

بررسی سمیت سلولی Pro Root MTA، Root MTA و سیمان پرتلند بر روی فیبروبلاست‌های L929 موش

دکتر محمدرضا شریفیان* - دکتر محمد ضرابیان** - دکتر حسن رزمی*** - دکتر مهرنوش قبادی**** - دکتر محمدجواد خرازی فرد***** - دکتر فرید همت‌زاده***** - دکتر رز افزلی‌فر†*****

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

****مشاور آمار و تحقیقات دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

*****دانشیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

*****دندانپزشک و عضو مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

Title: Cytotoxicity evaluation of Pro Root MTA, Root MTA and Portland Cement (PC) on L929 mouse fibroblasts

Authors: Sharifian MR. Assistant Professor*, Zarrabian M. Associate Professor*, Razmi H. Associate Professor*, Ghobadi M. Endodontist, Kharrazifard MJ. Statistics and Research Consultant**, Hemmatzadeh. F Associate Professor***, Afzalifar R. Dentist*****

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

**School of Dentistry, Medical Sciences/ University of Tehran

***Department of Pathobiology. Faculty of Veterinary, University of Tehran

****Dental research center, School of Dentistry, Medical Sciences/ University of Tehran

Background and Aim: Mineral Trioxide Aggregate (MTA) is a material used in many endodontic problems. Recently a number of studies, have reported that Portland Cement (PC) and MTA have similar physical, chemical and biologic properties. In addition, a material known as Root MTA which is produced in Iran has been claimed to have similar properties to Pro Root MTA. If these claims are true, possible use of PC and Root MTA in clinic instead of Pro Root MTA will be quite cost effective. The aim of this study was to investigate the toxicity of Pro Root MTA, Root MTA and Portland Cement on L929 mouse fibroblasts.

Materials and Methods: In this experimental study 0, 4, 24 hours and 7 days' extracts of materials were transferred to cell culture plates containing L929 fibroblasts. After 24 hours incubation, cells were stained by Neutral Red (NR), and optical density (OD) of each cell was read with ELISA reader. Data were analyzed using Tukey HSD and one way analysis of variance. $P < 0.05$ was considered as the level of significance.

Results: In all surveyed groups and negative control group, at all time points separated cells from the base of the well were round. Refraction which is a characteristic of cellular death was not observed, whereas the separated cells from the base of well in positive control group showed refractational characteristic.

Conclusion: Based on the findings of this study Pro Root MTA, PC and Root MTA have the same biocompatibility. PC seems to have the potential to be used in the same clinical situation as MTA. However in order to replace MTA with these less expensive materials more in vitro and in vivo studies are suggested.

Key Words: Cytotoxicity; Mineral Trioxide Aggregate (MTA); Pro Root MTA; Root MTA; Portland Cement (PC); L929 fibroblasts

چکیده

زمینه و هدف: MTA (Mineral Trioxide Aggregate) ماده‌ای است که کاربردهای مختلفی در درمان‌های اندودونتیکس دارد، از آن جمله: درمان پالپ زنده، ایجاد سد آپیکال در دندان‌های با آپکس باز، ترمیم پرفوریشن‌ها، پرکردن حفره انتهایی ریشه حین جراحی پری آپیکال، سد تاجی در سفید کردن دندان و ترمیم

† مؤلف مسؤول: نشانی: تهران - خیابان انقلاب - خیابان قدس - دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران - دانشکده دندانپزشکی - مرکز تحقیقات دندانپزشکی
تلفن: ۸۸۹۸۶۶۷۷ نشانی الکترونیک: afzalifa@tums.ac.ir

تحلیل‌های خارجی. اخیراً گزارش شده که خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک سیمان پرتلند بسیار شبیه Pro Root MTA است. در ضمن ماده‌ای به نام Root MTA در ایران تهیه شده است که ادعای مشابهت با Pro Root MTA را دارد. در صورتی که بتوان از سیمان پرتلند و Root MTA در کلینیک به جای Pro Root MTA استفاده نمود، از لحاظ اقتصادی بسیار مقرون به صرفه خواهد بود. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی سمیت سلولی سیمان پرتلند و MTA ساخت ایران (Root MTA) در مقایسه با Pro Root MTA بر روی سلول‌های فیبروبلاست L929 موش انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه آزمایشگاهی عصاره‌های ۴، ۲۴، ۴۰ و ۷ روزه مواد بر روی سلول‌های کشت داده شده (فیبروبلاست L929) به پلیت‌های ۹۶ خانه انتقال داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، نمونه‌ها به روش Neutral Red رنگ‌آمیزی شدند و دانسیته نوری (OD) هر یک توسط ELISA Reader خوانده شد. داده‌های این مطالعه با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون Tukey HSD با سطح معنی داری $P < 0.05$ مورد تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: در تمامی گروه‌های مورد مطالعه (Pro Root MTA، Root MTA و سیمان پرتلند) و گروه کنترل منفی در تمام لحظات (لحظه مخلوط کردن، ۴، ۲۴ ساعت و ۷ روز پس از مخلوط کردن) سلول‌های جدا شده از کف گوده، سلول‌های گرد بوده و خاصیت انکسار نور توسط سلول‌ها که از علائم مرگ سلولی می‌باشد، را نشان ندادند، در حالی که در گروه کنترل مثبت سلول‌های گرد و جدا شده از کف ظرف که خاصیت انکسار نور را نشان می‌دادند، مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج تحقیق حاضر، Pro Root MTA، PC و Root MTA دارای قابلیت پذیرش نسبی یکسان هستند. PC دارای پتانسیل استفاده در موقعیت‌های کلینیکی مشابه موارد استفاده MTA می‌باشد. با این وجود به منظور جایگزین کردن Root MTA و PC به عنوان موادی با کیفیت مشابه MTA و ارزان‌تر مطالعات بیشتر *in vivo* و *in vitro* پیشنهاد می‌شود.

کلید واژه‌ها: سمیت سلولی؛ MTA؛ Pro Root MTA؛ Root MTA؛ سیمان پرتلند؛ فیبروبلاست L929

وصول: ۸۵/۰۴/۲۸ اصلاح نهایی: ۸۶/۰۳/۱۲ تأیید چاپ: ۸۶/۰۴/۱۰

مقدمه

است که با MTA مشابهت دارد (۹-۱۱). برای استفاده از یک ماده در دندانپزشکی ابتدا باید خواص بیولوژیک آن مورد بررسی قرار گیرد (۳). هدف از این مطالعه ارزیابی سمیت سلولی این سه ماده بر روی فیبروبلاست‌های L929 موش به روش سنجش Neutral Red (NR) می‌باشد.

روش بررسی

در این مطالعه آزمایشگاهی پس از تهیه فیبروبلاست‌های L929 موش از بانک سلولی ایران (انستیتو پاستور) سلول‌ها در محیط کشت RPMI 1640 (حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاو، آنتی‌بیوتیک و ضد قارچ) رشد داده شدند. سپس سلول‌ها در پلیت‌های ۹۶ خانه کشت داده شده، به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور (۳۷°C، ۵٪ CO₂) انکوبه شدند. برای تهیه عصاره‌های مواد یک مدل ساختگی ریشه با آپکس باز توسط Tip‌های ۱۰-۰/۲ μl کریستالین Socorex تهیه شد. سپس مواد در تعدادی Petri dish استریل به نسبت سه قسمت پودر و یک قسمت مایع با هم مخلوط شدند و داخل ریشه‌های مصنوعی قرار گرفتند. پس از متراکم کردن مواد با پلاگر یک تکه پنبه مرطوب روی آنها قرار گرفت و کل مجموعه داخل گوده‌های پلیت ۹۶ خانه حاوی ۲۰ μl محیط کشت قرار داده شد. عصاره‌ها در ۴ زمان به صورت زیر تهیه

انسداد کامل سیستم کانال ریشه و مهر و موم نمودن ارتباط بین آن و بافت‌های اطراف از مهمترین اجزاء درمان موفق ریشه می‌باشد. جهت رسیدن به این هدف مواد مختلفی ارائه شده‌اند که یکی از موفق‌ترین این مواد در چند سال اخیر MTA می‌باشد. MTA در موارد مختلفی مانند پرکردن انتهای ریشه، درمان پالپ زنده، ایجاد سد اپیکال، مهر و موم کردن پرفوریشن‌ها و کاربردهای دیگر استفاده می‌شود. از خصوصیات MTA رژنراسیون بافت سمتموم، استخوان و بافت همبند فیروز می‌باشد (۲،۱). رژنراسانس سمتموم جدید روی MTA یک پدیده منحصر به فرد می‌باشد که در صورت استفاده از دیگر مواد پرکننده انتهای ریشه گزارش نشده است (۳). مطالعات وسیع و گزارش‌های کلینیکی متعدد نشان داده‌اند که اگر مورد مصرف MTA درست باشد، می‌تواند ماده قابل اعتمادی برای بسیاری از مشکلات اندودنتیک محسوب گردد (۱). یکی از عواملی که استفاده از MTA را محدود کرده، قیمت گران آن است. اخیراً طی مطالعاتی عنوان شده که سیمان پرتلند دارای خواص فیزیکی، مکانیکی و بیولوژیک مشابه MTA می‌باشد. در صورتی که این ادعا درست باشد، می‌توان به ماده‌ای ارزان با کیفیت مشابه دست یافت (۲، ۴-۸). در ضمن ماده‌ای جدید به نام Root MTA در ایران تهیه شده که سازنده آن مدعی

شدند:

سلول‌های فیبروبلاست L929 موش به شرح زیر بود:

الف) بلافاصله پس از مخلوط کردن

بین نمونه‌های Pro Root MTA، Root MTA و سیمان پرتلند و کنترل منفی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و گروه‌های فوق فقط با گروه کنترل مثبت اختلاف معنی‌دار داشتند.

ب) ۴ ساعت پس از مخلوط کردن:

نمونه‌های Pro Root MTA و Root MTA و سیمان پرتلند و کنترل منفی فقط با گروه کنترل مثبت اختلاف معنی‌دار داشتند (گروه کنترل مثبت با همه گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت).

ج) ۲۴ ساعت پس از مخلوط کردن:

نمونه‌های Pro Root MTA و Root MTA و سیمان پرتلند و کنترل منفی فقط با گروه کنترل مثبت اختلاف معنی‌دار داشتند (گروه کنترل مثبت با همه گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت).

د) ۷ روز پس از مخلوط کردن:

نمونه‌های Pro Root MTA و Root MTA و سیمان پرتلند و کنترل منفی فقط با گروه کنترل مثبت اختلاف معنی‌دار داشتند. (گروه کنترل مثبت با همه گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت)

بحث و نتیجه‌گیری

انسداد کامل سیستم کانال ریشه و مهر و موم نمودن ارتباط بین سیستم کانال و بافت‌های اطراف ریشه از مهمترین ارکان درمان ریشه می‌باشد. جهت رسیدن به این هدف مواد مختلفی ارائه شده است که یکی از موفق‌ترین این مواد در چند سال اخیر MTA می‌باشد. نتایج اخیر حاکی از آن است که سیمان پرتلند از نظر شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیک مشابه MTA می‌باشد. Wucherpfennig و Green با استفاده از آنالیز ماکروسکوپی، میکروسکوپی و تفرق اشعه ایکس نشان دادند که ترکیبات اصلی MTA مشابه سیمان پرتلند است (۷).

برای تهیه عصاره لحظه مخلوط کردن، یعنی زمان (۰) لحظاتی پس از قراردادن، مجموعه از داخل گوده خارج شد و محیط داخل گوده به عنوان عصاره‌های لحظه مخلوط کردن در نظر گرفته شد. زمان‌های بعدی تهیه عصاره‌ها، ۴ ساعت، ۲۴ ساعت و یک هفته پس از مخلوط کردن بود. عصاره‌های به دست آمده بر روی سلول‌های کشت داده شده در کف پلیت انتقال داده شد و نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. سپس اقدام به رنگ‌آمیزی سلول‌ها و بررسی حیات آنها شد. در گروه کنترل مثبت از ۲۰۰µl آب مقطر استریل و در گروه کنترل منفی از ۲۰۰µl محیط کشت حاوی ۵٪ FCS، آنتی‌بیوتیک، Anti-PPLO و Fungizone به همراه یک عدد ریشه مصنوعی (بدون مواد پرکننده) استفاده شد. پس از تخلیه محیط کشت روی سلول‌ها، به میزان ۲۰۰µl محلول Neutral Red (NR) داخل هر گوده ریخته شد و به مدت ۳ ساعت انکوبه گردید. پس از گذشت این زمان محلول NR روی سلول‌ها تخلیه شد و پس از شستشو، ۲۰۰µl محلول کلرید کلسیم / فرمالدئید به هر گوده انتقال داده و سریع خارج شد. سپس ۲۰۰µl محلول اتانل / اسید استیک اضافه و پس از چند دقیقه مایع داخل هر گوده پیتاژ گردید. دانسیته نوری (OD) هر گوده در طول موج ۵۴۰ نانومتر و رفرنس ۶۹۰ نانومتر در دستگاه ELISA Reader خوانده شد و داده‌ها ثبت گردید. تمامی یافته‌های ثبت شده با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون Tukey HSD برای تعیین اختلاف بین زوج گروه‌های مورد مطالعه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

پس از تجزیه و تحلیل آماری دانسیته نوری (جدول ۱) نتایج بررسی سمیت سلولی مواد مورد مطالعه به روش NR assay بر روی

جدول ۱- دانسیته‌های نوری نمونه‌های مورد آزمایش

مواد	زمان	بلافاصله پس از مخلوط کردن	۴ ساعت پس از مخلوط کردن	۲۴ ساعت پس از مخلوط کردن	۷ روز پس از مخلوط کردن
Pro Root MTA	۲/۱۰۳۷۲ ± ۰/۳۲۴۷۶۰	۲/۰۵۱۲۲ ± ۰/۲۷۹۱۲۴	۲/۲۶۰۹۴ ± ۰/۲۳۵۱۴۰	۲/۷۴۱۸۳ ± ۰/۱۰۰۶۲۵	
Root MTA	۲/۱۲۸۲۲ ± ۰/۲۱۹۱۳۳	۲/۰۲۳۶۷ ± ۰/۲۷۸۶۵۹	۲/۳۹۰۸۹ ± ۰/۲۱۷۲۶۳	۲/۷۲۴۸۹ ± ۰/۳۸۳۸۶	
سیمان پرتلند	۲/۲۰۰۰۶ ± ۰/۲۹۰۴۱۸	۲/۱۴۲۱۷ ± ۰/۲۲۴۱۵۰	۲/۳۴۰۶۷ ± ۰/۲۵۲۷۸۵	۲/۵۸۵۶۷ ± ۰/۳۴۲۶۰۶	
کنترل منفی	۲/۵۵۵۷۱ ± ۰/۲۴۲۷۲۴	۲/۵۵۵۷۱ ± ۰/۲۴۲۷۲۴	۲/۵۵۵۷۱ ± ۰/۲۴۲۷۲۴	۲/۵۶۷۳۶ ± ۰/۳۵۴۱۱۱	
کنترل مثبت	۲/۵۵۵۷۱ ± ۰/۲۰۸۸۷۰	۰/۶۵۵۰۰ ± ۰/۲۰۸۸۷۰	۰/۶۵۵۰۰ ± ۰/۲۰۸۸۷۰	۰/۸۹۳۲۵ ± ۰/۱۳۱۵۰۳	

اندودنتیک به جای MTA از سیمان پرتلند استفاده کرد. لازم به ذکر است که سیمان پرتلند در مجاورت برخی بافت‌های بدن، سمیت بالایی نشان داده است. بر طبق مطالعات بی‌شماری که در علم پزشکی در مورد تأثیرات سیمان پرتلند بر روی پوست، ریه و مخاط (چشم، مسیرهای گوارشی و تنفسی) انجام گرفته، شیوع بالای علائم تنفسی و عملکرد ناقص ریه، درماتیت تماسی، سوختگی پوست، کاهش ظرفیت تنفسی، علائم بیماری‌های مزمن تنفسی، وضعیت غیر طبیعی ریه‌ها در کلیشه‌های رادیوگرافی و تحریک تمام مسیرهای تنفسی در اثر تماس با سیمان پرتلند نشان داده شده است. علاوه بر این مشکلات، بیماری‌های خطرناک‌تر همانند سرطان حنجره و تومورهای معده‌ای- روده‌ای را نیز به این ماده نسبت می‌دهند (۱۲-۱۵). حال سؤال این است که ماده‌ای با این سمیت چگونه می‌تواند جهت ترمیم ضایعات به کار رود؟

در پاسخ به این سؤال باید گفت استنشاق ذرات این ماده در زمان‌های طولانی حادث می‌شود و این مشکلات تقریباً همیشه در کارکنان کارخانه‌های سیمان دیده شده است.

تماس با مقدار کافی و در زمان کافی با ترکیب مطلوب MTA باعث تخریب غیر قابل برگشت و جدی بافتی (چشم یا پوست) به شکل سوختگی شیمیایی می‌شود. همچنین برخورد یک قسمت مرطوب بدن با پودر خشک MTA همان عوارض را به دنبال دارد. تماس MTA با چشم باعث تحریک فوری یا تأخیری در چشم می‌شود. تماس مقدار زیاد MTA با چشم (به صورت خشک یا مرطوب) می‌تواند باعث تحریک متوسط تا سوختگی شیمیایی و کوری شود.

تماس پودر خشک MTA با پوست باعث ایجاد تحریک خفیف یا بیشتر (با توجه به وضعیت قبل از تماس پوست) می‌شود. تماس ترکیب مرطوب MTA با پوست (یا پوست مرطوب با پودر MTA) به علت ماهیت سوزاننده MTA اثرات شدیدتری ایجاد می‌کند و احتمال ضخیم شدن و ایجاد ترک و شکاف در پوست وجود دارد. تماس طولانی مدت با MTA مرطوب باعث تحریک شدید پوست به شکل سوختگی شیمیایی می‌شود.

استنشاق پودر MTA به مدت طولانی، به علت وجود کریستالین‌های آزاد سیلیکا می‌تواند باعث آسیب تأخیری ریه‌ها (شامل سیلیکوزیس و سایر بیماری‌های ریوی) شود. قرار گرفتن در معرض

Estrela نیز پس از آنالیز ترکیبات شیمیایی سیمان پرتلند و MTA توسط اسپکتروفوتومتر فلورسانس، نشان داد که کلسیم فسفات، کلسیم اکساید و سیلیکا در ترکیب هر دو ماده موجود است و تنها ترکیب اضافی MTA اکسید بیسموت است که به عنوان ماده رادیوپاک به ترکیب اضافه می‌شود (۴).

واکنش سلول‌های پالپ به سیمان پرتلند و MTA اولین بار در سال ۱۹۹۹ توسط Wuncherpfennig و Green مطالعه شد که رسوب عاج ترمیمی پس از پوشش مستقیم پالپ دندان‌های Rat در هر دو ماده دیده شد (۷). در این مطالعه سیمان پرتلند و MTA بر روی کشت‌های سلولی شبه استئوبلاست، تشکیل ماتریکس استخوانی را در یک الگوی مشابه نشان دادند (۷).

مطالعه مشابهی توسط Holland و همکاران در دندان‌های پالپوتومی شده سگ انجام شد که هر دو ماده تشکیل پل عاجی را نشان دادند (۵). در بررسی انجام شده توسط Estrela، خواص ضد میکروبی برای MTA و سیمان پرتلند مشاهده نشد (۴). در مطالعات زیست‌سازگاری *in vivo* (biocompatibility) که توسط Holland و همکاران انجام شد، MTA و سیمان پرتلند تشکیل گرانول‌های کریستال کلسیت را در مجاورت لوله‌های عاجی پر شده با مواد، که در بافت همبند تحت مخاطی ایمپلنت شده بودند، نشان دادند (۸).

Saidon و همکاران قابلیت پذیرش نسجی *in vivo* سیمان پرتلند و MTA را در مندیبل کوچک هندی بررسی کردند. هر دو ماده به خوبی توسط بافت تحمل شدند و محل جراحی بدون علائمی از عفونت ترمیم شد. آنها همچنین با بررسی مورفولوژی و تعداد سلول‌های L929 در مجاورت MTA و سیمان پرتلند نشان دادند که خصوصیات سلول‌ها و تعداد آنها در دو گروه با هم تفاوت نداشت (۶). Abdullah و همکاران مورفولوژی سلول‌های استئوسارکوم (Saos-2) را در مجاورت MTA و سیمان پرتلند مشاهده کردند. در بررسی اسکن میکروسکوپ الکترونی (SEM) سلول‌های مجاور هر دو ماده، سالم و چسبیده به سطح بودند (۲). در همین مطالعه میزان سیتوکین‌های آزاد شده در مجاورت سیمان پرتلند معمولی و MTA اختلاف معنی‌دار نداشت (۲).

نتایج حاصل از این مطالعات نشان دادند که سیمان پرتلند خصوصیات قابل مقایسه با MTA دارد، هر چند تفاوت مهم آنها قیمت بالای MTA می‌باشد. به همین دلیل ممکن است بتوان در درمان‌های

سلول‌ها از کف پلیت‌های کشت سلولی و خاصیت انکسار نور بود. در مشاهده غیرمستقیم از روش رنگ‌آمیزی حیاتی Neutral Red استفاده شد که در آن وضعیت غشاء سلول مورد بررسی قرار می‌گیرد (۱۷-۱۹). قابل ذکر است که در روش رنگ‌آمیزی Neutral Red، رنگ در محل هدف به داخل سلول وارد شده و پس از شستشوی اضافات رنگ، رنگ باقیمانده داخل سلول استخراج شده و میزان رنگ توسط سنجش اسپکتروفوتومتر محاسبه می‌شود.

در این مطالعه بررسی مواد بر روی سلول به روش غیر مستقیم عصاره‌گیری از مواد انجام شد. عصاره‌های مورد مطالعه در ۴ زمان (لحظه مخلوط کردن، ۴ ساعت پس از مخلوط کردن، ۱ روز پس از مخلوط کردن و ۷ روز پس از مخلوط کردن) تهیه شد.

هدف از انتخاب عصاره‌های لحظه مخلوط کردن، تهیه مواد توکسیک احتمالی از مخلوط تازه بود. هدف از انتخاب عصاره‌های ۴ ساعت بعد، این بود که در این مدت سفت شدن مواد انجام می‌گیرد و بیشترین فعل و انفعالات در این مدت رخ می‌دهد. هدف از انتخاب عصاره‌های ۱ روز و ۷ روز بعد نیز بررسی مدت‌دار سمیت این مواد بود.

در این مطالعه یک مدل جهت عصاره‌گیری از مواد ابداع شد. این مدل در واقع یک ریشه با فورامن اپیکال باز (Open Apex) را تقلید می‌کرد که تمام مراحل کلینیکی قرار دادن مواد مورد مطالعه در ریشه را مشابه سازی می‌نمود. مدل مورد نظر را می‌توان مستقیماً روی سلول‌های گوده‌های ۹۶ خانه قرار داد و اثر مستقیم ماده بر روی سلول‌ها را بررسی کرد. اما در این مطالعه از روش مستقیم استفاده نشد و عصاره‌های حاصل از مواد مورد بررسی قرار گرفت. علت این امر محدودیت در قرار دادن مدل‌های ساختگی حاوی مواد بر روی سلول‌ها به مدت ۱ هفته بود. این کار تا ۳-۴ روز امکان‌پذیر بود، ولی بعد از این مدت در اثر رشد سلولی و آزاد شدن متابولیت‌های اسیدی و مصرف شدن مواد غذایی این محیط سلول‌ها قادر به ادامه زندگی نبودند. این موضوع می‌توانست نتایج حاصل از مطالعه را تحت تأثیر قرار دهد.

در بررسی مستقیم سلول‌های مجاور شده با عصاره‌ها در هیچ یک از مواد و در هیچ یک از زمان‌های مورد بررسی علائم مشخصی از مرگ سلولی دیده نشد و تمامی سلول‌ها در همه گروه‌ها به صورت تک لایه‌ای به کف ظرف چسبیده بودند.

در بررسی غیرمستقیم به روش NR، تمامی مواد مورد مطالعه در

پودر MTA ممکن است غشاء مخاط بینی، گلو و سیستم تنفسی فوقانی را تحریک نماید. همچنین استنشاق مقادیر زیاد MTA باعث ایجاد رسوبات نامطلوب در بینی می‌شود. اما با وجود تمامی عوارض، MTA یک ماده کاملاً زیست سازگار برای بافت‌های دهان بوده و نه تنها به خوبی توسط بافت‌ها تحمل می‌شود، بلکه ترمیم ضایعات و تشکیل استخوان و سمان در مجاورت MTA به خوبی نشان داده شده است (۱-۳). علت این امر احتمالاً کاربرد مقدار کم MTA در بافت می‌باشد. در ضمن احتمالاً اثرات مضر پوستی، مخاطی آن در مقادیر بالا و طولانی مدت به علت pH بالای ترکیب مرطوب آن می‌باشد که این اثر یکی از مزایای این ماده در بافت‌های پری اپیکال می‌باشد (۳،۶).

ماده دیگری که در این مطالعه با MTA مقایسه شد، MTA ساخته شده در ایران می‌باشد. بوالهروی و همکاران در مقایسه ریزنشست باکتریایی این ماده با MTA، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نکردند (۹).

همچنین پریخ و عزیزاده عطار ریزنشست این ماده، آمالگام و MTA را در ترمیم پرفوراسیون جانبی ریشه و فورکا بررسی کردند. نتایج مطالعه آنها اختلاف معنی‌دار بین MTA ساخت ایران و Pro Root MTA نشان نداد (۱۱). لطفی و فیاض‌پور ریزنشست اپیکال این ماده را بررسی کردند و باز هم تفاوت معنی‌دار بین این ماده و Pro Root MTA مشاهده نکردند (۱۰).

البته خواص بیولوژیک این ماده تا امروز به طور جامع بررسی نشده و مطالعات در مورد قابلیت پذیرش نسجی این ماده در حال انجام است. در این مطالعه سمیت سلولی دو ماده سیمان پرتلند و Root MTA با Pro Root MTA مقایسه شد. جهت بررسی از سلول فیبروبلاست L929 موش استفاده شد.

سلول‌های L929 موش از نوع سلول‌های دائمی بوده و به دلیل راحتی کار با این سلول‌ها و تکثیر خوب، اولین انتخاب در اکثر مطالعات سمیت سلولی می‌باشد (۱۶).

بررسی حیات سلول‌ها (Viability) در این مطالعه، هم به صورت مستقیم و هم غیر مستقیم انجام شد. در مشاهده مستقیم حیات سلول‌ها، خصوصیات سه گانه معرف مرگ سلولی در زیر میکروسکوپ معکوس بررسی شد. این خواص شامل گرد شدن سلول‌ها، جدا شدن

سلول‌های شمارش شده مجاور مخلوط تازه مواد، به طور معنی‌داری از گروه کنترل کمتر بودند (۶). ولی در مطالعه حاضر تمامی گروه‌های مربوط به لحظه مخلوط کردن، یا اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل منفی داشتند (سلول‌های زنده بیشتر از کنترل منفی) و یا بدون اختلاف معنی‌دار بودند.

در این مطالعه MTA ساخت ایران نتایج مطلوبی ارائه کرد و سمیتی برای سلول‌های L929 نداشت. مطالعه حاضر مانند مطالعات قبلی ثابت کرد که خواص بیولوژیک سلولی سیمان پرتلند و MTA مشابه می‌باشد (۲-۴ و ۷-۹). از آنجا که مطالعات سمیت سلولی از مطالعات پایه و اولیه در اثبات خصوصیات مطلوب یک ماده می‌باشد، بنابراین انجام مطالعات گسترده‌تر در زمینه قابلیت پذیرش نسجی این مواد به صورت *in vivo* و مطالعات تطابق حاشیه‌ای و ریزش در حیوانات و در نهایت مطالعات بالینی در انسان، می‌تواند به معرفی ماده‌ای با کیفیت مطلوب و ارزان و در دسترس همگان بیانجامد.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی تهران به شماره قرارداد ۱۳۰/۴۶۵۰ می‌باشد. بدینوسیله از کمک‌های مالی معاونت پژوهشی دانشگاه که منجر به اجرای این تحقیق گردید، صمیمانه تشکر می‌شود.

تمامی زمان‌ها با گروه کنترل مثبت اختلاف معنی‌داری داشتند. در مقایسه با گروه کنترل منفی گروه‌های مختلف یا اختلاف معنی‌دار نداشتند و یا با اختلاف معنی‌دار از گروه کنترل منفی نتایج بهتری ارائه دادند. در تمامی گروه‌های مورد مطالعه گروه کنترل مثبت و منفی اختلاف معنی‌داری نشان دادند.

از نتایج غیرمنتظره این مطالعه اختلاف معنی‌دار برخی گروه‌ها با کنترل منفی بود. این امر نشانگر وضعیتی بود که در آن محیط اطراف سلول‌ها و مواد مورد آزمایش نه تنها سمی نبودند، بلکه شرایط مطلوبی پدید آوردند که سلول‌ها به رشد و تکثیر خود ادامه دهند و میزان بقاء و تکثیر سلول‌ها حتی از گروه کنترل منفی نیز بیشتر باشد. برای توجیه این اثر، یک احتمال وجود دارد. شاید مخلوط کردن مواد با RPMI 1640 حاوی سرم و آنتی‌بیوتیک باعث ایجاد واکنش خاصی در مواد شده که رشد و تکثیر سلول‌ها را القاء می‌کند. البته اثبات این ادعا نیاز به مطالعات تکمیلی دارد. در هر صورت اگر علت این اتفاق معلوم شود، شاید بتوان به نتایج جدید و مطلوبی در مورد MTA رسید.

نتایج سمیت سلولی در لحظه مخلوط کردن مواد در این مطالعه، با نتایج مطالعه Saidon و همکاران تفاوت داشت. در مطالعه آنها سلول‌های مجاور شده با مواد، درست در نقطه تماس مرده بودند و پروتئین‌های محیط کشت در این ناحیه دناتوره شده بودند. اطراف این ناحیه یک لایه سلول لیز شده مشاهده شد و اطراف ناحیه لیز شده سلول‌ها به رشد نرمال خود ادامه دادند. این حالت هم در سیمان پرتلند و هم در MTA بدون اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. در ضمن

منابع:

- Huang TH, Yang CC, Ding SJ, Yan M, Chou MY, Kao CT. Biocompatibility of human osteosarcoma cells to root end filling materials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2005; 72(1): 140-5.
- Abdullah D, Ford TR, Papaioannou S. An evaluation of accelerated Portland cement as a restorative material. *Biomaterials* 2002; 23(19): 4001-10.
- Cohen S, Burns RC. *Pathways of the Pulp*. 8th ed. London: Mosby 2002.
- Estrela C. Antimicrobial and chemical study of MTA. Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. *Braz Dent J* 2000 11(1): 3-9.
- Holland R, de Souza V, Murata SS. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or Portland cement. *Braz Dent J* 2001; 12(2): 109-13.
- Saidon J, He J, Zhu O, Safavi K. Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 95(4): 483-9.
- Wucherpfennig AL, Green DB. Mineral Trioxide vs. Portland cement: two biocompatible filling materials. *J Endod* 1999; 25(4):308 (Abs).
- Holland R, Souza V, Nery MJ. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod* 1999; 25(3):161-6.
- بوالهری ب (استاد راهنما)، آثار ش، نوریان م، مرتضوی ج. بررسی مقایسه‌ای ریزش باکتریایی، میان نمونه خارجی MTA و نوع تولید داخل آن به عنوان ماده پرکننده انتهای ریشه. پایان نامه شماره ۸۲ دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان؛ ۸۰-۱۳۷۹.
- لطفی م (استاد راهنما)، فیاض‌پور ب. مقایسه ریزش چهار ماده پرکننده انتهای ریشه. پایان نامه شماره ۵۹۱ دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز. ۸۱-۱۳۸۰.
- پریخ م (استاد راهنما)، علیزاده عطار ع. بررسی مقایسه ریزش رنگ در سه ماده Pro Root MTA، Root MTA و آمالگام در ترمیم پرپوراسیون‌های جانبی ریشه و فورکا. پایان نامه شماره ۴۳۲ دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان. ۸۱-۱۳۸۰.
- Abrons HL, Peterson MR, Sanderson WT. Chest radiography in Portland Cement workers. *J Occup Environ Med* 1997; 39(11):1047-54.

- 13-** Yang CY, Huang CC. Effects of occupational dust exposure on the respiratory health of Portland cement workers. *J Toxicol Environ Health* 1996;49(6):581-8 (Abs).
- 14-** Yamamoto O, Nishio D, Tokui N. Six cases of occupational skin diseases caused by cement: considerations from the aspect of occupational dermatology. *J UOEH* 2001;23(2):169-80 (Abs).
- 15-** Noor H, Yap CL, Zolkepli O, Faridah M. Effect of exposure to dust on lung function of cement factory workers. *Med J Malaysia* 2000;55(2): 51-7 (Abs).
- 16-** Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials-advantages and limitations. *J Dent* 1994; 2(20): 506-11.
- ۱۷-** صادقین ا (استاد راهنما)، پرتوی م. بررسی اثر میتوژنیک L-dopa روی سلول‌های فیبروبلاست لیگمان پرپودنت انسان جهت حفظ دندان‌های Avulsed. پایان نامه شماره ۳۱۲-ت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران. ۱۳۷۷-۷۸.
- 18-** Celis JE. *Cell Biology*. 2nd ed. California USA: Academic press 1997.
- 19-** Osorio RM, Hefti A, Vertucci FJ. Cytotoxicity endodontic materials. *J of Endod* 1998; 24(2):91-6.