تحقیقی

مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان/ دوره ۱۹، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۶، ۳۷-۴۲

مقایسه هیستولوژیک شدت واکنش نسجی دو نوع سیلر AH_{26} و Apexit در موش آزمایشگاهی

دکتر مریم زارع جهرمی* - دکتر سیدمحمد رضوی** - دکتر بهرنگ تابش***

*- استادیار گروه آموزشی اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان).

**- استادیار گروه آموزشی آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

***- دندانپزشک.

چکیده

زمینه و هدف: *یکی از شرایط سیلر خوب، داشتن سازگاری نسجی است. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی هیستولوژیک شدت واکنش نسجی دو سیلر AH_{26} و Apexit به روش کاشتن در بافت همبند زیرجلدی موشهای آزمایشگاهی می‌باشد.*

روش بررسی: *در این مطالعه مداخله‌ای - تجربی، سیلرهای تازه مخلوط شده AH_{26} و Apexit با حجم معین در ۱۱ موش به روش کاشت زیرجلدی قرار داده و در هر موش یک ناحیه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. از پنج موش پس از گذشت سه روز و از شش موش دیگر پس از گذشت سی روز نمونه‌ای بافتی تهیه و از نظر سازگاری نسجی با هم مقایسه شدند. اطلاعات به دست آمده با استفاده از آزمونهای Non parametric به نامهای Man Whitney و Karuskal - Wallis با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل گردید.*

یافته‌ها: *اگرچه میزان التهاب ایجاد شده در نمونه‌های حاوی سیلرApexit چه در مقطع زمانی سه روزه و چه در مقطع زمانی سی روزه از التهاب ایجاد شده توسط سیلرAH_{26} بیشتر بود ولی این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در ضمن هر دو نوع سیلر سبب ایجاد التهاب خفیف تا متوسط شده که شدت این التهاب در مقایسه با گروه شاهد در مقطع زمانی سی روزه از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد ($P.V<۰/۰۵$).*

نتیجه‌گیری: *در این مطالعه اختلاف آماری معنی‌داری بین میزان التهاب ایجاد شده توسط سیلر AH_{26} و التهاب ایجاد شده توسط سیلر Apexit مشاهده نشد.*

کلید واژه‌ها: *سازگاری نسجی - AH_{26} - آپکسیت - موش آزمایشگاهی*

وصول مقاله: ۱۳۸۶/۲/۱ اصلاح نهایی: ۱۳۸۶/۵/۱۴ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۱۰/۱۳

نویسنده مسئول:گروه آموزشی اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) e.mail:hiva1378maryam@yahoo.com

مقدمه

سیلرها سبب پرکردن منافذ ریزبین ماده پرکننده اصلی و دیواره کانال می‌شوند وبه عنوان یک ماده نرم کننده جهت لغزیدن و جایگذاری راحت‌تر ماده پرکننده اصلی عمل می‌کنند و همچنین سبب پرکردن کانال‌های فرعی و خلل و فرج در طول کانال ریشه دندان می‌شوند.(۱)

از جمله خواص یک سیلر خوب داشتن سازگاری نسجی است که باید توسط بافتهای اطراف ریشه تحمل شود. در صورت تماس سیلرها با نسوج اطراف یا مایعات بافتی در صورت عدم سازگاری نسجی سیلر، این امر می‌تواند ترمیم بعدی بافت را تحت تأثیر قرار دهد.(۲)

مطالعات زیادی در مورد سازگاری نسجی سیلرها صورت گرفته است، Zafalon و همکارانش در سال ۲۰۰۷ در یک مطالعه حیوانی بر روی موش به بررسی سازگاری نسجی دو سیلر اندومتازون و اندورز پرداخته و دریافتند که سازگاری نسجی اندومتازون به مراتب بیشتر از اندورز است.(۳)، Kaplan در مطالعه‌ای حیوانی مقایسه‌ای بین سیلر پروکوزل و AH_{26} و اندومتازون و N_2 و سیل اپکس، جهت ارزیابی سازگاری نسجی به این نتیجه رسید که پروکوزل و

N_2 بیشترین میزان التهاب و AH_{26} و سیل اپکس و اندومتازون میزان التهاب کمتر و محدودتری را ایجاد کرده است.(٤)

Deolveira و Ribeiros در مطالعه‌ای به بررسی میزان سمیّت سیلرهای با بیس زینک اکسایداوژنول (ZOE) از طریق بررسی میزان تأثیر بر روی فعالیت ماکروفاژها پرداخت و به این نتیجه رسید که سیلر زینک اکسایداوژنول چه به صورت تازه مخلوط شده و چه به صورت جامد تأثیری مشابه بر روی ماکروفاژها دارد و در هر دو حالت باعث کاهش اثر چسبندگی و فاگوستیوز ماکروفاژها می‌شود.(٥)

Geurtsen در مطالعه‌ای سازگاری نسجی سیلرهای با بیس کلسیم هیدروکساید و سیلرهای با بیس زینک اکساید اوژنول را هم به صورت کلینیکی (In vivo) و هم به صورت آزمایشگاهی (In vitro) بررسی کرد و به این نتیجه رسید که هر دو نوع سیلر اثر سیتوتوکسیستی را چه به صورت موضعی و چه به صورت سیستمیک دارا می‌باشند ولی سازگاری نسجی سیلرهای با بیس کلسیم هیدروکساید تا حدودی بهتر می‌باشد.(٦)

Huang و Tai در مطالعه‌ای به بررسی سازگاری نسجی سیلرهای AH_{26} و AH_{plus} در محیط کشت پرداخت و به این نتیجه رسید که هر دو نوع سیلر اثر سیتوتوکسیستی و ژنوتوکسیسیتی را نشان می‌دهد.(٧)، در مطالعه‌ای که توسط Ingle و Bakland صورت گرفت مشخص شد که همانند بسیاری از سیلرهای تازه مخلوط شده، سیلر AH_{26} بسیار سمی است که این سمیّت طی سخت شدن کاهش می‌یابد و پس از ٢٤ ساعت این سیلر از سیلرهایی است که کمترین میزان سمیّت را دارا می‌باشد. دلیل سمیت AH_{26} آزادسازی مقدار بسیار کمی فرمالدئید در نتیجه مراحل سخت شدن شیمیایی می‌باشد.(٨)

Economids با انجام یک مطالعه حیوانی نشان داد که سازگاری نسجی AH_{26} نسبت به سیلر سیل آپکس بهتر است.(٩)

با توجه به اهمیت سازگاری نسجی به عنوان یک خصوصیت مهم یک سیلر و تبلیغات گسترده شرکتهای تجاری در مورد سیلرهای مختلف، در این مطالعه سازگاری نسجی سیلر تازه مخلوط شده AH_{26} و Apexit با هدف نشان دادن میزان تحریک بافتی این سیلرها که مورد استفاده زیادی دارند مورد مقایسه قرار گرفت.

هدف این مطالعه مقایسه سازگاری نسجی سیلرهای تازه مخلوط شده AH_{26} و Apexit در بافت همبند موش آزمایشگاهی در زمانهای سه روزه و سی روزه بود.

روش بررسی

این پژوهش از نوع مداخله‌ای و از دسته مطالعات تجربی است که به صورت مطالعه بر روی حیوانات آزمایشگاهی انجام پذیرفت. در این مطالعه از ١١ موش آزمایشگاهی ماده بالغ دارای سن ٣-٤ ماه و وزن حدود ١٥٠-٢٠٠ گرم استفاده گردید.

حیوانات توسط تزریق داخل صفاقی کتامین هیدروکلراید (Alfasan) ٥٠mg/m همراه با زایلازین (Alfasan) ٢٪ بیهوش شده، بعد از بیهوشی موی پشت حیوان در چهار ناحیه کمری، دو ناحیه در نیمه راست و دو ناحیه در نیمهٔ چپ تراشیده و توسط بتادین ١٠٪ ضدعفونی شد. سپس چهار برش در چهار ناحیه در محور سری- دمی توسط قیچی جراحی روی پوست حیوان ایجاد شده و پاکتی به صورت مورب و با عمق ١٥ میلی‌متر توسط پنس هموستات ایجاد گردید. سیلرهای تازه مخلوط شده AH_{26} (Denstply) با حجم معین در سمت چپ در دو ناحیه و سیلرهای تازه مخلوط شده Apexit (Vivadent) با حجم معین در سمت راست در دو ناحیه قرار داده شده و لبه‌های پوست حیوان بخیه گردید. در هر موش نیز در ناحیه پشتی یک فلپ ایجاد شده ولی ماده قرار داده نشد و سپس ناحیه بخیه گردید (گروه شاهد). از نمونه‌های پنج موش پس از گذشت سه روز و از شش موش دیگر پس از گذشت سی روز بیوپسی تهیه گردید به این صورت که پس از اطمینان از بیهوشی کامل موش آزمایشگاهی، نمونه بافتی مورد نظر که شامل اپتیلیوم، بافت همبند و بافت عضلانی زیرین بود جدا شد. شعاع نمونه‌های جدا شده ده میلی‌متر بود که هر یک جداگانه در ظروف حاوی محلول فرمالین ١٠٪ با حجم تقریبی چهار

برابر نمونه قرار گرفتند. نمونه‌های هیستوپاتولوژی به ضخامت ۵-۶ میکرون تهیه و توسط روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند و سپس تحویل پاتولوژیست گردیدند. علت انتخاب زمان سه روز و سی روز بررسی سازگاری نسجی در کوتاه مدت (سه) و بلندمدت (سی) می‌باشد.

واکنش بافت همبند از نظر وجود یا عدم وجود کپسول فیبروز و پاسخ التهابی مدنظر قرار گرفت. پاسخ التهابی بافت توسط میکروسکوپ نوری مدل Ziess ساخت کشور آلمان و با بزرگنمایی چهارصد (High power field) مورد ارزیابی قرار گرفت و پاسخ التهابی به چهار گروه به قرار زیر تقسیم شد(۱۲):

درجه یک: بدون حضور سلول‌های التهابی

درجه دو: حضور سلول‌های التهابی کمتر از سی عدد در هر قسمت (Mild inflammation)

درجه سه: حضورسلول‌های التهابی بین ۳۰-۶۰ عدد در هر قسمت (Moderate inflammation)

درجه چهار: حضور سلول‌های التهابی بیش از شصت عدد در هر قسمت (Severe inflammation)

لازم به یادآوری است ملاک ایجاد التهاب براساس حضور سلول‌های التهابی و تعداد این سلول‌ها می‌باشد، یعنی ممکن است در فیلد بزرگنمائی High Power سی سلول التهابی یا کمتر و یا بیشتر مشاهده شود. براین اساس گروه شاهد نیز از گروه دارای التهاب خفیف تا متوسط که میزان سلول‌های التهابی قابل شمارش است مجزا می‌گردد. چون این آزمون یک روش محاسباتی Non-parametric بوده برای مقایسه بین این دو نوع سیلر از آزمون Kruskal-Wallis و Man Whithney استفاده شد.

یافته‌ها

آنالیزهای آماری انجام گرفته بر روی داده‌های حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که (جدول ۱و۲): سیلر Apexit سبب ایجاد التهاب در بافت همبندی موش گردیده که شدت التهاب به مرور افزایش یافته (شکل ۱و۲) ولی این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد(P.V>۰/۰۵).

جدول ۱: توزیع فراوانی نمونه‌ها (سه گروه شاهد، سیلر AH_{26} و سیلر اپکیست) در دوره سه روزه

پاسخ التهابی	گروه شاهد	سیلر AH_{26}	سیلر اپکسیت
درجه یک	۳	٤	۲
درجه دو	۱	۳	۵
درجه سه	۱	۳	۳
درجه چهار	–	۱	۱

جدول ۲: توزیع فراوانی نمونه‌ها (سه گروه شاهد، سیلر AH_{26} و سیلر اپکیست) در دوره سی روزه

پاسخ التهابی	گروه شاهد	سیلرAH_{26}	سیلر اپکسیت
درجه یک	۵	۲	–
درجه دو	۱	۵	۲
درجه سه	–	۵	۷
درجه چهار	–	۱	۲

سیلر AH_{26} سبب ایجاد التهاب در بافت همبندی موش شده که این التهاب به مرور افزایش یافته است (شکل ۳و٤) ولی این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

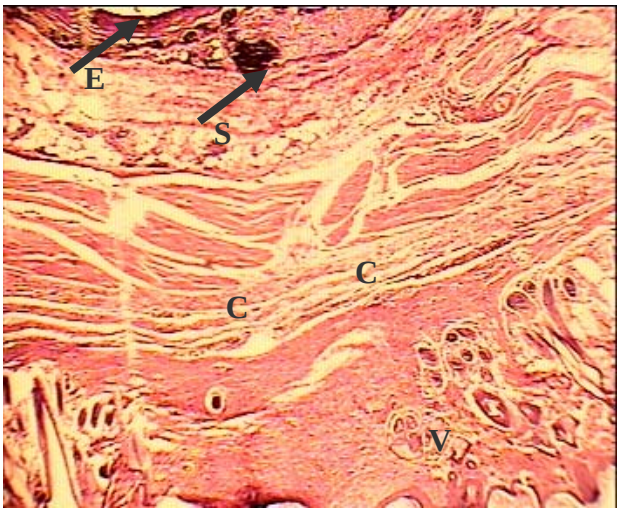
میانگین شدت التهاب در نمونه‌های AH_{26} در دوره‌های سه روزه و سی روزه از نمونه‌های Apexit بیشتر بوده اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود (P.V>۰/۰۵).

سه روز پس از قرار دادن سیلر، پاسخ التهابی بافت در تمام نمونه‌ها به صورت حاد و مزمن و فرم التهاب به صورت پراکنده دیده شد و نشانه‌هائی از نکروز نیز وجود داشت. در زمان سی روز پس از قرار دادن سیلر در تمام نمونه‌ها التهاب عمدتاً از نوع مزمن به همراه پراکندگی سلول‌های التهابی مشاهده شد. بافت فیبروتیک احاطه کننده سیلرها منسجمتر شده و در هیچ کدام از نمونه‌ها نکروز مشاهده نشد.

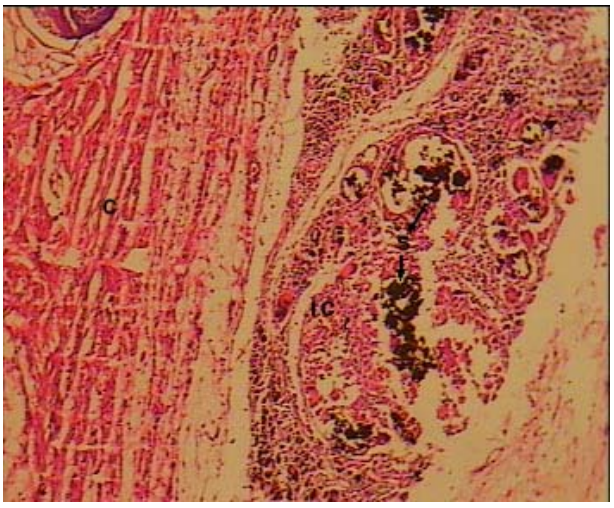
میانگین شدت التهاب در سیلر AH_{26} و Apexit نسبت به گروه شاهد بیشتر بوده که این مقدار در زمان سی روز در هر دو گروه AH_{26} و Apexit افزایش یافته ولی در گروه شاهد کاهش نشان می‌دهد (P.V>۰/۰۵). همچنین تنها در گروه شاهد چه در مقطع زمانی سه و چه در مقطع زمانی

سی روزه التهاب شدید که معادل درجه چهار جدول درجه‌بندی التهاب است دیده نشد و در دو گروه دیگر نیز التهاب شدید فقط در مقطع زمانی سی روزه در تعداد معدودی از نمونه‌ها مشاهده شد (شکل ۲و٤).

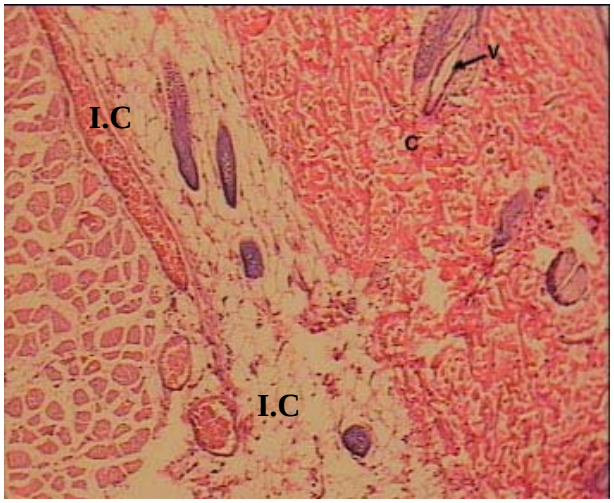
از نظر نوع سلول‌های التهابی در هر دو گروه AH_{26} و Apexit در زمان سی روزه غلبه سلول‌های التهابی، با نوع حاد (بیش از ٦٠٪) و در دوره سی روزه غلبه سلول‌های



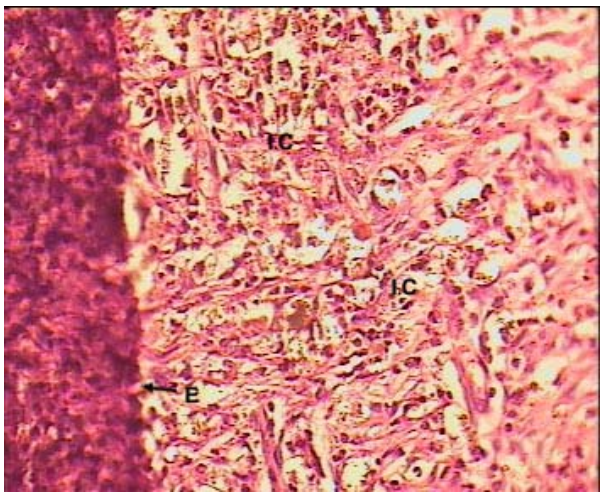
شکل ۱: نمای میکروسکوپی واکنش ماده Apexit در نمونه سه روزه ـ التهاب درجه دو (متوسط) ـ رنگ‌آمیزی H&E ـ درشت نمایی ۱۰۰ ×



شکل ۲: نمای میکروسکوپی واکنش ماده Apexit در نمونه سی روزه ـ التهاب درجه دو (شدید) ـ رنگ‌آمیزی H&E ـ درشت‌نمایی ۱۰۰ ×



شکل ۳: نمای میکروسکوپی واکنش ماده AH26 در نمونه سه روزه ـ التهاب درجه یک (خفیف) ـ رنگ‌آمیزی H&E درشت‌نمایی ۱۰۰ ×.



شکل ۴: نمای میکروسکوپی واکنش ماده AH_{26} در نمونه سی روزه ـ التهاب درجه سه (شدید) ـ رنگ‌آمیزی H&E درشت‌نمایی ۱۰۰×.

S: Sealer E: Epithelium
G.T: Granulome Tissue C: Connective tissue
I.C: Inflammatory – Cells V: Vesseles

التهابی در هر دو گروه، با سلول‌های التهابی مزمن (بیش از ۸۰٪) بود. نکته قابل توجه اینکه در بررسی تشکیل بافت فیبروز به نظر رسید بافت فیبروتیک احاطه کننده سیلرها در زمان سی روزه در هر دو گروه AH_{26} و Apexit منسجمتر بود که تراکم این بافت در گروه AH_{26} مقداری بیشتر بود.

بحث

در درمانهای اندو همیشه سعی در یافتن سیلرها بوده است که علاوه بر کمک به ایجاد سیل مناسب، در صورت خروج از کانال دندان کمترین آسیب را برای بافت اپیکال و پری‌اپیکال داشته باشند و به خوبی توسط بافتهای اطراف ریشه تحمل شود(۹). هدف این مطالعه، مقایسه سازگاری نسجی سیلرهای AH_{26} و Apexit که توسط متخصصان اندو مورد استفاده قرار می‌گیرد، در طی دو دورهٔ زمانی سه و سی روزه می‌باشد. علت انتخاب این دو نوع سیلر تفاوت در ساختار و بیس آنها بود و سعی شد شدت التهاب دو سیلر رایج در درمانهای اندو بررسی شود و معلوم گردد که تفاوت در بیس دو سیلر (کلسیم هیدروکساید یارزینی بودن) به چه میزان در ایجاد التهاب نسجی مؤثر است. دوره‌های زمانی سه و سی روزه براساس مدت زمان سخت شدن این دو سیلر و زمان‌بندی موجود در مقالات مختلف انتخاب گردید. تا با توجه به اینکه هر دو سیلر پس از سه روز سختی نهایی را داشته نتایج مطالعه به دلیل زمان سختی مخدوش نگردد. در این مطالعه گروه کنترل منفی در نظر گرفته شد، به این معنی که در این گروه برش بافتی داده شد اما هیچ ماده‌ای در زیر پوست قرار داده نشد، دلیل وجود گروه کنترل منفی آن بود که شدت التهاب ناشی از برش بافتی ارزیابی گردیده تا میانگین شدت التهاب سیلرهای مورد آزمایش بهتر مشخص شود. با مقایسه‌ای که بین این دو نوع سیلر یعنی سیلری با بیس رزینی (AH_{26})، سیلری با بیس کلسیم هیدروکساید (Apexit) از لحاظ سازگاری نسجی صورت گرفت مشخص شد که این سیلرها نیز دارای سازگاری نسجی ایده‌آل نبوده و ایجاد التهاب خفیف تا متوسط می‌کنند. در ضمن به نظر می‌رسد که به دلیل خاصیت انحلالی سیلرها با گذشت زمان شاهد کاهش سازگاری نسجی هر دو نوع سیلر می‌توان بود.

در سال ۱۹۹۵ Economid و همکارانش سازگاری نسجی سیلر AH_{26} و سیل آپکس را در دوره‌های هفت و ۱۴ و ۲۱روزه بر روی موشهای آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که سازگاری نسجی AH_{26} نسبت به سیلر سیل اپکس بهتر می‌باشد که نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر مطابقت دارد زیرا هر دو مطالعه سازگاری نسجی بیشتر سیلرهای با بیس رزینی را گزارش می‌کنند.(۹)، Kolokaris در سال ۱۹۹۸ به ارزیابی سازگاری نسجی دو نوع سیلر به نامهای Apexit و روت کانال بر روی موشهای آزمایشگاهی پرداخت و به این نتیجه رسید که هر دو نوع سیلر ایجاد التهاب می‌کنند ولی سیلر Apexit در دوره‌های طولانی سازگاری نسجی بهتری را نسبت به سیلر روت کانال از خود نشان می‌دهد.(۱۰)

Schworze و همکارانش در سال ۲۰۰۲، به بررسی سازگاری نسجی پنج نوع سیلر به نامهای N_2، اندومتازون، کتاک اندو، AH plus و سیلر Apexit در محیط کشت حاوی سلول‌های پریودنتال پرداختند و به این نتیجه رسیدند که از میان این سیلرها، سیلرAH plus و سیلر Apexit نسبت به سایر سیلرها سازگاری نسجی بهتری داشته و سیلر Apexit دارای سمیت کمتری نسبت به سیلرAH plus می‌باشد که نتایج این تحقیق با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد. شاید علت این تفاوت در نتایج را بتوان به اختلاف در روش و نوع تحقیق نسبت داد، زیرا این محقق سازگاری نسجی سیلرها را در خلال سخت شدن بررسی کرد، حال آنکه این مطالعه سازگاری نسجی را پس از سخت شدن بررسی کرده است.(۱۱)

در مطالعه‌ای Huang در سال ۲۰۰۲، میزان سازگاری نسجی سه نوع مختلف سیلر، یعنی سیلرهایی با بیس رزین و سیلرهایی با بیس زینک اکساید اوژنول و سیلرهایی با بیس کلسیم هیدروکساید را بر روی لیگامان پریودنتال انسان بررسی کرد و به این نتیجه رسید که همه این مواد سیتوتوکسیک بوده ولی در میان آنها سیلرهای با بیس کلسیم هیدروکساید کمترین سمیّت را دارا می‌باشند، که نتایج این تحقیق با بررسی حاضر مغایرت دارد. این تفاوت را می‌توان به اختلاف در روش مطالعه و نوع سیلرها نسبت داد زیرا مطالعه حاضر مطالعه‌ای حیوانی بوده حال آنکه مطالعه Huang بر روی سلول‌های لیگامان پریودنتال انسان انجام شده که این خود می‌تواند دلیلی برای بروز این اختلافات در نتایج باشد.(۱۲)

نتیجه‌گیری

اگر چه سیلرهای با بیس رزینی نظیر AH_{26} و سیلرهای با بیس کلسیم هیدروکساید همچون Apexit از لحاظ سازگاری نسجی نسبتاً مناسب می‌باشند لیکن این سیلرها نیز دارای سازگاری نسجی ایده‌آل نبوده و لازم است آزمایشهایی با نمونه‌های بیشتر جهت نتایج قطعی انجام گیرد.

REFERENCES

1. Walton RE, Torabinejad M. Principle and practice of endodontics. 3rd ed. WB Saunders Co;2002,306-314.
2. Cohen S, Burns R. Pathway of the Pulp, 8th ed. Pliladelphia: Mosby Co; 2002,301.
3. Zafalon EG, Verciani MA. In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 2007 May;103(5): 88-94.
4. Kaplan AE, Ormaechea MF. Rheological properties and biocompatibility of endodontic Sealers. Int Endod J. 2003 Aug;36(8):527-32.
5. Deolveira M, Ribeiros. Invitro evaluation of the cytotoxicity of two root canal sealers on macrophage activity. J Endod. 2003 Feb;29(2):25-29.
6. Geurtsen W. Biocompatibility of root canal filling materials. J Endod. 2001 Jan; 27(1):12-21.
7. Huong TH, Yang JJ. The biocompatibility evaluation of epoxy resin- based root canal sealers in vitro. Biomater. 2002 Jan;23(1):11-83.
8. Ingle JI, Bakland LK. Endodontics. 5th ed. Hamilton: Landon; 2002, 519-95.
9. Economides N, Kotsaki-Kovatsi VP. Experimental study of the biocompatibility of four root conal sealers and their influence on the zinc and calcium contanet of several tissues. J Endod. 1995 Mar;21(3):122-27.
10. Kolokaris L, Econmides N.Invivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. J Endod. 1998 Feb;24(2):82-85.
11. Schwarze T, Eidler I. The cellular compatibility of five endodontic sealers during the setting period. J Endod. 2002 Nov;28(11):184-86.
12. Huang FM, Tai KW. Cytotoxicity of resin, zinc oxide eugenal, and calcium hydroxide- based root canal sealers on human periodontal ligament cells and permanent V 79 cells. Int Endod J. 2002 Feb; 35(2):153-58.
13. Yesilsoy R, Koren LZ. A comparative tissue toxicity evaluation of established and newer root canal sealer. Oral Surg Oral Med Oral Path. 1998 April;65(4):459-467.