

مقایسه سمیت سیلرهای Sure-seal root و Adseal بر روی سلول های فیبروبلاست موش: مطالعه آزمایشگاهی

دکتر اعظم حدادی کوهسار^۱، دکتر محمد شکرزاده^۲، دکتر مرجان فلاح^۳، دکتر فاطمه شاکری^{۴*}

۱-استادیار، گروه اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲-استاد، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳-استادیار گروه سم شناسی و فارماکولوژی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

۴-دندانپزشک، ساری، ایران

پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۵/۱

اصلاح نهایی: ۱۴۰۲/۴/۳

وصول مقاله: ۱۴۰۱/۱۱/۱۸

Cytotoxicity Comparison of Sure-seal root and Adseal Sealers on mouse fibroblast Cells: Invitro study

Azam haddadi kohsar¹, Mohammad Shokrzadeh², Marjan Fallah³, Fatemeh Shakeri^{*4}

1- Assistant Professor, Department of Endodontics, Faculty of Dentistry, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Irani

2- Professor, Department of Toxicology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

3- Assistant Professor Department of Toxicology and Pharmacology Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

4-Dentist, Sari, Iran

Received: January 2023 Accepted: August 2023

Abstract

Background and Aims: Biocompatibility of endodontic sealers plays an important role in the success of root canal treatment. Hence, this study was conducted to compare the cytotoxicity of bioceramic sealer (Sure-Seal Root) and resin based sealer (Adseal), on mouse fibroblast cell line L929

Materials and Methods: In this experimental in vitro study, extraction of each sealer was obtained and incubated with dilutions of 1/2, 1/4 and 1/8 with fibroblast cell line for 48 hours in the cell culture media. MTT assay was employed to evaluate the cytotoxicity. Finally, the collected data were analyzed using One-way ANOVA and Tukey's post-test. $P < 0.05$ were considered statistically significant

Results: MTT assay showed that higher dilutions of the tested materials resulted in higher viability of mouse fibroblast cell line L929. In both sealers, with increasing dilution, the survival rate of cells increased. Among two sealers, Adseal in all dilutions had lower cytotoxicity and higher cell viability percentage than sealer Sure-Seal Root, showed that it was not significant in dilutions of 1/2 and 1/8, respectively ($P=0.115$) and ($P=0.915$), but it was significant in dilution of 1/4 ($P=0.001$).

Conclusion: Under limitations of this invitro study, results of this study showed that AD Seal showed less toxicity than Sure seal root in all dilutions

Key words: Cytotoxicity, Cell Viability, Root Canal Sealer

*Corresponding Author: Mehrara.shakeri@yahoo.com

J Res Dent Sci. 2024; 21(1):46-52

خلاصه:

سابقه و هدف: زیست سازگاری سیلر های اندودنتیک نقش بسیار مهمی در موفقیت درمان ریشه ایفا می کند. هدف از انجام این مطالعه مقایسه سمیت سیلر بیوسرامیکی Sure-seal root و سیلر رزینی Adseal بر روی سلول های فیبروبلاست موش رده L929 بود.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی و آزمایشگاهی، هر یک از سیلرهای Adseal و Sure-seal root جداگانه عصاره گیری شدند. عصاره های حاصل با رقت های ۱/۲، ۱/۴ و ۱/۸ به مدت ۴۸ ساعت در تماس با سلول های فیبروبلاست رده L929 در محیط کشت قرار گرفتند. سپس میزان سمیت سلولی به روش MTT ارزیابی شد. داده های حاصل از پژوهش توسط تست های آماری one-way ANOVA و post test و Tukey's آنالیز گردید.

یافته ها: سنجش MTT نشان داد که رقت های بالاتر مواد آزمایش شده منجر به زنده ماندن بالاتر رده سلولی فیبروبلاست L929 موش می شود. در هر دو سیلر با افزایش رقت، میزان بقای سلول ها افزایش یافت. در بین دو سیلر، Adseal در همه رقت ها، سمیت سلولی کمتر و درصد زنده ماندن سلولی نسبت به سیلر Sure-Seal Root بالاتر بود که در رقت های ۱/۲ و ۱/۸ معنی دار نبود. به ترتیب ($P=0/115$) و ($P=0/915$) ولی در رقت ۱/۴ معنی دار بود. ($P=0/001$)

نتیجه گیری: با توجه به محدودیت های این مطالعه نتایج نشان داد که سیلر AD Seal در همه رقت ها سمیت کمتری نسبت به سیلر Sure seal root دارد.

کلید واژه ها: سمیت، بقای سلولی، سیلر کانال ریشه

مقدمه:

قدیمی ترین سیلر هایی که در درمان ریشه استفاده می شوند سیلر هایی با ترکیب اکسید روی -اوژنول هستند که جهت اهداف اندودنتیک اصلاح شده اند. مطالعات زیادی در مورد مقایسه میزان سمیت سلولی و واکنش بافتی سیلر های با پایه ZOE با انواع سیلر های رزینی انجام شده است^(۴). مطالعات نشان داده اند که سیلر های با بیس رزینی ویژگی های فیزیکی بهتری نسبت به سیلر های با بیس ZOE دارند^(۵)

با توجه به اینکه محصولات ناشی از متابولیسم شدن سیلرها ممکن است اثر تخریبی بر روی پرولیفراسیون سلولهای پری رادیکولار و التهاب و بهبود تاخیری در درمانهای اندودنتیک داشته باشد بنابراین سیلرهای کانال ریشه باید سازگاری بافتی با بافت های اطراف ریشه داشته باشند و بایستی از خارج شدن آنها به بافت های اطراف ریشه جلوگیری شود. تمامی سیلرها در مراحل اولیه کاربرد دارای سطوحی از سمیت هستند و به مرور زمان با کامل شدن ستینگ آنها سمیت آنها کاهش می یابد.^(۷،۸)

یکی از ویژگیهای ایده آل مواد پرکننده کانال ریشه زیست سازگاری و خاصیت ضد میکروبی آنها می باشد که باعث می شود دندان به طور قابل توجهی طول عمر بیشتری داشته باشد و علاوه بر این، موادی که کانال های ریشه را پر می کنند باید یک مهر و موم موثر و پایدار از نظر ابعادی با توانایی القای بیولوژیکی و پاسخ های سلولی که به بازسازی کمک می کنند، ایجاد کند.^(۱)

در حال حاضر اغلب کانال های ریشه توسط مخروط های گوتاپرکا به همراه سیلر های اندودنتیک پر می شود. اصلی ترین عملکرد سیلر های اندودنتیک پر کردن فضا های خالی بین دیواره های کانال و مخروط های گوتاپرکا می باشد. به علت اینکه سیلر های اندودنتیک می توانند در تماس با بافت های نرم و سخت اطراف قرار بگیرند و ممکن است باعث التهاب یا تاخیر در التیام شوند، باید از نظر سمیت و سازگاری بافتی مورد آزمایش قرار گرفته و نتایج قابل قبولی داشته باشند.^(۲،۳)

سیلر مناسب جهت افزایش موفقیت در درمانهای ریشه دندان بر آن شدیم در این مطالعه سمیت سلولی این سیلر را با استفاده از تست MTT با سیلر Ad seal مقایسه کنیم.

مواد و روش ها:

این مطالعه تجربی آزمایشگاهی قبل از انجام به تصویب کمیته اخلاق در پژوهش های زیست پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران با کد اخلاق (IR.MAZUMS.REC.1398.177) رسید.

در این مطالعه از دو سیلر تجاری به نام های Adseal (Meta biomed.Korea) و Sure seal root (sure-seal root SureDent.Korea) استفاده شد. سیلر Adseal طبق روش کارخانه آماده شد. سیلر Sure-seal root از پیش مخلوط شده است و بصورت تزریقی استفاده شد

آماده سازی سلول ها:

سلولهای رده فیروبلاست موش L929 از بانک ازت خارج شده و در فلاسک ۷۵ سانتیمتر مربع (Nunc-Denmark) حاوی محیط Dulbeccos Modified Eagles (DMEM) Fetal bovine serum (FBS) و Medium غنی شده با (FBS) آنتی بیوتیک کشت داده شد. سلولها در انکوباتور (Panasonic Healthcare Corporation of north America) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و ۵% CO2 انکوبه شدند. محیط کشت آنها هر ۳ روز تعویض گردید. پس از پر شدن کف فلاسک از سلول با انجام پاساژ، سلولها به چند فلاسک توزیع شدند. سلولها از بانک سلولی مرکز انستیتو پاستور ایران تهیه گردید.

آماده سازی عصاره سیلر ها:

هر یک از سیلرهای Adseal و Sure-seal root بلافاصله قبل از سخت شدن، داخل چاهک های پلیت ۲۴ ول (قطر ۱۶.۲ میلی متر و ارتفاع ۲ میلی متر) قرار داده شدند (برای هر سیلر ۳ چاهک). سپس ۲/۵ میلی لیتر از محیط کشت DMEM حاوی آنتی بیوتیک ولی فاقد FBS به هر چاهک

روشهای مختلفی جهت ارزیابی سازگاری بافتی و بقای سلولی وجود دارد که یکی از آنها ۳--(4,5-dimethyl-thiazoyl) (MTT) 2,5-diphenyl-tetrazolium bromide میباشد که بصورت وسیعی استفاده می شود.^(۹)

سنجش سمیت سلولی به طور گسترده در مطالعات سم شناسی آزمایشگاهی استفاده می شود. LDH leakage assay, protein assay, neutral red, MTT assay رایج ترین مواردی هستند که برای تشخیص سمیت سلولی یا زنده ماندن سلولی پس از قرار گرفتن در معرض مواد سمی به کار می روند.^(۱۰)

سیلر AD seal (Meta biomed.Korea) یک سیلر رزینی است که در مایعات بافتی نامحلول است، سیلرهای رزینی ویژگیهایی مانند چسبندگی به ساختار عاج، زمان کارکرد کافی و توانایی سیل خوب و قابل قبولی دارند. این سیلر در مطالعات سازگاری خوبی را با سلولهای مزانشیمی و بافت پریدونتال نشان داده است.^(۱۱،۸)

سیلر Sure seal root (SureDent.Korea) یک سیلر بیوسرامیک و تزریقی است که برای پرکردن دائمی کانال ریشه ساخته شده است. بر پایه ترکیب کلسیم سیلیکات است که هیدروفیل است و برای سفت شدن نیاز به حضور آب دارد. این سیلر در طول ستینگ منقبض نمی شود و زیست سازگار و استئوژنیک، آنتی باکتریال (PH=12)، رادیوپاستیتی بالا، هیدروفیلیک، تحریک تشکیل هیدروکسی آپاتیت، زمان کارکرد و سفت شدن ایده آل و خواص فیزیکی بسیار خوبی از خود نشان می دهد.^(۱۱،۱۲)

از بین سیلر هایی موجود در بازار، سیلر های با بیس اپوکسی رزین به طور گسترده ای در درمان کانال ریشه استفاده می شوند. از طرفی سیلر های بیوسرامیکی که به تازگی معرفی شده اند نیز ویژگی های فیزیکی، شیمیایی، مکانیکی و بیولوژیکی جذابی دارند.^(۱۳) به دلیل جدید بودن سیلر بیوسرامیک sure root seal و اهمیت دست یافتن به

آزمون MTT

پس از پایان زمان مجاورت سلول ها با عصاره ی سیلر به هر یک از چاهک های پلیت، ۲۰ ml از محلول 5 mg/ml MTT اضافه شد. سپس پلیت حاوی سلولها به مدت ۲ ساعت در انکوباتور نگهداری شد. پس از این مدت محیط کشت رویی سلول ها تخلیه و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید (DMSO) (Merk-آلمان) اضافه شد تا رنگ فورمازان احیا شده را در خود حل نماید سپس برای تعیین شدت رنگ حاصل، جذب نوری هر چاهک در طول موج ۵۷۰ نانومتر (با فرانس ۶۳۰ نانومتر) توسط دستگاه Elisa reader (Awareness Technologyinc) تعیین شد. درصد سلولهای

زنده از رابطه زیر محاسبه گردید. (۱۴)

میانگین جذب نوری چاهک های کنترل / جذب ($\times 100$)
نوری هر چاهک) = درصد سلولهای زنده

کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار PRISM Ver.3 انجام شد و مقایسه داده ها با روش آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و Tukey's post test صورت گرفت. و $P < 0.05$ به عنوان معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته ها:

نتایج این مطالعه بر روی سلولهای فیبروبلاست موش رده سلولی L929 نشان داد که گروه کنترل منفی بیشتر میزان حیات سلولی و گروه کنترل مثبت (سیس پلاتین) کمترین میزان حیات سلولی را داشتند. (نمودار ۱)

همچنین در هر دو سیلر با افزایش میزان رقت، درصد زنده ماندن تعداد سلولها افزایش یافت. در بین دوسیلر، سیلر AD seal در همه رقت ها سمیت سلولی کمتری در درصد زنده ماندن سلولی بیشتری را نسبت به سیلر Sure seal root نشان داد که در رقت ۱/۲ و ۱/۸ معنی دار نبود به ترتیب ($P = 0.115$) و $P = 0.915$ ولی در رقت ۱/۴ معنی دار بود ($P = 0.001$) (جدول ۱ و ۲).

اضافه شد. پلیت مذکور سپس به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و 5% CO2 قرار داده شد. پس از این مدت محیط کشت روی هر سیلر به لوله های آزمایش منتقل و به آن 10% FBS اضافه شد.

این عصاره به عنوان نمونه حاوی سیلر با غلظت ۱/۱ در نظر گرفته شد. برای تهیه محیط کشت های حاوی غلظت های کمتری از سیلر، نمونه ۱/۱ را به طور متوالی (Serial dilution) و با استفاده از محیط کشت DMEM حاوی آنتی بیوتیک و 10% FBS رقیق نمودیم تا رقت های ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸ از هر یک از سیلرها به طور جداگانه تهیه شد. بررسی سمیت سیلرها بر سلولها:

در این مطالعه کنترل مثبت ترکیبی با سمیت شناخته شده ۱۰۰ درصد بود که از داروی سیس پلاتین استفاده شد و کنترل منفی محیط کشتی بود که هیچ گونه سمیتی نداشته و به عنوان ملاکی بود که بقیه گروه ها نسبت به آن سنجیده شد.

جهت بررسی سمیت سلولی، سلولهای فیبروبلاست رده L929 از تانک ازت خارج و در ۲ فلاسک کشت ۷۵ cm حاوی محیط کشت DMEM و غنی شده با سرم جنین گاوی و آنتی بیوتیک (۱۰۰ u/ml Penicillin، 100 µg/ml Streptomycin) و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و 5% CO2 انکوبه نمودیم. پس از انجام چند پاساژ سلولی و اطمینان از پرولیفراسیون طبیعی آنها، سلولها با تریپسین از فلاسک کشت جدا شده و پس از ارزیابی زنده بودن آنها با تریپان بلو، به پلیت کشت منتقل شدند و سپس پلیت به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور تحت شرایط استاندارد ذکر شده در بالا قرار گرفت تا سلولها به کف پلیت بچسبند. سپس سلولها با عصاره سیلرهای Ad seal و Sure seal root و در رقتهای ذکر شده به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. در پایان زمان مورد نظر، درصد زنده ماندن سلولها با تست MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) بررسی شد. (۱۴)

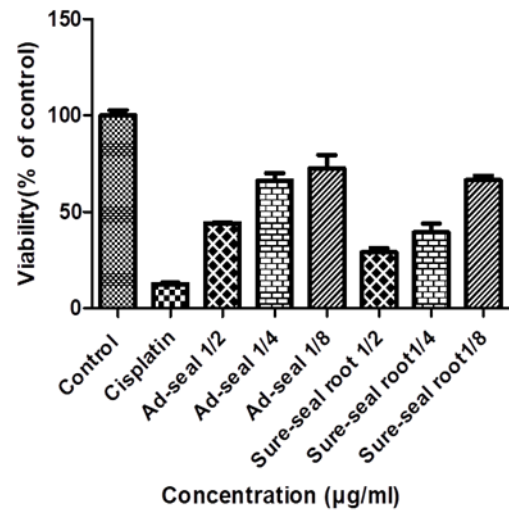
ارنظر کلینیکی سیلرها به صورت تازه تهیه شده (ست نشده) استفاده می شود واکستروژن سیلرها به ناحیه پری آپیکال به دلیل تماس مستقیم سیلر با بافت پری آپیکال ممکن است باعث درد و پاراستزی شده وهمچنین سیلرها روی سلول های ایمنی اثر می گذارند و باعث التهاب در ناحیه پری آپیکال می شوند و در نتیجه بر موفقیت بالینی درمان تاثیر می گذارد (۱۶،۱۷)

بنابراین هر ماده جدیدی قبل از استفاده در کلینیک باید بوسیله تستهای سازگاری بافتی مثل کشت سلولی ویا ایمپلنت های داخل استخوانی یا زیرپوستی ارزیابی شود.^(۸)

در ارزیابی سمیت سلولی مواد اندودنتیک، از رده های سلولی متفاوتی از جمله فیبروبلاست های رده L929 موش استفاده میشود . که یکی از پر کاربرد ترین رده های سلولی در مطالعات In vitro می باشد . در مطالعه حاضر نیز جهت بررسی سمیت سلولی به صورت In vitro از این رده سلولی و تست MTT استفاده شد. هدف از انتخاب این سلول، آماده سازی و کشت دادن آسان آن بود که نتایج قابل تکراری را فراهم می کند (۱۸،۱۹)

در مطالعه حاضر، از روش MTT برای سنجش زنده ماندن سلولی استفاده شد که اغلب برای تعیین حیات سلولی به دنبال قرار گرفتن در معرض مواد سمی استفاده می شود از مزایای دیگر روش MTT ، دقت بالا، سادگی، قابلیت اطمینان و مقرون به صرفه بودن نسبت به سایر روشهای ارزیابی سمیت است (۲۰).

با توجه به اینکه قراردادادن مستقیم سیلرها در مجاورت سلولها، احتمال آسیب به سلولها را افزایش می دهد، در بعضی مطالعات اثرات سمیت عصاره سیلرها را بررسی می کنند.^(۱۱۴) عواملی مانند غلظت، زمان ، نوع تست، سلول مورد استفاده و تازه یا سفت بودن سیلر می تواند بر روی ارزیابی سمیت سیلرها اثر داشته باشد ، در نتیجه به دلیل نتایج متفاوت،مقایسه در مطالعات مشکل می باشد (۲۱،۲۲).



نمودار ۱: میزان زنده بودن سلول ها در رقت های ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸ از سیلرهای Sure root seal و Adseal بر روی رده سلولی L929

جدول ۱: مقایسه درصد زنده ماندن سلولی در بین رقت های ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸ از سیلرهای Sure root seal و Adseal بر روی رده سلولی L929

۱/۲	۱/۴		۱/۸		
	Suresealroot	Adseal	Sure seal root	Adseal root	
۲۸.۹۱	۴۴.۰۳	۳۹.۳۶	۶۶.۱۶	۶۶.۴۲	۷۲.۵۵

جدول ۲- میزان سمیت سلولی در بین رقت های ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸ از سیلرهای Sure root seal و Adseal بر روی رده سلولی L929

P-Value	Sure root seal	Ad Seal	رقت
۰.۱۱۵	۰.۰۲±۰.۲۱	۰.۰۰±۰.۳۳	۱/۲
۰.۰۰۱	۰.۰۶±۰.۲۹	۰.۰۵±۰.۵۰	۱/۴
۰.۹۱۵	۰.۰۱±۰.۵۰	۰.۰۵±۰.۵۴	۱/۸

بحث:

موفقیت در درمان کانال ریشه به پاکسازی کامل و پرکردن سیستم کانال ریشه با مواد سازگار بافتی به منظور پیشگیری از تحریک بافت پری رادیکلر بستگی دارد.^(۱۵)

هستند.^(۲۷) علت اختلاف در نتایج را می توان در تفاوت رده های سلولی مورد مطالعه جست و جو کرد در مطالعه ای که بر روی واکنش بافتی سیلر AD seal و Sure seal root انجام شد نشان داده شد که سیلر AD seal پاسخی التهابی کمتری نسبت به سیلر Sure seal root ایجاد کرد ولی کاهش التهاب با گذشت زمان در هر دو سیلر دیده شد و هر دو سیلر خاصیت سازگاری بافتی داشتند.^(۸)

در مطالعه ای که Bin و همکاران به بررسی سمیت سیلر سرامیکی MTA Fillapex و مقایسه ی آن با سیلر رزینی AH plus پرداختند، cell viability بالای ۵۰٪ را در همه ی رقت های MTA Fillapex نشان داد در حالیکه سمیت AH plus وابسته به رقت آن بود و به طور کلی بیشترین سمیت سلولی مربوط به MTA Fillapex بود که این نتایج هم راستا با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر بود که سمیت سیلر رزینی کمتر قبل از ستینگ از سیلر سرامیکی می باشد^(۱۴). Mestieri و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که سیلر سرامیکی MTA fillapex در رقت ۲/۱ و ۴/۱ نسبت به سیلر رزینی AHPluse سمیت بیشتری دارد.^(۲۸)

از مزایای مطالعه حاضر استفاده از تست MTT و رقت های مختلف بود و از محدودیتهای مطالعه حاضر، محدودیت در وجود مطالعات قبلی انجام شده بر روی خواص این سیلرها بود که مقایسه نتایج این پژوهش با سایر مطالعات را دشوار مینمود

پیشنهادات:

پیشنهاد میگردد سمیت سلولی این سیلرها با سایر روشها و بر روی سایر رده های سلولی و در زمانهای طولانیتری مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که سیلر AD Seal در همه رقت ها سمیت کمتری نسبت به سیلر Sure seal root نشان داد.

در مطالعه حاضر، سیلر Adseal در همه رقت ها حیات سلولی بیشتری نسبت به سیلر Sure-seal root نشان داد که بیانگر بیشتر بودن سمیت سلولی سیلر Sure-seal root نسبت به این سیلر می باشد. سمیت سلولی کمتر Adseal را احتمالاً می توان در ارتباط با وجود کلسیم فسفات در ترکیب آن دانست که می تواند در افزایش سازگاری بافتی نقش داشته باشد.^(۲۳)

با توجه به مطالعات انجام شده، زنده ماندن سلولی در سیلرهای کلسیم سیلیکات به مرور زمان در محیط های تازه به دلیل PH بالا کاهش می یابد که این امر نیز به دلیل وجود هیدروکسید کلسیم در ترکیب آن است. اگرچه PH بالا برای متابولیسم سلول و میزان زنده ماندن سلولها مضر است، اما این PH قلیایی بالا می تواند باعث فعالیت ضد باکتریایی و تشکیل بافت سخت و فعالیت استئوکلاستیک شود و از طرفی نشان داده شده است که سازگاری سیلرهای کلسیم سیلیکات مربوط به آزادسازی یون های کلسیم و تشکیل هیدروکسی آپاتایت می تواند باشد.^(۲۴،۲۵،۱۴)

Hee-Jung و همکاران در سال ۲۰۰۴ در مطالعه ای سمیت سلولی سیلر Adseal بر روی سلول های فیبروبلاست L929 را با سیلرهای رزینی و سیلر هایی با بیس ZOE و سیلر های با بیس کلسیم هیدروکساید مقایسه کردند. نتایج نشان داد که Adseal هیچ سمیت سلولی نشان نداد در حالیکه سایر سیلرها سمیت سلولی اندکی داشتند.^(۲۶) که در مطالعه حاضر نیز به این نتیجه رسیدیم که سمیت سلولی Adseal کمتر از دیگر می باشد.

Razavian و همکاران که طی مطالعه ای سمیت سلولی چهار نوع سیلر درمان ریشه ی Adseal، tgsealer، AH26 و MTA Fillapex را بر روی سلول های فیبروبلاست لته ای انسان مقایسه کردند، به نتایجی بر خلاف مطالعه حاضر دست یافتند زیرا گزارش کردند که سیلر های MTA Fillapex و Adseal به ترتیب دارای کمترین و بیشترین میزان سمیت سلولی

References:

- 1- Kim M, Hayashi M, Bo Yu , Lee T, Kim R, Deuk-Won Jo. Cytotoxicity and Genotoxicity of Epoxy Resin-Based Root Canal Sealers before and after Setting Procedures. *Life* .2022;12(6):847. doi: 10.3390/life12060847.
- 2-Huang Y, Li X, Mandal P, Wu Y, Liu L, Gui H, et al. The in vitro antimicrobial activities of four endodontic sealers. *BMC Oral Health*. 2019;19(1):1-7.
- 3-Lee JK, Kim S, Lee S, Kim H-C, Kim E. In vitro comparison of biocompatibility of calcium silicate-based root canal sealers. *Materials* 2019;12(15): 2411; doi:10.3390/ma12152411
- 4-Hargreaves KM, Berman LH. Cohen's pathways of the pulp expert consult: Elsevier Health Sciences; 2015;122-33
- 5-Koulaouzidou E, Papazisis K, Beltes P, Geromicholos G, Kortsarls A. Cytotoxicity of three resin-based root canal sealers: an in vitro evaluation. *Dental Traumatology*. 1998;14(4):182-5.
- 6-Fonseca DA, Paula AB, Marto CM, Coelho A, Paulo S, Martinho JP, Carrilho E, Ferreira MM .Biocompatibility of Root Canal Sealers: A Systematic Review of In Vitro and In Vivo Studies. . *Materials* 2019; 12(24):4113. doi: 10.3390/ma12244113.
- 7-Karapınar-Kazandağ M, Bayrak Ö, Yalvaç M, Ersev H, Tanalp J, Şahin F, et al. Cytotoxicity of 5 endodontic sealers on L929 cell line and human dental pulp cells. *International endodontic journal*. 2011;44(7):626-34.
- 8-Haddadi Kohsar A, Hasani M , Karami M, Moosazadeh M, Dashti A, Shiva A.Subcutaneous Tissue Response to Adseal and Sure-Seal Root Sealers in Rats: a Histopathological Study *Maedica (Bucur)*. 2022; 17(3): 654–661
- 9-Silva EJ, Carvalho NK, Ronconi CT, De-Deus G, Zuolo ML, Zaia AA. Cytotoxicity profile of endodontic sealers provided by 3D cell culture experimental model. *Braz Dent J* 2016;27(6):652-656.
- 10-Fotakis G, Timbrell JA. In vitro cytotoxicity assays: Comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicology Letters*. 2006;160(2):171-711
- 11-Sarhan DA, Sheriff DA, Labib AH, EL-Magd MA. Depth and Percentage of Penetration of Sure Seal Root and AH Plus sealers into Dentinal Tubules with two different obturation techniques. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences* . 2020 ;19(9): 54-65
- 12-Huang Y, Celikten B, de Faria Vasconcelos K, et al. Micro-CT and nano-CT analysis of filling quality of three different endodontic sealers. *Dentomaxillofacial Radiol* 2017;46(8):20170223. doi: 10.1259/dmfr.20170223.
- 13-Lim E-S, Park Y-B, Kwon Y-S, Shon W-J, Lee K-W, Min K-S. Physical properties and biocompatibility of an injectable calcium-silicate-based root canal sealer: in vitro and in vivo study. *BMC oral health*. 2015;15(1):129.
- 14- Bin CV, Valera MC, Camargo SE, Rabelo SB, Silva GO, Balducci I, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of root canal sealers based on mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics*. 2012;38(4):495-500.
- 15- So-Young Park W-CLaS-SL. Cytotoxicity and antibacterial property of new resin-based sealer. *Korean Academy of Conservative Dentistry*. 2003;28(2):162-8.
- 16- Scarparo RK, Grecca FS, Fachin EVF. Analysis of tissue reactions to methacrylate resin-based, epoxy resin-based, and zinc oxide–eugenol endodontic sealers. *Journal of endodontics*. 2009;35(2):229-32.
- 17-Ashraf H, Najafi F, Heidari S, Yadegary Z, Zadsirjan S. Cytotoxicity of Two Experimental Epoxy Resin-Based Sealers. *Iran Endod J*. 2018;13(2):257-62. Doi: 10.22037/iej.v13i2.19530
- 18- Karapınar-Kazandağ M, Bayrak Ö, Yalvaç M, Ersev H, Tanalp J, Şahin F, et al. Cytotoxicity of 5 endodontic sealers on L929 cell line and human dental pulp cells. *International endodontic journal*. 2011;44(7):626-34.
- 19- Eldeniz A, Mustafa K, Ørstavik D, Dahl J. Cytotoxicity of new resin-, calcium hydroxide-and silicone-based root canal sealers on fibroblasts derived from human gingiva and L929 cell lines. *International endodontic journal*. 2007;40(5):329-37.
- 20-Rodríguez-Lozano F, García-Bernal D, Oñate-Sánchez R, Ortolani-Seltenerich P, Forner L, Moraleda J. Evaluation of cytocompatibility of calcium silicate-based endodontic sealers and their effects on the biological responses of mesenchymal dental stem cells. *International endodontic journal*. 2017;50(1):67-76
- 21- Rappaport HM, Lilly GE, Kapsimalis P. Toxicity of endodontic filling materials. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1964;18(6):785-802
- 22- Derakhshan S, Adl A, Parirokh M, MashadiAbbas F, Haghdoost AA. Comparing subcutaneous tissue responses to freshly mixed and set root canal sealers. *Iranian endodontic journal*. 2009;4(4):152
- 23- Hakki S, Bozkurt B, Ozcopur B, Gandolfi M, Prati C, Belli S. The response of cementoblasts to calcium phosphate resin-based and calcium silicate-based commercial sealers. *International endodontic journal*. 2013;46(3):242-52
- 24- Vitti RP, Prati C, Silva EJNL, Sinhoreti MAC, Zanchi CH, e Silva MGdS, et al. Physical properties of MTA Fillapex sealer. *Journal of endodontics*. 2013;39(7):915-8
- 25-Santos JM, Coelho CM, Sequeira DB, et al. Subcutaneous implantation assessment of new calcium-silicate based sealer for warm obturation . *Biomedicines*; 9(1):24. doi: 10.3390/biomedicines9010024
- 26- Hee-Jung Kim S-HB, Woo-Cheol Lee, Han-Soo Park and Kwang-Shik Bae. Cytotoxicity of resin-based root canal sealer. *Korean Academy of Conservative Dentistry*. 2004 29(6):498-503
- 27-Razavian H, Khademi A, Mostajeran E, Hashemibeni B, Heydari F, et al. Comparative evaluation of cytotoxicity of four endodontic sealers using human gingival fibroblasts. *Isfahan Journal of Dentistry School*.2014;10(8);14-20
- 28- Mestieri LB, Zaccara IM, Pinheiro LS, Barletta FB, Kopper PMP, Grecca FS. Cytocompatibility and cell proliferation evaluation of calcium phosphate-based root canal sealers. *Restor Dent Endod*. 2020; 45(1): e2