

بررسی هیستولوژیک واکنش بافت همبند Rat نسبت به سه نوع گوتاپرکای

آریادنت، Roeko و Diadent

دکتر مریم بیدار*، دکتر غزال صادقی**، دکتر فهیمه زواشکیانی***

* دانشیار گروه اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی و مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

** اندودنتیست عضو گروه اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

*** دندانپزشک

تاریخ ارائه مقاله: ۸۴/۲/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۸۴/۴/۷

Title: A histologic evaluation of rat connective tissue reaction to three different gutta-percha cones (ariadent, roeko and diadent)

Authors:

Bidar M. Associate Professor*, Sadeghi Gh. Assistant Professor**, Zooashkiani F. Dentist***

Address:

* Dept of Endodontics, School of Dentistry and Dental Research Center of Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

** Dept of Endodontics, Dental School, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Introduction:

Regarding the manufacture of different gutta-percha cones and the importance of apical seal in a successful root canal therapy, this experimental study was designed to compare the in vivo effects of Ariadent gutta-percha with Roeko and Diadent.

Materials & Methods:

In this experimental in vivo study, 29 mature Albinus rats (mean weight 202/77 gr) were selected. Four intradermal incisions were made in the dorsal part of each rat. In three incised areas, a piece of each gutta-percha was placed and one of the four incised areas was assumed as the negative control.

Animals were sacrificed at 15, 30 and 60 day intervals and then specimens were taken from subcutaneous connective tissues of rats. All of the specimens were prepared histologically and stained using H & E staining method. histological assessment was based on the number of inflammatory cells. Data were analysed using One-Way ANOVA and Duncan test with 95% confidence level through SPSS software.

Results:

The results revealed that Ariadent gutta-percha in 15 day interval was more reaction inducing than Roeko and Diadent but in 30 and 60 day intervals, tissue biocompatibility of Ariadent was the same as Roeko and Diadent.

Conclusion:

Iranian Ariadent gutta-percha can be considered as a substitute for other foreign gutta-percha cones.

Key words:

Gutta-Percha, subcutaneous implantation, tissue biocompatibility.

Journal of Dentistry. Mashhad University of Medical Sciences 2005; 29: 17-22.

چکیده

مقدمه:

با توجه به ساخت انواع کن های گوتاپرکا و اهمیت سیل آبیکیال در موفقیت درمان ریشه، این تحقیق با هدف ارزیابی خواص بیولوژیکی گوتاپرکای ایرانی آریادنت و مقایسه آن با دو نوع گوتاپرکای مشابه خارجی روکو و دیادنت صورت گرفت.

مواد و روش ها:

در این مطالعه تجربی *in vivo* ۲۹ Rat بالغ با میانگین وزنی ۲۰۲/۷۷gr تحت جراحی قرار گرفته و در پشت هر حیوان چهار برش ایجاد شد. در سه محل قطعه ای از سه نوع گوتاپرکای فوق الذکر کاشته شد و برش چهارم بعنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. حیوانات در دوره های

زمانی ۱۵، ۳۰ و ۶۰ روزه کشته شدند و از بافت همبندی زیر جلدی نمونه برداری شد. تمام نمونه ها تحت بررسی های هیستوپاتولوژی در ارتباط با یک متغیر تعداد سلولهای التهابی مورد بررسی قرار گرفتند. آنالیز آماری داده ها توسط آنالیز واریانس یکطرفه و دانکن با ضریب اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

یافته ها:

نتایج مشاهدات هیستوپاتولوژیک نشان داد که گوتاپرکای آریادنت بطور معنی داری نسبت به دو گوتاپرکای مورد مقایسه در دوره ۱۵ روزه دارای بیشترین خاصیت تحریکی می باشد و بدن Rat نسبت به آن واکنشهای شدیدتری نشان می دهد. ولی گوتاپرکای آریادنت در دوره های طولانی تر (۳۰ روزه و ۶۰ روزه) دارای نتایج یکسانی با دو نوع گوتاپرکای Roeko و Diadent می باشد و اختلاف آماری معنی داری از نظر قابلیت سازگاری بافتی میان آنها مشاهده نشد.

نتیجه گیری:

گوتاپرکای آریادنت را می توان بعنوان جانشینی برای گوتا پرکاهای خارجی بکار برد.

واژه های کلیدی:

گوتاپرکا، کاشت زیر جلدی، سازگاری بافتی.

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد / سال ۱۳۸۴ جلد ۲۹ / شماره ۲ و ۱

مقدمه:

اهمیت می باشد، هدف از مطالعه حاضر بررسی خصوصیات بیولوژیکی گوتاپرکای ایرانی آریادنت و مقایسه آن با دو نوع مشابه خارجی Roeko و Diadent بود.

مواد و روش ها:

در این مطالعه *in vivo* از ۲۹ Rat بالغ با میانگین وزن ۲۰۲/۷۷g استفاده گردید. پس از بیهوشی با استفاده از تزریق داخل صفاقی کتامین هیدروکلراید (Dantex-هلند) به میزان ۴۷/۵^{mg}/kg و Rompon (Bayer-آلمان) به میزان ۰/۰۱^{mg}/kg ابتدا موی پشت حیوان در چهار ناحیه تراشیده شد و توسط محلول بتادین ضدعفونی گردید. پس از آن محلول لیدوکائین ۲٪ همراه با اپی نفرین ۱/۱۰۰/۰۰۰ (داروپخش-ایران) در چهار ناحیه به موازات ستون فقرات حیوان تزریق شد سپس ۴ برش با طول تقریبی ۱cm توسط تیغ جراحی شماره ۱۵ (ماتین-آلمان) در فاصله های مساوی در دو طرف ستون مهره ها ایجاد گردید.

سپس پوست و ضمام آن کنار زده شد و با استفاده از یک پنس هموستات فاصله ای میان پوست و بافت همبند زیرین برای گذاشتن گوتاپرکای مورد نظر ایجاد شد. در این هنگام گوتاپرکاهای شماره ۸۰ به طول ۱cm از سه مارک آریادنت، دیادنت و Roeko در سه ناحیه گذاشته شد و در برش چهارم چیزی قرار نگرفت و بعنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد.

برکردن کانال مرحله نهایی و با اهمیت معالجه ریشه می باشد. طبق خصوصیتی که Grossman در سال ۱۹۴۰ برای ماده پرکننده ایده آل پیشنهاد نموده است، گوتاپرکا در حال حاضر کاربردی ترین ماده جهت پرکردن دائمی کانال دندان می باشد. به منظور افزایش خصوصیات کیفی همانند رادیوآپستی، پلاستیسیته، افزایش طول عمر و ... کارخانه های سازنده موادی به ترکیب اصلی مخروط گوتاپرکا می افزایند^(۱-۳). بنا به نظر Spangberg از آنجا که این مواد افزودنی می توانند موجب بروز تحریکاتی در بدن گردند، درصد آنها در ترکیب یک مخروط گوتاپرکا از اهمیت خاصی برخوردار است. مطالعات وی در محیط کشت بافتی نشان داد که اثر سمی گوتاپرکا به آزاد شدن یون روی (Zn) در محیط کشت بستگی دارد^(۴). مطالعات *Invivo* که توسط Spangberg^(۴)، Wolfson و Seltzer^(۱) و Olsson و Wennberg^(۲) انجام شد، نشان داد که انواع گوتاپرکا بخوبی توسط بافت های همبندی تحمل می شوند. در مطالعه Tavares و همکاران یکی از سه نوع گوتاپرکای کاشته شده، خصوصیات نامناسبی از خود نشان داد^(۶). از آنجا که با توجه به مطالب فوق بررسی اثرات گوتاپرکا از نظر بیولوژیکی حائز

جهت آنالیز آماری نمونه ها از نرم افزارهای کامپیوتری SPSS و EpiInfo استفاده گردید. برای آنالیز نتایج گروههای مختلف گوتا پرکا و کنترل، از آنالیز واریانس و جهت تجزیه و تحلیل نتایج گروههای مربوط به یک نوع گوتا پرکا، از تست Duncan استفاده شد. برای دقت بیشتر مجدداً هر گروه نسبت به گوتا پرکای آریادنت توسط T.test با فرض $P < 0.05$ مقایسه شد.

یافته ها:

ارزیابی نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژیک نمونه ها در سه فاصله زمانی ۱۵، ۳۰ و ۶۰ روز نشان داد که آماس موجود در تمام نمونه ها از نوع مزمن بوده و در هیچیک از نمونه ها آماس حاد وجود نداشت.

نتایج نشان داد که اختلاف تعداد سلول های آماسی میان انواع گوتا پرکاها و گروه کنترل در پریودهای زمانی یکسان معنی دار نمی باشد (جداول ۲، ۱ و ۳). همچنین با استفاده از تست دانکن مشخص شد که اختلاف بین دوره زمانی ۱۵ روزه گوتا پرکای آریادنت با هر دو دوره ۳۰ روزه و ۶۰ روزه آریادنت معنی دار می باشد (جدول ۴ و اشکال ۱ و ۲). اما اختلاف بین دوره زمانی ۱۵ روزه در دو نوع گوتای دیگر با دوره های زمانی ۳۰ روزه و ۶۰ روزه در گروه خودشان معنی دار نبود (جداول ۵ و ۶ و اشکال ۳ و ۴).

سپس لبه های پوست توسط نخ بخیه ۴/۰ (سویا-ایران) بخیه شد و ناحیه توسط بتادین ضدعفونی گردید. جهت جلوگیری از عفونت ثانوی، کلرام فنیکل روی ناحیه اسپری شد که این عمل بصورت منظم در سه روز پس از جراحی هم ادامه داشت.

در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰ و ۶۰ روزه Rat ها توسط Over dosage کلروفرم کشته می شدند. و سپس ناحیه کاشت گوتا پرکاها و ناحیه کنترل با حدود ۱/۵cm از هر طرف خارج می شد و در محلول فرمالین ۱۰٪ (Bayer - آلمان) قرار داده می شد و پس از طی مراحل تهیه برش، رنگ آمیزی H&E انجام و جهت مشاهدات هیستوپاتولوژیک آماده سازی گردید.

روش بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک:

شدت التهاب براساس تراکم سلولهای آماسی مزمن بررسی شد بدین صورت که تعداد کمتر از ۲۵ سلول آماسی در محدوده high-power بعنوان Grade I یا نمونه بدون التهاب شناخته می شد. بین ۲۵ تا ۱۲۴ سلول آماسی در محدوده high-power بعنوان grade II یا التهاب حداقل تا خفیف ارزیابی می شد و میزان بیش از ۱۲۵ سلول آماسی و بیشتر در محدوده high-power بعنوان grade III یا التهاب متوسط تا شدید که اغلب شامل نکروز نیز بود، تعیین می گردید^(۷).

جدول ۱: مقایسه بین نمونه های بدست آمده بین سه نوع گوتا پرکا و کنترل در دوره ۱۵ روزه

	گوتا پرکای آریادنت	گوتا پرکای رکو	کنترل	گوتا پرکای دیادنت	
میانگین تعداد سلولهای					F prob= ۰/۰۵ > ۰/۱۰۴۱
التهابی نمونه های	۷۸/۲۵	۶۴/۴۰	۵۴/۸۱	۷۷/۸۳	
مربوط به دوره ۱۵ روزه					

جدول ۲: مقایسه بین نمونه های بدست آمده بین سه نوع گوتا پرکا و کنترل در دوره ۳۰ روزه

	گوتا پرکای آریادنت	گوتا پرکای رکو	کنترل	گوتا پرکای دیادنت	
میانگین تعداد سلولهای					F prob= ۰/۰۵ > ۰/۱۰۱۱
التهابی نمونه های	۶۱/۱۲۹	۵۸/۰۹	۴۸/۲۵	۶۲/۰۹	
مربوط به دوره ۳۰ روزه					

جدول ۳: مقایسه بین نمونه های بدست آمده بین سه نوع گوتاپرکای و کنترل در دوره ۶۰ روزه

	گوتاپرکای آریادنت	گوتاپرکای رکو	کنترل	گوتاپرکای دیادنت
میانگین تعداد سلولهای				
التهابی نمونه های	۴۸/۹	۵۹/۴	۴۴/۸	۶۵/۷۳
مربوط به دوره ۶۰ روزه				

F prob= ۰/۰۵ > ۰/۲۲۷۵

جدول ۴: مقایسه بین نمونه های بدست آمده بین دوره های زمانی ۱۵ و ۳۰ و ۶۰ روزه مربوط به گوتاپرکای آریادنت

	۱۵ روزه	۳۰ روزه	۶۰ روزه
میانگین تعداد سلولهای			
التهابی نمونه های مربوط	۷۸/۲۵	۶۱/۱۲۹	۴۸/۹
به گوتاپرکای آریادنت			

F prob= ۰/۰۵ < ۰/۰۰۰۷

جدول ۵: مقایسه بین نمونه های بدست آمده بین دوره های زمانی ۱۵ و ۳۰ و ۶۰ روزه مربوط به گوتاپرکای رکو

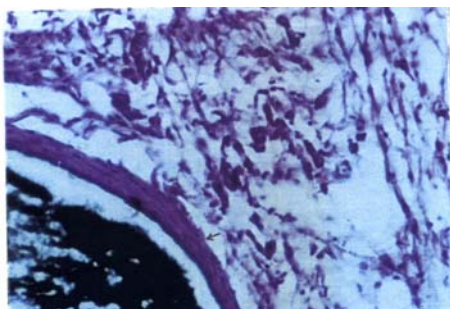
	۱۵ روزه	۳۰ روزه	۶۰ روزه
میانگین تعداد سلولهای			
التهابی نمونه های مربوط	۶۴/۴۰	۵۸/۰۹	۵۹/۴
به گوتاپرکای رکو			

F prob= ۰/۰۵ > ۰/۷۴۰

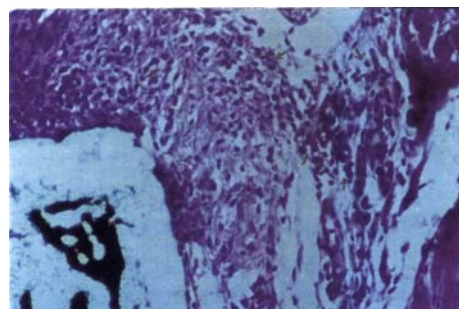
جدول ۶: مقایسه بین نمونه های بدست آمده بین دوره های زمانی ۱۵ و ۳۰ و ۶۰ روزه مربوط به گوتاپرکای دیادنت

	۱۵ روزه	۳۰ روزه	۶۰ روزه
میانگین تعداد سلولهای			
التهابی نمونه های مربوط	۷۷/۸۳	۶۲/۰۹	۶۵/۷۳
به گوتاپرکای دیادنت			

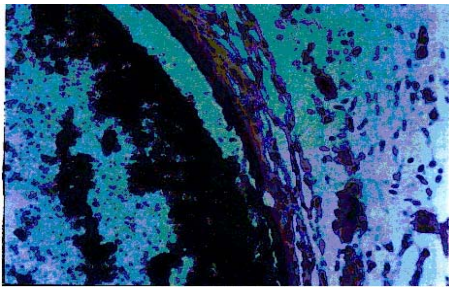
F prob= ۰/۰۵ > ۰/۵۵۲



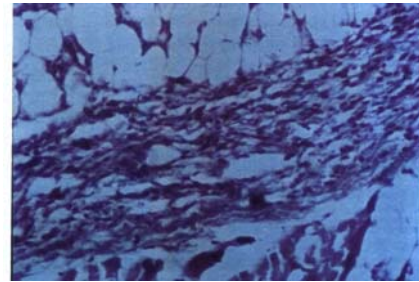
شکل ۲: ماده خارجی آمورف گوتاپرکای آریادنت محدود به کپسول همبندی و راکسیون آماس متوسط پس از ۳۰ روز



شکل ۱: ماده خارجی آمورف گوتاپرکای آریادنت محصور با راکسیون آماس شدید پس از ۱۵ روز



شکل ۴: ماده خارجی آمورف گوتا پرکای دیادنت محصور به کپسول همبندی و راکسیون آماس خفیف پس از ۶۰ روز



شکل ۳: انفیلتراسیون متراکم سلولهای آماسی مجاور ماده خارجی گوتای رکو تزریق شده پس از ۳۰ روز

فقط مخروط های گوتا پرکای آریادنت در پیوندهای انتخابی دارای واکنش های آماسی قابل توجهی بود ولی بین سایر نمونه ها واکنش های آماسی قابل توجه نبوده است. گوتا پرکای آریادنت در پیوند زمانی ۱۵ روزه در قیاس با دوره های ۳۰ روزه و ۶۰ روزه دارای سلول های التهابی قابل توجه و با اختلاف آماری معنی دار بوده است، ولی در دوره های ۳۰ روزه و ۶۰ روزه التهاب ایجاد شده در اطراف گوتا پرکای آریادنت با گوتاهای رکو و دیادنت اختلاف معنی داری نداشت. در مطالعه دیگری که توسط Genet و Moorer انجام گرفته است این محققین علاوه بر سطح ناصاف که بدلیل وجود ذرات ماده زینک اکساید می باشد خود این ماده یعنی زینک اکساید را نیز در تحریک بافت همبندی موثر دانسته اند^(۱۱).

مطالعه ما نشان می دهد که وجود تحریک متفاوت در گوتا پرکای آریادنت می تواند از عوامل ذکر شده بالا نشأت گرفته باشد که برای تایید دقیقتر این ادعا، نیاز به مطالعات تکمیلی دیگری (مانند محیط های کشت و SEM) است. همچنین در این مطالعه نمونه های کنترل محدود به بررسی میزان آماس بدنال انسزیون بوده است ولی باید این مطلب را اشاره نمود که در نمونه های کنترل بهتر است میزان تحریک گوتا پرکای خالص را نسبت به سایر گروههای آزمایشی ارزیابی نمود.

بحث:

بررسی نتایج Seltzer و Wolfson^(۵) وجود واکنش التهابی شدید در اطراف گوتا پرکای حاوی هیدروکسید کلسیم را نشان می دهد. این امر نشانگر آن است که مواد محرک داخل مخروط گوتا پرکا، اثر قابل توجهی در تحریک بافت های اطراف دارد. ولی برخی از محققین نیز در محیط های کشت، توانسته اند نشان دهند که این ماده دارای اثرات توکسیستی می باشد. از جمله این مطالعات به مطالعه Munaco و همکاران^(۸) و Tanzilli و همکاران^(۹) می توان اشاره نمود. Nyborg و Feldman در یک مطالعه مقایسه ای هیستولوژیک بین آمالگام نقره دار و گوتا پرکا نشان دادند که به دنبال کاشت این مواد در استخوان مندیبول خرگوش آماس شدیدتر و تحلیل بیشتری از استخوان در اطراف گوتا پرکا نسبت به آمالگام نقره دار وجود دارد^(۱۰). این مطالعات همگی نقش تحریک کنندگی گوتا پرکا را نشان می دهد. Holland و همکارانش طی دو مطالعه روی انواع انتخابی نمونه های گوتا پرکای تجارتي نشان دادند که این مواد به درجاتی قابلیت تحریک بافت زنده را دارا می باشند^(۱۱). در مطالعه ای که توسط Tavares و همکارانش انجام شد آنها نمونه های گوتا پرکای تجارتي Ultrafil, Kerr و Hygienic را روی موش مورد بررسی هیستولوژیکی قرار دادند و نشان دادند که مخروط های Hygienic تحریک شدیدتر و متفاوتی را نسبت به انواع دیگر داشته است^(۶). در مطالعه ما نیز از میان سه نوع گوتا پرکای تجارتي رکو و دیادنت و آریادنت

نتیجه گیری:

با توجه به نتایج بدست آمده در دوره های زمانی ۳۰ و ۶۰ روزه که التهاب اطراف گوتاپرکای آریادنت با نمونه های گوتاپرکای دیادنت و روکو تفاوت معنی داری نداشت می توان نتیجه گیری کرد که گوتای آریادنت را می توان به عنوان جانشینی برای گوتا پرکاهای خارجی بکار برد.

تشکر و قدردانی:

این تحقیق در شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد مورد تصویب قرار گرفته است. بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه که هزینه های این تحقیق را پرداخت نموده اند، قدردانی می گردد.

منابع:

1. Ingle GI, Bakland LK. Endodontics. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger Co; 2002, P: 241-43.
2. Olsson B, Wennberg A. Early tissue reaction to endodontic filling materials. Endod Dent Traumatol 1985; 131-41.
3. Weine FS. Endodontic Threapy. 6th ed. Philadelphia: The CV Mosby Co; 1996. P. 420-31.
4. Spangberg L, Langland K, Farnington S. Biologic effect of dental materials toxicity of root canal filling materials on hela in vitro. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1973; 35: 402-16.
5. Wolfson E, Seltzer S. Reaction of rat connective tissue to some guttapercha formulation. J Endod 1975; 1: 395-402.
6. Tavares T, Soares II, Silveria NL. Reaction of rat subcutaneous tissue to implants of guttapercha for endodontic use. Endod Dent Traumatol 1994; 10: 174-8.
7. Orstavik D, Mjor IA. Histopathology and X Ray micro analysis of the subcutaneous connective tissue response to endodontic sealer. J Endod 1988; 1: 13-22.
8. Munaco FS, Miller WA, Everett MM. A study of long-term toxicity of endodontic materials with use of on invitro model. J Endod 1978; 4: 151-7.
9. Tanzilli JP, Nevins AJ, Borden BG. The reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants filled with hydron or guttapercha. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1983; 55: 507-13.
10. Feldman G, Nyborg H. Tissue reactions to root filling material. Comparison between gutta percha and silver amalgam implanted in rabbit. Odontol Rew 1962; 31: 1.
11. Holland R, Desousa V. Reaction of rat connective tissue to guttaperch and silver points. A long term histological study. Aust Dent J 1982; 27: 224-6.
12. Moorer WR, Genet JM. Evidence for antibacterial activity of endodontic guttapercha cones. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1982; 53: 503-7.