BRIEF REPORT

Evaluation of the effect of different pulp capping materials on the secretion of Interleukin-6 from human dental pulp stem cells: an in vitro study

Naghmeh Ahmadiankia[1]
Anahita Lotfizadeh[2]
Mehdi Bagheri[3]
Mozhgan Fazli[1]
Salma Omidi[4,5]

[1] School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran
[2] Dentist, Sari, Mazandaran, Iran
[3] Clinical Research Development Unit, Imam Hossein Hospital, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Endodontics, Dental Research Center,, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Faculty of Dentistry, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received December 19, 2023; Accepted August 21, 2024)

Abstract

Background and purpose: Regenerative treatments in endodontics are biological treatments to manage immature teeth, remove inflamed and necrotic tissue, and create a suitable environment for tissue repair. In these treatments, substances with reparative properties of dental pulp and dentin are placed on the pulpal tissue. Interleukin-6 is one of the cytokines secreted in response to various immune activities of the body and studies have demonstrated its vital role in mineralization induction and hard tissue formation. Recently, calcium silicate-based materials have been widely implemented in dentistry due to their great biocompatibility and hard tissue formation induction. Considering the role of IL-6 in the regulation of stem cells, the purpose of this study is to compare the effect of CEM cement, Biodentine, TheraCal LC, and MTA on the level of IL-6 secretion by dental pulp stem cells.

Materials and methods: In this laboratory study, 4 types of cement were used as the main groups, and 1 control group contained culture medium without cement. Discs were prepared under sterile conditions in six-well plates with a diameter of 35 mm and a height of 2 mm and they were given time to set for 48 hours. Human pulp stem cells were obtained from Iran's Center for Biological Resources and cultured in a culture medium containing DMEM with 15% FBS and 1% penicillin-streptomycin (10,000 units/ml) as antibiotics. Pulp stem cells at passages 3-5 were used for experiments. Discs of each cement were prepared under sterile conditions and according to the manufacturer's instructions. To prepare the extract of each cement, the DMEM cell culture medium was placed near these discs for 24 hours. Then, human dental pulp stem cells (hDPSCs) were cultured in the vicinity of the disc extract for 72 hours. After that, this extract was collected and the level of IL-6 secretion in it was measured by the ELISA method. The experiments were repeated 3 times. Then the obtained data were entered into SPSS 16 software and analyzed using analysis of variance and the Kruskal-Wallis test.

Results: The results showed that the highest level of IL-6 secretion by cells was in the presence of TheraCal LC, Biodentine, and CEM, respectively; But there was no significant difference between the groups. The average level of IL-6 secretion in the presence of MTA was lower than in other groups and this difference was significant ($P<0.01$).

Conclusion: The results of the present study showed a lower level of IL-6 cytokine secretion by pulpal stem cells in the presence of MTA compared to TheraCal, CEM, and Biodentine types of cement. Considering the role that IL-6 can have in osteogenic and odontogenic activities, the results of this study can be useful in establishing information in the field of introducing the most suitable cements for clinical procedures.

Keywords: Biodentine, CEM cement, Interleukin-6, MTA, TheraCal LC, Vital Pulp Therapy

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (236): 87-93 (Persian).

Corresponding Author: Salma Omidi - Faculty of Dentistry, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: Somidi@mazums.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-12-21]

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و چهارم شماره ۲۳۶ شهریور سال ۱۴۰۳ (۹۳-۸۷)

بررسی اثر مواد مختلف پوشش پالپی بر ترشح اینترلوکین-٦ از سلول‌های بنیادی پالپ دندان انسان: یک مطالعه آزمایشگاهی

نغمه احمدیان کیا[1]
آناهیتا لطفی‌زاده[2]
مهدی باقری[3]
مژگان فضلی[1]
سلما امیدی[4و5]

چکیده

سابقه و هدف: درمان‌های رژنراتیو در اندودانتیکس، درمان‌هایی بیولوژیک به منظور مدیریت دندان‌های نابالغ، حذف بافت ملتهب و نکروتیک و ایجاد محیط مناسب برای ترمیم بافت هستند. در این درمان‌ها موادی با خاصیت ترمیم‌کنندگی پالپ دندان وعاج روی بافت پالپی قرار داده می‌شوند. اینترلوکین-۶ یکی از سایتوکاین‌هایی است که در پاسخ به بسیاری از فعالیت‌های ایمنی بدن ترشح می‌شود و مطالعات نقش حیاتی آن را در القای مینرالیزاسیون و تشکیل بافت‌های سخت نشان داده‌اند. امروزه سمان‌های کلسیم سیلیکاتی به دلیل زیست سازگاری و القای ساخت بافت سخت بالا به‌طور گسترده‌ای در دندانپزشکی استفاده می‌شوند. با توجه به نقش IL-6 در تنظیم سلول‌های بنیادی، این مطالعه با هدف مقایسه اثر سمان‌های CEM cement، Biodentine، TheraCal LC و MTA بر میزان ترشح IL-6 توسط سلول‌های بنیادی پالپ دندان، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی از ۴ سمان به عنوان گروه‌های اصلی و ۱ گروه کنترل که حاوی محیط کشت فاقد سمان بود، استفاده شده است. دیسک‌ها تحت شرایط استریل در پلیت‌های شش خانه‌ای به قطر ۳۵ میلی‌متر و ارتفاع ۲ میلی‌متر تهیه شدند و به آن‌ها زمان داده شد تا به‌مدت ۴۸ ساعت ست شوند. سلول‌های بنیادی پالپ انسان از مرکز منابع زیستی ایران تهیه شدند و در محیط کشت حاوی DMEM با ۱۵ درصد FBS و ۱ درصد پنی‌سیلین- استرپتومایسین (۱۰۰۰۰ واحد/ میلی‌لیتر) به‌عنوان آنتی‌بیوتیک کشت شدند. سلول‌های بنیادی پالپ در پاساژ ۵-۳ برای آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. دیسک‌هایی از هر سمان تحت شرایط استریل و براساس دستورالعمل کارخانه سازنده تهیه شدند. به منظور تهیه عصاره هر سمان، محیط کشت سلولی DMEM به مدت ۲۴ ساعت با این دیسک‌ها مجاورت داده شدند. سپس سلول‌های بنیادی پالپ دندان انسان hDPSCs به مدت ۷۲ ساعت در مجاورت عصاره دیسک‌ها کشت داده شدند. پس از آن، این عصاره جمع‌آوری شد و میزان ترشح IL-6 در آن به روش ELISA اندازه‌گیری شد. آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شدند. سپس داده‌های به‌دست آمده وارد نرم‌افزار SPSS16 شدند و با استفاده از آنالیز واریانس و آزمون کروسکال والیس مورد آنالیز قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان ترشح IL-6 توسط سلول‌ها به‌ترتیب در حضور TheraCal LC، Biodentine و CEM بود؛ اما اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد. میانگین میزان ترشح IL-6 در حضور MTA از سایر گروه‌ها کم‌تر بود و این اختلاف معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$).

استنتاج: نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان‌دهنده میزان پایین‌تر ترشح سایتوکاین IL-6 توسط سلول‌های بنیادی پالپی در حضور MTA در مقایسه با سمان‌های TheraCal، CEM، Biodentine بود. با توجه به نقشی که IL-6 در فعالیت‌های استئوژنیک و ادونتوژنیک می‌تواند داشته باشد، نتایج این مطالعه در پایه‌گذاری اطلاعاتی در زمینه معرفی مناسب‌ترین سمان‌ها برای اقدامات کلینیکی می‌تواند مفید باشد.

واژه های کلیدی: Biodentine، CEM cement، اینترلوکین-۶، MTA، TheraCal LC، Vital Pulp Therapy

مولف مسئول: سلما امیدی- ساری: بلوار خزر، دانشکده دندانپزشکی E-mail: Somidi@mazums.ac.ir
۱. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران
۲. دندانپزشک، ساری، مازندران، ایران
۳. بخش ارتقای پژوهش بالینی، بیمارستان امام حسین، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران
۴. استادیار، گروه اندو، مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۲۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۲/۱۱/۳ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۵/۳۱

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-12-21]

مقدمه

امروزه سمان‌های کلسیم سیلیکاتی به دلیل زیست سازگاری بیش‌تر و القای ساخت بافت سخت نسبت کاربرد بسیار در دندانپزشکی دارند(۲،۱). درمان دندان به روش پالپ زنده (Vital Pulp Therapy: VPT)، یک درمان محافظه کارانه با حفظ حیات و عملکرد پالپ تاجی و ریشه‌ای باقی مانده است. در این درمان ماده‌ای با خاصیت تحریک عاج‌سازی و ترمیم بافت پالپی در تماس با بافت پالپ قرار می‌گیرد(۴،۳).

اینترلوکین-۶ (IL-6) سایتوکاینی است که توسط سلول‌های ایمنی و غیرایمنی مختلفی که بسیاری از جنبه‌های پاسخ ایمنی موضعی را تعدیل می‌کنند، ساخته می‌شود(۵). مطالعات قبلی بیانگر کارآمدی IL-6 به‌عنوان یک فاکتور مکمل در القای مینرالیزاسیون و تشکیل بافت سخت بوده است(۶). Mineral Trioxide Aggregate (MTA) به عنوان ماده انتخابی برای پوشش پالپی مستقیم شناخته شده است. در حضور این ماده شکل‌گیری پل عاجی مناسب را زیر ناحیه اکسپوز پالپی مشاهده کرده‌اند(۸،۷). این ماده معایبی از جمله زمان ستینگ طولانی، تغییر رنگ دندان و سمیت بالا دارد(۹). به منظور برطرف ساختن این معایب سمان‌های متعددی با ساختار تقریباً مشابه MTA، از جمله بیودنتین، CEM و TheraCal LC معرفی گشته و مورد مطالعه قرار گرفته‌اند(۱۱،۱۰).

بیودنتین(Biodentine) ماده‌ای با ترکیب تری‌کلسیم سیلیکات است که خواص درمانی مشابه MTA از جمله القاء مینرالیزاسیون و تشکیل پل عاجی دارد. در مطالعات متعددی بیواکتیویتی و مؤثر بودن بیودنتین در آزادسازی فاکتورهای رشدی مؤثر در ساخت عاج دندان نشان داده شده است(۱۱). Calcium enriched mixture cement (CEM) ماده جدیدی است که همانند MTA جزء دسته‌ای از مواد بیواکتیو تحت عنوان سمان تری کلسیم سیلیکات می‌باشد. مطالعات قبلی بیان داشته‌اند که این مواد موجب القاء، تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی پالپ دندان می‌شوند(۱۲). TheraCal LC شامل ذرات تری‌کلسیم سیلیکات در یک مونومر هیدروفیلیک است که میزان قابل توجهی کلسیم آزاد می‌کند که منجر به افزایش دوام آن می‌گردد و در عین حال تشکیل پل عاجی را مقدور می‌سازد(۱۳). با توجه به مطالبی که پیش تر ذکر شد و نظر به این که تاکنون مطالعات اندکی در زمینه تأثیر مواد فوق بر میزان آزادسازی IL-6 توسط سلول‌های پالپی صورت گرفته است؛ مطالعه حاضر با هدف مقایسه اثر CEMcement، Biodentine، TheraCal LC و MTA بر پاسخ سلول‌های بنیادی پالپ در زمینه ترشح IL-6 صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه آزمایشگاهی با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1398.691 در دانشکده دندانپزشکی ساری تصویب شد. در این مطالعه از ۴ سمان CEM cement (Bionique Dent, Tehran, Iran)، Biodentine (Septodent,France)، MTA (Angelus,Brazil)، TheraCal LC (Bisco, Lançon De Provence, France) به‌عنوان گروه‌های اصلی و ۱ گروه کنترل که حاوی محیط کشت فاقد سمان بوده، استفاده شده است.

روش آماده‌سازی عصاره سمان‌ها

آماده‌سازی سمان‌ها براساس پروتکل شرکت سازنده صورت گرفت. دیسک‌های هر سمان (هر سمان یک دیسک) تحت شرایط استریل در پلیت‌های شش خانه‌ای به قطر ۳۵ میلی‌متر و ارتفاع ۲ میلی‌متر تهیه شدند. به دیسک‌ها زمان داده شد تا در دمای ۳۷ درجه، ۵ درصد CO_2 و رطوبت ۱۰۰ درصد، به‌مدت ۴۸ ساعت ست شوند. به منظور تهیه عصاره یا مایع رویی از هر سمان، محیط کشت DMEM به هر چاهک حاوی دیسک اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط دمای $37^{o}C$، رطوبت ۱۰۰ درصد و ۵ درصد CO_2 انکوبه شدند. براساس راهنمای شرکت بین‌المللی استاندارد ۵-۱۰۹۹۳ نسبت سطح ماده به حجم محیط، ۱/۵ سانتی‌متر مربع بر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-12-21]

میلی‌لیتر در نظر گرفته شد(۱۴). مایع رویی به‌دست آمده از هر یک از سمان ها فیلتر شدند و به عنوان عصاره هر سمان درطول آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند(۱۶،۱۵،۴).

کشت سلول های بنیادی پالپ دندان

سلول‌های بنیادی پالپ انسان (hDPSCs) از مرکز منابع زیستی ایران (تهران، ایران) تهیه شدند. سلول‌ها در محیط کشت حاوی DMEM با ۱۵ درصد FBS و ۱ درصد پنی‌سیلین- استرپتومایسین (۱۰۰۰۰ واحد/ میلی‌لیتر) به‌عنوان آنتی‌بیوتیک کشت شدند. سلول‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در رطوبت ۱۰۰ درصد هوا و ۵ درصد CO2 قرار گرفتند. سلول‌های بنیادی پالپ اولیه در پاساژ ۵-۳ برای آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند(۱۹-۱۷).

(ELISA) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

جهت تعیین میزان ترشح IL-6

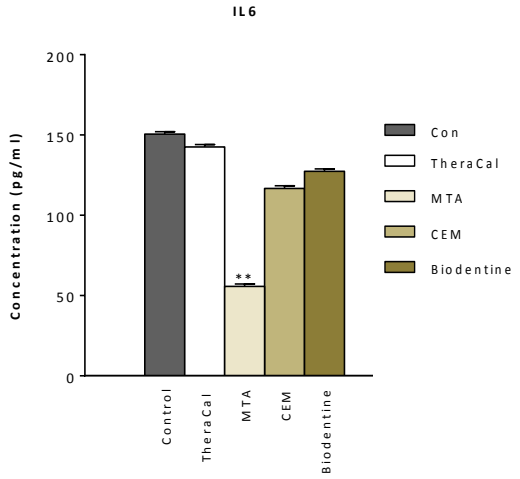
به منظور بررسی میزان ترشح IL6، hDPSCs با تراکم ۳×۱۰^{۳} در هر چاهک از یک پلیت ۹۶ خانه‌ای به همراه ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره سمان‌ها حاوی ۱۰ درصد FBS، به‌مدت ۷۲ ساعت کشت داده شدند. سپس محیط کشت جمع‌آوری شده و میزان ترشح IL-6 با استفاده از immunoassay kits (IBL, Germany) و بر طبق دستورالعمل کارخانه اندازه‌گیری شدند. آزمایشات سه مرتبه تکرار گشتند. چاهک‌های محتوی hDPSCs محتوی محیط کشت بدون عصاره سمان به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد(۲۰-۱۷).

آنالیز آماری

داده‌ها وارد نرم‌افزار SPSS 16 (IBM company, USA) شدند و با استفاده از آنالیز واریانس آنالیز شدند. در صورت نرمال نبودن داده‌ها از تست کروسکال والیس استفاده شد. مقادیر P کم‌تر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها و بحث

غلظت سایتوکاین IL-6 در مایع رویی ترشح شده توسط hDPSCs به ترتیب در حضور TheraCal LC، Biodentine، CEM و MTA بعد از ۷۲ ساعت با روش ELISA اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان ترشح IL-6 توسط سلول‌ها به ترتیب در حضور TheraCal LC، Biodentine و CEM بود؛ اما اختلاف معنی‌داری بین گروه ها مشاهده نشد. میانگین میزان ترشح IL-6 در حضور MTA از سایر گروه‌ها کم‌تر بود واین اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۱) (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: اندازه گیری میزان آزاد شدن سایتوکاین IL-6 توسط hDPSCs به روش ELISA.

**: نشان دهنده P<۰/۰۱ (آزمون کروسکال والیس)

براساس نتایج مطالعه حاضر، غیر از MTA بقیه سمان‌های سیلیکاتی تغییر قابل توجهی در ترشح IL-6 توسط سلول‌های بنیادی پالپ ایجاد نکردند. MTA موجب کاهش ترشح این سایتوکاین شد. در مطالعه‌ای که توسط Kaplan وهمکاران درسال ۲۰۲۳ صورت‌گرفت مشخص شد که مدیاتور IL-6 موجب کاهش فعالیت‌های استئوژنیک، کندروژنیک و ادیپوژنیک سلول‌های بنیادی پالپ انسان می‌شود(۲۰). از طرف دیگر مطالعه ای توسط Lui و همکاران درسال ۲۰۲۳ انجام گرفت نشان

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-12-21]

داد که سطح IL-6 و به‌دنبال آن فعالیت استئوژنیک، توسط سلول‌های بنیادی پالپ افزایش پیدا می‌کند(۲۱).

در مطالعه‌ای که توسط Chung و همکاران او به منظور ارزیابی اثرات سمان‌های کلسیم سیلیکاتی ProRoot MTA، Biodentine، Retro MTA و Dycal بر پاسخ التهابی ناشی از سلول‌های بنیادی پالپ دندان انسان صورت گرفت، pro root MTA و biodentin هیچ تاثیر معنی‌داری بر روی افزایش بیان IL-6 نداشتند و کاهش قابل توجه بیان IL-6 توسط Retro MTA مشاهده شد که مشابه نتایج این مطالعه می‌باشد(۱۶). در مرور سیستماتیکی که بر عملکرد مواد بر پایه سیلیکات از جمله Biodentine و ProRoot MTA صورت گرفته است، تنظیم افزایشی مارکرهای ادونتوژنیک و استئوژنیک سلول‌های بنیادی پاپیلای اپیکال، بیان سایتوکاین‌های پیش التهابی از جمله IL-6 و افزایش قابل توجه در تشکیل نودول‌های مینرالیزه مشاهده شده است(۲۲). هم‌چنین افزایش آنژیوژنز به عنوان یک فرایند ضروری در درمان‌های اندودانتیک از جمله پالپ کپ توسط Biodentine و ProRoot MTA گزارش شده است(۲۳). Saberi و همکاران او مطالعه‌ای در رابطه با بررسی اثر سمان‌های کلسیم سیلیکاتی ازجمله CEM، Biodentine و MTA در افزایش بیان ژن‌های سایتوکاین IL-6 توسط سلول‌های بنیادی پاپیلای اپیکال انجام دادند. از میان این سه سمان بیش‌ترین میزان بیان ژن IL-6 مربوط به گروه سمان CEM و سپس به ترتیب Biodentine و MTA بودند(۱۰).

در مطالعه صورت گرفته توسط Chang و همکاران او که بر چهار سمان کلسیم سیلیکاتی Micromega MTA، ProRoot MTA، Retro MTA و Experimental Calcium Silicate Cement صورت گرفت، نتایج حاکی از آن بود که هر چهار سمان در زمینه بیان مدیاتورهای پیش التهابی مانند نیتریک اوکساید، پروستاگلاندین E_2، TNF-alpha، IL-1B، IL-6 و IL-8 توسط سلول‌های پالپی انسان، با یکدیگر مشابه بودند(۲۴).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان‌دهنده میزان پایین‌تر ترشح سایتوکاین IL-6 توسط سلول‌های بنیادی پالپی در حضور MTA در مقایسه با سمان‌های TheraCal، CEM، Biodentine بود. با توجه به نقشی که IL-6 در فعالیت‌های استئوژنیک و ادونتوژنیک می‌تواند داشته باشد، نتایج این مطالعه در پایه‌گذاری اطلاعاتی در زمینه معرفی مناسب‌ترین سمان‌ها جهت کاربرد در کلینیک می‌تواند مفید باشد.

سپاسگزاری

از مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران بابت حمایت‌های صورت گرفته تشکر به عمل می‌آید.

References

1. Christie B, Musri N, Djustiana N, Takarini V, Tuygunov N, Zakaria M, et al. Advances and challenges in regenerative dentistry: a systematic review of calcium phosphate and silicate-based materials on human dental pulp stem cells. Mater Today Bio 2023; 23: 100815.
2. Shokrzadeh M, Motafeghi FS, Lotfizadeh A, Ghorbani M, Haddadi Kohsar A. Cytotoxicity and Mineralization Activity of Calcium Silicate-Based Root Canal Sealers Compared to Conventional Resin-Based Sealer in Human Gingival Fibroblast Cells. Int J Dent 2023; 2023: 4376579.
3. Akhlaghi N, Khademi A. Outcomes of vital pulp therapy in permanent teeth with different medicaments based on review of the literature. Dent Res J (Isfahan) 2015; 12(5): 406-417.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-12-21]

4. Omidi S, Bagheri M, Fazli M, Ahmadiankia N. The effect of different pulp-capping materials on proliferation, migration and cytokine secretion of human dental pulp stem cells. Iran J Basic Med Sci 2020; 23(6): 768-775.
5. Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. Erratum in: Nat Immunol 2015; 16(5): 448-457.
6. Nowwarote N, Sukarawan W, Kanjana K, Pavasant P, Fournier BP, Osathanon T. Interleukin 6 promotes an in vitro mineral deposition by stem cells isolated from human exfoliated deciduous teeth. R Soc Open Sci 2018; 5(10): 180864.
7. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part I: chemical, physical, and antibacterial properties. J Endod 2010; 36(1): 16-27.
8. Cao Y, Bogen G, Lim J, Shon W-J, Kang MK. Bioceramic materials and the changing concepts in vital pulp therapy. J Calif Dent Assoc 2016; 44(5): 279-290.
9. uo Z, Li D, Kohli MR, Yu Q, Kim S, He W-x. Effect of Biodentine™ on the proliferation, migration and adhesion of human dental pulp stem cells. J Dent 2014; 42(4): 490-497.
10. Saberi E, Farhad-Mollashahi N, Sargolzaei Aval F, Saberi M. Proliferation, odontogenic/osteogenic differentiation, and cytokine production by human stem cells of the apical papilla induced by biomaterials: a comparative study. Clin Cosmet Investig Dent 2019: 181-193.
11. Arandi NZ, Rabi T. TheraCal LC: From Biochemical and Bioactive Properties to Clinical Applications. Int J Dent 2018; 2018: 3484653.
12. Asgary S, Nazarian H, Khojasteh A, Shokouhinejad N. Gene expression and cytokine release during odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells induced by 2 endodontic biomaterials. J Endod 2014; 40(3): 387-392.
13. Beegum MF, George S, Anandaraj S, Issac JS, Khan SN, Habibullah MA. Comparative evaluation of diffused calcium and hydroxyl ion release from three different Indirect pulp capping agents in permanent teeth–An in vitro study. The Saudi Dental Journal 2021; 33(8): 1149-1153.
14. Guidance Document on Using In Vitro Data to Estimate In Vivo Starting Doses for Acute Toxicity. NIH Publication. 2001; Available from: https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/iccvam/docs/acutetox_docs/guidance0801/iv_guide.pdf.
15. Gaudin A, Tolar M, Peters OA. Cytokine production and cytotoxicity of calcium silicate–based sealers in 2-and 3-dimensional cell culture models. J Endod 2020; 46(6): 818-826.
16. Chung M, Lee S, Chen D, Kim U, Kim Y, Kim S, et al. Effects of different calcium silicate cements on the inflammatory response and odontogenic differentiation of lipopolysaccharide-stimulated human dental pulp stem cells. Materials 2019; 12(8): 1259.
17. Omidi S, Bagheri M, Fazli M, Ahmadiankia N. Effects of Two Calcium Silicate Cements on Transforming Growth Factor-β1 Secretion from Human Dental Pulp Stem Cells. Iran Endod J 2018; 13(4): 522.
18. Hosseini E, Lomee M, Charati JY, Hosseinnataj A, Omidi S. Comparative Evaluation of Cytotoxicity of Fluoride Varnish as Root Canal Sealer against L929 Mouse Fibroblasts with Conventional Endodontic Sealers. J Dent Materials Techniq 2021; 10(3): 133-141.
19. Javidi M, Zarei M, Omidi S, Ghorbani A, Gharechahi M, Rad MS. Cytotoxicity of a

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-12-21]

new nano zinc-oxide eugenol sealer on murine fibroblasts. Iran Endod J 2015; 10(4): 231-235.

20. Sonmez Kaplan S, Sazak Ovecoglu H, Genc D, Akkoc T. TNF-α, IL-1B and IL-6 affect the differentiation ability of dental pulp stem cells. BMC Oral Health 2023; 23(1): 555.
21. Liu B, Li J, Chen B, Shuai Y, He X, Liu K, et al. Dental pulp stem cells induce anti-inflammatory phenotypic transformation of macrophages to enhance osteogenic potential via IL-6/GP130/STAT3 signaling. Ann Transl Med 2023; 11(2): 90.
22. Sanz JL, Forner L, Almudéver A, Guerrero-Gironés J, Llena C. Viability and stimulation of human stem cells from the apical papilla (hscaps) induced by silicate-based materials for their potential use in regenerative endodontics: A systematic review. Materials 2020; 13(4): 974.
23. Peters OA, Galicia J, Arias A, Tolar M, Ng E, Shin S .Effects of two calcium silicate cements on cell viability, angiogenic growth factor release and related gene expression in stem cells from the apical papilla. Int Endod J 2016; 49(12): 1132-1140.
24. Chang S-W, Bae W-J, Yi J-K, Lee S, Lee D-W, Kum K-Y, et al. Odontoblastic differentiation, inflammatory response, and angiogenic potential of 4 calcium silicate–based cements: Micromega MTA, ProRoot MTA, RetroMTA, and experimental calcium silicate cement. J Endod 2015; 41(9): 1524-1529.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-12-21]