

University of Mosul
College of Dentistry



**The Effect of Different Types of Root Canal Sealers on
Proliferation, Cytotoxicity and Differentiation of Human
Cell Lines (A Comparative Study)**

A Thesis Submitted by

Marwa Ahmed Jassim Shaher

To

The Council of College of Dentistry/ University of Mosul

as a partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Science in

Conservative Dentistry

Supervised by

Asst. Prof.

Dr. Alaa Edrees Dawood

1447 A.H

2025 A.D

ABSTRACT

Aim: To assess proliferation, cytotoxicity, and differentiation of human cell lines of bioceramic-based root canal sealers (NeoSEALER flo, Cerafill RCS, and MTA Fillapex) by comparing them to zinc oxide eugenol-based sealer (Endovit), as well as pH change, calcium and phosphate ion release at different time intervals (1, 3, and 7 days).

Methods: Sealers were prepared according to the manufacturer's directions and inserted in cylindrical rubber molds (5 mm diameter, 2 mm height) to get uniform sealer specimens, the specimens were kept in an incubator for 24 hours at 37°C. Human periodontal ligament fibroblasts were cultured with extracts from the tested sealers (extract of 1, 3, and 7 days) in the set state. Human MG-63 osteoblast-like cell lines were treated with the tested sealers in both fresh (immediately after mixing) and set state (extract of 1, 3, and 7 days). The cell viability of all root canal sealers was determined using an MTT test and cytotoxicity was determined using an LDH test. The gene expression was assessed by RT-qPCR, calcium and phosphate ion release was measured by ICP-MS, and pH change was determined by pH meter. Data were statistically evaluated with one way-analysis of variance ANOVA followed by Duncan's Multiple Range Test (Duncan's MRT) and Tukey's post hoc test ($p < 0.05$), to determine if group variance was significant.


Results: Each tested sealer demonstrated a statistically significant variance in cell viability, cytotoxicity, osteogenic gene expression, pH change and ion release at various time intervals. NeoSEALER Flo had the highest cell viability and lowest cytotoxicity percentages, followed by Cerafill RCS, MTA fillapex and Endovit respectively at each evaluation time interval. NeoSEALER flo exhibited an overexpression of collagen type 1 (COL1), Cerafill RCS presented upregulation of alkaline phosphatase (ALP), MTA Fillapex presented upregulation of osteopontin (OPN) and Endovit presented upregulation of

osteocalcin (OCN). An alkaline pH and ion release were as follows: Cerafill RCS> NeoSEALER flo> MTA Fillapex> Endovit.

Conclusions: NeoSEALER Flo was the least cytotoxic while ENDOVIT was the most cytotoxic root canal sealer at all incubation periods. Cell viability decreased over time for all types of the tested root canal sealers. Bioceramic-based root canal sealers can promote osteogenic gene expression at different time intervals, Cerafill RCS and NeoSEALER flo presented an alkaline pH along with higher amount of calcium and phosphate ion release than MTA Fillapex and Endovit.

The Effect of Different Types of Root Canal Sealers on Proliferation, Cytotoxicity and Differentiation of Human Cell Lines (A Comparative Study)

Author: Marwa Ahmed Jassim Shafer Advisor: Alaa Edress Dawood Publisher: University of Mosul

HIGHLIGHTS	GRAPHICAL ABSTRACT
<ul style="list-style-type: none"> • Performance tests of MTT, LDH, RT-qPCR, pH change, Calcium and phosphate ion release were evaluated. • Bioceramic Sealer neosealer flo show higher cell viability and lower cytotoxicity when compared with Zinc oxide-eugenol sealer (Endovit) • Bioceramic sealers can promote osteogenic gene expression at different time intervals • Cerafill RCS and Neosealer flo presented an alkaline pH along with higher amount of calcium and phosphate ion release than MTA Fillapex and Endovit 	
<p>Keywords: Bioceramic Sealer Biocompatibility Cytotoxicity Osteogenic Gene Expression pH change Ion Release</p>	<p>ABSTRACT Aim: To assess proliferation, cytotoxicity and differentiation of human cell lines, as well as pH change, calcium and phosphate ion release of bioceramic based root canal sealers by comparing them to zinc oxide-eugenol based sealer (Endovit) on human periodontal ligament fibroblasts and osteoblast-like cell lines for one, three and seven days. Methods: Sealers were prepared according to the manufacturer's directions and inserted in cylindrical rubber molds (5 mm diameter, 2 mm height) to get uniform sealer specimens, the specimens were kept in an incubator for 24 hours at 37C°. Human periodontal ligament fibroblasts were cultured with extracts from the tested sealers. Human MG-63 osteoblast like cell lines were treated with the tested sealers in both fresh and set state (extract of 1 day, 3 days, and 7 days). Cell viability and Cytotoxicity were assessed for the extracts of one day, three days and seven days immersion. The cell viability of all root canal sealers was determined using an MTT test and cytotoxicity was determined using an LDH test. The gene expression was assessed by RT-qPCR, calcium and phosphate ion release was measured by ICP-MS, and pH change was determined by pH meter. Data were statistically evaluated with one way-analysis of variance ANOVA followed by Duncan's MRT and Tukey's post hoc test ($p < 0.05$), to determine if group variance was significant.</p> <p>Results: Each tested sealer demonstrated a statistically significant variance in cell viability, cytotoxicity, osteogenic gene expression, pH change and ion release at various time intervals. NeoSEALER Flo had the highest cell viability and lowest cytotoxicity percentages, followed by Cerafill RCS, MTA fillapex and Endovit respectively at each evaluation time interval. NeoSEALER flo exhibited an overexpression of COL1, Cerafill RCS presented upregulation of ALP, MTA Fillapex presented upregulation of OPN and Endovit presented upregulation of OCN. An alkaline pH and ion release were as follows: Cerafill RCS > NeoSEALER flo > MTA Fillapex > Endovit.</p> <p>2025 M.Sc. Thesis @Univ. of Mosul, College of Den., Con. Dent. Dept. https://www.uomosul.edu.iq/.</p>



جامعة الموصل
كلية طب الأسنان

تأثير أنواع مختلفة من السدادات اللبية على التضاعف والسمية
الخلوية والتمايز في خطوط الخلايا البشرية (دراسة مقارنة)

رسالة تقدمت بها

مروة احمد جاسم شاهر

الى

مجلس كلية طب الاسنان/جامعة الموصل

كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

في

علاج الاسنان التحفظي

بأشراف

أ.م.د. علاء إدريس داؤد

الخلاصة

الهدف: تقييم التضاعف والسمية الخلوية والتمايز لسدادات قناة الجذر القائمة على السيراميك الحيوي من خلال مقارنتها بسداد يعتمد على اوكسيد الزنك والأوجينول على الخلايا الليفية في أربطة اللثة البشرية والخلايا العظمية، بالإضافة الى تغير الرقم الهيدروجيني واطلاق أيونات الكالسيوم والفوسفات على مدى يوم واحد، وثلاثة أيام، وسبعة أيام.

الطرائق: حُضِرَت سدادات قناة الجذر وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة ، ووضعت في قوالب مطاطية إسطوانية (قطرها ٥ ملم وإرتفاعها ٢ ملم) للحصول على عينات متطابقة ، وحُزِنَت العينات لمدة ٢٤ ساعة عند ٣٧ درجة مئوية ، وحُضِنَت الخلايا الليفية في أربطة اللثة البشرية باستخدام مستخلصات سدادات قناة الجذر التي تم إختبارها. عولجت خطوط الخلايا البشرية الشبيهة بخلايا العظم MG-63 باستخدام مستخلصات سدادات الجذر المختبرة في كل من الحالة الطازجة والصلبة (مستخلص يوم واحد ، ٣ أيام ، و ٧ أيام). قُيِمَت حيوية الخلية والسمية الخلوية لمستخلصات يوم واحد ، وثلاثة أيام ، وسبعة أيام وفقاً لوقت الغمر ، وتم تحديد حيوية الخلية لجميع سدادات قناة الجذر باستخدام مقايصة MTT ، وتم تحديد السمية الخلوية باستخدام مقايصة LDH. قُيِمَ التعبير الجيني بواسطة RT-qPCR ، قيسَت أيونات الكالسيوم والفوسفات بواسطة مطياف الكتلية البلازمية المقرونة بالحث (ICP-MS). حُلَّت البيانات إحصائياً باستخدام تحليل التباين أحادي الاتجاه ANOVA متبوعاً باختبار Duncan's MRT واختبار Tukey's post hoc لايجاد الفروق وبمستوى إحتمالية $p \leq 0.05$.

النتائج: أظهر كل سداد لقناة الجذر أختبر تبايناً مهماً إحصائياً في الحيوية الخلوية ، والسمية الخلوية ، والتعبير الجيني العظمي ، وتغير الرقم الهيدروجيني ، وإطلاق الايونات في فترات زمنية مختلفة. أظهر NeoSEALER flo اعلى حيوية خلوية واكل سمية خلوية ، يليه Cerafill RCS ، Endovit ، MTA Fillapex على التوالي في كل فترة زمنية للتقييم. أظهر NeoSEALER flo زيادة في التعبير عن COL1 وأظهر Cerafill RCS زيادة في التعبير عن ALP ، وأظهر MTA fillapex زيادة في التعبير عن OPN ، في حين أظهر Endovit زيادة في التعبير عن OCN. كان معدل الرقم الهيدروجيني pH واطلاق الايونات على النحو التالي: NeoSEALER flo < Cerafill RCS < Endovit < MTA Fillapex.

الاستنتاجات: تبين ان NeoSEALER flo هو الأقل سمية للخلايا ،بينما كان Endovit هو الأكثر سمية للخلايا. انخفضت الحيوية الخلوية بمرور الوقت. يمكن لسدادات قناة الجذر المعتمدة على السيراميك الحيوي ان تعزز التعبير الجيني للعظام. أظهرت كل من سدادتي قناة الجذر Cerafill RCS و NeoSEALER flo أعلى النسب في الرقم الهيدروجيني واطلاق أيونات الكالسيوم والفوسفات مقارنة ب MTA fillapex و Endovit.