مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دوره ۳۰ شماره ۱ بهار ۱۳۸۷ صفحات ۱۳۷- ۱۳۳

مقایسه واکنش هیستوپاتولوژیک دو نوع Mineral Trioxide Aggregate خاکستری در بافت همبند موش

دکتر سپیده وثوق حسینی: استادیار آسیب شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی تبریز و مرکز تحقیقات نانو تکنولوژی داروئی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دکتر مهرداد لطفی: دانشیار اندودونتیکس، دانشکده دندانپزشکی تبریز، مرکز تحقیقات نانو تکنولوژی داروئی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط
E-mail: mehrlotfi@yahoo.com

دکترمهران مسگری: دکتری دامپزشکی، مرکز تحقیقات داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۵/۱۰/۹، پذیرش: ۸۶/۲/۱۹

چکیده

زمینه و اهداف : Mineral Trioxide Aggregate, MTA بعنوان یکی از مواد پرکننده انتهای ریشه سازگاری زیستی خوبی دارد و به دو نوع سفید و خاکستری ساخت خارج و داخل موجود است. هدف از این مطالعه بررسی واکنش بافت همبند به دو نوع تجاری MTA خاکستری میباشد.

روش بررسی: ٤٠ موش صحرایی به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. لوله های پی اتیلن پر شده با MTA خاکستری خارجی، ساخت داخل و لوله های خالی بعنوان کنترل در بافت همبند زیر جلدی کاشته شد. نمونه ها پس از ۷، ۱۵، ۳۰، ٦٠ و ۹۰ روز مورد بررسی هیستوپاتولوژیک قرار گرفت و بدین صورت گروه بندی شدند. صفر، بدون سلول التهابی، بدون واکنش. یک، کمتر از ۲۵ سلول التهابی، واکنش خفیف. دو،۲۵ الی ۱۲۵ سلول التهابی، واکنش متوسط. سه، بیش از ۱۲۵ سلول التهابی، واکنش شدید. از تست آماری Kruskal-Wallis و ANOVA دو طرفه در سطح معنی داری$p > ۰/۰۵$ استفاده شد.

یافته‌ها : بطور کلی واکنش التهابی با گذشت زمان در تمامی گروه‌ها کاهش یافت. گروه‌های آزمایشی در مقطع زمانی ۷ روز التهاب متوسط تا شدید داشتند که با گروه کنترل که التهاب خفیف تا متوسط داشت، اختلاف آماری معنی داری داشت ($p = ۰/۰٤$). بین گروه‌های آزمایشی و گروه کنترل در مقاطع زمانی دیگر اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری : واکنش التهابی سلولی بافت همبند زیر جلدی موش به MTA خاکستری خارجی و نوع ساخت داخل یکسان است.

کلید واژه ها: درمان ریشه، مواد پر کننده انتهای ریشه، سازگاری نسجی

مقدمه

MTA مخلوطی از دی کلسیم سیلیکات، تری کلسیم سیلیکات، تری کلسیم آلومینات و تتراکلسیم آلومینوفریت است که از اجزای اصلی آن به شمار می رود و پس از ترکیب با آب، ژل کلوییدال ایجاد می کند که به تدریج سخت می شود (۱). MTA از زمان معرفی کاربردهای متنوعی در جهت ترمیم ریشه و استخوان در اندودنتیکس پیدا کرده است. از موارد کاربرد MTA می توان به درمان اپکس ناکامل ،پوشش مستقیم پالپ، ترمیم سوراخ شدگیهای داخل پالپ چمبرو داخل کانال که به محیط دهان اکسپوز نیست و ماده پرکننده انتهای ریشه اشاره کرد (۲). مطالعات نشان می دهد که MTA خاکستری ماده ای است که سازگاری نسجی مناسبی دارد و ساخته شدن سمان روی آن نشان داده شده است(۳). کلسیفیکاسیون دیستروفیک در بافت همبند مجاور با آن دیده می شود (٤). از طرف دیگر MTA ماده ای گران قیمت بوده و براحتی در دسترس نمی باشد (۵). بنابر این لزوم جایگزینی آن با ماده مشابه دیگری که به راحتی در دسترس بوده و ارزان قیمت باشد منطقی بنظر می رسد.آنالیز کیفی MTAخاکستری تولید داخل توسط سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران، با MTA خارجی ساخت کارخانه Tulsa Dental مورد ارزیابی قرار گرفته و مشابهت آن دو تایید شده است (۴و ۵).

این ماده قیمت به مراتب پایین تری داشته و دسترسی بـه آن آسـان است. ریزنشت میکروبی نوع خارجی با نوع داخلی مقایسه شده و تفاوتی مشاهده نشده است(۶).نظر به اینکه واکنش بافتی یکـی از عوامل مهم در انتخاب مواد دندانپزشکی است و تا کنون مطالعه ای در راستای مقایسه واکنش بافتی MTA خاکستری تولیـد داخـل و خارج انجام نگرفته است هدف از این مطالعه مقایسه واکنش بافت همبند به MTA خاکستری تولید داخل و خارج بود.

مواد و روش ها

در این مطالعه حیوانات مورد آزمایش با رعایت استانداردهای مرکز تحقیقات دارویی- کاربردی دانشگاه علوم پزشکی تبریز مورد بررسی قرار گرفتند.

۴۰ موش صحرائی نر بالغ بـه وزن تقریبـی ۲۵۰ گـرم بـا داروی بیهوشی دی‌اتیل اتر (پارس شیمی- تهـران - ایـران) بـا تکنیـک Anesthetic chamber Induction بیهـوش شـدند. بـرای سـنجش بیهوشی حیوان از Pedal Reflex استفاده شد به این ترتیب که اندام تحتانی حیوان را به طرف خارج کشیده یک تحریـک دردنـاک بـا نوک یک سوند یا سوزن روی پوست وارد می شد. در صورتی که حیوان عکس العمل نشان نمی داد عمق بیهوشی مناسب بود.پس از تراشیدن موی پشت آنها و تمیز کردن محل بـا محلـول یـداین ۵٪ پنج شیار به طول ۱ سانتیمتر با تیغ بیستوری شـماره ۱۵ در جهـت محور طولی ستون مهره ها به فاصله ۲/۵ سانتیمتر از یکدیگر ایجاد کردیم. مواد مورد آزمایش عبارت بودند از:

MTA خاکـستری خـارجی Pro Root MTA, Dentsply-Tulsa (Dental, OK, USA)).

MTA خاکستری تولید داخل(Root MTA خاکـستری- سـلامی فر- تهران- ایران).

لوله آنژیوکـت پلـی اتیلنـی(Vasofix، B Braun-Germany) بـه طول ۸ میلیمتر و قطر داخلی ۰/۸ میلیمترحاوی مواد مورد آزمایش که مطابق دستور کارخانه تهیه شده بود در داخل محـل برش،زیـر جلد وروی فاسیای عضلات قرار داده شد، بدین صورت کـه بـه صورت تصادفی در هر یک از برش ها یکی از مواد مورد آزمایش را قرار داده و در برش سوم لوله خالی آنژیوکت پلی اتیلن به طول ۸ میلیمتر و قطر داخلی ۰/۸ میلیمتر بعنـوان کنتـرل قـرار گرفـت. موشها به ۵ گروه ۸ تائی تقسیم شدند.

پـس از ۷،۱۵،۳۰،۶۰و۹۰ روز بـه ترتیـب یـک گـروه هـشت تـایی از حیوانات بیهوش و ناحیه قرارگیری لوله به انـدازه مـستطیلی بـه طـول ۲ وعرض ۱/ ۵ سانتی متر بصورت enblock شـامل پوسـت و فاسـیا ی عضلات برداشته شد.نمونه ها بمدت ۲ هفته در فرمالین بافر ۱۰ درصـد(Merck, Darmstadt, Germany)نگهداری و سـپس جهـت تهیـه لام ارسال گردید. پس از تهیه بلوکهـای پـارافینی مقـاطع طـولی در راسـتای محور طولی قرارگیری تیوپها به ضخامت ۶ میکرون بطـوری کـه از مـاده مورد مطالعه عبور کنـد تهیـه و بـا هماتوکـسیلین ائـوزین رنـگ آمیـزی گردیـد.مقـاطع بـا میکروسـکوپ نـوری (Carl Zeiss, Oberkachen, Germany) با بزرگنمائیهای ×۴۰ ، ×۱۲۵ ، ×۲۰۰ ، ×۴۰۰ بررسی شد.

تعـــداد ســـلولهای التهـــابی (لنفویـــست، پلاسموســـیت، پلی‌مورفونوکلئرلکوسیت، ماکروفاژ و ژانت سل) در ۱۰ منطقـه جداگانـه در بزرگنمایی ×۴۰۰ شمارش شدند.

میانگین تعداد سلولهای التهابی برای هر ماده مـورد آزمـایش از مجمـوع تعداد سلولهای فوق در ۱۰ منطقه جداگانه محاسبه شد و واکنش بافتی هر ماده در هر دورهٔ زمانی طبق طبقه بندی زیر رتبه بندی شد(۹).

درجه صفر: بدون سلول التهابی، بدون واکنش.

درجه یک: تعداد سلولهای التهابی کمتر از ۲۵ عدد ،التهاب خفیف.

درجه دو: تعداد سلولهای التهابی بین ۲۵ تا ۱۲۵عدد ،التهاب متوسط.

درجه سه: تعداد سلولهای التهابی ۱۲۵ یا بیشتر،التهاب شدید.

جهت مقایسه درجه التهاب در بین گروهها از آزمون آماری کروسکال والیس در سطح معنی داری۰/۰۵ $P>$ وجهت مقایسه شـدت التهـاب در فواصل زمانی مختلف از آزمون ANOVA دو طرفه استفاده شد.

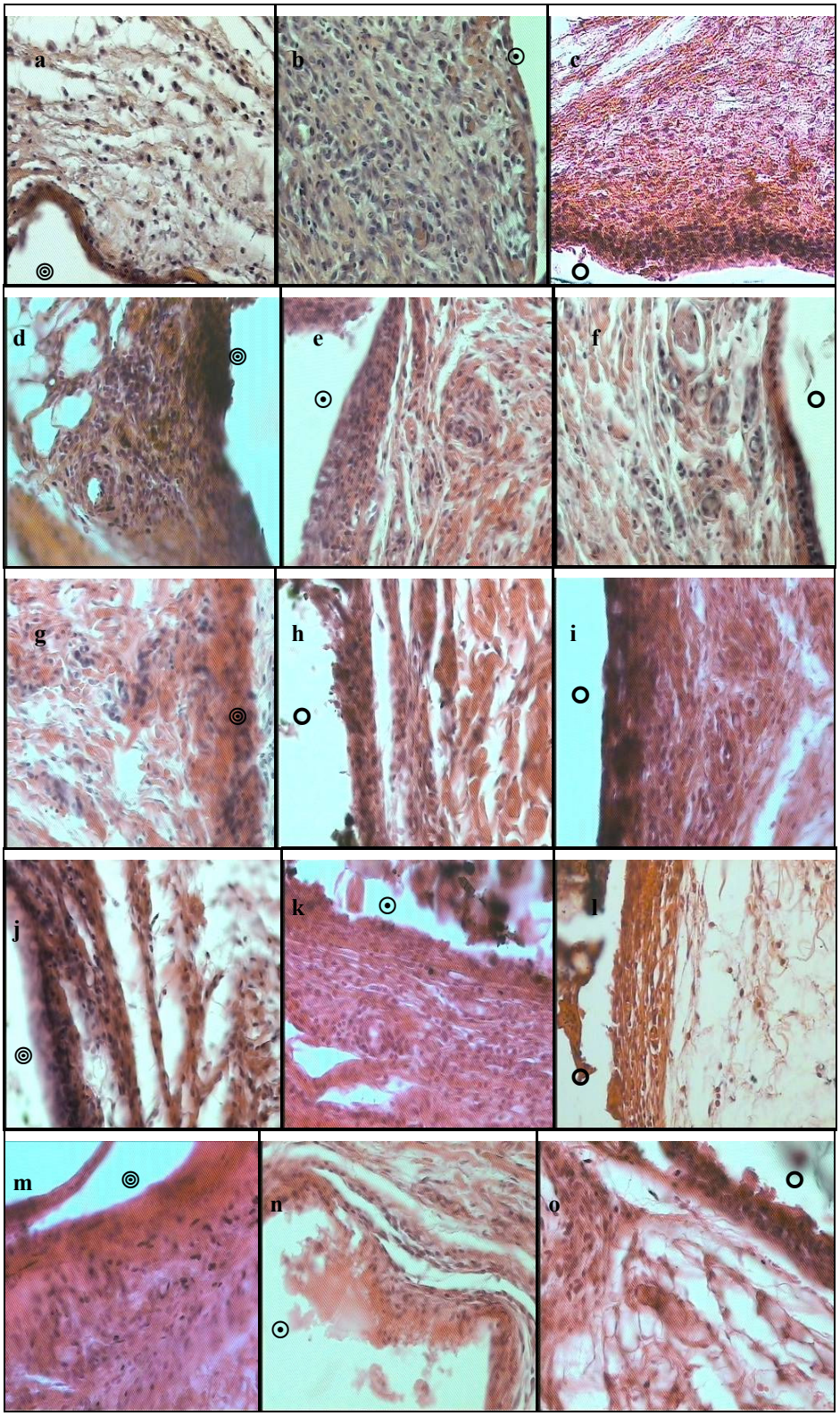
یافته ها

بطور کلی در هیچ یک از نمونه ها نکروز بافتی مشاهده نشد و باگذشت زمان از شدت واکنش التهابی در تمامی گروهها کاسـته شد بطوریکه اگرچه واکـنش التهـابی پـس از یـک هفتـه در بـین گروههای آزمایشی تفاوت معنی داری نداشـت($P<$۰/۰۵) ولـی این تفاوت در مقایسه با گروه کنترل معنـی دار بـود($P=$۰/۰۵).در دوره هـای زمـانی ۱۵ روز، ۱، ۲ و ۳ مـاه بـین گـروه کنتـرل و گروههای آزمایـشی تفـاوت معنـی دار وجـود نداشـت (جـدول) (شکل).

جدول: میانگین ± انحراف معیاردرجه التهاب در گروههای آزمایشی و کنترل در دوره های زمانی مورد مطالعه

دوره های زمانی	۷ روز	۱۵روز	۳۰روز	۶۰روز	۹۰روز
MTA خاکستری تولید داخل	۲/۸± ۰/۴۴۷×	۲ ±/۶۳۲	۱/۸ ± ۰/ ۴۴۷	۱/۸ ±۰/ ۴۴۷	۱/۵±۰/۵۴۷
MTAخاکستری تولید خارج	۳± ۰/۰۰×	۲±۰/۶۳۲	۱/۸±۰/۴۴۷	۱/۸±۰/۴۴۷	۱/۵±۰/۵۳۴
کنترل	۲±۰/۰۰	۱/۸ ±۰/۳۷۷	۱/۵±۰/۵۴۷	۱/۴±۰/۵۴۷	۱/۵±۰/۵۴۷
	P=۰/۰۴	P=۰/۹۶	P=۰/۷۶۱	P=۰/۷۰۹	P=۰/۹۴۲

× تفاوت معنی دار با دیگر گروهها



تصویر۱: تصاویر هیستوپاتولوژیک واکنش بافت همبند موش صحرایی به کاشت زیر جلدی MTA خاکستری تولید داخل(◎) و خارج(⊙) و لوله های خالی(O) به عنوان گروه کنترل با بزرگنمایی ×۱۲۵ به بصورت تجمع سلولهای التهابی (لنفویست، پلاسموسیت، پلی‌مورفونوکلئرلکوسیت، ماکروفاژ و ژانت سل) در فواصل زمانی ۷ روز (a,b,c)، ۱۵ روز ۳۰، (d,e,f)روز(g,h,i)، ۶۰ روز(j,k,l)، ۹۰ روز(m,n,o).رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائورین.

بحث

یکی از مهمترین خصوصیات ماده پر کننده انتهای ریشه سازگاری زیستی می باشد.

درحال حاضر چهار روش کلاسیک متداول برای بررسی سازگاری زیستی مواد با بافتهای زنده وجود دارد که این روشها عبارتند از(۷).

۱ – بررسی سمیت سلولی

۲ – کاشت زیر جلدی

۳ – کاشت داخل استخوانی

٤ – بررسی واکنش بافتهای پری رادیکولار بصورت In Vivo در نمونه های انسانی .

روشی که در این مطالعه مورد استفاده قرار دادیم، روش ایمپلنت زیر جلدی ماده بود که طی آن، مواد مورد بررسی در داخل لوله های پلی اتیلن قرار داده شد و در بافت همبند زیرجلد موش صحرایی کاشته شد. این روش یکی از روشهای متداول جهت ارزیابی سازگاری نسجی مواد دندانپزشکی است که اولین باردرسال ۱۹٦۲ توسط Tornek و همکاران معرفی گردید(۸).کارآمدی این روش توسط Olsson و همکاران در سال ۱۹۹۸ مورد بازبینی و شرح قرار گرفت و به اثبات رسید(۱۰).

در این مطالعه ما از فاصله های زمانی ۳۰،٦۰،۹۰،۱۵،۷ روز استفاده کردیم تا سیر واکنشهای التهابی ایجاد شده در مجاورت مواد مورد مطالعه را مورد بررسی قرار دهیم. انتخاب این فاصله‌های زمانی براساس استاندارد فدراسیون جهانی دندانپزشکی صورت پذیرفت که واکنش التهابی کوتاه مدت و بلندمدت را در یک مطالعه می توان بررسی کرد(۹و۱۱).

در این روش از شمارش سلولهای التهابی (لنفوسیت، پلاسماسل، لکوسیت های پلی مورفونوکلئر، ماکروفاژ و ژانت سل) انفیلتره شده در نواحی مختلف مقاطع میکروسکوپی استفاده می شود. تا کنون مطالعه ای به بررسی واکنش بافتی MTA خاکستری خارجی و تولید داخل نپرداخته است.

واکنش التهابی در هر دو گروه MTA خارجی و داخلی در هفته اول به طور معنی دار بیش از گروه کنترل بود که نشان از ایجاد واکنش التهابی در این فاصله زمانی است که احتمالا میتواند مربوط به آزاد شدن کلسیم هیدروکساید از MTA باشد زیرا یکی از محصولات حاصل از ترکیب MTA با آب کلسیم هیدروکساید است که باعث تحریک بافتی و ایجاد التهاب می شود (۱۲). از طرفی مایع میان بافتی حاوی دی سدیم هیدروژن فسفات و دی پتاسیم هیدروژن فسفات است، بنابر این یونهای فسفر در مایع میان بافتی موجود است که می تواند عدم تفاوت واکنش التهابی MTA با گروه کنترل درفواصل زمانی ۱۵، ۳۰، ٦۰ و ۹۰ روز در این مطالعه را احتمالا" به ترکیب یونهای فسفر موجود در مایع میان بافتی با کلسیم هیدروکساید حاصل از ترکیب اولیه MTA و آب که منجر به تشکیل هیدروکسی آپاتیت می گردد و ماده ای با سازگاری زیستی بالاست، مربوط دانست (۱).

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بررسیهای آماری مشخص شد که در این مطالعه سازگاری زیستی MTA خاکستری ساخت داخل و خارج در تمام دوره های زمانی یکسان است.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز که هزینه های این طرح را تقبل کردند صمیمانه تشکر می شود.

References

۵. اثنی عشری م، بلورچی ی،اسلامی ب، ستاری م.مقایسه واکنش بافتی دو ماده MTA (Pro Root) و Root MTA در بافت همبند RAT ، مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ۱۳۸۲، ویژه نامه شماره ۲۱ ، صص ۱۳ -٦۰۱ .

6. Ozbas H, Yaltirik M, Biligic B, Issever H. Reaction of connective tissue to compomer, composite,and amalgam root-end filling materials.*Int Endod J* 2003; **36**(4): 281.
7. Ingle JI, Bakland LK. *Endodontics*. 15th ed. BC Decker, Canada, 2002; PP: 571-656.
8. Tornek CD. The reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1966; **21**(3): 379-87.

1. Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R,KawashimaI.Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxiode aggregate. *J Endod* 2005; **31**(2): 97-100.
2. Torabinejad M, Chivian N. Clinical application of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999; **25**(3):197-205.
3. Thomson TS, Berry JE, Somerman MJ, Kirkwood KL. Cementoblast maintiains expression of osteocalcin in the presence of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2003; **29**(6): 407-12.

٤. نوریان، م .بررسی مقایسه ای ریزنشت باکتریایی، میان نمونه خارجی MTA و نوع تولید داخل آن به عنوان ماده پر کننده انتهای ریشه. پایان نامه دکتری دندانپزشکی ۱۳۸۰، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان.

9. Federation Dentaire International. Recommended standard practices biological evaluation of dental Materials. Part 4.11: Subcutaneous implantation test. *Int Endod J* 1980; **16**(2)**:** 713-27.
10. Olsson B, Sliwikowski A, Langland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. *J Endod* 1981; **7**(8)**:** 355-69.
11. American Nationl Standards Institute. Revised American National Standards Institute/American dental Association Document no. 41 For Recommended Standard Practices for Biological Evaluation of Dental Materials. New York, NY, USA: Am National Standard Institute. 1979;
12. Torabinejad M, Hong CU, MC Donald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root end filling material. *J Endod* 1995; **21**(7)**:** 349-53.