

CAM İYONOMER ESASLI İKİ KÖK KANAL DOLGU PATININ SİTOTOKSİSİTE VE GENOTOKSİSİTESİNİN İN VİTRO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

CYTOTOXICITY AND GENOTOXICITY EVALUATION OF TWO GLASS IONOMER BASED ROOT CANAL SEALERS, IN VITRO

Hülya ERTEN CAN *,
Oya BALA *

Güven KAYAOĞLU †,
Hamza OKUR ‡

ÖZET

Bu çalışmanın amacı cam iyonomer esaslı iki kök kanal dolgu patının (Ketac-Endo ve Endion) sitotoksosite ve genotoksitesinin in vitro olarak değerlendirilmesidir. Hazırlanan materyaller 1 gün ve 1 hafta sürelerle sertleşmeleri için nemli ortamda bırakıldıktan sonra 24, 48 ve 72 saatlik etkileri L 929 fare fibroblast hücreleri üzerinde Flow Cytometry yöntemi kullanılarak incelendi. Elde edilen veriler %95 güvenle, iki oranın farkına ilişkin hipotez testleri ile analiz edildi. 24 saatlik hücre kültüründe Endion'un belirgin olarak daha sitotoksik olduğu görüldü ($p<0.05$). Diğer sürelerde de Endion daha sitotoksik ve genotoksik bulunmakla birlikte anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p>0.05$). Bu çalışmanın sonuçlarına göre Ketac-Endo'nun Endion'a oranla daha biyouyumlu bir kök kanal dolgu patı olduğunu ve bu iki kök kanal dolgu patı arasındaki toksisite farkının içerdikleri katkı maddelerine bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Cam iyonomer esaslı kök kanal dolgu patları, Sitotoksosite, Genotoksosite

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the cytotoxicity and genotoxicity of two glass ionomer based root canal sealer (Ketac-Endo and Endion), in vitro. Mixed materials were left for setting in a moist chamber for 1 day and 1 week. 24, 48 and 72 hours of cytotoxic and genotoxic effects on L 929 mouse fibroblast cells were determined performing the Flow Cytometry assay. Acquired data was analysed conducting hypothesis tests related to the differences of two ratios, at the 95% level of confidence. 24 hours of cell cultures with Endion indicated significantly greater cytotoxicity ($p<0.05$). For the other period Endion was found more cytotoxic and genotoxic, however no statistical significance was evident ($p>0.05$). As a result we may conclude that Ketac-Endo is a more biocompatible root canal sealer than Endion. The toxic differences between these two glass ionomer based root canal sealers may mainly be attributed to the ingredient variations of the preparations.

Key words: Glass-ionomer based root canal sealer, Cytotoxicity, Genotoxicity

* Gazi Üniversitesi, Dişhekimliği Fakültesi, Diş Hastalıkları ve Tedavi Anabilim Dalı Doç. Dr.

† Gazi Üniversitesi, Dişhekimliği Fakültesi, Diş Hastalıkları ve Tedavi Anabilim Dalı Dt.

‡ Hacettepe Üniversitesi Gen Tedavi Merkezi

GİRİŞ

Endodontik tedavide kullanılan kök kanal dolgu materyallerinin periapikal dokularla direkt temas halinde bulunmaları söz konusu olduğundan, periapikal dokularda irritasyona neden olmamaları, tedavi sonrasında beklenen iyileşmeyi durdurmamaları veya geciktirmemeleri, kısacası biyoyumlu materyaller olmaları istenmektedir.

Kök kanal dolgu patlarının biyoyumlulukları çok sayıda sitoksisite çalışması ve daha az sayıda genotoksisite çalışması ile incelenmiştir^{1,3,6}. Yapılan çalışmalar doğrultusunda genel olarak test edilen tüm kök kanal dolgu patlarının az yada çok toksik olduğu ve toksisitenin sertleşme zamanı ile ters orantı gösterdiği anlaşılmakla beraber çalışmalar arasındaki metodoloji farklılıklarından dolayı patların toksisitesine dair kesin bir sıralama yapmak mümkün olamamaktadır.

Cam iyonomer siman ilk defa 1990'lı yılların başında kök kanal dolgu patı olarak Ketac-Endo adında piyasaya sürülmüştür. Bu patın değişik özelliklerini inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda Ketac-Endo'nun biyoygun olduğu, diş yapılarına kimyasal olarak bağlanabilmesinden dolayı kırılmaya karşı kökleri dirençli kıldığı, dentine iyi adezyon özelliği gösterdiği, uzun bir periyotta Florid salınımı yaptığı, bunun da bakteriyel sızıntının azalmasına neden olduğu bildirilmiştir. Bu özelliklerinin yanısıra, patın sertleşme süresininin kısa olduğu, dolayısıyla hekimin çalışma süresininin kısıtlı olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır^{5,6,9,10,12,13,14,15}. Patın bu olumsuz özelliğini ortadan kaldırabilmek amacıyla son yıllarda, toz şeklinde bulunan ve distile su ile karıştırılarak hazırlanan yeni bir cam iyonomer esaslı kanal dolgu patı olan Endion geliştirilmiştir. Ancak bu patın biyoygunluğu ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı, 1 gün ve 1 hafta sertleşme sürelerinde Ketac-Endo ve Endion kök kanal dolgu patlarının sitotoksisite ve genotoksisitelerinin zamana bağlı olarak değerlendirilmesidir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Örneklerin Hazırlanması

Bu çalışmada Ketac-Endo[§] ve Endion[¶] kök kanal dolgu patları kullanıldı. Patlar üretici firmaların talimatlarına uygun hazırlanarak 4mm çapında ve 3mm yüksekliğinde polistren kalıplara yerleştirildi. Gruplara ait örneklerin bir bölümü 1 gün diğer bölümü 1 hafta süresince 37°C'de % 95 nemli ortamda sertleşmeye bırakıldı. Bu süreler sonunda sertleşen patlar kalıplardan çıkartıldı.

Fibroblast Hücre Kültürü

%10'luk Dimetilsülfoksit (DMSO) içinde -196°C'de donmuş halde bulunan L 929 fare fibroblast hücreleri[†] 37°C'ye getirildikten sonra 2 defa DMEM ile yıkandı. Fibroblastlar DMEM içine konularak etüvide enkübe edildi. Tripsinizasyon ile toplanan hücreler 24 gözlü mikroplyetlere her gözde 2x10⁵ canlı hücre olacak şekilde aktarıldı. Hazırlanan pat örnekleri bu ortama hücrelerle kontakt halinde olacak şekilde yerleştirilerek 24, 48 ve 72 saat enkübe edildiler. Çalışma üç kere tekrarlanarak yürütüldü.

Sitotoksisitenin Değerlendirilmesi

Tripsinizasyon ile toplanan hücreler Etidium Bromide ve Acridine Orange ile boyanarak floresans mikroskop^{**} ile sitotoksisite bakımından incelendi. Bu incelemede canlı hücreler Etidium Bromide ile yeşil floresans ölü hücreler ise Acridine Orange ile kırmızı-turuncu floresans verdiler. Boyama yapıldıktan sonra canlı ve cansız hücrelerin sayımları yapıldı.

Genotoksisitenin Değerlendirilmesi

Hücreler tripsinizasyondan sonra 100ml'de 1x10⁵ canlı hücre olacak şekilde DMEM ile süspanse edildi. Bu süspansiyondan 100ml alınarak Flow Cytometry (Coulter Elite-ABD) cihazının tüplerine aktarıldı ve üzerlerine Triton X ve 1mg/ml Rnase solüsyonlarından 100ml eklendi. 800 devirde vortexlendikten 5 dakika sonra 1ml Propidium Iodide-400mg/ml solüsyonu eklendi. 30 dakika oda ısısında ve karanlıkta enkübe edildikten sonra Flow Cytometry cihazı ile genotoksisite incelendi.

[§] ESPE- Almanya

[¶] VOCO- Almanya

[†] ATCC-NCTC CLONE 929

^{**} Nikon-Japonya

BULGULAR

1 gün ve 1 hafta sertleşmeye bırakılan patların hücre kültürlerindeki 24, 48 ve 72. saatlerdeki sitotoksik ve genotoksik etkileri Tablo I ve II'de gösterilmektedir.

Sitotoksosite

1 gün ve 1 haftalık sertleşme süreleri sonunda 24 saatlik hücre kültürlerinde Ketac-Endo'ya oranla Endion'un daha sitotoksik olduğu tespit edildi ($p < 0.05$).

1 gün ve 1 haftalık sertleşme süreleri sonunda 48 ve 72 saatlik hücre kültürlerinde Endion'un daha sitotoksik olduğu, ancak aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p > 0.05$).

Ketac-Endo ve Endion'un 1 gün ve 1 hafta sertleşen örneklerini kendi içlerinde karşılaştırdığımızda aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($p > 0.05$).

Tablo I. 1 gün ve 1 hafta sürelerle sertleşmeye bırakılan patların 24, 48 ve 72. saatlerdeki sitotoksik etkileri canlı hücrelerin yüzdesi esas alınarak verilmiştir. (a ve b istatistiksel farklılığın olduğu gruplar.

1 GÜN SERTLEŞME SONRASI		
	KETAC-ENDO	ENDION
24 SAAT	% 90 a	% 80 a
48 SAAT	% 80	% 75
72 SAAT	% 55	% 50
1 HAFTA SERTLEŞME SONRASI		
	KETAC-ENDO	ENDION
24 SAAT	% 90 b	% 80 b
48 SAAT	% 85	% 75
72 SAAT	% 65	% 60

Tablo II. 1 gün ve 1 hafta sürelerle sertleşmeye bırakılan patların 24, 48 ve 72. saatlerdeki genotoksik etkileri DNA kırılması gösteren hücrelerin yüzdesi esas alınarak verilmiştir. (c ve d istatistiksel farklılığın olduğu gruplar.

1 GÜN SERTLEŞME SONRASI		
	KETAC-ENDO	ENDION
24 SAAT	% 0	% 0
48 SAAT	% 17 c	% 20 d
72 SAAT	% 27	% 35
1 HAFTA SERTLEŞME SONRASI		
	KETAC-ENDO	ENDION
24 SAAT	% 0	% 0
48 SAAT	% 0 c	% 0 d
72 SAAT	% 19	% 25

Genotoksosite

1 gün ve 1 haftalık sertleşme sürelerinde, 24, 48 ve 72 saatlik hücre kültürlerinde Endion'un daha genotoksik olduğu ancak aralarındaki farklılığın anlamlı olmadığı saptandı ($p > 0.05$) (Resim 1 ve 2).

DNA kırılmaları her iki pat için 1 gün sertleşen örneklerin 48. saatlik gözlem periyodunda, 1 hafta sertleşen örneklerin ise 72. saat gözlem periyodunda ortaya çıktığı belirlendi.

TARTIŞMA

Cam iyonomer esaslı kök kanal dolgu patlarının biyoyoumluluğunun araştırılması amacıyla daha çok hücre kültürü çalışmaları yapılmış olup genotoksosite ile ilgili çalışma literatürde bulunmamaktadır.

Beltes ve arkadaşları¹ Ketac-Endo ve Endion'un sitotoksitesini BHK 21 / C 13 hamster böbrek fibroblast hücre kültürü kullanılarak test ettikleri çalışmalarında Ketac-Endo'nun hücre proliferasyonunu inhibe etmediğini ve oldukça biyoyoumlu bir materyal olduğunu, buna karşılık Endion'un oldukça sitotoksik olduğu kanısına varmışlardır.

Bizim çalışmamızın sonuçları da bu çalışma ile paralellik göstermekte olup, bu iki materyal arasındaki toksisite farklılığının Endion'un içeriğine bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre sitotoksosite ve genotoksosite bakımından Ketac-Endo'nun Endion'dan daha iyi olduğu, ancak 24. saatteki anlamlı fark dışında diğer periyotlarda istatistiksel farklılık tespit edilememiştir. Literatürde de Ketac-Endo'nun biyoyoumluluğunu onaylayan bir çok araştırma mevcuttur^{4,6,11}.

Daha önce yapmış olduğumuz benzer bir çalışmada, Ketac-Endo ve Endion'un epoksi rezin esaslı (AH26 ve AH Plus), kalsiyumhidroksit esaslı (Sealapex) ve çinkooksit öjenol esaslı (Tubliseal) kök kanal dolgu patları ile karşılaştırıldığında tüm periyotlarda en az sitotoksosite ve genotoksosite gösteren pat olduğu ve Endion'un Ketac-Endo'ya oranla daha toksik ve genotoksik olduğu sonucu elde edilmiştir¹.

Erten Can ve arkadaşları³ insan periodontal ligament hücresi kullanarak yaptıkları hücre kültürü çalış-

malarında Ketac-Endo'yu AH26, Sealapex ve Tubliseal ile karşılaştırdıklarında hücre ölümüne ve dejenerasyonuna işaret eden alkalenfosfataz ve Laktatdehidrojenaz enzimlerinin salımının en az olarak Ketac-Endo grubunda meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Ersev ve arkadaşları² L 929 fare fibroblast hücre kültürü kullandıkları çalışmalarında Ketac-Endo'nun çok az sitotoksik etki gösterdiğini, 1 hafta sertleşen örneklerin 1 gün sertleşen örneklerden daha az hücre ölümüne yol açtığını, diğer taraftan Salmonelle typhmurium türleri üzerinde Ketac-Endo'nun Ames testi yapıldığında genotoksik etki yaratmadığını saptamışlardır.

Araştırmamızın Ketac-Endo'ya ait sitotoksikite ile ilgili bölümü Ersev ve arkadaşlarının çalışmalarıyla uyumlu olmakla beraber, Flow Cytometry ile değerlendirdiğimiz genotoksikite bulguları ile ters düşmektedir. Bu durumun kullanılan metod farkından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar kantitatif değerler vermekten daha çok kalitatif bilgiler sağlamakla beraber, köpeklerde yapılan bir toksisite çalışmasında Ketac-Endo'nun belirgin olarak mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonuna neden olduğu ancak çinkooksitöjenol içerikli kök kanal dolgu patından daha iyi sonuçlar verdiği tespit edilmiştir^{7,8}.

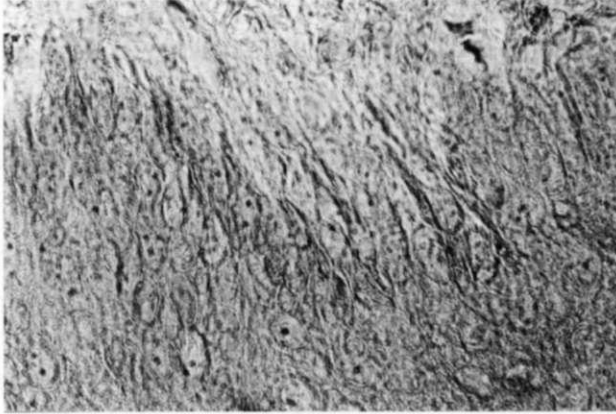
Farelerde yapılan bir implantasyon çalışmasında ise Ketac-Endo'nun Tubliseal'a oranla dokular tarafından daha iyi tolere edildiği saptanmıştır.

Bu bulgular doğrultusunda in vitro şartlar ile iyileşme ve savunma mekanizmalarının işler durumda olduğu in vivo şartlar arasında materyalin tolere edilebilmesi açısından farklılıklar olmakla beraber cam iyonomer esaslı kök kanal dolgu patlarının endodontik tedavide umut verici olacağını düşünmekteyiz.

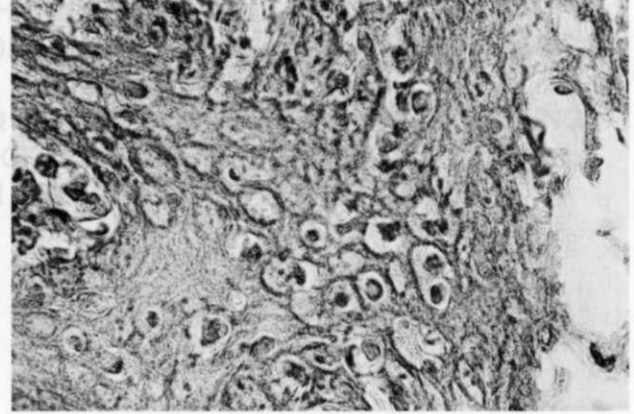
KAYNAKLAR

1. Beltes P, Koulaoudou E, Kolokuris I, Kortsaris AH. In vitro evaluation of the cytotoxicity of two glass-ionomer root canal sealers. J Endodon 23:572-574, 1997.
2. Ersev H, Schmalz G, Bayırlı G, Schweikl H. Cytotoxic and mutagenic potencies of various root canal filling materials in eukaryotic and prokaryotic cells in vitro. J Endodon 25:359-363, 1999.

3. Erten Can H, Bala O, Türköz E, Can M, Okur H. Değişik kök kanal dolgu patlarının periodontal ligament hücrelerine etkileri. GÜ Diş Hek Fak Derg 16:19-25, 1999.
4. Erten Can H, Kayaoğlu G, Bala O, Okur H. Değişik içerikli kök kanal dolgu patlarının sitotoksikite ve genotoksikitesinin in vitro olarak değerlendirilmesi. GÜ Diş Hek Fak 2. Uluslararası Kongresi 4-6 Haziran, Ankara, Poster no: 45.
5. Görgül G, Bala O, Bayraktar A. Değişik kök kanal dolgu maddelerinin dentin duvar adaptasyonunun scanning elektron mikroskopu (SEM) ile incelenmesi. AÜ Diş Hek Fak Derg 23:161-165, 1996.
6. Jonck LM, Grobbelaar OJ, Strating H. Biological evaluation of glass-ionomer cement (Ketac-O) as an interface material in total joint replacement. A screening test. Clin Mat 4:201-204, 1989.
7. 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 22:395-398, 1996.
8. Leonardo MR, Almeida WA, Silva LAB, Utrilla LS. Histological evaluation of the response of apical tissues to glass-ionomer and zinc oxide-eugenol based sealers in dog teeth after root canal treatment. Endodon Dent Traumatol 14:257-261, 1998.
9. Oliver CM, Abbott PV. An in vitro study of apical and coronal microleakage of laterally condensed gutta percha with Ketac-Endo and AH-26. Aust Dent J 25:603-604, 1999.
10. Powis DR, Folleras T, Merson SA, Wilson AD. Improved adhesion of a glass-ionomer cement to dentine and enamel. J Dent Res 61:1416-1422, 1982.
11. Ray H, Seltzer S. A new glass-ionomer root canal sealer. J Endod 17:598-603, 1991.
12. Saunders WP, Saunders EM, Herd H, Stephens E. The use of glass ionomer as a root canal sealer- a pilot study. Int Dent J 25:238-244, 1992.
13. Swartz ML, Philips RW, Clark HE. Long term fluoride release from glass-ionomer cements. J Dent Res 63:158-160, 1984.
14. Tidswell HE, Saunders EM, Saunders WP. Assessment of coronal leakage in teeth root filled with gutta percha and a glass ionomer root canal sealer. Int Endodon J 27:208-212, 1994.
15. Wilson AD, Kent BE. A new translucent cement for dentistry. Brit Dent J 132:133-135, 1972.



Resim 1. Ketac-Endo grubuna ait canlılıklarını yitirecek piknotik değişimler gösteren L 929 fare fibroblast hücreleri.



Resim 2. Endion grubuna ait canlılıklarını yitirecek piknotik değişimler gösteren L 929 fare fibroblast hücreleri.

Hu çalışmanın amacı, intrakoronel ağartmada kullanılan %35'lik hidrojen peroksit'in ısı ve ışık ile aktivasyonu'nun kompozit zemin restorasyonlarına mikrosızıntılarına olan etkilerinin değerlendirilmesidir. Çalışmada 60 ekstrakte edilmiş, sağlıklı, standart diş kullanıldı. Standart giriş kavileri açılarak, kırık kanal dolguları yapıldı. Birinci gruba restorasyon peroksit emilim için pamuk pedelleri dişlerin koronal kavilerine yerleştirilerek 99°C'lik su banyosunda 1 dakika süreyle ve her seferinde solüsyon yenileri ile 1 dakika süreyle ısı ve ışık gücüyle aktiv su altında yıkandı ve kompozit restorasyon yapıldı. İkinci gruba restorasyon peroksit emilim için pamuk pedelleri dişlerin koronal kavilerine yerleştirilerek, bleaching modunda 10 saniye süreyle, 1'er dakikalık aralıklarla ve her seferinde solüsyon yenileri ile 1 dakika süreyle, aktiv su altında yıkandı ve kompozit restorasyon yapıldı. Diğer 10 diş ise kontrol grubu olarak kullanıldı. Dişler 48 saat süreyle %0.5'lik basic fuchsin boyasıyla boyandı. Boya penetrasyonları stereomikroskop altında x10 büyütme ile değerlendirildi. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans testi ile yapıldı. Hidrojen peroksit'in ısı ve ışık ile aktive edildiği gruplar ile kontrol grupları arasında ve her kompozit zemin malzeme karşılaştırılmasında, aralarında istatistiksel olarak farklık bulunduğu belirlendi (p<0.05). Mikrosızıntı kontrol gruplarında, hidrojen peroksit'in ısı ve ışık ile aktive edildiği gruplara oranla daha az olduğu görüldü.

Yazışma Adresi

Doç. Dr. Hülya ERTEN

G.Ü. Diş Hek. Fak. Diş Hast. Ve Ted. A.D.

8. cad. Emek/ ANKARA

Tel: 212 62 20 / 216

e-mail: sherten35@yahoo.com

Anahtar kelimeler: intrakoronel ağartma, omocer, hibrit kompozit, mikrosızıntı

SUMMARY

The aim of this study, was to evaluate the effects of light and heat activation of 35% hydrogen peroxide during intracoronel bleaching, to microleakage of composite resin restorations. In this study, 60 extracted intact, human incisor teeth were used. Standardized access cavities were prepared and root fillings were done. In group 1, the process was accomplished by placing the cotton pellets into the coronal cavities and heating with the external source (Syteon II) to 99°C for 1 minute and repeating this heating 4 times by giving 1 minute intervals and using fresh solution each time. In group 2, the process was accomplished by placing the cotton pellets saturated with hydrogen peroxide into the coronal cavities and light-curing for 10 seconds and repeating this curing 4 times, by giving 1 minute intervals and using fresh solution each time. The cavities were rinsed under running tap water for 1 minute and restored with composite resin. The other 10 teeth to which no hydrogen peroxide and heat or light were applied were used as control group. All teeth were stained in 0.5% basic fuchsin solution for 48 hours and then sectioned buccolingually. The dye penetration level was examined under x10 magnification stereomicroscope. Statistical analysis was conducted using one way variance analysis. Statistically significant results were obtained in hydrogen peroxide groups activated by heat and light when compared with the control groups of both composite resin materials (p<0.05). It was found that the microleakage in control groups were less when compared to hydrogen peroxide groups activated with heat and light.

Key words: intracoronel bleaching, omocer, hibrit composite, microleakage

Gazi Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Diş Hastalıkları ve Tedavi Anabilim Dalı Doç. Dr.

† Gazi Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Diş Hastalıkları ve Tedavi Anabilim Dalı Dt.