

ارزیابی هیستولوژیک سازگاری بیولوژیک زولیران و زونالین در بافت زیرجلدی موشهای آزمایشگاهی

دکتر فرحناز ارباب زاده^۱ - دکتر سیدمحمد رضوی^۲ - دکتر پوران صمیمی^۳ - دکتر مریم چهارکامه^۴

۱- استادیار گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

۲- استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

۳- دانشیار گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

۴- دندانپزشک.

چکیده

زمینه و هدف: با ارزیابی و اثبات سازگاری یک ماده می‌توان با در نظر گرفتن خواص مطلوب به آن ماده جنبه کاربردی بخشید. زونالین یک سمان زینک اکساید اوژنول (ZOE) تقویت شده است که به صورت پودر و مایع عرضه می‌شود. زولیران در ایران با ترکیبی مشابه ساخته شده است. هدف از این مطالعه ارزیابی و مقایسه سازگاری بافتی دو ماده زونالین و زولیران می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی (True experiment) از ۱۲ موش آزمایشگاه ماده بالغ ۳ - ۴ ماهه با وزن حدود ۱۵۰-۲۰۰ گرم استفاده گردید. بعد از بیهوشی پنج برش روی پوست در محور سری-دمی، به شکل پاکتی و به صورت مورب و با عمق ۱۵ میلی‌متر توسط پنس هموستات ایجاد گردید. سمان مخلوط شده دیسکی شکل زونالین در دو ناحیه سمت راست و سمان مخلوط شده زولیران در دو ناحیه سمت چپ بدن قرار داده شد و لبه‌های پوست حیوان بخیه گردید. در هر موش نیز در ناحیه پشتی یک فلپ ایجاد شد ولی ماده‌ای قرار داده نشد و سپس ناحیه بخیه گردید. (گروه شاهد) نمونه‌برداری به صورت بیوپسی در فواصل سه، پانزده، سی و شصت روز صورت پذیرفت. در هر زمان نمونه‌برداری از سه موش صورت گرفت.

یافته‌ها: بین فراوانی درجات مختلف واکنش بافتی در دو ماده در هیچ کدام از دوره‌های زمانی قابل ملاحظه‌ای مشاهده نگردید. همچنین بین دوره‌های زمانی در یک ماده تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد. اما هر دو گروه در دوره‌های زمانی مختلف با گروه شاهد تفاوت داشتند و شدت التهاب زیاده‌تر بود.

نتیجه‌گیری: ماده زولیران (گلچای ایران) باعث واکنش آماسی شدیدی نشده و دارای سازگاری نسبی مناسبی می‌باشد.

کلید واژه‌ها: زونالین - زولیران - زیست سازگاری.

پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۵/۵

اصلاح نهایی: ۱۳۸۷/۴/۱۳

وصول مقاله: ۱۳۸۶/۹/۱

نویسنده مسئول: گروه آموزشی آسیب شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان e.mail:razavi@dnt.mui.ac.ir

مقدمه

بیس در حفرات عمیق و به منظور حفاظت پالپ از ترومای شیمیایی و حرارتی احتمالی به کار برده و به طور معمول زینک اکساید اوژنول به صورت یک سمان موقت یا ماده پرکننده موقت به کار می‌رود.

طی سالیان دراز سمان‌های گوناگونی در دندانپزشکی برای دو هدف اولیه به کار گرفته می‌شده‌اند. برخی سمان‌های دیگر نیز برای اهداف خاص در رشته‌های ترمیمی، اندو، پریو و جراحی به کار می‌روند. زینک اکساید اوژنول یکی از این

مواد زیادی در دندانپزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد که یکی از ویژگیهای اصلی برای کاربرد آنها سازگاری بافتی است. سازگاری بافتی عبارتست از توانایی یک ماده برای استفاده در یک کاربرد خاص که با واکنش مناسبی از سوی میزبان همراه باشد. (۱)، بدین معنا که وقتی بافت در تماس با مواد کاشتنی قرار می‌گیرد بتواند اثرات سمی، تحریکی، التهابی، آلرژیک، جهش‌زایی و سرطان‌زایی آن را تحمل کند. (۲) سمان‌های زینک اکساید اوژنول (ZOE) رami توان به عنوان

روش بررسی

بررسی سازگاری بیولوژیک زولیران و مقایسه آن با یکی از مواد مشابه خارجی به نام زونالین به روش تجربی صورت پذیرفت. جمعیت مورد مطالعه در این بررسی ۱۲ موش آزمایشگاهی ماده بالغ ۳ - ۴ ماهه با وزن حدود ۱۵۰-۲۰۰ گرم بود. در هر موش چهار جایگاه جهت قرار دادن سمان‌ها (به صورت دیسکی و مدور) در نظر گرفته شد که در دو جایگاه ماده زونالین و دو جایگاه ماده زولیران قرار داده شد. همچنین برای گروه شاهد در هر موش در ناحیه کمری یک جایگاه با فاصله یکسان از چهار ماده کاشته شده، بدون قرار دادن ماده‌ای ولی با اعمال روش یکسان با موارد دیگر، در نظر گرفته شد.

جهت بی‌هوش کردن حیوان از تزریق داخل صفاقی کتامین هیدروکلراید پنجاه میلی‌گرم همراه با زایلانین ۲٪ استفاده گردید. بعد از بی‌هوش کردن کامل موشهای آزمایشگاهی چهار نقطه در چهار طرف به گونه‌ای انتخاب شد که حداقل فاصله از هم را داشته باشد. فاصله چهار نقطه این محلها با آب و صابون خیس و با یک تیغ موهای موضع تراشیده و حدود یک و نیم سانتی‌متر از مو عاری گردید. سپس موضع توسط بتادین ضد عفونی شد و از یک قیچی جراحی برای ایجاد یک برش یک سانتی‌متری استفاده گردید و توسط پنس هموستات پاکتی به صورت مورب با عمق ۱۵ میلی‌متر ایجاد شد. سمان زونالین و زولیران طبق دستور مخلوط گردید و به صورت دیسکی و مدور به زیر پوست رانده شد. جهت اجتناب از اشتباه زمان بیوپسی سمان زونالین در سمت چپ و سمان زولیران در سمت راست بدن موش قرار داده شدند. برای ایجاد ترمیم صحیح و حداقل اسکار از بخیه سرکیسه‌ای استفاده گردید.

برای تهیه بیوپسی بعد از گذشت مدت زمان مورد نظر محل جایگزینی مواد به همراه یک سانتی‌متر از بافت همبند زیرجلدی اطراف آن خارج و به ظرف حاوی فرمالین ۱۰٪ بافره منتقل گردید. با نظارت دامپزشک اصول اخلاق در مطالعات حیوانی با رعایت شرایط تغذیه و نگهداری حیوان به صورت مطلوب و بدون اذیت و آزار و تحت فشار قرار دادن حیوان به صورت مطلوب اعمال شد و حتی‌المقدور پس از اتمام مراحل مطالعه سعی گردید حیوانات زنده نگاه داشته شوند. پس از عمل‌آوری و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین به روش استاندارد، لام‌های تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری (Zeiss آلمان) از نظر هیستوپاتولوژی مورد بررسی قرار گرفتند. میزان التهاب بافتی و

سمان‌ها بوده که این ماده کاربرد زیادی در دندانپزشکی دارد و جهت دارا بودن خواص فیزیکی و مکانیکی خاص خود موادی به آن اضافه می‌شود که از مواد کاربردی می‌توان به مواد زیر اشاره کرد. (۳)

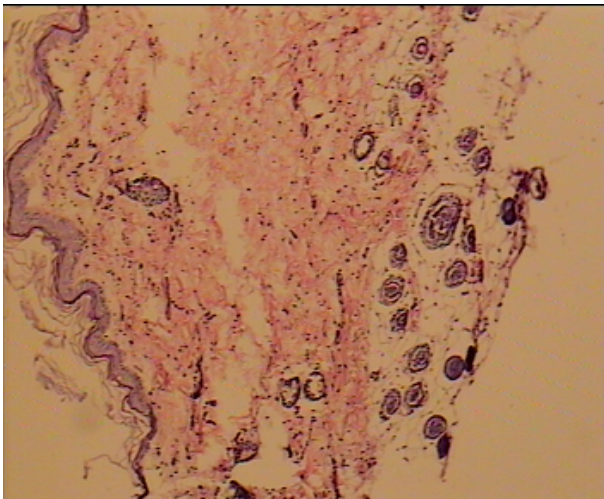
در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۸۹ توسط Blackman و همکارانش تحت عنوان سازگاری زیستی سمان سیلور گلاس آینومر در بافت همبند موش نر انجام شد، سازگاری زیستی این ماده نسبت به ZOE مقایسه شد. در سی روز اول تحریک ملایمی توسط هر دو ماده مشاهده گردید ولی در روز هشتم هیچ کدام از مکانهای حاوی دو ماده از خود تحریک و التهابی نشان ندادند. (۴)

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۲ توسط Schwarze و همکارانش تحت عنوان ارزیابی سازگاری سلولی پنج سمان در خلال دوره تنظیم شدن در مدت ۲۴ ساعت اول پس از مخلوط شدن صورت پذیرفت. نمونه‌ها شامل N₂ (حاوی ZOE)، اندومتازون (حاوی ZOE، Apexit، AH Plus و Ketak Endo) بودند.

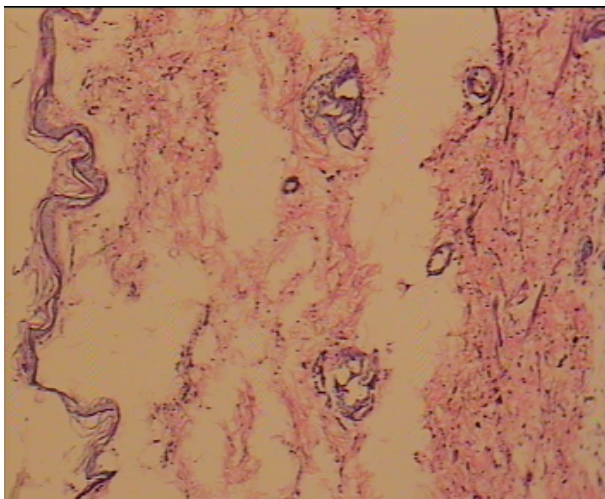
N₂ و اندومتازون که هر دو حاوی ZOE می‌باشند از متابولسم سلولی جلوگیری کردند. همین اثر در مورد اندومتازون مشاهده شد. شدیدترین اثر در مورد Ketak Endo بود و اثر قابل توجهی از توقف فعالیت میتوکندریال در مورد AH Plus نیز مشاهده شد. (۵) در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۲ توسط Sarrami و همکارانش تحت عنوان واکنشهای ناسازگار مربوط به استفاده از اوژنول در دندانپزشکی انجام شد. در این مطالعه در اشخاصی که به دارو حساسیت داشتند اثرات بافتی (از حساسیت بافتی ناحیه‌ای با درجه پایین) تا شوک آنافیلاکتیک به صورت بسیار نادر مشاهده شد. (۶) Ranade و همکاران در سال ۲۰۰۳ سمیت بافتی چهار ماده شامل ZOE، Gutta-Percha، Epoxy-resin، هیدروکسید کلسیم (RC-CAL)، را بررسی کردند، سمان‌های حاوی ZOE بیشترین تحریک بافتی را داشتند. (۷)

بالا بودن کیفیت مواد تولید شده و استاندارد بودن آن نیاز به استفاده از مواد مشابه وارداتی را کاهش می‌دهد. زولیران (شرکت گلچای ایران) یکی از این تولیدات است که از نظر زمان سخت شدن، استحکام تراکمی، حلالیت و ضخامت لایه‌ای مورد بررسی قرار گرفته و مطابق استانداردهای بین‌المللی می‌باشد. (ISO03107-BS7214-EN23107) (۸)، اما از نظر سازگاری نسبی هنوز مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف از این مطالعه بررسی سازگاری بیولوژیک زولیران و مقایسه آن با یکی از مواد مشابه خارجی به نام زونالین می‌باشد.

زمانهای مختلف، هیچ التهابی در نمونه‌های گروه شاهد مشاهده نگردید. در زمانهای سه، پانزده، سی و شصت تفاوت عمده‌ای بین زونالین و زولیران مشاهده نگردید.



شکل ۱: نمای میکروسکوپی واکنش التهابی درجه دو در نمونه ۱۵ روزه در گروه آزمایشی زولیران درشت نمایی ۱۰۰×-رنگ آمیزی H & E
E= اپیدرم C= بافت همبند I= سلول‌های التهابی V= رگ خونی



شکل ۲: نمای میکروسکوپی واکنش التهابی درجه یک در گروه شاهد درشت نمایی ۱۰۰×-رنگ آمیزی H & E
E= اپیدرم C= بافت همبند I= سلول‌های التهابی V= رگ خونی
میانگین و انحراف معیار واکنش‌های التهابی در سه گروه زولیران، زونالین و شاهد در زمانهای مختلف در جدول ۲ آمده است. همان طور که داده‌ها نشان می‌دهد، شدت التهاب

روند التهاب براساس نوع سلول‌های التهابی در مجاورت سمان‌ها و همچنین تعداد کل سلول‌های التهابی موضع سنجیده شد و میزان ترمیم بافت نیز با توجه به میزان سلول‌های فیبروبلاست موجود در موضع و کیفیت بافت فیبروز و کلاژن‌های محل ارزیابی و درجه‌بندی گردیدند. معیارهای تعیین میزان التهاب و درجه‌بندی تغییرات پاتولوژیک به شرح زیر در نظر گرفته شد: (۹)،

(a) درجه یک (بدون التهاب) (No inflammation): عدم وجود سلول‌های التهابی، فیبروبلاست کمتر از سی، بافت فیبروزه بالغ دارای کلاژن فراوان.

(b) درجه دو (التهاب خفیف) (Mild inflammation): حضور تعدادی ماکروفاژ و/یا پلاسماسل، سلول‌های التهابی کمتر از سی، بافت فیبروزه بالغ دارای کلاژن فراوان.

(c) درجه سه (التهاب متوسط) (Moderate): حضور تعدادی ماکروفاژ و پلاسماسل، تجمع مشخصی از نوتروفیل‌ها و گرانولوسیت‌ها و/یا لنفوسیت‌ها، $60 \leq$ سلول‌های التهابی $30 <$ ، فیبروبلاست‌ها ۵-۹.

(d) درجه چهار (التهاب شدید) (Severe inflammation): نواحی نکروز موضعی، وجود سلول‌های التهابی بیشتر از شصت، فیبروبلاست‌ها ۴-۱.

یافته‌ها

در بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی، واکنش‌های التهابی همه نمونه‌ها در درجه ۱ و ۲ مورد ارزیابی قرار گرفت و هیچ کدام از نمونه‌ها واکنش التهابی متوسط (درجه ۳) یا شدید (درجه ۴) از خود نشان ندادند (شکل ۱). به علاوه در نمونه‌های شاهد واکنش التهابی قابل توجهی مشاهده نگردید. (شکل ۲)

توزیع فراوانی درجات مختلف التهاب ناشی از زولیران در زمانهای مختلف در جدول ۱ آمده است. شدت التهاب با گذشت زمان کاهش یافته ولی بین فراوانی درجات التهاب در زمانهای مختلف تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده نگردید. تفاوت عمده‌ای در میزان التهاب در زمانهای مختلف مشاهده نشد.

توزیع فراوانی درجات مختلف التهاب ناشی از زونالین در جدول ۱ آمده است. شدت التهاب با گذشت زمان کاهش یافته ولی تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین فراوانی درجات التهاب در زمانهای مختلف مشاهده نگردید. تفاوت عمده‌ای در میزان التهاب در زمانهای مختلف مشاهده نشد.

با توجه به توزیع فراوانی درجات التهاب در گروه شاهد در

در نمونه‌های سه روزه در گروه زولیران بیشتر از زونالین است ولی در نمونه‌های پانزده، سی و شصت روزه درجه التهاب در گروه زونالین از زولیران بیشتر است. لیکن این تفاوتها عمده نمی‌باشند. آنچه که قابل توجه است این است که شدت التهاب در گروههای زونالین و زولیران در مقایسه با گروه شاهد به طور قابل توجهی بیشتر است.

جدول ۱: توزیع فراوانی درجات مختلف التهاب ناشی از زولیران و زونالین در زمانهای مختلف

ماده	زمان (روز)	بدون التهاب		التهاب خفیف	
		(درجه یک)		(درجه دو)	
		درصد	فراوانی	درصد	فراوانی
زولیران	۳	۱	۱۶/۷	۵	۸۳/۳
	۱۵	۲	۳۳/۳	۴	۶۶/۷
	۳۰	۳	۵۰	۳	۵۰
	۶۰	۳	۵۰	۳	۵۰
	کل	۹	۳۷/۵	۱۵	۶۲/۵
زونالین	۳	۲	۳۳/۳	۴	۶۶/۷
	۱۵	۱	۱۶/۷	۵	۸۳/۳
	۳۰	۲	۳۳/۳	۴	۶۶/۷
	۶۰	۱	۱۶/۷	۵	۸۳/۳
	کل	۶	۲۵	۱۸	۷۵

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار واکنشهای التهابی در سه گروه زولیران، زونالینی و شاهد در زمانهای مختلف

گروه مورد پژوهش									
زمان (روز)	زولیران			زونالین			کنترل		
	MR	MSD	M	MR	MSD	M	MR	MSD	M
۳	۲/۰۰	۰/۴۰۸۲	۱/۸۳	۲/۰۰	۰/۵۱۶۴	۱/۶۶	۱/۰۰	۰/۰۰	۱/۰۰
۱۵	۲/۰۰	۰/۵۱۶۴	۱/۶۶	۲/۰۰	۰/۴۰۸۲	۱/۸۳	۱/۰۰	۰/۰۰	۱/۰۰
۳۰	۱/۵۰	۰/۵۴۷۲	۱/۵۰	۲/۰۰	۰/۵۱۶۴	۱/۶۶	۱/۰۰	۰/۰۰	۱/۰۰
۶۰	۱/۵۰	۰/۷۲۵۴	۱/۵۰	۲/۰۰	۰/۴۰۸۲	۱/۸۳	۱/۰۰	۰/۰۰	۱/۰۰
کل	۲/۰۰	۰/۴۹۴۵	۱/۶۲	۲/۰۰	۰/۴۴۲۳	۱/۷۵	۱/۰۰	۰/۰۰	۱/۰۰

M = میانگین، MSD = میانگین انحراف معیار، MR = Mean Rank

بحث

پرمصرفترین سمان‌ها به عنوان بیس در حفرات عمیق و به منظور حفاظت پالپ از تروماهای شیمیایی و حرارتی احتمالی می‌باشد. به طور معمول به عنوان سمان موقت یا ماده پرکننده موقت به کار می‌رود و همچنین این سمان برای اهداف خاص در رشته‌های اندو،

سازگاری نسجی یک ماده اهمیت زیادی در کاربرد آن دارد. در درمانهای ترمیمی سعی در استفاده از سمانی بوده که کمترین آزار نسجی را داشته باشد. سمان‌های زینک اکساید اوژنول یکی از

پریو، جراحی به کار می‌رود.

سمن زونالین و زولیران سبب ایجاد التهاب در بافت همبند موش شده که این التهاب با گذشت زمان افزایش و کاهش یافته است ولی این افزایش و کاهش عمده نمی‌باشد. در سال ۲۰۰۲، Surrami و همکارانش دو مورد از واکنشهای شدید مربوط به استفاده از اوژنول را در دندانپزشکی بررسی کردند که طبق نتایج آنها به طور معمول کاربرد آن بی خطر بوده ولی در اشخاصی که به آن حساسیت دارند، می‌تواند باعث حساسیت بافتی شود که توان آلرژیک این ماده را نشان می‌دهد. (۶) در سال ۲۰۰۴، Sousa و همکارانش سازگاری نسجی مواد مورد استفاده در جراحیهای اپیکال را ارزیابی کردند و به این نتیجه رسیدند که ZOE بیشترین تحریک بافتی طی چهار هفته اول را داراست که پس از دو هفته کاهش می‌یابد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت ندارد. (۱۰) در سال ۲۰۰۶، Tsubouchi و همکارانش اثر بازدارندگی اوژنول بر تولید نیتریک اکساید ماکروفاژهای RAW 264.7 را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه مشخص شد که زینک اکساید اوژنول و ایزو اوژنول باعث جلوگیری از فعالیت آنها شده و منجر به اثرات ضدالتهابی می‌شود که با نتایج بررسی حاضر مغایرت دارد. (۱۱)

با توجه به مطالعاتی که روی مواد حاوی ZOE توسط محققان صورت گرفت، نتایج ضد و نقیضی در مورد سازگاری نسجی و سمیت سلولی این مواد به دست می‌دهد و کلاً اوژنول آزاد به عنوان اولین عامل تحریک و یون‌های روی به عنوان دومین عامل تحریک بیولوژیکی در این مواد شناخته شده‌اند. ضمن آنکه اوژنول دارای توان آلرژیک نیز بوده و این مطلب نیز توسط

محققان گزارش گردیده است. در مورد میزان آزادسازی اوژنول آزاد از سمن‌های زینک اکساید اوژنول هنوز اختلاف نظرهایی وجود دارد.

به هر حال اگر میزان آزادسازی اوژنول آزاد از زینک اکساید با غلظت زیاد صورت گیرد واکنشهای التهابی را در بافت سبب خواهد شد ولی این مسئله قطعی نیست.

به هر حال برخی محققان پیشنهاد کرده‌اند که اوژنول با مواد دیگری مثل Glycerin و یا حتی توسط اسیدهای چرب اشباع نشده مثل اسیدلینولئیک و اسیداولئیک جایگزین شود، که این امر می‌تواند میزان سازگاری نسجی ماده را افزایش دهد.

با توجه به آنکه اوژنول سبب واکنشهای متفاوتی در بافت گردیده است و ماده زولیران نیز از این دسته می‌باشد قرار شد که مطالعه‌ای در مورد زولیران که ساخت ایران است انجام گیرد و مطالعه بر روی این موضوع ضروری به نظر رسید و با توجه به واکنشهای آماسی ملایم و خفیف این ماده که در این مطالعه به دست آمد استفاده از آن پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه گیری

ماده زولیران (گلچای، ایران) باعث واکنش آماسی شدید نشده و دارای سازگاری نسجی مناسبی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات آقای دکتر شهریار ادیبی نهایت تشکر به عمل می‌آید.

REFERENCES

1. William DF. Definitions in biomaterials. Proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials, Chester, England, March 3-5, 1986.
2. Vahey JW, Simonian PT. Carcinogenicity and metallic implants. Am J Orthod Dentofac Orthod. 1995 Apr; 24(4):319-324.
3. Craug RG, Powers JM. Restorative dental materials. 11th ed. St Louis: Mosby; 2003, 134-54, 105-115.
4. Blackman R, Gross M, Seltzer S. An evaluation of the biocompatibility of a glass ionomer-silver cement in rat connective tissue. J Endod. 1989 Feb; 15(2):76-79.
5. Schwarze T, Fiedler I, Leyhausen G, Geurtsen W. The cellular compatibility of five endodontic sealers during the setting period. J Endod. 2002 Nov; 28(11):784-786.
6. Sarraimi N, Pemberton MB, Thornhill MH, Theaker ED. Adverse reactions associated with the use of eugenol in dentistry. Brit Dent J. 2002 Sep; 193(5):257-259.

7. Ranade MP, Kamra AI. A comparative tissue toxicity evaluation of endodontic materials. *Endodontology* 2003 Jun; 15(1):7-13.
8. Shahabi S, Tehrani Sefat M. [Evaluation of Zoliran physical properties according to ISO 3107, BS7214 and EN 23107]. *Journal Dentistry Tehran University of Medical Sciences* 2004 Spring; 17(1):78-85.(Persian)
9. Aeinehchi M, Eslami B, Ghanbariha M, Saffar S. Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp-capping agents in human teeth: a preliminary report. *Int Endod J.* 2003 March; 36(3): 225-231.
10. Sousa CJA, Loyola AM, Versiani MA, Biffi JCG, Oliveira RP, Pascon EA. A comparative histological evaluation of the biocompatibility of materials used in apical surgery. *Int Endod J.* 2004 Nov; 37(11):738-748.
11. Li W, Tsubouchi R, Qiao S, Haneda M, Murakami K, Yoshino M. Inhibitory action of eugenol compounds on the production of nitric oxide in RAW264.7 macrophages. *Biomed Res.* 2006 Apr; 27(2): 69-74.