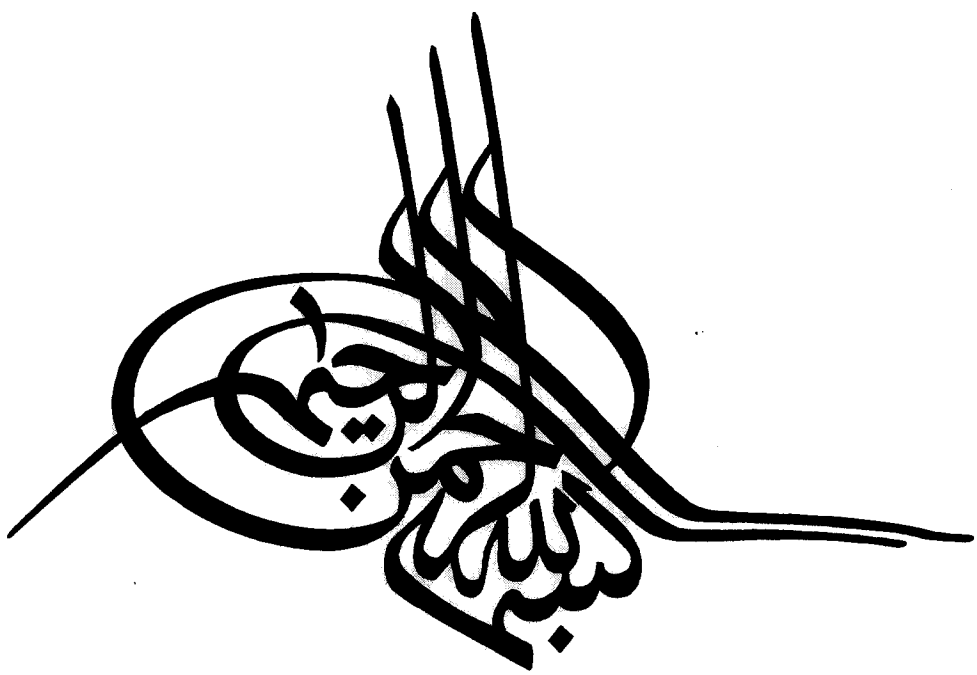

٩٢٥١٣

دانشگاه علوم پزشکی وخدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
معاونت پژوهشی

پایان نامه تحقیقاتی با عنوان:

بررسی واکنش بافت همبند موش به MTA، سیمان پرتلند، سیلر AH-26 و گوتاپرکا

استاد راهنما:
دکتر زاهد محمدی
دکتر حمیرا مردانی

۱۳۸۶ /۸/ ۲۸

دانشجو:
احمدرضا رفیعی اشیانی

تیر ۱۳۸۶

۹۲۵۱۳
۹۲۵۱۳

تقدیم به پدر ومادر مهربانم

آن دو مهر پر فروغی که هر چه دارم از حیث خوبی در پرتو گرمی و نورافشانی خورشید وجودشان بوده و هست هر چند که مرا توانی در تقدیر و ستایش از مهر گرانقدر مادری والا مقام و الطاف و عنایات پدری دلسوز نیست ولی با تقدیم این قبیل، بیان ارادتی دارم بر آستان مبارک و گرانقدرشان.

بلند وجودشان همیشه استوار

تقدیم به خواهر و برادران ارجمندم

که راهنمائیهای دلسوزانه اشان مشعل راه من در تاریکی شبهایم

بوده و هست.

تقدیم به

استاد گرانمایه جناب آقای دکتر زاهد محمدی که از راهنمائیهای خردمندانه ایشان در تهیه این اثر بهره فراوان برده ام امید آن که این تحقیق بتواند پاسخی مناسب به توجیهات استادانه شان باشد.

تقدیم به

استاد ارجمند خانم دکتر حمیرا مردانی که در طول تهیه این پایان نامه ارشادات حکیمانه ایشان چراغ راهم بود

تقدیم به

استاد ارجمند مشاور آمار جناب آقای دکتر حسین فلاحزاده

با تشکر وقدردانی از زحمات ریاست محترم دانشکده و معاونت پژوهشی

جناب آقایان دکتر عبدالرحیم داوری و دکتر جلیل مدرسی

که سایه پدرانه شان مشکل گشای راهمان بود

تقدیم به

کلیه اساتید دانشمند و بزرگوار دانشکده دندانپزشکی شهید صدوقی یزد که از خرمن فضل و دانش ایشان خوشه ها چیده و در کاستی های علمی همیشه راهنمایم بودند و درس معرفت و زندگی را در محضرشان آموختم

دکتر مهدی تبریزی زاده، دکتر احمد حائریان،

دکتر سید مجید موسوی نسب

دکتر رضا ملا، دکتر علی مؤمن، دکتر محمدحسین لطفی کامران

لحظه ها را گذراندیم تا به خوشبختی برسیم

غافل از اینکه

لحظه ها همان خوشبختی بودند

فهرست مطالب

عنوان صفحه

خلاصه فارسی .....

فصل اول : کلیات Introduction

مقدمه و بیان مسئله..... ۲

آزمایشات کشت سلولی..... ۳

واکنش های متقابل بافتی با میکروبها..... ۴

آزمایش کاربرد (Usage)..... ۵

مطالعات انسانی: ۵

گوتاپرکا: ۶

تغییرات فاز trans- Polyisoprene..... ۷

سیلرهائی با پایه پلیمری:..... ۸

سیمان پرتلند ۱۰

انواع سیمان پرتلند ۱۰

MTA(Mineral Trioxide Aggregate) : ۱۲

کاربردهای MTA: ۱۴

مروری بر مقالات ۱۸

اهداف و فرضیات ۲۳

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل دوم – مواد و روش ها

روش کار ۲۶

مراحل تهیه لام (رنگ آمیزی) H.E (هماتوکسیلین و ائوزین) ۲۹

فصل سوم – نتایج (Results)

نتایج ۳۲

فصل چهارم – بحث و نتیجه گیری (Discussion & Conclusion)

بحث و نتیجه گیری..... ۴۰

چکیده انگلیسی (Abstract) ۴۶

منابع (References) ۴۸

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول شماره ۱-۱: ۸

اجزای مخروطهای تجاری گوتاپرکا

جدول متغیرها ۳۰

جدول شماره۳-۱: ۳۲

پاسخ بافتی به مواد مختلف در دوره های زمانی متفاوت.

جدول شماره ۳-۲: ۳۳

مقایسه دو به دو گروهها.

فهرست نمودار

عنوان **صفحه**

نمودار ۳-۱: ۳۴

میانگین نمره التهاب در گروههای مورد مطالعه.

فهرست تصاویر

عنوان صفحه

تصویر ۳-۱: ۳۵

دوره های مختلف زمانی MTA

تصویر ۳-۲: ۳۶

دوره های مختلف زمانی گوتاپرکا.

تصویر ۳-۳: ۳۷

دوره های مختلف زمانی سیلر AH-26.

تصویر ۳-۴: ۳۸

دوره های مختلف زمانی سیمان پرتلند.

چکیده

خلاصه فارسی:

مقدمه: سازگاری زیستی یکی از مهمترین پیش نیازهای هر ماده مورد استفاده در دندانپزشکی می باشد. روشهای In vitro و In vivo متعددی برای ارزیابی سازگاری زیستی مواد معرفی شده است. یکی از این روشها ایمپلنت کردن مواد در داخل بافت همبند زیر پوستی حیوانات آزمایشگاهی و ارزیابی واکنش بافت همبند می باشد. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی واکنش بافت همبند زیر پوستی موش به MTA، سیمان پرتلند، گوتاپرکا و سیلر AH-26 بود.

مواد و روشها:

در این مطالعه از ۱۵ موش نر ۶-۵ ماهه Wistar Albino با وزن تقریبی ۲۵۰ گرم استفاده شد. پس از قرار دادن MTA، سیمان پرتلند، گوتاپرکا و سیلر AH-26 در بافت همبند زیر پوستی، موشها در فواصل زمانی ۷، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روزه بیهوش شدند. محلهای implant کردن مواد خارج و برای ارزیابی هیستولوژیک آماده شدند. Section های ۵ میکرومتری با استفاده از میکروتوم تهیه، با روش هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی و در زیر میکروسکوپ نوری بررسی شد. وجود التهاب، سلولهای التهابی، کلسیفیکاسیون دیستروفیک و کپسول فیبروتیک مشخص شد.

نتایج:

در دوره هفت روزه درجه التهاب (Score) در گروهای MTA و سیلر۳ در گروههای سیمان پرتلند، گوتاپرکا ۲ بود. در دوره پانزده روزه درجه التهاب در گروههای MTA و سیمان پرتلند ۲ در گروه گوتاپرکا ۱ و در گروه سیلر ۳ بود.در همین دوره زمانی در اطراف

چکیده

نمونه های MTA کلسیفیکاسیون دیستروفیک و در اطراف نمونه های گوتاپرکا و سیمان پرتلند بافت فیبروتیک تشکیل شد. در دوره های زمانی بعدی میزان التهاب کاهش یافت. در روز ۹۰ در تمام نمونه های آزمایش درجه التهاب ۱ بود. التهاب در گروه کنترل (ایجاد برش و dissection بافتی بدون قرار دادن ماده) در دوره های هفت و پانزده روزه ۱ و در بقیه دوره ها صفر بود که تأئید کننده صحت روش مطالعه می باشد.

بحث:

بر اساس یافته های مطالعه حاضر، هر چهار ماده مورد بررسی پس از سه ماهه بخوبی توسط بافت همبند زیر پوستی موش قابل تحمل بودند.

کلید واژه ها: سازگاری بافتی، MTA، گوتاپرکا، سیمان پرتلند، سیلر AH-26

فصل اول

کلیات

Introduction

مقدمه و بیان مسئله

سازگاری بافتی طبق تعریف به توانایی ماده قرار داده شده در مجاور سلول یا بافت در تحریک پاسخ مناسب بافتی گفته می شود[۱]. بر اساس استانداردهای کمیته استاندارد اروپا (EN۱۴۴۱) مواد دارای سازگاری بافتی باید عاری از هر خطری باشند[۲]. سازگاری زیستی مواد اندودانتیک به طور کلی توسط پارامترهای زیادی از قبیل موتاژینسیتی، Genotoxicity، کارسینوژینسیتی، سایتوتوکسیسیتی، سازگاری بافتی یا اثرات میکروبی مشخص می شود. بنابراین، تعیین سازگاری بافتی مواد فقط با یک آزمایش امکان پذیر نیست و برای این هدف نیاز به انجام آزمایشات In vivo, In vitro متعددی می باشد[۳].

Autian[۴] در سال ۱۹۷۰ اولین کسی بود که یک روش سیستماتیک شامل سه سطح را برای بررسی سازگاری مواد پیشنهاد کرد:

۱- سمیت غیر اختصاصی (شامل کشتهای سلولی و حیوانات آزمایشگاهی کوچک)

۲- سمیت اختصاصی (شامل نخستیان Subhuman)

۳- آزمایشات کلینیکی در انسان

اما در سال ۱۹۸۴ سازمان بین المللی استاندارد (ISO) روشی را شامل مراحل زیر پیشنهاد کرد[۵]:

۱- آزمایشات اولیه (سایتوتوکسیسیتی، موتاژینسیتی)

۲- آزمایشات ثانویه (آزمایشات implantation، تحریکات مخاطی و حساس سازی)

۳- آزمایشات کاربرد (usage)

آزمایشات کشت سلولی:

انجام آزمایشات In vitro امکان مطالعه اثرات اجزای آزاد شده از مواد مختلف را روی سیستم های سلولی فراهم می کند[۶]. مطالعات کشت سلولی بیش از سی سال برای بررسی واکنشهای سایتوتوکیک ایجاد شده توسط مواد اندودانتیک مورد استفاده قرار گرفته است. رده های سلولهای دائمی از قبیل 3T3, HeLa یا L929 و سلولهای انسانی اولیه/ دیپلوئید و عمدتاً فیبروبلاستهای دهانی برای این آزمایشات مورد استفاده قرار می گیرند. به نظر می رسد که سلولهای اولیه برای بررسی سازگاری زیستی مناسبتر از سلولهای دائمی باشند. شاخصهای بیولوژیک مختلفی برای این بررسی ها مورد استفاده قرار می گیرند که عبارتند از: مهار رشد، تعیین دوز موثر ۵۰ (ED۵۰)، یک پارچگی غشاء (Membrane integrity) سنتز DNA، RNA یا پروتئین و یا تعیین تغییرات مورفولوژی سلولی توسط میکروسکوپ نوری یا الکترونی[۷و۸].

Genotoxicity:

سیستم های آزمایشی In vitro، برای Genotoxicity را می توان به دو گروه پروکاریوتیک (مانند آزمایش Ames و آزمایش umu) و یوکاریوتیک (مانند آزمایش مهار سنتزDNA [DIT]) تقسیم کرد. از آنجا که اکثر مواد مورد استفاده در دندانپزشکی یا اندودانتیکس سمیت بالایی دارند، انجام آزمایشات Genotoxicity روی آنها، برای مشخص کردن آسانتر سایتوکسیسیتی آنها الزامی است[۳]. به علاوه مطالعات

انجام شده توسط Stea و همکارانش[۹] Orstavik[۱۰] نشان داده است که اکثر مواد پر کننده مورد استفاده در درمان کانال ریشه دارای خاصیت ضد باکتریایی قوی هستند.

واکنش های متقابل بافتی با میکروبها:

واکشنهای متقابل احتمالی بین مواد اندودانتیک و یا اجزاء آنها با میکروارگانیسم ها هنگام بررسی سازگاری زیستی مواد باید مدنظر قرار گیرد. پس از پر کردن کانال ریشه ممکن است میکروارگانیسم ها هنوز در داخل کانال موجود باشد، یا از طریق نشت (Leakag) تاجی مجدداً کانال را آلوده کنند. بنابراین، در صورتی که مواد اندودانتیک علاوه بر سازگاری زیستی، دارای خاصیت ضد میکروبی هم باشند، احتمال موفقیت درمان افزایش خواهد یافت. خاصیت ضد میکروبی مواد اندودانتیک علیه پاتوژنهای اندودانتیک با استفاده از آزمایشات ساده از قبیل agar diffusion (ADT)test یا agar dilution test اندازه گیری می شود. معمولاً مواد با خاصیت ضد میکروبی قویتر در طی و پس از درمان دارای عوارض جانبی بیشتری هم هستند و ممکن است موتاژنیک یا کارسینوژنیک هم باشند. یکی از مزایای آزمایشات In vitro نسبت به In vivo داشتن کنترل بیشتر روی عوامل آزمایش می باشد اما آزمایشات In vitro برای مطالعه واکنشهای پیچیده میان مواد و بافتهای میزبان مناسب نیست[۱۱و۱۲].

Implantation

مطالعه واکنشهای بافتی غیر اختصاصی ایجاد شده در اثر کاربرد مواد اندودانتیک معمولاً با Implantation (کاشتن) ماده مورد نظر در داخل بافتهای مختلف حیوانات و سپس

مطالعه مقاطع هیستولوژیک انجام می شود. ماده مورد آزمایش ممکن است به طور مستقیم (بدون پوشش) و یا پس از قرار گرفتن در داخل پوششی از تفلون، سیلیکون یا پلی اتیلن در داخل بافتهای حیوان از قبیل بافت همبند زیر پوستی، عضله یا استخوان موش، خرگوش، خوکچه هندی، hamster قرار گیرد[۳].

آزمایش کاربرد (Usage)

آزمایشات توکسیسیتی اختصاصی In-vivo شامل استفاده از ماده مورد نظر برای درمان کانال ریشه در حیوانات مخصوصاً سگ یا میمون می باشد. در چنین مطالعاتی حد اپیکالی کانال یا cemento- dentinal junction (CDJ) خواهد بود یا برای بررسی واکنش بافت پری اپیکال نسبت به ماده مورد نظر کانال به صورت over fill پر خواهد شد. بدلیل ملاحظات اخلاقی این آزمایشات به ندرت در انسان انجام می شود[۳].

هر چند آزمایشات In vivo برای پی بردن به واکنشهای متقابل میان میزبان و ماده مورد نظر مفید هستند، اما استفاده از حیوانات از لحاظ اخلاقی مورد بحث است. به علاوه این آزمایشات گران قیمت و وقت گیر بوده و کنترل آنها مشکل است.

مطالعات انسانی:

نهایتاً برای تعیین سازگاری مواد اندودانتیک در طولانی مدت انجام مطالعات کلینیکی انسانی گذشته نگر یا ترجیحاً آینده نگر کنترل شده، ضروری است. باید تأکید شود که تمام مطالعات کلینیکی از جمله کارآزماییهای بالینی آینده نگر فقط یک تخمین آماری از

سازگاری مواد بدست می دهند. بنابراین ممکن است ماده ای که طبق نتایج مطالعات دارای سازگاری خوبی بوده است، در چند بیمار سبب ایجاد عوارض جانبی شود[۳].

گوتاپرکا:

گوتاپرکا (Palaquium) نوعی از درختان منطقه گرمسیری است که بومی آسیای جنوب شرقی و شمال استرالیا، از جنوب تایوان تا مالزی و شرق تا جزایر سلیمان می باشد. لاتکس طبیعی غیر قابل ارتجاع حاصل از شیره این درختان هم به ویژه از گونه Palaquium gutta گوتاپرکا نام دارد. از لحاظ شیمیایی گوتاپرکا یک Polytrepene پلیمر isoprene (trans 1, 4- polyisoprene) می باشد. واژه Gutta-percha از کلمه مالایی Getah percha منشأ گرفته است که به عنوان percha Rubber ترجمه می شود. Percha اسم خود درخت است. خصوصیات گوتاپرکا در سال ۱۸۴۲ کشف شد. در سال ۱۸۴۵ در انگلستان با استفاده از گوتاپرکاسیم های تلگراف عایق بندی شد. همچنین در گذشته برای عایق بندی سیم های تلگراف زیر دریایی از گوتاپرکا استفاده می شد. همچنین از گوتاپرکا برای ساختن مبلمان، توپ گلف و ... استفاده شده است[۱۳].

در حال حاضر رایجترین ماده Solid پر کننده کانال گوتاپرکا می باشد.

شکل ملکولی خالص گوتاپرکا به صورت ایزومرترانس Polyisoprene (trans) است. ایزومر Cis لاستیک طبیعی است که تا حد زیادی amorphous می باشد. به علت شباهت بسیار زیاد ساختمان ملکولی گوتاپرکا و لاستیک، تعداد زیادی از خصوصیات

فیزیکی آنها به هم شبیه است، اما تفاوت اساسی در شکل رفتار مکانیکی گوتاپرکا را بسیار شبیه پلیمرهای کریستالی می سازد[۱۴].

تغییرات فاز trans- Polyisoprene

گوتاپرکای حرارت داده نشده ای که از درخت بدست می آید یا مخروط گوتاپرکا در درجه حرارت اتاق یا بدن به شکل فاز β (بتا) می باشد. در این فاز گوتاپرکا جامد، قابل متراکم کردن و قابل کش آمدن می باشد، ممکن است با گذشت زمان شکننده شود و به هیچ چیزی نچسبد. هنگامی که تا درجه حرارت ۴۹°C-۴۲ گرم می شود، تبدیل به فاز α (آلفا) می شود. در این فاز گوتاپرکا چسبنده، غیر قابل تراکم و غیر قابل کش آمدن می باشد. هنگامی که درجه حرارت به °C ۶۲-۵۶ می رسد، گوتاپرکا وارد فاز گاما می شود، به نظر می رسد که خصوصیات فاز گاما شبیه فاز آلفا باشد.

هنگامی که گوتاپرکای فاز بتا حرارت داده می شود و وارد فاز آلفا یا گاما می شود، ۳-۱٪ ازدیاد حجم پیدا می کند و به محض سرد شدن گوتاپرکا شیرینکیج (Shirnkage) پیدا می کند. اما باید این نکته را در نظر داشت که میزان شیرنیکج تقریباً همیشه از میزان ازدیاد حجم بیشتر است و این تفاوت ممکن است به ۲٪ برسد. بنابراین برای جبران یا حداقل کاهش میزان شیرینکیج همیشه باید گوتاپرکای گرم شده را متراکم کرد[۱۴].

ترکیب مخروطهای گوتاپرکای مورد استفاده در درمان بیماران در جدول ۱ آمده است.