

# PERFORASYON TEDAVİSİNDE KULLANILAN ÇEŞİTLİ MATERYALLERİN SİTOTOKSİSİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

## Evaluation of Cytotoxicity of Various Materials Using For Treatment of Tooth Perforations

Esma Asuman ÇAVDAR TETİK\*

Meltem DARTAR ÖZTAN\*\*

### ÖZET

*Bu çalışmada diş perforasyonlarının tedavisinde kullanılan BA, MTA, Super EBA ve amalgamın L-929 hücre kültüründe MTT testi ile sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir.*

*Her bir materyalden 5 mm iç çapında ve 2 mm derinliğinde hazırlanan 15 adet örnek, hücre kültürü plakalarında, üzerine DMEM ilave edilerek 24, 48 ve 72 saat bekletilmiştir. Elde edilen ekstraksiyon sıvıları, L-929 hücre süspansiyonu içeren 96 gözlü hücre kültürü plakalarının her bir gözüne 100 µl yerleştirilmiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda tabletlerden ekstraksiyon sıvıları uzaklaştırılmış ve her bir göze MTT solüsyonu ilave edilerek karanlık bir ortamda 4 saat süre ile bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda spektrofotometrede 570 nm'de absorbanları ölçülmüştür.*

*MTT testi sonuçlarına göre 24 saatlik değerlendirmede BA ile MTA grupları arasında hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmezken bu iki grubun Super EBA ve amalgam gruplarından daha iyi sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Grupların 48 ve 72 saatlik değerlendirmelerinde BA grubu diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha yüksek canlılık oranı gösterirken, bu zaman noktalarında en düşük canlılık oranının Super EBA grubunda olduğu belirlenmiştir.*

### ABSTRACT

*The cytotoxic effects of some perforation repair materials as BA, MTA, Super EBA and amalgam was evaluated on L-929 cells with the MTT assay.*

*In the first part of this study, 5x2 mm cylinders of each material samples were prepared and placed in DMEM for 24, 48 and 72 hours. 100 µl of eluate was transferred to a 96-well plate containing L-929 cell suspension. After 24 hours incubation the extracts were removed from the wells, MTT solution was added to each well and kept in a dark environment for 4 hours. Subsequently, the spectrophotometric absorbance was measured at 570 nm using a spectrophotometer.*

*According to the results of MTT assay, there was no statistically significant difference between BA and MTA in the rates of cell viability at 24-hour evaluation. These two groups showed better results than Super EBA and amalgam. At 48 and 72-hour evaluation of the groups, BA group showed higher rate of cell viability than the other groups, on the other hand the lowest rate of viability was in the Super EBA group.*

*Anahtar kelimeler: Amalgam, BA, MTA, Super EBA, Sitotoksosite*

*Key words: Amalgam, BA, MTA, Super EBA, Cytotoxicity*

### GİRİŞ

Endodontik tedavinin temel amacı, kök kanal sisteminin kemomekanik işlemler sonunda bakterilerden tamamen arındırılması ve ardından hazırlanan boşluğun hermetik olarak doldurulmasıdır (1,2).

Endodontik perforasyon; preparasyon işlemi esnasında pulpa boşluğu ve periodonsiyum

\* Dr. Dt. Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı

\*\* Prof.Dr. Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı

arasında devamlı bir ilişkiye neden olan yapay bir açıklığın oluşturulması işlemidir (1-7).

Perforasyonlar endodontik tedavinin önemli komplikasyonlarından (8). Rezorpsiyon, çürük gibi patolojik durumlarda, kök kanal tedavisi sırasında veya restoratif işlemler sırasında (örn: post boşluğu hazırlanması) gelişen iatrojenik hatalarla oluşabilir (9). İyatrojenik perforasyonlar, pulpa odasının anatomisine dikkat edilmemesi ve anatomik varyasyonların bilgi ve deneyim eksikliği nedeniyle fark edilememesi sonucu oluşur (1,2). Bu tip perforasyonlar, giriş kavitesi açılması esnasında, kök kanal sisteminin mekanik preparasyon işlemi veya post yuvasının hazırlanması sırasında oluşabilir (3,4). Yaşla beraber pulpa odasında boyut olarak küçülme, kök kanallarında sklerozis görülebilir. Aynı zamanda travma sonucu veya abrazyon, atrisyon, erozyon, çürük veya restorasyonlar gibi etkenler sonucu irritana karşı cevap olarak oluşan kalsifiye dokulardaki artış pulpa dokusunun yapısında değişikliklere veya pulpa odasının tamamen kalsifiye olmasına neden olabilir. Bu tür olgularda perforasyon oluşma riski artmaktadır (5).

Literatürlerde perforasyonların görülme sıklığının %3-10 arasında olduğu rapor edilmiştir (6,10).

İyatrojenik perforasyonlar endodontik tedavi görmüş dişlerin yaklaşık %2-12' sinde meydana gelmektedir (11). Kvinnsland ve ark. (12)' a göre, iyatrojenik perforasyonların %53' ü post yuvası hazırlanırken, geri kalan %47' si rutin endodontik tedavi sırasında meydana gelmektedir.

Perforasyon tedavisinde prognozu etkileyen en önemli faktörlerden biri perforasyon alanının hermetik bir şekilde kapatılıp kapatılmadığıdır. Prognozunun iyi olabilmesi için perforasyonlar, perforasyon alanı ve gingival sulkus arasındaki bağlantıyı kesecek biyouyumlu bir materyalle hemen tamir edilmelidir (13). Bu tamir materyalleri osteogenezis ve sementogenezisi tetikleyebilen, biyolojik uyumlu olan, toksik ve karsinojenik olmayan, ulaşılabilir, uygulanması kolay ve fiyatı uygun olan ideal bir biyomateryalin gerekli özelliklerini karşılamalıdır (14).

Geçmişten günümüze kadar pek çok tamir materyali *in vivo* ve *in vitro* olarak perforasyon

tamirinde kullanılmıştır. Bunlar; amalgam, güta-perka, dentin bağlayıcı ajan, indiyum yaparak, hidroksilapatit, çinkofosfat siman, çinko-oksit öjenol içerikli dolgu materyalleri, dekal-sifiye dondurulmuş kemik parçacıkları, kalsiyum hidroksit, kalsiyum sülfat esaslı dolgu materyalleri, kompozit dolgu materyalleri, Paris alçısı, resin içerikli kanal dolgu materyali, siyanoakrilat siman, teflon disk, trikalsiyum-fosfat ve Mineral Trioksit Agregat'tır (MTA) (1-5, 14-16). Perforasyon tamiri amacıyla kullanılan diğer bir materyal de beyaz nanopartiküllü bir seramik sement olan BioAgregat (BA)'dır. Yapısında başlıca kalsiyum silikat, kalsiyum hidroksit ve hidroksiapatit bulundurulur ve içeriğindeki çoğu bileşen MTA' ya benzerdir (15,16).

Bu çalışmada; geleneksel perforasyon tamir materyalleri olan Super EBA, amalgam ve güncel materyaller olan BioAgregat, Mineral Trioksit Agregat'ın L-929 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin belirlenmesi ve birbirleriyle kıyaslanması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi amacı ile dört farklı perforasyon tamir materyali incelenmiştir. Bu materyaller:

- BioAgregat (BA, Innovative BioCeramix Inc., Vancouver, Canada)
- MTA (MTA Angelus, Prod. Odont. Ltda, Londrina, PR, Brazil)
- Super EBA (Harry J. Bosworth Co., Skokie, IL, U.S.A.)
- Amalgam (Tytin, Kerr Manufacturing Co., U.S.A.)

## Örneklerin Hazırlanması

Materyallerin örnek boyutlarını belirlerken, yüzey/vasat oranının 0.5 - 6 cm<sup>2</sup>/ml olması (ISO 10993-5:4.2.3.5, 1992) ve salınım aşamasında vasat ortamının örnekleri tümüyle çevreleyebilmesi ve polimerizasyonun tamamlanması hedeflenmiştir. Her bir materyalden 15 adet örnek, 5 mm (milimetre) iç çapında ve 2 mm derinliğinde steril teflon kalıplarda, üretici firmaların talimatları doğrultusunda, steril kabin (Class II Holten, Danimarka) içerisinde

aseptik şartlarda hazırlanmıştır. Bakteri, mantar ve maya kontaminasyonunu önlemek amacı ile deney öncesi örnekler 30 dakika UV (ultraviyole) ışınına tabii tutulmuştur. Bu işlem sonrasında deney materyallerinin salınım (ekstraksiyon) sıvıları elde edilmiştir.

Salınım sıvısını elde etmek amacı ile aseptik koşullar altında hazırlanan her gruba ait örnekler yine aseptik koşullar altında 6 gözlü hücre üretme kaplarına yerleştirilmiş ve yüzey/vasat oranı ( 0.5 - 6 cm<sup>2</sup>/ml ) dikkate alınarak üzerine DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) (Biochrom Ag, Almanya) besi ortamı konularak, %5 CO<sub>2</sub> (karbondioksit) içeren 37°C inkübatörde (Heracell, Almanya) 24, 48, 72 saatlik periyotlarda inkübasyona bırakılmıştır. Her bir inkübasyon süresi sonunda salınım sıvıları steril kabin içerisinde steril doku kültürü santrifüj tüplerine alınarak -20 °C' de muhafaza edilmiştir.

### Hücre Kültürü

Bu çalışmada, hücre olarak L-929 fare fibroblastı (L-929 HÜKÜK 95030802, Şap Enstitüsü, Ankara, Türkiye) kullanılmıştır. Hücreler saklama ortamları olan -196°C' den çıkarılarak 37°C' deki su banyosunda kısa sürede çözdürülmüş ve santrifügasyondan sonra, içinde %10 FBS (fötal sığır serumu) (Biochrom AG, Almanya) ve DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) besi ortamı ile T25 cm<sup>2</sup> hücre kültürü üretme kabına (Costar, Cambridge, MA, USA) alınmış ve 37°C, %5 CO<sub>2</sub> li etüve kaldırılmıştır.

Logaritmik üreme fazında olan, aktif ve yüzeyi %90-95 oranında kaplamış olan hücreler, tripsin/EDTA (%0,05 tripsin / %0,02 EDTA (etilen diamin tetraasetik asit)) (Biochrom AG, Almanya) karışımı ile 37°C' de 2-5 dakika inkübe edilerek yüzeyden ayrılmış ve hücre sayısını çoğaltmak amacı ile 3 adet T25 cm<sup>2</sup> hücre kültürü üretme kabına bölünerek subkültüre edilmiştir.

Hücreler yeterli yoğunluğa ulaşıncaya kadar yüzeyden ayrılarak, %10 FBS ve %1 antibiyotik içeren DMEM besi ortamı ile homojenize edilip mililitresinde 3×10<sup>4</sup> hücre/ml olacak şekilde bir hücre süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu hücre süspansiyonu 96 gözlü hücre üretme kaplarına 100 µl/göz olacak şekilde taksim edilmiştir ve %5 CO<sub>2</sub> li inkübatörde 24 saat

inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda 96 gözlü hücre üretme kaplarındaki hücreler doku kültürü mikroskopunda (Olympus CK40, Japonya) üremeleri ve ortamın sterilitesi yönünden kontrol edilmiştir. Kültür ortamındaki DMEM besi ortamı aspire edilerek uzaklaştırılmış ve inkübasyon süresi tamamlandıktan sonra MTT testi uygulanmıştır.

### MTT Testi ile Hücre Canlılığının Ölçülmesi

MTT ([3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] testi, canlı hücrelerin mitokondrilerinden salınan dehidrojenaz enziminin sarı renkteki suda çözünebilir tetrazolyum tuzunu (MTT, Sigma, USA) mor formazan (1-[4,5-dimethylthiazol-2-difenil formazan) boyasına redüksiyonuna dayanmaktadır. Oluşan formazan kristallerinin miktarı direkt olarak hücrelerdeki mitokondrial enzim aktivitesini göstermektedir. MTT boyası (Sigma, ABD) fenol kırmızısı içermeyen RPMI 1640 (Sigma, ABD) besi ortamı ile karıştırılarak, homojenize edilmiş ve final konsantrasyonunu 5 mg/ml olan stok MTT solüsyonu hazırlanmıştır. 24 saatlik inkübasyon sonrası, her bir gözdeki kültür ortamları uzaklaştırılarak yerlerine daha önceden hazırlanmış ve -20°C' de muhafaza edilen salınım sıvıları çözdürülerek 100 µl/göz olacak şekilde taksim edilmiş ve yine %5 CO<sub>2</sub> li inkübatörde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol grubu olarak, hücre plakaları gözlerine 100 µl %10 FBS içeren DMEM besi ortamı konulmuştur. Hücre kültürü plakaları 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası deney materyallerinin salınım sıvıları ortamdaki uzaklaştırılmış ve hücre üretme kaplarına 100µl/göz olacak şekilde DMEM besi ortamı ve 13 µl/göz MTT solüsyonu konularak karanlık bir ortamda 37°C' de 4 saat süre ile inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrası MTT solüsyonu aspire edilerek ortamdaki uzaklaştırılmıştır. 96 gözlü hücre üretme kaplarına izopropil alkol (Merck, Germany) 100µl/göz olarak konulup oluşan formazonun optik yoğunluğu 570 nm (nanometre) ve referans olarak 630 nm' de spektrofotometrede (LPB-Pharmacia, Sweden) okunarak belirlenmiştir. Tüm deney işlemleri ve MTT testi üç kez tekrarlanmıştır.

### İstatistiksel Analiz

24., 48. ve 72. saatlerde gruplar arasında farklılıkların olup olmadığını istatistiksel değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Her bir zaman periyodunda gruplar arasında fark bulunduğu post hoc testler kullanılarak farklılığı yaratan gruplar belirlenmiştir. P değeri 24. saat için 0,025, 48. saat için 0,024 ve 72. saat için 0,015' den küçük olanlar anlamlı kabul edilmiştir. Ayrıca her bir materyal için ölçüm zamanlarının karşılaştırılmasında Bonferroni düzeltilmeli Friedman testi kullanılmıştır. P değeri 0,0125' ten küçük olanlar anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

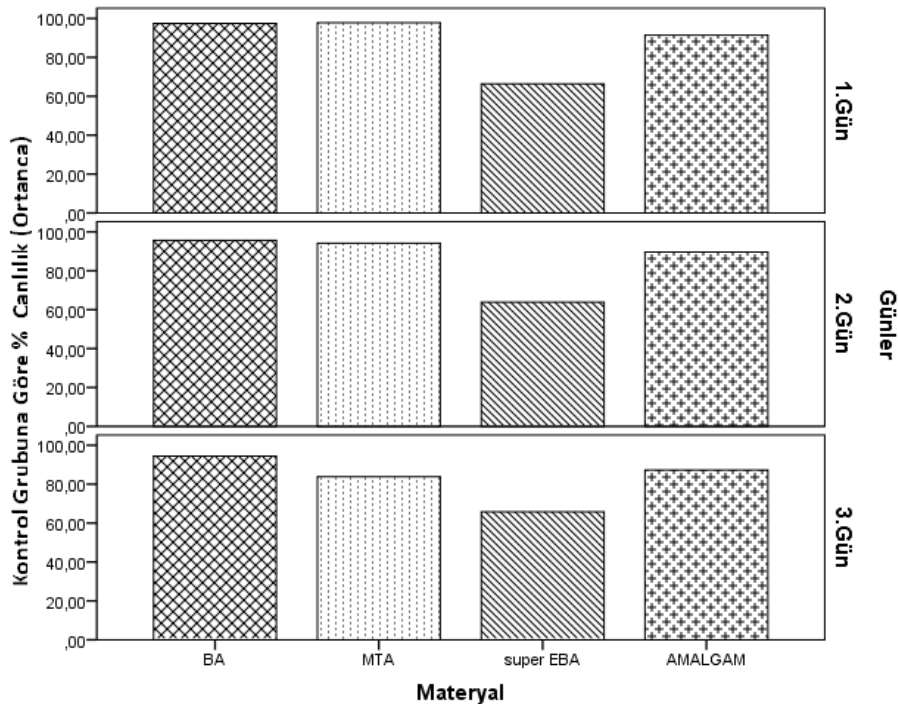
Çalışmamızda deney gruplarına ait salınım sıvılarının hücre kültürleri üzerine tatbikinden 24., 48. ve 72 saat sonraki MTT testi ile spektrofotometrede elde edilen optikal densite değerlerinin, kontrol grubu optikal densite değerlerine oranı (%) hücre canlılığı olarak ifade edilmiş ve her grubun kendi kontrol grubunun hücre canlılık oranlarının %100 olduğu kabul edilerek hesaplamalar yapılmıştır.

Çalışmamızdaki gruplara ait 24., 48. ve 72. saatteki hücre canlılık oranlarının ortanca (minimum-maksimum) Çizelge 1'de verilmiş ve grafiksel ifadesi Çizelge 2'de gösterilmiştir.

**Çizelge 1.** BA, MTA, Super EBA ve amalgam için 24., 48. ve 72. saatteki hücre canlılık oranlarının ortanca (minimum-maksimum) değerleri

Gruplar	24 saat	48 saat	72 saat
BA	97,5 (96,86-98,53)	95,67 (94,71-96,04)	94,46 (94,46-94,96)
MTA	97,8 (94,33-98,05)	93,06 (81,36-94,22)	83,82 (81,36-83,93)
Super EBA	66,35 (65,69-68,15)	63,83 (62,48-65,06)	65,84 (65,62-66,02)
Amalgam	91,44 (89,68-91,94)	89,63 (87,54-89,80)	87,3 (87,17-88,62)

**Çizelge 2.** BA, MTA, Super EBA ve amalgam için 24., 48. ve 72. saatteki hücre canlılık oranlarının grafiksel ifadesi



24 saatlik değerlendirmede hücre canlılık oranlarının sırasıyla BA=MTA>amalgam>Super EBA şeklinde olduğu gözlenmiştir. BA (%97,5) ile MTA (%97,8) grupları arasında hücre canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p=0,805$ ). BA ve MTA gruplarının sonuçları Super EBA (%66,35) ve amalgam (%91,44) grupları ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,025$ ).

Grupların 48 saatlik değerlendirmelerinde BA grubu (%95,67) diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha yüksek hücre canlılık oranı göstermiştir ( $p<0,024$ ). Bu zaman periyodunda en düşük canlılık oranının Super EBA (%63,83) grubunda olduğu ( $p<0,024$ ), MTA (%93,06) ve amalgam (%89,63) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ( $p=0,461$ ).

72 saatlik değerlendirmede gruplar arasında BA grubu (%94,46) en yüksek hücre canlılık oranını gösterirken; bunu sırasıyla amalgam (%87,3), MTA (%83,82) ve Super EBA (%65,84) gruplarının takip ettiği gözlenmiştir ( $p<0,015$ ). BA grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel yönden anlamlı bulunmuştur ( $p<0,015$ ).

Çalışmamızdaki her bir materyal için 24., 48. ve 72. saat ölçümlerinin karşılaştırılmasında Bonferroni düzeltilmeli Friedman testi kullanılmıştır. İstatistiksel sonuçlara göre 24. saatten 72. saate kadar olan zamana bağlı hücre canlılık oranındaki değişimlerde anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,0125$ ).

## TARTIŞMA

Endodontik perforasyonların tamirinde kullanılan materyaller, periodontal dokular ile doğrudan ilişkilidir. Perforasyon tedavisinin esas amacı hasar gören ataçmanın devamlılığını sağlamak veya yeniden oluşturmaktır. Yaralanan periodonsiyumdaki hasarı en aza indirmek için ideal perforasyon tamir materyalinin mekanik özelliklerinin en yüksek seviyede olması ve iyi bir biyolojik uyum sağlaması gerekmektedir (17). Bu nedenle, perforasyon tamir materyallerinin doku uyumlu olmaları, kök-kanal sistemi ve periapikal dokular arasın-

da iyi tıkkama sağlamaları (18,19) ve perforasyon bölgesinde osteogenezis ve sementogenezisi stimule etmeleri (13) çok önemlidir.

Günümüze kadar yapılan birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışmada perforasyon tamir materyallerinden MTA, Super EBA ve amalgam sitotoksik incelenmiştir. Fakat son yıllarda piyasaya sürülen ve perforasyon tamir materyali olarak da kullanılan BioAgregat hakkında literatürde yayınlanmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda; perforasyon tamir materyali olan ve geleneksel olarak kullanılan amalgam ve Super EBA ve başarılı sonuçlar elde edildiği bildirilen MTA ile yeni piyasaya sürülen BioAgregat'ın sitotoksik özellikleri *in vitro* olarak karşılaştırılmıştır.

*In vitro* deneylerle perforasyon tamir materyallerinin sitotoksikite çalışmalarının güvenilirlik ve tekrarlanabilirliği mümkündür (17). Hücre kültürü test yöntemleri bireysel faktörlerden etkilenmemeleri, materyaller arasında parametrik karşılaştırmalara olanak tanımaları, tekrarlanabilme özellikleri ve çalışma koşullarının standardizasyonunun sağlanabilmesi gibi nedenlerden dolayı tercih edilmektedir (20). Bu nedenle çalışmamızda BA, MTA, Super EBA ve amalgamın sitotoksikite *in vitro* hücre kültürü yöntemi ile incelenmiştir.

Sitotoksikite çalışmalarında günümüze kadar pek çok *in vitro* test yöntemi kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda hücre canlılığının ölçülmesi için bu testlerden biri olan MTT testi kullanılmıştır. MTT testi 1983 yılında Mosmann tarafından geliştirilmiştir (21). Bu test yöntemi, memeli hücrelerinin canlılığının ve proliferasyonunun ölçülmesi için kullanılan kolorimetrik bir test yöntemidir ve bunu canlı hücrelerin metabolik aktivitelerindeki değişimleri belirleyerek tayin eder (21).

Mosmann (21)'a göre deney materyali uygulandıktan sonra %90 ve üzeri hücre canlılığı varlığı sitotoksik etkinin olmadığı, %60-%90 arası hafif, %30-%59 arası orta ve %30 ve daha aşağısı ise şiddetli düzeyde sitotoksik olduğu şeklinde sınıflandırılır. Bu sınıflamaya göre çalışmamızın sonuçlarının 24 saatlik değerlendirmesinde BA (%97,5), MTA (%97,8) ve amalgam (%91,44)'ın sitotoksik olmadığı, Super EBA (%66,35)'nın ise hafif sitotoksik

etki gösterdiği söylenebilir. 48. saat değerlendirmelerine göre BA (%95,67) ve MTA (%93,06) yine sitotoksik etki göstermezken amalgam (%89,63) ve Super EBA (%63,83) hafif sitotoksik etki göstermiş, 72. saatte ise sadece BA (%94,46) sitotoksik etki göstermezken amalgam (%87,3), MTA (%83,82) ve Super EBA (%65,84) hafif sitotoksik etki göstermiştir.

Yapılan literatür araştırmasında BA ve MTA ile ilgili tüm sitotoksite çalışmalarında bu materyallerin kullanılan hücreler üzerinde çok düşük oranda sitotoksite gösterdiği veya hiç toksisite göstermediği bildirilmiştir (15, 22-25).

De Deus ve ark. (22), BA' nın toksik etkilerinin değerlendirilmesinde primer insan mezenseşimal hücrelerini kullanmışlar ve aynı örnekleri üç farklı test ile 24, 48 ve 72 saatlik periyotlarda değerlendirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre BA ile MTA' nın benzer sonuçlar verdikleri ve biyoyumlu oldukları bildirilmiştir.

Yuan ve ark. (24)' nın fare MC3T3-E1 osteoblast hücreleri üzerinde BA' nın sitotoksitesini ve mineralizasyona bağımlı gen ekspresyonuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında 24., 48. ve 72. saatlerde materyallerin hücrelere etkileri MTT testi ve kantitatif eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu analiziyle değerlendirilmiştir. MTT sonuçlarına göre hücre canlılığı ve çoğalmasında BA ve MTA grupları arasında kültür periyodu boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmamıştır.

Yan ve ark. (23), MTA ile karşılaştırmalı olarak BA' nın insan PDL fibroblastları ve fibroblastlarının farklılaşması üzerindeki etkisini MTT testi ile 1., 2. ve 3. günlerde ve kantitatif eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu analiziyle 3., 5. ve 7. günlerde değerlendirmişlerdir. MTT testi sonuçlarına göre, kültür periyodu boyunca BA grubunda hücre sayısının kontrol grubuna benzer olduğu, MTA grubunun ise fibroblast proliferasyonunu baskıladığı bildirilmiştir.

Çalışmamızın sonucunda BA ve MTA' nın biyoyumlu materyaller olduğu görülmüştür. Ancak BA' nın MTA' dan 48. ve 72. saatteki değerlendirmelerde daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir. MTA' nın yapısında trikal-

siyum silikat, dikalsiyum silikat, trikalsiyum alüminat, tetrakalsiyum alüminoferrit, kalsiyum sülfat ve bizmut oksit bulunur. Yapısındaki bu bizmut ve alüminyum iyonları oldukça yüksek oranda ratların osteosarkom hücreleri ve fibroblastlar üzerinde toksik bulunmuştur (26). Bu nedenle MTA' nın bizim çalışmamızda elde ettiğimiz hafif sitotoksik etkisi MTA' nın yapısından salınan bu bizmut ve alüminyum iyonlarına bağlı olabilir.

Keiser ve ark. (27)' nın insan PDL fibroblastlarının canlılığını MTT testi ile değerlendirdikleri çalışmalarında MTA, Super EBA ve amalgamın 24 saatlik salınım sıvılarını kullanmışlardır. Taze karıştırılmış örneklerde MTA en az toksisite gösterirken, 24 saatlik örneklerde en yüksek toksisiteyi Super EBA göstermiş amalgam ve MTA arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu çalışmanın bulguları bizim çalışmamızın bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Amalgam günümüze değin en sık tercih edilen retrograt dolgu ve perforasyon tamir materyali olmuştur. Amalgamların sitotoksik etkilerini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır (28,29). Amalgamın sitotoksitesini, amalgam yüzeyinden doku kültürü içerisine elementlerin salınımı ve bu elementlerin hücre gelişimini etkilemesiyle meydana gelir. Kaga ve ark. (28), amalgam yapısındaki gümüş ve civanın daha az sitotoksik olduğunu, çinko içeren amalgamların içermeyenlerden daha yüksek sitotoksite sergilediğini göstermişlerdir. Çalışmamızda kullandığımız amalgamın da çinko içermeyen bir amalgam olmasından dolayı sitotoksite göstermediği düşüncesindeyiz.

Çalışmamızın sonuçlarına göre en yüksek sitotoksiteyi Super EBA grubu göstermiştir. Super EBA' nın likitinde öjenol bulunur ve Super EBA' nın yapısından sürekli salınır (30). Konsantrasyonu 0,5 mM' den daha yukarı çıkıp arttıkça öjenol canlı PDL fibroblastlarının sayısını azaltır (Lin ve ark., 2004). Super EBA likitinin öjenol konsantrasyonu 2,32 M (molar) (%37,5) ( $1M=1\text{mol/L}=1000\text{ mol/m}^3=1000\text{mM}$ ) civarındadır (31).

Bu çalışmanın verilerine dayanarak Bio-Aggregate'ın üstün biyoyumluluk özellikleri nedeniyle perforasyon tamir materyallerine iyi bir alternatif olduğu sonucuna varılmıştır.

**KAYNAKLAR**

1. JEW, R.C., WEINE, F.S., KEENE, J.J., SMULSON, M.H. (1982). A histological evaluation of periodontal tissues adjacent to root perforations filled with cavit. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **54**:124-135
2. ALHADAINY, H.A. (1994). Root perforations: A review of literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **78**:368-374
3. AGUIRRE, R., ELDEEB, M.E., ELDEEB, M.E. (1986). Evaluation of the repair of mechanical furcation perforations using amalgam, gutta-percha or indium foil. *J Endod* **12**:249-256
4. MOLONEY, L.G., FEIK, S.A., ELLENDER, G. (1993). Sealing ability of three materials used to repair lateral perforations. *J Endod* **19**: 59-62
5. ALHADAINY, H.A., HIMEL, V.T. (1994). An in vitro evaluation of plaster of paris barriers used under amalgam and glass ionomer to repair furcation perforations. *J Endod* **20**: 449-452
6. FUSS, Z., TROPE, M. (1996). Root perforations: classification and treatment choices based on prognostic factors. *Endod Dent Traumatol* **12**:255-264
7. MENTE, J., HAGE, N., PFEFFERLE, T., KOCH, M.J., GELETNEKY, B., DREYHAUPT, J., MARTIN, N., STAEBLE, H.J. (2010). Treatment outcome of mineral trioxide aggregate: Repair of root perforations. *J Endod* **36**:208-213
8. YILDIRIM, G., DALCI, K. (2006). Treatment of lateral root perforation with mineral trioxide aggregate: a case report . *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **102**: e55-e58
9. RODA, R.S. (2001). Root perforation repair: surgical and non-surgical management. *Pract Proced Aesthet Dent* **13**:467-472
10. ELEFTHERIADIS, G.I., LAMBRIANIDIS, T.P. (2005). Technical quality of root canal treatment and detection of iatrogenic errors in an undergraduate dental clinic. *Int Endod J* **38**:725-734
11. FARZANEH, M., ABITBOL, S., FRIEDMAN, S. (2004). Treatment outcome in endodontics: the Toronto study. Phases I and II: Orthograde retreatment. *J Endod* **30**:627-633
12. KVINNSLAND, I., OSWALD, R.J., HALSE, A., GRONNINGSAETER, A.G. (1989). A clinical and roentgenological study of 55 cases of root perforation. *Int Endod J* **22**:75-84
13. HOLLAND, R., OTOBONI FILHO, J.A., de SOUZA, V., NERY, M.J., BERNABE, P.F.E, DEZAN JUNIOR, E. (2001). Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. *J Endod* **27**:281-284
14. PITT FORD, T.R., TORABINEJAD, M., MC KENDRY, D.J., HONG, C.U., KARIYAWASAN, S.P. (1995). Use of mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **79**:756-763
15. ZHANG, H., PAPPEN, F.G., HAPPASALO, M. (2009a). Dentin enhances the antibacterial effect of mineral trioxide aggregate and bioaggregate. *J Endod* **35**:221-224
16. PARK, J.W., HONG, S.H., KIM, J.H., LEE, S.J., SHIN, S.J. (2010). X-Ray diffraction analysis of White ProRoot MTA and Diadent BioAggregate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **109**:155-158
17. TAI, K.W., CHANG, Y.C. (2000). Cytotoxicity evaluation of perforation repair materials on human periodontal ligament cells in vitro. *J Endod* **26**: 395-397
18. TORABINEJAD, M., HONG, C.U., PITT FORD, T.R., KARIYAWASAM, S.P. (1995d). Tissue reaction to implanted Super-EBA and mineral trioxide aggregate in the mandible of guinea pigs: a preliminary report. *J Endod* **21**:569-571
19. TORABINEJAD, M., PITT FORD, T.R., ABEDI, H.R., KARIYAWASAM, S.P., TANG, H.M. (1998). Tissue reaction to

- implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. *J Endod* **24**:468-471
20. SCHMALZ, G. (1997). Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Investig* **1**:154-162
  21. MOSMANN, T. (1983) Rapid calorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* **65**:55-63
  22. DE DEUS, G., CANABARRO, A., ALVES, G., LINHARES, A., SENNE, M.I., GRANJEIRO, J.M. (2009). Optimal cytocompatibility of a bioceramic nanoparticulate cement in primary human mesenchymal cells. *J Endod* **35**:1387-90
  23. YAN, P., YUAN, Z., JIANG, H., PENG, B., BIAN, Z. (2010). Effect of bioaggregate on differentiation of human periodontal ligament fibroblasts. *Int Endod J* **43**:1116-1121
  24. YUAN, Z., PENG, B., JIANG, H., BIAN, Z., YAN, P. (2010). Effect of bioaggregate on mineral-associated gene expression in osteoblast cells. *J Endod* **36**:1145-1148
  25. MUKHTAR-FAYYAD, D. (2011). Cytocompatibility of new bioceramic-based materials on human fibroblast cells (MRC-5). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **112**:e137-e142
  26. DI VIRGILIO, A.L., REIGOSA, M., DE MELE, M.F. (2009). Response of UMR 106 cells exposed to titanium oxide and aluminum oxide nanoparticles. *J Biomed Mater Res Part A* **92**:80-86
  27. KEISER, K., JOHNSON, C.C., TIPTON, D.A. (2000). Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *J Endod* **26**: 288-291
  28. KAGA, M., SEALE, N.S., HANAWA, T., FERRACANE, J.L., WAITE, D.E., OKABE, T. (1991). Cytotoxicity of amalgams, alloys, their elements and phases. *Dent Mater* **7**:68-72
  29. PSARRAS, V., WENNBERG, A., DORAND, T. (1992). Cytotoxicity of corroded gallium and dental amalgam alloys: An in vitro study. *Acta Odontol Scand* **50**:31-36
  30. IMAZATO, S., HORIKAWA, D., OGATA, K., KINOMOTO, Y., EBISU, S. (2006). Response of MC3T3-E1 cells to three dental resin-based restorative materials. *J Biomed Mater Res* **76A**:765-772
  31. LIN, C.P., CHEN, Y.J., LEE, Y.L., WANG, J.S., CHANG, M.C., LAN, W.H., CHANG, H., TAI, T.F., LEE, M.Y., LIN, B.R., JENG, J.H. (2004). Effects of root-end filling materials and eugenol on mitochondrial dehydrogenase activity and cytotoxicity to human periodontal ligament fibroblasts. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* **71**:429-44

**Yazışma Adresi:**

Ankara Üniversitesi  
 Diş Hekimliği Fakültesi  
 Endodonti Anabilim Dalı  
 Ankara/ TÜRKİYE