, Konstanz, Germany	Pasta A: Epoksi rezin, kalsiyum tungstat, zirkonyum oksit, aerosil, demir oksit Pasta B: Adamantan amin, kalsiyum tungstat, zirkonyum oksit, aerosil, N,N-Dibenzil-5-oksanonandiamin-1,9 TCD-diamin, silikon yağı Polimetilsiloksan, silikon yağı, zirkonyum dioksit, parafin bazlı yağ, Platinum katalist
Silikon	RoekoSeal	Roeko, Langenau, Germany	Kalsiyum oksit, baryum sülfat, çinko oksit, subMikron silika, titan oksit, çinko stearat, metil toluen sulfonamid, poli(metil metil saliat) rezin, metil salisilat, pigment
Kalsiyum hidroksit	Sealapex	Kerr, Salerno, Italia	Likit: Öjenol, nane yağı Toz: Çinko oksit, baryum sülfat, 3,3'-di-iyodid-2,2'-dimetil-5-5'-di-izopropil-difenon-cinon, hidroksitizon asetat
Çinko oksit öjenol	Endométhasone N Powder	Septodont, Paris, France	

Hücre kültürü

Daimi 3T3 hücreleri, Yeditepe üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Laboratuvarlarından temin edildi.

3T3 hücreleri, DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Sigma, UK), glukoz ilaveli (1 µg/L) NaHCO₃ (3.7 µg/L), penisilin (100 U/mL), streptomisin (100 mg/mL), amphoteresin B (2.5 µg/mL) ve %10 luk FBS (Fetal Bovine Serum, Gibco, UK) ile kültür kaplarına (Flask, Nunc, Roskilde, Denmark) ekildi. 37 °C de, % 5 CO₂'li ve % 95 nemli etüvde (Thermo Forma, Marietta, OH, USA) kültüre edilerek üretildi.

Sitotoksosite analizi

Hücreler, 3×10⁴ hücre yoğunluğunda, 100 µl' lik DMEM ile 96 odacıklı kültür kaplarına (Nunc, Roskilde, Denmark) ekildi. Sitotoksosite analizinden önce, hücreler %95 nemli havada %5 CO₂ de 37 °C de 24 saat inkübe edilerek kuyucuk tabanına yapışması sağlandı. Bu işlemin ardından medyum uzaklaştırıldı. Hücreler, değişik sürelerde elde edilmiş ve değişik oranlarda seyreltilmiş medyuma 24 saat için maruz bırakıldı. Kontrol kuyucuklarına ise sadece hücreler ve 100 µl' lik DMEM konuldu.

MTS analizi (Cell Titer96, Aqueous one solution cell proliferation assay, Promega Corporation, Madison, WI, USA)

Üreticinin talimatları doğrultusunda analiz yapıldı. Deney ekstreleri 24 saatin sonunda kuyucuklardan uzaklaştırıldı. Deney ekstrelerine maruz bırakılan hücreler, 37 °C de 4 saat 20µl' lik MTS tetrazolyum bileşiğiyle (3- (4, 5- dimethyliazol- 2- yl)- 5- (3-carboxymet- hoxphenyl)- 2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium) inkübe edildi. Reaksiyonun durdurulması için her kuyucuğa 25 µl, % 10' luk SDS (Sigma, UK) ilave edildi. Emilim/optik yoğunluk, 490 nm de bir Elisa plaka okuyucusunda (Bio-Tek, Elx 800, Winooski, VT, USA) okundu ve kaydedildi. Hücre proliferasyonu değerleri, Elisa plaka okuyucusunda negatif kontrollerden elde edilen absorbans değerlerinin deney gruplarına ait absorbans değerlerine % olarak oranlanmasıyla elde edildi.^{4,11-13} Kontrollerden alınan absorpsiyon değeri %100 hücre canlılığı olarak dikkate alındı.

İstatistiksel değerlendirme

Sitotoksosite oluşumuna etkili faktörlerin analizinde çok yönlü varyans analizi kullanıldı. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan faktörlerin alt gruplarının karşılaştırılmasında Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Sitotoksosite ölçümleri daha önceden belirtildiği şekilde şiddetli sitotoksik, orta derecede sitotoksik, hafif sitotoksik ve sitotoksik değil olarak

sınıflandırıldı.¹⁴ Bu sınıflamaya göre, kanal patlarının gösterdikleri sitotoksosite dağılımları yüzde olarak belirlendi. Ölçümlerin sitotoksosite derecelendirilmesi ve incelenen faktörler arasındaki ilişki X² bağımsızlık testiyle incelendi. Analizlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak P< 0,05 alındı. Analizlerde SPSS 10,0 (SPSS Inc. Chicago, USA) istatistik paket programı kullanıldı.

BULGULAR

MTS testi ile elde edilen yaşayabilen hücre yüzdelerinin sitotoksik derecelendirilmesi ve deneyimizi oluşturan çeşitli değişkenlerde örneklerin dağılımı incelenmiştir. Hücre canlılığı hesaplamalarından sonra deney materyallerinin sitotoksiteleri daha önce belirtildiği gibi derecelendirildi (Tablo 2).

Tablo 2: Ekstraksiyon yönteminde kullanılan sitotoksosite derecelendirme değerleri (sitotoksosite skalası).

Yaşayabilen hücre oranı	Sitotoksosite derecesi
% 30' dan daha az canlı hücre	Şiddetli sitotoksik
%30- 60 arası canlı hücre	Orta derecede sitotoksik
% 60- 90 arası canlı hücre	Hafif sitotoksik
%90 dan daha fazla canlı hücre	Sitotoksik değil

Yapılan istatistiksel değerlendirmede, çalışmamızda farklı deneysel değişkenler sonucunda elde edilen yaşayabilen hücre oranlarının sitotoksosite derecelendirilmesi değerlerine (sitotoksosite skalası) göre dağılımları Tablo 3 te verilmiştir (p<0,05).

Tablo 3: Kanal patı örneklerinin sitotoksosite skalasında nisbi dağılımı

	Şiddetli sitotoksik	Orta derecede sitotoksik	Hafif sitotoksik	Sitotoksik değil
Sealapex	%21,3	%10,2	%36,1	%32,4
Endomethasone N	%25	%0	%37	%38
AH 26	%17,6	%19,4	%16,7	%46,3
AH Plus	%0	%20,4	%15,7	%63,9
RoekoSeal	%0	%0	%8,3	%91,7

Bu verilere göre, bu çalışmada denenmek üzere oluşturulan tüm RoekoSeal örneklerinden sadece % 8,3'ü 'hafif sitotoksik' etki gösterirken, yine RoekoSeal örneklerinin % 91,7 si sitotoksik etki göstermedi.



RoekoSeal örneklerinden hiçbiri 'şiddetli sitotoksik' ya da 'orta derecede sitotoksik' etki göstermediler. 'Şiddetli sitotoksik' etki en fazla Endomethasone N örneklerinde görüldü. % 32,4 örneğinde sitotoksik etki görülmeyen Sealapex, sitotoksik etkisi olmayan en az örneğe sahip kanal patı oldu.

Bu çalışmada oluşturulan çeşitli değişkenler, meydana getirdikleri sitotoksositeye göre, hem kendi aralarında hem de kendi içlerinde istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bu istatistiksel değerlendirme esnasında, gruplar birbirleriyle karşılaştırıldıkları için, daha önce verilen sitotoksosite skalası dikkate alınmamıştır. Araştırmamızda, her kanal patının, her sertleşme ve ekstraksiyon süresinin ve her seyreltme oranının kendi aralarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar gösterdiği bulunmuştur ($p<0,05$). Bu bulgular dikkate alındığında; kanal patları, sitotoksik özelliklerinin şiddetine göre Sealapex > AH 26 > Endomethasone N > AH Plus > RoekoSeal olarak sıralanmışlardır. Sealapex % 67,9 hücre canlılığı ile en sitotoksik materyal olurken onu % 69,6 hücre canlılığı ile AH 26 ve % 70,3 hücre canlılığı ile Endomethasone N takip etmiştir. Bu kanal patlarında yaşayan hücre oranları istatistiksel olarak farklı olsa da değer olarak birbirlerine yakındır. AH Plus ta % 83,8 hücre canlılığı gözlenirken RoekoSeal'ın % 95,3 hücre canlılığı ile sitotoksitesini en düşük kanal patı olmuştur. Çalışmaya katılan her kanal patı, deneyi oluşturan değişkenlere göre kendi içinde de istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Deney gruplarındaki farklı sertleşme süreleri, kendi aralarındaki karşılaştırıldığında, sertleşme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu ($p<0,05$). Elde ettiğimiz bulgulara göre taze hazırlanmış kanal patları % 72,6 hücre canlılığı ile en fazla sitotoksik etkiyi gösterirken, 3 gün sertleşenler % 78,5 hücre canlılığı ile daha az sitotoksik etkiyi, 7 gün sertleşenlerde % 81 hücre canlılığı ile en az sitotoksik etkiyi gösterdiler. Farklı sertleşme sürelerinde kök kanal patlarının oluşturduğu sitotoksosite arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu saptandı ($p<0,05$) (Tablo 4).

Araştırmamızda deney gruplarındaki farklı ekstraksiyon periyotlarının karşılaştırılmasında, periyotlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu ($p<0,05$). Elde ettiğimiz bulgulara göre 7 günlük ekstraksiyon grubu % 76,2 hücre canlılığı ile en

sitotoksik olurken 4 günlük ekstraksiyon grubu % 77,5 hücre canlılığı gösterdi. 1 günlük ekstraksiyon grubu % 78,5 ile en az sitotoksik etki gösterdi. Farklı ekstraksiyon periyotlarında kök kanal patlarının oluşturduğu sitotoksosite arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu belirlendi ($p<0,05$) (Tablo 5).

Araştırmamızda deney gruplarındaki farklı seyreltme oranlarının karşılaştırılmasında, istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu ($p<0,05$). Her deney periyotunda sitotoksosite oranları 1:1>1:2>1:4>1:8 olarak sıralandı. 1:1 seyreltme oranının, % 41,2 hücre canlılığına, 1:2 seyreltme oranının % 77,8 hücre canlılığına, 1:4 seyreltme oranının % 93,9 ve 1:8 seyreltme oranının da % 96,7 hücre canlılığına sahip olduğu belirlendi. Deney gruplarında kök kanal patlarının farklı oranlarda seyreltilen ekstraktlarının sitotoksik özellikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu saptandı ($p<0,05$) (Tablo 6).

Tablo 4: Sertleşme zamanlarında, kök kanal patlarının oluşturduğu sitotoksik etkilerin karşılaştırılması ($p<0,05$). (Aynı sütundaki benzer üst simgeler istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını ifade etmektedir.)

Kanal patları	Taze hazırlananlar		3 gün sertleşenler		7 gün sertleşenler	
	Ort.	S.Sp.	Ort.	S.Sp.	Ort.	S.Sp.
Sealapex	63,3 ^b	± 32,1	68,3 ^b	± 30,2	72,1 ^b	± 28,2
Endomethasone N	66,4 ^b	± 32,3	72,4 ^b	± 28,4	72,2 ^b	± 28,1
AH 26	65,9 ^b	± 33,6	68,1 ^b	± 31,6	74,9 ^b	± 25,7
AH Plus	77,2 ^{ab}	± 23,8	86,1 ^a	± 18,1	88,0 ^a	± 15,7
RoekoSeal	90,3 ^a	± 12,4	97,7 ^a	± 1,4	97,8 ^a	± 1,1

Tablo 5: Ekstraksiyon periyotlarında kök kanal patlarının oluşturduğu sitotoksik etkilerin karşılaştırılması ($p<0,05$). (Aynı sütundaki benzer üst simgeler istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını ifade etmektedir.)

Kanal patları	1. gün ekstresi		4. gün ekstresi		7. gün ekstresi	
	Ort.	S.Sp.	Ort.	S.Sp.	Ort.	S.Sp.
Sealapex	72,9 ^{bc}	± 30,6	66,7 ^b	± 29,6	64,1 ^b	± 30,5
Endomethasone N	70,6 ^c	± 29,9	71,1 ^b	± 30,2	69,3 ^b	± 29,2
AH 26	70,2 ^c	± 29,7	70,1 ^b	± 30,8	68,6 ^b	± 31,7
AH Plus	83,6 ^{ab}	± 18,3	83,8 ^a	± 20,0	83,9 ^a	± 21,8
RoekoSeal	95,1 ^a	± 8,3	95,5 ^a	± 7,7	95,2 ^a	± 8,1

Tablo 6: Kök kanal patlarının farklı oranlarda seyreltilen ekstralarının sitotoksik özelliklerinin karşılaştırılması ($p < 0,05$). (Aynı sütundaki benzer üst simgeler istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını ifade etmektedir.)

Kanal patları	1:1		1:2		1:4		1:8	
	Ort.	S.Sp.	Ort.	S.Sp.	Ort.	S.Sp.	Ort.	S.Sp.
Sealapex	20,6 ^a ±	7,1	66,2 ^d ±	7,1	89,9 ^f ±	6,2	94,9 ⁱ ±	3,3
Endomethasone N	22,0 ^a ±	6,2	73,8 ^c ±	4,0	90,0 ^e ±	3,6	93,6 ^h ±	2,0
AH 26	23,6 ^a ±	9,3	63,4 ^d ±	6,2	94,6 ⁱ ±	3,4	97,0 ⁱ ±	1,4
AH Plus	52,5 ^b ±	9,8	87,4 ^e ±	10,2	97,2 ⁱ ±	1,6	98,0 ⁱ ±	1,1
RoekoSeal	87,7 ^b ±	13,3	97,4 ^e ±	1,2	97,9 ⁱ ±	1,0	98,0 ⁱ ±	1,0

TARTIŞMA

Materyallerin dokularda oluşturduğu etkilerin incelenmesinde geçmişten günümüze kadar in vivo veya in vitro olmak üzere çeşitli yöntemler kullanılmıştır.¹⁵⁻¹⁹ Hücre kültürü yöntemleri, in vitro çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Schmalz⁸ yaptığı çalışmadan elde ettiği bulgulara göre primer hücre kültürlerinin devamlı hücre kültürlerine göre biraz daha hassas olduğunu, ancak kültürlerin benzer bulgular verdiğini bildirmiştir. Bu yüzden, primer hücrelerin spesifik bilimsel testlerde, devamlı hücre kültürlerinin de dış hekimliği materyallerinin standart toksisite testlerinde kullanılmalarının uygun olduğunu bildirmiştir. Araştırmamızda, MTS analizi ile değerlendirmeler yapıldı. 3T3 fare fibroblastlarının diğer analizlere göre MTS'yi daha iyi metabolize ettikleri bildirilmiştir.²⁰ Kök kanal patlarının sitotoksik etkilerini değerlendirdiğimiz bu çalışmada, 3T3 fare fibroblastlarının kullanılmasının bir nedeni de budur.

Çalışmamızda, sitotoksikite skalası kullanılarak kanal patlarının sitotoksik etkisi değerlendirildiğinde, Sealapex, Endomethasone N, AH 26, ve AH Plus kanal patlarının hafif sitotoksik etki gösterdiği, RoekoSeal' in ise sitotoksik etki göstermediği saptandı. Araştırmamızı oluşturan çeşitli değişkenler, oluşturdukları sitotoksikiteye göre, kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Gruplar birbirleriyle karşılaştırıldıkları için bu istatistiksel karşılaştırma sırasında, sitotoksikite skalası yerine yaşayabilen hücre yüzdelerinin ortalaması kullanılmadı.

Yaptığımız çalışma sonuçlarına göre, en yüksek sitotoksik etkiyi Sealapex gösterdi. Kanal patları oluşturdukları sitotoksik etkiye göre, Sealapex > AH 26

> Endomethasone N > AH Plus > RSA olarak sıralandılar.

Kanal patlarının sitotoksikitesini karşılaştıran bir çok çalışmada, Sealapex'in diğer patlara göre daha fazla sitotoksik özellik gösterdiği bildirilmiştir.^{1,21} Sealapex'in diğer kanal patlarından daha fazla sitotoksik etki göstermesinin nedeninin materyalin yüksek pH'ı olduğu ileri sürülmüştür.²² Oysa Beltes ve arkadaşları,¹ kalsiyum hidroksit içerikli kök kanal patlarının sitotoksikitesini karşılaştırdıkları çalışmalarında dikkate değer bir pH değişikliği olmadığını bildirmişlerdir. Takahara ve arkadaşları,²³ Sealapex' in sitotoksikitesinin poliresin, çinko oksit ve Ba⁺⁺ gibi içeriklerinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Kalsiyum hidroksit esaslı kanal patlarının genelde biyouyumlu olduğunu bildirilen birçok araştırmacılar da bulunmaktadır.^{6,21,24,25} Sealapex' in deneyde kullanılan diğer kanal patlarına göre en az sitotoksik olduğu çalışmalar da bulunmaktadır.^{7,26}

Sealapex'in sitotoksikitesinin yüksek derecede bulunduğu çalışmalarda araştırmacılar bu sitotoksik etkinin nedenlerini, çalışmada kullanılan hücre tipi,²¹ kanal patlarında bulunan irrite edici maddelerin ve/veya sertleşmiş kanal patından ekstraksiyon esnasında çözünen bileşenlerin sitotoksik etkisi,^{21,23} kalsiyum içerikli kanal patlarının yüksek alkalin pH'ı,²²olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre, Endomethasone N farklı sertleşme ve ekstraksiyon zamanlarında ve değişik seyreltilme oranlarında 3T3 hücreleri üzerine sitotoksik etki göstermiştir. Yapılan birçok çalışmada çinko oksit öjenol içeren patların sitotoksik etkiler gösterdiği bildirilmiştir.^{7,26-28} Bu kanal patı grubunun içine, istenilen özelliğe göre maddeler ilave edilebilmektedir. İlave edilen bu kimyasallar bu gruptaki kanal patlarının sitotoksik etkilerini artırmaktadırlar. Antimikrobiyal ve fiksatif etki için paraformaldehit, iltihabi reaksiyonları baskılamak için kortikosteroidler, dentin adezyonunu artırmak için kanada balsamı ya da reçine eklenebilmektedir.²⁹ Endomethasone N, Endomethasone' un aksine paraformaldehit içermemektedir.³⁰ Reçineler %90 resin asit içermektedirler. Resin asitlerin yapısında bulunan karbon grubu lipofiliktir ve hücre membranındaki lipitleri etkileyerek hücre membran geçirgenliğinin artmasına neden olur. Resin asitler hem antimikrobiyal hem de sitotoksik etkiye sahiptirler.³¹ Birçok

araştırmacıya göre bu patların sitotoksitesine materyalden serbestleşen öjenol büyük oranda neden olurken, çinko iyonlarında katkıda bulunmaktadır.^{28,32,33} Maseki ve arkadaşları,³⁴ öjenol içeren kök kanal patlarının sitotoksik etkileri ile öjenol salımları arasında pozitif bir ilişki bulunmadığını, ayrıca çinko oksit esaslı kanal patlarının sitotoksik etkisine metil salisilik asit, benzil alkol, çinko iyonları, reçine ve bu materyalden çözünen diğer bileşenlerin de katkı sağladığını bildirmişlerdir.

Epoksi içerikli bir materyal olan AH 26' dan klinik ve sitotoksik olarak daha iyi özellikler elde etmek amacıyla AH Plus geliştirilmiştir.³⁵ Üreticisine göre AH Plus formaldehit içermemektedir.³⁶ Ancak, AH Plus' tan az da olsa formaldehit çözünmesi olduğu bildirilmiştir.³⁵

Yapılan çalışmalarda, AH 26' nın AH Plus' a göre daha sitotoksik etki gösterdiği^{7,37}, her iki kanal patının eşit derecede yüksek sitotoksik etki gösterdiği³⁵ ya da AH Plus' ın AH 26' ya göre daha sitotoksik etki gösterdiği³⁸ bildirilmiştir.

Genel olarak AH 26' nın toz kısmı bizmut oksit ve heksametilen tetramin, resin kısmı ise bisfenol-A-diglisidil eterden oluşur. Bu bileşenlerin karıştırılmasıyla heksametilen tetramin, asit ortamda veya su solüsyonunda amonyak ve formaldehite ayrışır. AH 26 nın toksisitesi yapısındaki formaldehit, heksametilen tetramin ve bisfenol-A-diglisidil eterden kaynaklanmaktadır.³⁵ Schweikl ve arkadaşları,³⁹ yaptıkları çalışmada AH 26 kanal patının sitotoksik etkisinin esas nedeninin likitindeki epoksi-bis-fenol'den kaynaklandığını, yapısındaki maddelerin reaksiyonu sonucu ortaya çıkan formaldehit gibi ürünlerin bunda etkisi olmadığını bildirmişlerdir.

AH Plus'tan salınan formaldehit miktarının daha az olmasına rağmen, bazı çalışmalarda AH 26 kadar sitotoksik etki göstermesinin nedenini Schweikl ve arkadaşları³⁹ gibi Cohen ve arkadaşları³⁵ da likit kısımdaki epoksi rezin bileşenine bağlamışlardır.

Silikon esaslı kök kanal patlarının biyolojik özellikleri hakkında literatürde az sayıda çalışma bulunmaktadır.^{11,40,41} RoekoSeal'in (RSA) çalışmada karşılaştırılan diğer kanal patlarına göre daha az sitotoksik özellik gösteren kanal patı olduğu,⁴² ayrıca, AH Plus ve RSA' nın az ya da hiç sitotoksik özellik göstermediği⁴¹ veya RSA yüksek biyouyumluluk gösterirken, AH Plus daha fazla sitotoksik etki

gösterdiği bildirilmiştir.¹¹ Bizim çalışmamızdan elde edilen bulgulara göre, 3T3 fibroblastlarında RoekoSeal en az sitotoksik etki gösterirken onu AH Plus takip etmiştir.

Kök kanal patlarının sitotoksitesiyile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde ortaya çok farklı sonuçlar çıkabilmektedir. Bu farklılıkların sebebi olarak; kanal patlarının değişik hücre tipleri üzerine farklı etkilerinin olması,²¹ farklı deney koşulları,^{11, 36} hücre canlılığını belirlemek için kullanılan farklı içerikli tetrazolyum tuzlarının, değişik hücre tipleri tarafından daha iyi metabolize ediliyor olması,²⁰ farklı deneysel metotlar^{41,43}, gibi maddeler sıralanabilir.

Farklı hücre kültür deneylerinden elde edilen bulguların karşılaştırılması birçok değişkenden dolayı zordur, bekli de mümkün değildir.⁴⁴

Farklı metotlar ve hücre dizilerinden oluşan birçok çalışmada, farklı sertleşme zamanlarının, farklı oranlarda seyreltilmelerinin ve farklı ekstraksiyon periyotlarının kök kanal patlarının sitotoksitesileri üzerine etkileri incelenmiş ve farklı bulgular elde edilmiştir. Birçok değişkenden dolayı, bu çalışmaların bulgularının karşılaştırılmasının zor olduğunu, ancak bu bulguların, kanal patlarının farklı değişkenlere göre gösterdiği sitotoksik etkiyi ve bu etkinin nedenini ortaya koymaları bakımından önemli olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR:

1. Beltes P, Koulaouzidou E, Kotoula V, Kortsaris AH. In vitro evaluation of the cytotoxicity of calcium hydroxide-based root canal sealers. Endod Dent Traumatol 1995;11(5):245-9.
2. Orstavik D. Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. Endod topics 2005;12:25-38.
3. McMichen FR, Pearson G, Rahbaran S, Gulabivala K. A comparative study of selected physical properties of five root-canal sealers. Int Endod J 2003;36(9):629-35.
4. Eldeniz AU, Mustafa K, Orstavik 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(5):329-37.



5. Wataha JC. Biocompatibility of dental materials. In Anusavice KJ, ed. Phillips' Science of Dental Materials. Philadelphia: Saunders; 1996:171-202.
6. Osorio RM, Hefti A, Vertucci FJ, Shawley AL. Cytotoxicity of endodontic materials. J Endod 1998;24(2):91-6.
7. 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(2):153-8.
8. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials--advantages and limitations. J Dent 1994;22 Suppl 2:S6-11.
9. International Organization for Standardization (1997) ISO-7405: Dentistry -- Preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry -- Test methods for dental materials.
10. Can HE, Bala O, Kayaoğlu G, Alaçam T, Okur H. Yeni bir kök kanal dolgu patının sitotoksitesite ve genotoksitesitesinin in vitro olarak değerlendirilmesi. GÜ Dişhek Fak Derg 2002;19(2):23-27.
11. Miletic I, Devcic N, Anic I, Borcic J, Karlovic Z, Osmak M. The cytotoxicity of RoekoSeal and AH plus compared during different setting periods. J Endod 2005;31(4):307-9.
12. Miletic I, Anic I, Karlovic Z, Marsan T, Pezelj-Ribaric S, Osmak M. Cytotoxic effect of four root filling materials. Endod Dent Traumatol 2000;16(6):287-90.
13. Citeau A, Guicheux J, Vinatier C, et al. In vitro biological effects of titanium rough surface obtained by calcium phosphate grid blasting. Biomaterials 2005;26(2):157-65.
14. Lonroth EC, Dahl JE. Cytotoxicity of liquids and powders of chemically different dental materials evaluated using dimethylthiazol diphenyltetrazolium and neutral red tests. Acta Odontol Scand 2003;61(1):52-6.
15. Ogasawara T, Yoshimine Y, Yamamoto M, Akamine A. Biocompatibility of an experimental glass-ionomer cement sealer in rat mandibular bone. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2003;96(4):458-65.
16. Geurtsen W, Lehmann F, Spahl W, Leyhausen G. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. J Biomed Mater Res 1998;41(3):474-80.
17. 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;22(8):395-8.
18. Al-Nazhan S, Spangberg L. Morphological cell changes due to chemical toxicity of a dental material: an electron microscopic study on human periodontal ligament fibroblasts and L929 cells. J Endod 1990;16(3):129-34.
19. Schmalz G. Agar overlay method. Int Endod J 1988;21(2):59-66.
20. Cory AH, Owen TC, Barltrop JA, Cory JG. Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture. Cancer Commun 1991;3(7):207-12.
21. Geurtsen W, Leinenbach F, Krage T, Leyhausen G. Cytotoxicity of four root canal sealers in permanent 3T3 cells and primary human periodontal ligament fibroblast cultures. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998;85(5):592-7.
22. Matsumoto K, Inoue K, Matsumoto A. The effect of newly developed root canal sealers on rat dental pulp cells in primary culture. J Endod 1989;15(2):60-7.
23. Takahara K, Onodera A, Matsumoto K. Toxicity of root canal sealers on rat bone cells in primary culture. Endod Dent Traumatol 1990;6(5):200-7.
24. Vajrabhaya L, Sithisarn P. Multilayer and monolayer cell cultures in a cytotoxicity assay of root canal sealers. Int Endod J 1997;30(2):141-4.
25. 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;25(5):359-63.
26. Huang FM, Hsieh YS, Tai KW, Chou MY, Chang YC. Induction of c-fos and c-jun protooncogenes expression by formaldehyde-releasing and epoxy resin-based root-canal sealers in human osteoblastic cells. J Biomed Mater Res 2002;59(3):460-5.
27. Schwarze T, Leyhausen G, Geurtsen W. Long-term cytocompatibility of various endodontic sealers using a new root canal model. J Endod 2002;28(11):749-53.



28. Gerosa R, Menegazzi G, Borin M, Cavalleri G. Cytotoxicity evaluation of six root canal sealers. *J Endod* 1995;21(9):446-8.
29. 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.
30. Gomes BP, Pedrosa JA, Jacinto RC, et al. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of five root canal sealers. *Braz Dent J* 2004;15(1):30-5.
31. Söderberg TA. Effect of zinc oxide, rosin and resin acids and their combinations on bacterial growth and inflammatory cells. *Scandinavian journal of plastic reconstructive surgery and hand surgery*.1990;24:1-87
32. Lindqvist L, Otteskog P. Eugenol: liberation from dental materials and effect on human diploid fibroblast cells. *Scand J Dent Res* 1980;88(6):552-6.
33. Araki K, Suda H, Barbosa SV, Spangberg LS. Reduced cytotoxicity of a root canal sealer through eugenol substitution. *J Endod* 1993;19(11):554-7.
34. Maseki T, Nakata K, Kohsaka T, Kobayashi F, Hirano S, Nakamura H. Lack of correlation between the amount of eugenol released from zinc oxide-eugenol sealer and cytotoxicity of the sealer. *J Endod* 1991;17(2):76-9.
35. Cohen BI, Pagnillo MK, Musikant BL, Deutsch AS. An in vitro study of the cytotoxicity of two root canal sealers. *J Endod* 2000;26(4):228-9.
36. Huang TH, Ding SJ, Hsu TZ, Lee ZD, Kao CT. Root canal sealers induce cytotoxicity and necrosis. *J Mater Sci Mater Med* 2004;15(7):767-71.
37. Tai KW, Huang FM, Huang MS, Chang YC. Assessment of the genotoxicity of resin and zinc-oxide eugenol-based root canal sealers using an in vitro mammalian test system. *J Biomed Mater Res* 2002;59(1):73-7.
38. 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;36(5):330-5.
39. Schweikl H, Schmalz G, Stimmelmayer H, Bey B. Mutagenicity of AH26 in an in vitro mammalian cell mutation assay. *J Endod* 1995;21(8):407-10.
40. Briseno BM, Willershausen B. Root canal sealer cytotoxicity on human gingival fibroblasts: 2. Silicone- and resin-based sealers. *J Endod* 1991;17(11):537-40.
41. Oztan MD, Yilmaz S, Kalayci A, Zaimoglu L. A comparison of the in vitro cytotoxicity of two root canal sealers. *J Oral Rehabil* 2003;30(4):426-9.
42. 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.
43. Lestari F, Markovic B, Green AR, Chattopadhyay G, Hayes AJ. Comparative assessment of three in vitro exposure methods for combustion toxicity. *J Appl Toxicol* 2006;26(2):99-114.
44. Spangberg LS. In vitro assessment of the toxicity of endodontic materials. *Int Endod J* 1981;14(1):27-33.

Yazışma Adresi:

Dt. Ali KELEŞ

Ataturk Universitesi
Diş Hekimliği Fükültesi
Endodonti Anabilim Dalı
Email: alikeles29@hotmail.com
25240, Erzurum

