PAPER DETAILS

TITLE: Farkli Tiplerdeki Kök Kanal Yikama Solüsyonlarinin Insan Osteoblastik Hücre Canliligi Üzerine Etkileri

AUTHORS: Hatice BÜYÜKÖZER ÖZKAN,Ayse Canan Tutku ÇELIK,Hayriye Esra ÜLKER

PAGES: 236-243

ORIGINAL PDF URL: https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/2196656

ÖZGÜN ARAŞTIRMA
Original Article

Yazışma Adresi
Correspondence Address

Hatice BÜYÜKÖZER ÖZKAN
Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi,
Diş Hekimliği Fakültesi,
Endodonti Anabilim Dalı,
Alanya, Antalya, Türkiye.
hatice.ozkan@alanya.edu.tr

Geliş Tarihi : Nisan 10, 2021
Received
Kabul Tarihi : Kasım 02, 2021
Accepted
E Yayın Tarihi : Eylül 01,2022
Online published

Bu makalede yapılacak atıf
Cite this article as
Büyüközer Özkan H, Çelik ACT, Ülker HE.
Farklı Tiplerdeki Kök Kanal Yıkama Solüsyonlarının İnsan Osteoblastik Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri

Akd Tıp D 2022; 8(3): 236-243

Hatice BÜYÜKÖZER ÖZKAN
Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi,
Diş Hekimliği Fakültesi,
Endodonti Anabilim Dalı,
Alanya, Antalya, Türkiye.
ORCID ID: **0000-0003-4419-1518**

Ayşe Canan Tutku ÇELiK
Özel Çelik Diş Polikliniği,
Uzman Diş Hekimi,
İstanbul, Türkiye
ORCID ID: 0000-0001-6680-0236

Hayriye Esra ÜLKER
Selçuk Üniversitesi,
Diş Hekimliği Fakültesi,
Restoratif Diş Tedavisi AD.
Konya, Türkiye.
ORCID ID: 0000-0002-2967-5680

DOI: 10.53394 / akd.1058991

Farklı Tiplerdeki Kök Kanal Yıkama Solüsyonlarının İnsan Osteoblastik Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri

Effects of Different Types of Root Canal Irrigation Solutions on the Viability of the Human Osteoblastic Cell Line

ÖZ

Amaç:
Kök kanallarının yıkanması, kanal tedavisinin başarılı olabilmesi için uygulanan en önemli basamaklardan biridir. Uygulanan bu işlem sırasında kök dentini ve dişin periapikal dokuları yıkama solüsyonlarıyla sürekli temas halindedirler. Bu solüsyonların içindeki ajanların ideal olarak oral dokulara zarar vermeyerek pulpal dokuları uzaklaştırması gerekmektedir. Bu çalışmanın amacı, 7 farklı yıkama solüsyonunun (Rocanal, BioPure MTAD, SmearClear, klorheksidin glukonat, EDTA, hidrojen peroksit, NaOCl) insan osteoblastik hücre dizisinin (SaOS-2) canlılıkları üzerine etkilerini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntemler:
Test edilen solüsyonlar kültür ortamı ile seyreltilerek 6 farklı konsantrasyonda (1:2, 1:4, 1:8, 1:16 ve 1:32) hazırlandı. SaOS-2 hücreleri yıkama solüsyonlarının tüm konsantrasyonlarına sırasıyla maruz bırakıldı (n = 12). Kontrol grubu olarak test materyali içermeyen hücre kültür ortamı kullanıldı. Hücre canlılığı MTT sitotoksisite testi ile değerlendirildi. Kontrol grubunun hücre canlılığı %100'e eşitlendi, veriler istatistiksel olarak One-way ANOVA ve post-hoc Tukey's HSD testleri ile değerlendirildi.

Bulgular:
Test edilen yıkama solüsyonlarının tüm konsantrasyolarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SaOS-2 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$). Materyallerin hücre canlılık değerleri arasında yüzdesel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). Smear-Clear ve klorheksidin glukonat grupları arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Ancak, bu gruplar ile diğer gruplar (Rocanal, BioPure MTAD, hidrojen peroksit, EDTA ve NaOCl) arasındaki fark önemli bulunmuştur. BioPure MTAD, hidrojen peroksit, EDTA gruplarında farklı konsantrasyonlarda grup içi farklılıklar tespit edilmiştir.

Sonuç:
Bu çalışmanın sonuçlarına göre test edilen yıkama solüsyonlarının hepsi seçilen hücre kültürü üzerinde sitotoksik etki göstermiştir.

Anahtar Sözcükler:
Biyouyumluluk, Yıkama solüsyonları, Sitotoksisite, Osteoblastik hücre

ABSTRACT

Objective:

Root canal irrigation is very important for successful root canal treatment. During this procedure, root dentin and periapical tissues are in contact with irrigation solutions. These solutions should ideally remove pulpal tissues without damaging the oral tissues. The aim of this study was to evaluate the effects of 7 different irrigation solutions (Rocanal, BioPure MTAD, SmearClear, chlorhexidine gluconate, EDTA, hydrogen peroxide, NaOCl) on the viability of human osteoblastic cell lines (SaOS-2).

Material and Methods:

The tested solutions were diluted with culture medium and prepared in 6 different concentrations (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, and 1:32). SaOS-2 cells were exposed to all concentrations of irrigation solutions, respectively (n = 12). Cell culture medium without test material was used as a control group. Cell viability was evaluated with the MTT cytotoxicity test. The cell viability of the control group was equal to 100%, and the data were statistically evaluated by One-way ANOVA and post-hoc Tukey's HSD tests.

Results:

All tested solutions had cytotoxic effects on SaOS-2 cells at all concentrations ($p < 0.05$). There was difference in percentage between the cell viability values of the materials ($p < 0.05$). There was no statistical difference between SmearClear and chlorhexidine gluconate groups. However, the difference between these groups and other groups (Rocanal, BioPure MTAD, hydrogen peroxide, EDTA, and NaOCl) was found to be significant. In group differences were detected in BioPure MTAD, hydrogen peroxide, EDTA groups at different concentrations.

Conclusion:

According to the results of this study, all the tested solutions showed a cytotoxic effect on the selected cell culture.

Key Words:

Biocompatibility, Irrigation solutions, Cytotoxicity, Osteoblastic cell

GİRİŞ

Radiküler mikrobiyal biyofilmlerin periapikal hastalıklar için ana etiyolojik faktör olduğu bilinmektedir (1). Başarılı bir endodontik tedavi için kök kanallarının mikroorganizmalardan, enfekte organik ve inorganik dokulardan temizlenmesi gereklidir. Bu hedefi gerçekleştirmek için çeşitli yıkama solüsyonları, farklı şekillendirme teknikleri, yıkama solüsyonlarının aktivasyonu ve farklı kanal içi medikamentler kullanılmaktadır.

Karmaşık yapıdaki kök kanal sisteminin mekanik olarak temizlenmesi ile bakteriler, organik ve inorganik dokular bu sistemden tamamen uzaklaştırılamamaktadır. Yapılan çalışmalarda sadece mekanik şekillendirme ile kök kanallarının tamamen temizlenemediği gösterilmiş ve kök kanal duvarlarında mekanik şekillendirme ile hiç dokunulmamış alanların kaldığı ve yıkama işleminin son derece önemli olduğu bildirilmiştir (2-6).

Kök kanallarının yıkanması için şimdiye kadar çok farklı solüsyonlar kullanılmıştır. Serum fizyolojik, sodyum hipoklorit (NaOCl), klorheksidin glukonat (KHG), BioPure MTAD, TetraClean, hidrojen peroksit (H2O2), doksisiklin, klorindioksit, morinda citrifolia, çeşitli şelasyon ajanları (Rocanal, EDTA, QMix, RC-Prep, SmearClear), anestezik solüsyonlar, bazı bitki özleri, asitler ve lubrikantlar bunlar arasında sayılabilir (7-11).

NaOCl, EDTA ve KHG endodontik tedavide kullanılması önerilen ve etkinlikleri kanıtlanmış kök kanal yıkama solüsyonlarındandır (7,12,13). H2O2 ise bakteriyel biyofilmin inaktivasyonu için fotodinamik terapide kullanılmasının önerilmesi ile kullanımı son yıllarda yeniden gündeme gelmiş endodontide uzun yıllardır bilinen bir yıkama solüsyonudur (14).

BioPure MTAD (Dentsply, Oklahoma, ABD), Torabinejad ve ark. (15,16) tarafından dentini dezenfekte edip smear tabakasını çıkarabilme özelliklerinin olduğu iddiası ile geliştirilmiş bir kök kanalı yıkama solüsyonudur. İçeriğinde doksisiklin, sitrik asit ve yüzey aktif deterjan (Tween-80) bulunmaktadır ve pH derecesi 2,15 civarındadır.

SmearClear (SybronEndo, Kaliforniya, ABD), smear tabakasını kaldırmak için kullanılan şelasyon ajanlarıdır. %17'lik EDTA içerisine yüzey gerilimini düşürmek amacıyla katyonik (setrimit) ve anyonik yüzey aktif maddelerin ilave edildiği bir EDTA preparatıdır ve NaOCl ile birlikte kullanılmak için üretilmiştir (17,18). Yine bir EDTA preparatı olan REDTA'ya oranla SmearClear, daha fazla antibakteriyel özellik göstermektedir. Bunu da araştırmacılar içerisinde bulunan yüzey aktif madde olan ve bakterisid ve fungusid özellikteki setrimitten kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir (19).

Rocanal (La Maison, Dentaire SA, Balzers, İsviçre), benzetonyum klorür, fenoksietanol ve EDTA ihtiva eden hidro alkolik bir yıkama solüsyonu olup kök kanallarının yıkama ve preparasyonu için üretilmiş bir üründür. Üretici firma tarafından kök kanallarının dezenfeksiyonunu sağladığı, lubrikasyon özelliğinin bulunduğu, tek aşamada dezenfeksiyon, temizleme, kayganlaştırma ve durulama özelliğinde olduğu iddia edilmektedir. Üretici firma, ürünün düşük yüzey gerilimi olan bu ürünün fungisidal, bakterisidal, deterjan, organik kalıntıların varlığında bile etkili olduğunu, oral mukozaya zararsız ve renklenmeye sebep olmadığını iddia etmektedir. Ancak, literatürde bu solüsyonun iddia edilen bu özelliklerini kanıtlayan bilimsel bir araştırmaya rastlanamamıştır.

Endodontik tedavi sırasında, yıkama solüsyonları pulpal ve periapikal dokularla temas halinde olacaktır. Kemomekanik şekillendirme sırasında oluşan debrisler ve yıkama solüsyonları da apikalin ötesine itilebilir ve periapikal bölgede irritasyonlara komplikasyonlara sebep olabilir (20). Bu sebeplerle, endodontik tedavide kullanılan malzemelerin toksisitesi kesin bir endişe kaynağıdır, çünkü hasar veya tahriş periapikal dokunun dejenerasyonuna ve gecikmiş yara iyileşmesine neden olabilir.

Bu çalışmanın amacı, endodontik tedavi sırasında kullanılan farklı tipteki yıkama solüsyonlarının (Rocanal, BioPure MTAD, SmearClear, KHG, EDTA, H2O2, NaOCl) insan osteoblastik hücre dizisi (SaOS-2) üzerindeki sitotoksik etkilerini MTT sitotoksisite testi ile incelemektir. Bu çalışmanın sıfır hipotezi, endodontik tedavi sırasında kullanılan farklı tipteki yıkama solüsyonlarının SaOS-2 hücreleri üzerine sitotoksik etkilerinin olmadığıdır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışmada seçilen endodontik yıkama solüsyonlarının isimleri, içerikleri ve üretim numaraları Tablo I'de gösterilmiştir. Test materyallerinden EDTA Şen ve ark. (21) tarafından belirtildiği şekilde hazırlanmıştır. Çalışma hücre kültürü çalışması olduğundan herhangi bir canlıya zarar verilmemiştir. Bu sebeple etik kurul kararı alınmamıştır.

Tablo I: Test edilen yıkama solüsyonlarının içerikleri ve üretim numaraları.

Ürün/Üretici	İçerikleri
Rocanal La Maison, Dentaire SA, Balzers, İsviçre	Fenoksietanol, benzetonyum klorür, EDTA
BioPure MTAD Dentsply Tulsa, Oklahoma, ABD	Doksisiklin, sitrik asit, Tween 80
SmearClear SybronEndo, Kaliforniya, ABD	%17 EDTA, setrimid, sülfaktan
KHG Drogsan, Ankara, Türkiye	%2 Klorheksidin glukonat
Hidrojen Peroksit Kimpa, İstanbul, Türkiye	%3 Hidrojen peroksit
EDTA Laboratuvarda hazırlandı	%17 EDTA tuzu, distile su, NaOH
NaOCl Çağlayan Kimya San., Konya, Türkiye	%5,25 Sodyum Hipoklorit

Test Materyallerinin Hazırlanması

Çalışmamızda 7 farklı yıkama solüsyonu (Rocanal, BioPure MTAD, SmearClear, KHG, EDTA,H2O2, NaOCl) biyolojik kontaminasyon riskini önlemek için aseptik koşullar altında test edilmek üzere; 10 mL Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Biochrom, Berlin, Almanya) solüsyonuna 5 mL yıkama materyali çözeltisi ilave edildi ve çözeltinin difüzyonunu sağlamak için vorteks ile homojenize edildi. Böylece 1:1'lik orijinal konsantrasyon hazırlandı. Orijinal konsantrasyon 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 ve 1:32'lik olacak şekilde DMEM solüsyonu ile seyreltilip 6 farklı konsantrasyon hazırlandı.

Hücre Kültürü

SaOS-2 hücreleri %10 Fetal Bovine Serum (FBS; GibcoInvitrogen, Karlsruhe, Almanya) ve 100 mg/mL penisilin/streptomisin (GibcoInvitrogen) içeren DMEM kültür ortamında 37 ºC'de ve %5'lik CO2 içeren nemli havada kültüre edildi. Konfluense ulaşmış eksponansiyel büyüme fazındaki hücreler %0,25'lik tripsin ile ayrılarak 96 kuyucuklu plakanın her kuyucuğuna 25 x 103 yoğunlukta olacak şekilde hücre ekimi yapıldı ve 24 saat boyunca 37 ºC'de inkübe edildi. Her bir kuyucuğa 24 saat inkübasyondan sonra, kültür ortamı uzaklaştırılarak 200 µL materyal ekstraktı eklendi. Negatif kontrol grubu olarak test materyali içermeyen hücre kültür ortamı kullanıldı.

MTT Sitotoksisite Testi

Materyal ekstraklarına maruz kalan hücrelerin canlılığı süksinik dehidrojenaz aktivitesi ölçülerek belirlendi. Süksinik dehidrojenaz aktivitesi, hücre içindeki mitokondriyal aktiviteyle hücre sayısı ve aktivitesinin belirlenmesini sağlar. Kuyucuklardaki kültür ortamı uzaklaştırılarak PBS (Phosphate buffered saline) ile yıkandı. Ardından her bir kuyucuğa 500 µL taze hazırlanmış 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) boya çözeltisinden (Sigma, Taufkirchen, Almanya) eklenerek 2 saat boyunca 37 ºC'de inkübe edildi. Hücre içi depolanan MTT formazan 200 µL DMSO (dimetil sülfoksit) eklenerek 30 dak. boyunca oda sıcaklığında çözdürüldü. Spektrofotometre cihazı ile (Epoch, BioTek Instruments, ABD) 540 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı. Her deneyde bir materyal konsantrasyonu için 12 kuyucuk kullanıldı (n = 12). Deneyler 2 kez tekrar edildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 20.0 yazılımı (IBM SPSS Inc, Chicago, IL, USA) kullanılarak yapıldı. Shapiro-Wilk testi ile verilerin homojenitesi değerlendirildi. Negatif kontrol grubunun canlılık yüzdesi %100'e eşitlendi. Deney grupları ile kontrol grubu canlılık yüzdeleri arasındaki farklar One-way ANOVA ve post hoc Tukey's HSD testleri ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Bonferroni düzeltmesi yapıldı.

BULGULAR

Her grubun altı farklı konsantrasyondaki hücre canlılık değeri ortalamaları ve standart sapma değerleri Tablo II'de gösterilmiştir.

Tablo II: İrrigasyon solüsyonlarının 1:1,1:2,1:4,1:8,1:16,1:32'lik konsantrasyonlardaki Saos-2 hücrelerinin canlılık değeri ortalamaları.

Gruplar	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	P Değeri*
Rocanal	54,31^{A}	53,40	54,23	61,58	66,98^{A}	67,80	>0.05
BioPure MTAD	53,17^{Aa}	56,62^{a}	59,33^{a}	66,68^{a}	76,28^{Ab}	75,91^{b}	0.000
SmearClear	70,85^{B}	69,29	65,67	64,51	68,00^{A}	70,59	>0.05
KHG	70,28^{B}	69,65	70,04	71,74	67,48^{A}	78,26	>0.05
Hidrojen peroksit	48,32^{Aa}	50,10^{a}	50,71^{a}	67,92^{b}	71,65^{Ab}	57,82^{a}	0.003
EDTA	45,75^{Aa}	43,96^{a}	45,30^{a}	50,09^{a}	48,36^{Ba}	63,93^{b}	0.004
NaOCl	48,52^{A}	49,24	50,10	56,24	58,97^{A}	60,52	>0.05
P Değeri**	0.013	>0.05	>0.05	>0.05	0.032	>0.05	

Grup içi* ve gruplar arası** farklar üst karakterler ile belirtilmiştir. p değeri *. İrrigasyon solüsyonlarının konsantrasyonlar arası karşılaştırması; p değeri **. İrrigasyon solüsyonlarının gruplar arası karşılaştırması; a. (Bonferroni) İrrigasyon solüsyon konsantrasyonlarının hücre canlılığına etkisinin grup içi farklılıkları; A. (Bonferroni) İrrigasyon solüsyon konsantrasyonlarının hücre canlılığına etkisinin gruplar arası farklılıkları belirtmektedir.

Test edilen yıkama solüsyonlarının tüm konsantrasyolarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SaOS-2 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$). Materyallerin hücre canlılık değerleri arasında yüzdesel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p < 0.05$).

SmearClear ve KHG grupları arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Ancak, bu gruplar ile diğer gruplar (Rocanal, BioPure MTAD, H2O2, EDTA ve NaOCl) arasındaki fark önemli bulunmuştur. BioPure MTAD, H2O2, EDTA gruplarında grup içi farklılıklar tespit edilmiştir. BioPure MTAD'nin 1:1 konsan- trasyonu ile 1:16 ve 1:32 konsantrasyonları; H2O2'in 1:1 konsantrasyonu ile 1:8 ve 1:16 konsantrasyonları; EDTA'nın1:1 konsantrasyonu ile 1:32 konsantrasyonu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

TARTIŞMA

Başarılı bir kök kanal tedavisi kök kanalının mekanik ve kimyasal debridmanın etkili bir şekilde yapılabilmesine bağlıdır. Kök kanallarının yıkanması, kanal tedavisi işleminin en önemli basamaklarından biridir. Ancak, bu sırada periapikal dokulara zarar verilmemelidir. Yıkama sırasında periapikal dokulara solüsyon taşmayacak şekilde dikkatli çalışılmalıdır. Bu nedenle biyouyumlu ve düşük konsantrasyonda da antibakteriyel etkinlik gösterebilecek materyaller tercih edilmelidir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, öngörülen sıfır hipotez reddedildi ve en düşük hücre canlılığı H2O2, EDTA ve NaOCl gruplarında gözlenirken tüm gruplar kontrol grubu ile kıyaslandığında sitotoksik etki göstermiştir.

Diş hekimliğinde kullanılan biyomateryallerin sitotoksisitelerinin araştırılması çok kapsamlı ve karmaşık çalışmalar gerektirmektedir çünkü birçok farklı istenmeyen doku cevapları gelişebilir. In vitro hücre kültürü, hayvan ve insan deney düzeneklerinde dental materyallerin neden olabileceği sistemik, lokal, allerjik ve diğer reaksiyonlar (mutajenite gibi) değerlendirilmekte ve test edilen dental materyallerin biyouyumlulukları hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir. In vitro hücre kültürü sitotoksisite deneyleri güvenilir, tekrar edilebilir, test koşulları kontrol edilebilir, basit ve kısa sürede sonuç veren bir yöntemdir (22,23). Ancak test prosedürleri, maruz kalma koşulları veya kullanılan hücre dizisi gibi deneysel parametreler dental materyallerin sitotoksisitesinin değerlendirilmesini etkileyebilmektedir. In vitro olarak elde edilen bu sonuçlar, çevresel, konakçı bağışıklığı, kan dolaşımı, pH ve enzimler nedeniyle vücut ortamında farklılık gösterebilir (22-25).

Çalışmamızda hücre canlılığı hızlı kolorimetrik bir test olan MTT testi ile ölçülmüştür. Bu testin yıkama solüsyonlarının biyolojik özelliklerini belirlemek için geçerli ve duyarlı bir yöntem olduğu belirtilmiştir (26). MTT testinde sarı renkli tetrazolyum tuzu mitokondriyal dehidrojenaz ile çözünmez mor formazan bileşiğine dönüşür. Absorbans yolu ile ölçüm yapılabilmesi için formazanın çözülebilmesi gereklidir. Bunun için dimetil sülfoksit ve izopropanol kullanılır. Çözünen formazanın 540 nm dalga boyunda fotospektrometri yolu ile ölçümü yapılır. Tetrazolyum bileşiklerinin indirgenerek formazan bileşiğine dönüşmeleri mitokondriyal aktivite ile olur ki bundan dolayı ölü hücreler bu tepkimeyi gerçekleştiremez (27).

NaOCl, kolay elde edilebilmesi, ucuz olması, organik doku çözücü özelliği, antiseptik olması, düşük yüzey gerilimi ile dentin duvarlarına kolayca diffüze olabilmesi gibi nedenlerle halen en çok tercih edilen yıkama solüsyonudur (27-31). NaOCl alkali bir solüsyondur ve kimyasal olarak daha stabil olmasını sağlayan pH'sı genellikle 10-12 civarındadır (32). Literatürde, ideal NaOCl konsantrasyonu ile ilgili henüz bir fikir birliğine varılamamıştır. Genel olarak endodontik tedavilerde %0,5 ile %5,25 arası değişen konsantrasyonlarda kullanımı tercih edilmektedir (33). Bir çalışmaya göre, kök kanallarında %0,5 ve %3 oranında NaOCl kullanıldığında, bakteri düzeylerinde kayda değer bir azalma olmuştur (34). Başka bir çalışmada %2,5'te NaOCl kullanılarak kemomekanik endodontik şekillendirmeden sonra kök kanalının bakteriyel çeşitliliği önemli ölçüde azalmıştır (35). Çalışmamızda test edilen 6 farklı konstrasyondan en yüksekte en düşük hücre canlılığı gözlenirken, en düşük konsantrasyon olan 1:32'lik konsantrasyonda bile önemli derecede toksik etki oluştuğu görülmüştür. NaOCl materyalinin test edilen tüm konsantrasyonları arasında toksisite açısından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Çalışmamıza benzer olarak, Zhang ve ark. (36) yaptıkları araştırmada NaOCl'nin konsantrasyonu ile toksisitesi arasında doğru orantılı bir ilişki olduğunu görmüşlerdir. Çok sayıda olgu bildiriminde NaOCl'nin dayanılmaz ağrılarla karakterize, periapikal dokular, göz, maksiler sinüs gibi çevre doku ve organlarla teması sonucu gelişen, şiddetli doku yıkımları rapor edilmiştir (29,37,38). Araştırmacılar NaOCl'nin istenmeyen bu etkilerini en aza indirmek için etkili olduğu bilinen %2,6-5,25 arasındaki konsantrasyonlar yerine çok daha düşük konsantrasyonlarının kullanılmasını önermişlerdir (39,40).

Bizim çalışmamız da bu bulguları desteklemektedir. Ancak, NaOCl'nin düşük konsantrasyonlarda irrite edici ve sitotoksik özellikleri azalırken doku çözücü ve antibakteriyel etkilerinin de anlamlı derecede düştüğü bildirilmiştir (39,41). EDTA smear tabakasını ortadan kaldırır, dentini dezenfekte eder ve rejeneratif tedavide dentinden büyüme faktörlerinin salınımını sağlayarak biyoyararlanımını arttırır (42). Serper ve ark. (43) %17'lik EDTA ve %5'lik NaOCl sitotoksisitesini L929 hücrelerini ve MTT yöntemini kullanarak değerlendirdikleri çalışmada EDTA solüsyonunun en fazla sitotoksik etkiyi gösterdiğini bildirmişlerdir. NaOCl, BioPure MTAD, SmearClear ve EDTA'nın sitotoksik etkilerinin değerlendirildiği bir tez çalışmasında MTT metoduyla 24 ve 48 saat maruz bırakma süreleri sonunda solüsyonların sitotoksik özellikleri incelenmiştir. Test edilen solüsyonların toksisitesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ve BioPure MTAD 24 ve 48 saat uygulama süreleri sonunda en az hücre canlılığını gösterirken, en fazla hücre canlılığı 24 saat sonunda EDTA; 48 saat sonunda ise NaOCl materyalinde bulunmuştur (44). Bu çalışmalara paralel olarak bizim çalışmamızda da EDTA, NaOCl, BioPure MTAD ve EDTA içerikli Rocanal ve SmearClear gruplarında hücre canlılığının önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir.

Rocanal irrigasyon solüsyonu koruyucu fenoksietanol, antimikrobiyal benzetonyum klorür ve EDTA içermektedir. Tanaka ve ark. (45) hepatoblastoma G2 hücreleri üzerinde fenoksietanolün yüksek sitotoksik etkisi olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, Sreevidya ve ark. (46) benzetonyum

klorürün balık larvalarında nörotoksisiteye sebep olduğunu bildirmiştir. Bu bilgiler ışığında Rocanal solüsyonunun tüm konsantrasyonlarda toksik etki göstermesinin sebebi olarak içeriğindeki toksik olduğu bilinen fenoksietanol, benzetonyum klorür ve EDTA bileşikleri gösterilebilir.
BioPure MTAD önemli bir medikament olarak kabul edilebilecek şekilde dentinden emilir ve yavaş yavaş salınır. Endodontide kullanılan bazı materyalerin L929 fare fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik özellikleri karşılaştırılmış ve BioPure MTAD'nin %5,25 NaOCl, öjenol, %3 H2O2, Peridex, Ca(OH)2 ve EDTA'dan daha az toksik olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak %2,63, %1,31 ve %0,66 NaOCl'den daha fazla sitotoksik olduğu bulunmuştur (36). Pappen ve ark. (47) farklı şelasyon ajanlarının (BioPure MTAD, Tetraclean, EDTA ve SmearClear) fare peritoneal makrofajları ile teması sonrasında salınan nitritoksit konsantrasyonu ölçümüyle belirledikleri pro-inflamatuar etki değerlendirmesinde, BioPure MTAD en düşük olmak üzere daha sonra sırasıyla Tetraclean, EDTA ve SmearClear'in pro-inflamatuar özellik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Zhang ve ark. (48) yaptıkları bir çalışmada, L929 fare fibroblast hücreleri üzerine BioPure MTAD ile 4 farklı konsantrasyondaki %3'lük H2O2, %17 EDTA ve %5,25'lik NaOCl'nin sitotoksisitesini karşılaştırmışlardır. Sonuçta BioPure MTAD, %5,25 NaOCl, %17 EDTA ve %3 H2O2'den daha az sitotoksik etki gösterirken %0,66, %1,31, %2,6'lik NaOCl'den ise daha sitotoksik bulunmuştur. Yasuda ve ark. (49) BioPure MTAD'nin MC3T3 ve periodontal ligament hücreleri üzerinde H2O2, NaOCl, EDTA ve KHG'a kıyasla daha az toksik özellikte olduğunu bildirmişlerdir. Karkehabadi ve ark. (50) yaptıkları in vitro çalışmada BioPure MTAD, EDTA, KHG ve Qmix'in insan periodontal ligament hücreleri üzerinde toksisitesini değerlendirdikleri araştırmada BioPure MTAD'nin en düşük sitotoksik özellik gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda farklı olarak SmearClear ve KHG solüsyonları BioPure MTAD'den daha yüksek hücre canlılık değerleri göstermişlerdir.

H2O2, endodontide uzun zamandır yıkama solüsyonu olarak kullanılan bir başka dezenfektandır. Çalışmamızın sonuçlarına göre önemli derecede sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiş olan H2O2'nin; bakteri, virüs ve mayalara karşı etkili olduğu ancak antibakteriyel etkinliği zayıf olduğu bilinmektedir (51). Son dönemlerde sonoliz, fotoliz ve ultrason gibi yöntemler ile düşük dozlu H2O2'nin içerisindeki hidroksil radikallerini açığa çıkarılarak antibakteriyel özelliği geliştirilmeye çalışılmaktadır (52,53). Bu çalışmanın sonuçlarına göre her ne kadar konsantrasyonu düşürülse de toksik özelliğini koruduğu söylenebilir.
KHG pH derecesi 5,5-7,0 civarında olan ve yavaş salınan, toksisitesi düşük ve geniş spektrumlu antimikrobiyal katyonik bir moleküldür. Çoğunlukla glukonat, diglukonat, asetat ve hidroklorat formları kullanılmaktadır çünkü stabil hali tuzdur (54-56). KHG molekülü mantarlar, fakültatif anaerob ve aeroblar, gram (-) ve gram (+) organizmalar, lipofilik virüsler, bakteriyel sporlar ve dermatofitler üzerinde oldukça etkilidir (54,57). KHG'ın aktivitesi organik madde varlığında azalmaktadır (58). Bu molekül iyi bir antiviral değildir ve sadece yağ kaplı zarları olan virüslere karşı etkilidir (59). KHG aynı zamanda hidroksiapatite ve yumuşak dokulara bağlanabilmekte ve böylece, bu dokuların elektriksel alanlarını bakteri tutunmasını önleyecek şekilde değişime uğratmaktadır (60). Endodontik tedavide yıkama solüsyonu olarak KHG'ın dezavantajı, pulpa dokusunu çözememesidir (61). Yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre KHG'ın insan dişeti hücreleri üzerine toksik potansiyelinin içeriğine, maruz bırakma dozu ve süresine bağlı olduğu görülmüştür (62). KHG uygulandığı doku üstünde uzun dönemli toksik etkilere yol açmamış fakat inflamatuar cevaba yol açmıştır. Çalışmamızda KHG grubunun sonuçları değerlendirildiğinde konsantrasyona göre toksik etkinin değişmediği, tüm konsantrasyonların kontrol grubuna göre toksik etki gösterdiği ancak en düşük hücre canlılığını %67 olduğu diğer materyallere göre daha az toksik etki gösterdiği bulunmuştur. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde CHX grubu, SmearClear grubu ile benzer iken diğer tüm gruplardan farklıdır.

SONUÇLAR

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, tüm yıkama solüsyonları farklı derecelerde sitotoksik etkiler göstermiştir. En düşük hücre canlılığı H2O2, EDTA ve NaOCl gruplarında tespit edilmiştir. Antibakteriyel etkisi olan bu yıkama solüsyonlarının vücut dokuları için tamamen inert olması beklenemez ancak en az konsantrasyonda en kısa sürede yeterli antibakteriyel etki gösteren materyallerin tercih edilmesi önemlidir.

Etik Komite Onayı:
Çalışma hücre kültürü çalışması olduğundan herhangi bir canlıya zarar verilmemiştir. Bu sebeple etik kurul kararı ve hasta onamı alınmamıştır.

Yazar Katkıları:
Fikir- H.E.Ü., H.B.Ö.; Tasarım – H.E.Ü.; Denetleme – H.B.Ö., A.C.T.Ç.; Kaynaklar – H.B.Ö.; Malzemeler – H.B.Ö.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- H.E.Ü., A.C.T.Ç.; Analiz ve/veya Yorum- H.E.Ü., H.B.Ö.; Literatür Taraması – H.B.Ö., H.E.Ü., A.C.T.Ç.; Yazıyı Yazan – H.B.Ö., A.C.T.Ç., H.E.Ü.; Eleştirel İnceleme – H.B.Ö., A.C.T.Ç., H.E.Ü.

Çıkar Çatışması:
Yazarların beyan edecek çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek:
Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

KAYNAKÇA

1. Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. J Endod 2010; 36(8): 1277-88.

2. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root-canal instrumentation in endodontic therapy. Scand J Dent Res 1981; 89(4): 321-28.

3. Abou-Rass M, Piccinino MV. The effectiveness of four clinical irrigation methods on the removal of root canal debris. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1982; 54(3):323-8.

4. Peters LB, Wesselink PR, Buijs JF, van Winkelhoff AJ. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. J Endod. 2001; 27(2):76-81.

5. Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005; 99(2): 231-52.

6. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. Int Endod J. 2009; 42(4): 288-302.

7. Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006 ;32(5): 389-98.

8. Murray PE, Farber RM, Namerow KN, Kuttler S, Garcia-Godoy F. Evaluation of Morinda citrifolia as an endodontic irrigant. J Endod. 2008; 34(1): 66-70.

9. Eddy RS, Joyce AP, Roberts S, Buxton TB, Liewehr F. An in vitro evaluation of the antibacterial efficacy of chlorine dioxide on E. faecalis in bovine incisors. J Endod. 2005; 31(9): 672-5.

10. Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against Enterococcus faecalis biofilms. J Endod. 2006; 32(6):527-31.

11. Vahabi S, Najafi E, Alizadeh S. In vitro antimicrobial effects of some herbal essences against oral pathogens. J Med Plants Res, 2011; 5(19): 4870-8.

12. Pinheiro ET, Karygianni L, Attin T, Thurnheer T. Antibacterial Effect of Sodium Hypochlorite and EDTA in Combination with High-Purity Nisin on an Endodontic-like Biofilm Model. Antibiotics. 2021; 10(9):1141.

13. Dioguardi M, Gioia GD, Illuzzi G, Laneve E, Cocco A, Troiano G. Endodontic irrigants: Different methods to improve efficacy and related problems. Eur J Dent. 2018;12(3):459-66.

14. Garcez AS, Hamblin MR. Methylene Blue and Hydrogen Peroxide for Photodynamic Inactivation in Root Canal- A New Protocol for Use in Endodontics. Eur Endod J. 2017;20;2(1):1-7.

15. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, Kim J, Shabahang S. A new solution for the removal of the smear layer. J Endod. 2003 ;29(3):170-5.

16. Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland LK, Shabahang S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. J Endod. 2003; 29(4):233-9.

17. Lui JN, Kuah HG, Chen NN. Effect of EDTA with and without surfactants or ultrasonics on removal of smear layer. J Endod. 2007; 33(4):472-5.

18. Khedmat S, Shokouhinejad N. Comparison of the efficacy of three chelating agents in smear layer removal. J Endod. 2008; 34(5):599-602.

19. Gainor BJ, Hockman DE, Anglen JO, Christensen G, Simpson WA. Benzalkonium chloride: a potential disinfecting irrigation solution. J Orthop Trauma. 1997; 11(2):121-5.

20. Perotti S, Bin P, Cecchi R. Hypochlorite accident during endodontic therapy with nerve damage - A case report. Acta Biomed. 2018; 89(1):104-8.

21. Sen BH, Akdeniz BG, Denizci AA. The effect of ethylenediamine-tetraacetic acid on Candida albicans. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2000; 90(5):651-5.

22. Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. Clin Oral Invest.1997; 1:154-62.

23. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials-advantages and limitations. J Dent. 1994; 22 Suppl 2: S6-11.

24. Wataha JC, Hanks CT, Sun Z. Effect of cell line on in vitro metal ion cytotoxicity. Dent Mater. 1994; 10:156-61.

25. Geurtsen W, Lehmann F, Spahl W, Leyhausen G. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. J Biomed Mater Res. 1998; 41:474-80.

26. Van Meerloo J, Kaspers GJ, Cloos J. Cell sensitivity assays: the MTT assay. Methods Mol Biol. 2011; 731:237-45.

27. Parboosing R, Mzobe G, Chonco L, Moodley I. Cell-based Assays for Assessing Toxicity: A Basic Guide. Med Chem. 2016;13(1):13-21.

28. Sundqvist G, Figdor D. Endodontic treatment of apical periodontitis. Essential endodontology. Oxford: Blackwell, 1998: 242-69.

29. Alaçam T. Endodonti, 2. Baskı: Ankara, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 2000.

30. Wesselink P, Bergenholtz G. Treatment of the necrotic pulp. In: Bergenholtz G, Reit C, eds. Textbook of Endodontology. Wiley, 2003: 352.

31. Ruksakiet K, Hanák L, Farkas N, Hegyi P, Sadaeng W, Czumbel LM, Sang-Ngoen T, Garami A, Mikó A, Varga G, Lohinai Z. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Root Canal Disinfection: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. J Endod. 2020; 46(8):1032-1041.e7.

32. Sassone LM, Fidel R, Fidel S, Vieira M, Hirata R Jr. The influence of organic load on the antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine in vitro. Int Endod J. 2003; 36(12):848-52.

33. Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil JM. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. Endodontic Topics. 2005; 10(1): 77-102.

34. Wong DT, Cheung GS. Extension of bactericidal effect of sodium hypochlorite into dentinal tubules. J Endod. 2014; 40(6):825-9.

35. Rôças IN, Siqueira JF Jr. Identification of bacteria enduring endodontic treatment procedures by a combined reverse transcriptase-polymerase chain reaction and reverse-capture checkerboard approach. J Endod. 2010; 36(1):45-52.

36. Zhang W, Torabinejad M, Li Y. Evaluation of cytotoxicity of MTAD using the MTT-tetrazolium method. J Endod. 2003; 29(10):654-7.

37. Ercan E, Ozekinci T, Atakul F, Gül K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. J Endod. 2004; 30(2):84-7.

38. Slaughter RJ, Watts M, Vale JA, Grieve JR, Schep LJ. The clinical toxicology of sodium hypochlorite. Clin Toxicol (Phila). 2019; 57(5):303-311.

39. Türkün M, Gökay N, Özdemir N. Farklı Endodontik Yıkama Solüsyonlarının Toksik ve Nekrotik Doku Çözücü Etkilerinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi-Comparative Investigation of the Toxic and Necrotic Tissue-Dissolving Effects of Different Endodontic Irrigants. İ Ü Diş Hek Fak Der. 1998; 32(2):87-94.

40. Hülsmann M, Hahn W. Complications during root canal irrigation--literature review and case reports. Int Endod J. 2000; 33(3):186-93.

41. de Arruda JAA, Schuch LF, Pereira A, Monteiro JLGC, Melo-Juinor PMR, Mesquita RA, Moreno A, Callou G. Investigation of different sodium hypochlorite volumes, concentrations and times of irrigation in endodontic therapy: a systematic review. Arch Health Invest. 2019; 8(4): 185-91.

42. Martin DE, De Almeida JF, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, Diogenes A. Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. J Endod. 2014; 40(1):51-5.

43. Serper A, Calt S, Dogan AL, Guc D, Ozçelik B, Kuraner T. Comparison of the cytotoxic effects and smear layer removing capacity of oxidative potential water, NaOCl and EDTA. J Oral Sci. 2001; 43(4):233-8.

44. Aldemir AB. Farklı irrigasyon solüsyonlarının sitotoksisitelerinin hücre kültürü yöntemi ile karşılaştırılmalı olarak incelenmesi. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Endodonti Anabilim Dalı. 2009

45. Tanaka T, Masako O, Masayuki O. The relationship between the preservative efficacy and cytotoxicity of two common preservatives used in cosmetics. J Oral Tissue Engin. 2018; 15(3): 186-92.

46. Sreevidya VS, Lenz KA, Svoboda KR, Ma H. Benzalkonium chloride, benzethonium chloride, and chloroxylenol - Three replacement antimicrobials are more toxic than triclosan and triclocarban in two model organisms. Environ Pollut. 2018; 235:814-24.

47. Pappen FG, Souza EM, Giardino L, Carlos IZ, Leonardo MR, de Toledo Leonardo R. Endodontic chelators induce nitric oxide expression by murine-cultured macrophages. J Endod. 2009; 35(6):824-8.

48. Zhang W, Torabinejad M, Li Y. Evaluation of cytotoxicity of MTAD using the MTT-tetrazolium method. J Endod. 2003; 29(10):654-7.

49. Yasuda Y, Tatematsu Y, Fujii S, Maeda H, Akamine A, Torabinejad M, Saito T. Effect of MTAD on the differentiation of osteoblast-like cells. J Endod. 2010; 36(2):260-3.

50. Karkehabadi H, Yousefifakhr H, Zadsirjan S. Cytotoxicity of Endodontic Irrigants on Human Periodontal Ligament Cells. Iran Endod J. 2018; 13(3):390-4.

51. Ozkan HB, Cobankara FK, Sayin Z, Ozer F. Evaluation of the Antibacterial Effects of Single and Combined use of Different Irrigation Solutions Against Intracanal Enterococcus Faecalis. Acta Stomatol Croat. 2020; 54(3):250-62.

52. Ibi H, Hayashi M, Yoshino F, Tamura M, Yoshida A, Kobayashi Y, Shimizu K, Lee MC, Imai K, Ogiso B. Bactericidal effect of hydroxyl radicals generated by the sonolysis and photolysis of hydrogen peroxide for endodontic applications. Microb Pathog. 2017; 103:65-70.

53. Kobayashi Y, Hayashi M, Yoshino F, Tamura M, Yoshida A, Ibi H, Lee MC, Ochiai K, Ogiso B. Bactericidal effect of hydroxyl radicals generated from a low concentration hydrogen peroxide with ultrasound in endodontic treatment. J Clin Biochem Nutr. 2014; 54(3):161-5.

54. Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. J Am Dent Assoc. 1986; 112(6):863-9.

55. Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA, Nelson Filho P, Bonifácio KC, Ito IY. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. J Endod. 1999; 25(3):167-71.

56. Hauman CH, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. Int Endod J. 2003; 36(2):75-85.

57. Vahdaty A, Pitt Ford TR, Wilson RF. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. Endod Dent Traumatol. 1993; 9(6):243-8.

58. Portenier I, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. Killing of Enterococcus faecalis by MTAD and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA. J Endod. 2006; 32(2):138-41.

59. Park JB, Park NH. Effect of chlorhexidine on the in vitro and in vivo herpes simplex virus infection. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1989; 67(2):149-53.

60. Heling I, Chandler NP. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. Int Endod J. 1998 ;31(1):8-14.

61. Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JA. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. Int Endod J. 2004; 37(1):38-41.

62. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. Int Endod J. 2009; 42(4):288-302.