

## مقایسه سه ماده CEM، MTA و GeriStore بر میزان کمی چسبندگی سلولهای فیبروبلاست لثه‌ای

دکتر زهره خلیلیک<sup>۱</sup> دکتر مهدی وطن پور<sup>#۲</sup> دکتر احسان اثناعشری<sup>۲</sup>

۱- استادیار بخش اندودونتیکس . دانشگاه آزاد اسلامی واحد دندانپزشکی تهران

۲- اندودونتیست

### خلاصه:

**سابقه و هدف:** کیفیت و کمیت سلول‌های چسبیده به مواد پرکننده انتهای ریشه از موارد تعیین کننده سازگاری نسجی مواد می‌باشد. این تحقیق با هدف مقایسه میزان کمی چسبندگی سلولهای فیبرو بلاست لثه‌ای به سه ماده ترمیمی رتروگرد CEM و GeriStore و MTA انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی تعداد ۸ عدد دیسک از هر ماده مورد آزمایش تهیه گردید و در داخل محیط کشت سلولی حاوی سلولهای فیبروبلاست لثه‌ای قرار گرفت، بعد از طی ۳ بازه زمانی ۷۲، ۲۴ ساعت و یک هفته دیسک‌ها توسط اسمیوم و غلظت‌های متفاوتی از الكل ثابت شدند و شمارش سلولی در زیر میکروسکوپ الکترونی انجام شد. میزان چسبندگی سلول‌های فیبروبلاست در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات چندگانه Tukey محاسبه شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد میزان سلول‌های فیبروبلاست چسبیده به ماده CEM ( $1/4 \pm 0/24$ )، ( $0/4 \pm 0/24$ )، ( $0/6 \pm 0/24$ ) به ماده MTA ( $0/4 \pm 0/24$ )، ( $0/8 \pm 0/24$ ) و به ماده Geriostore ( $0/6 \pm 0/24$ )، ( $0/4 \pm 0/24$ )، ( $0/2 \pm 0/24$ ) به ترتیب در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت و یک هفته بوده و در هر سه مقطع زمانی اختلاف معنی داری بین میانگین سلولهای چسبیده به سه ماده مورد آزمایش وجود داشت. ( $p < 0/05$ )

**نتیجه‌گیری:** بیشترین چسبندگی سلولی مربوط به ماده CEM در زمان ۷۲ ساعت و کمترین میزان چسبندگی مربوط به ماده Geriostore در زمان یک هفته بود. میزان چسبندگی سلولی در طول زمان در CEM و MTA افزایش یافته و اما در Geriostore کاهش یافت.

**کلید واژه‌ها:** MTA، CEM، Geristore، فیبروبلاست، چسبندگی سلولی، مواد پرکننده انتهای ریشه

اصلاح نهایی: ۹۰/۴/۳۱ پذیرش مقاله: ۹۰/۵/۲۲

وصول مقاله: ۹۰/۳/۲۲

### مقدمه:

به عنوان پرکننده انتهای ریشه می‌تواند منجر به عدم ایجاد بازسازی واقعی گردد و در این صورت ترمیم ایجاد شده قابلیت باز گرداندن عملکرد طبیعی به دندان را نخواهد داشت.<sup>(۱)</sup> همچنین کیفیت و کمیت سلولهای چسبیده به مواد پرکننده انتهای ریشه از موارد تعیین کننده سازگاری نسجی مواد می‌باشد.<sup>(۲)</sup> یکی از نگرانی‌ها به دنبال جراحی‌های انتهای ریشه دندان، شکل‌گیری مجدد استخوان و پریودنشیم و اتصال طبیعی آنها به یکدیگر می‌باشد. ایده‌آل ترین نتیجه درمان، بازسازی مجدد پریودنشیم و چسبندگی طبیعی سلول‌ها به سطح استخوان، سمنتوم و ماده پرکننده ریشه می‌باشد.<sup>(۱)</sup> عدم توجه به میزان چسبندگی سلول‌ها به ماده مورد استفاده

#نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر مهدی وطن پور، خیابان پاسداران- خیابان نیستان دهم- واحد دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی- بخش اندودونتیکس، تلفن: ۰۲۵۶۴۵۷۱

Email:drvatanpour@gmail.com

## مواد و روش‌ها:

### ۱- تهیه سلول‌های فیبروبلاست لشه‌ای:

در این مطالعه تجربی با توجه به فرمول تعیین حجم نمونه و با در نظر گرفتن میزان خطا نوع ۱ ( $\alpha$ ) برابر  $0.05$  و توان آزمون  $0.8$  و با توجه به میانگین و انحراف معیارهای به دست آمده از مطالعه pilot تعداد حجم نمونه برای هر گروه  $8$  عدد تعیین گردید. سلول لشه انسانی (human gingival fibroblast) (NCBI Code C165) به منظور انجام این تحقیق از انتستیتو پاستور ایران تهیه شد. محیط کشت سلولها حاوی  $10$  درصد fetalbovin serum،  $5$  درصد streptomycin و  $5$  درصد CO<sub>2</sub> قرار گرفت. برای اینکه سلولها به تعداد لازم جهت انجام آزمایش برسد  $5$  بار تحت passage قرار گرفت.

روش تهیه نمونه‌ها: برای تهیه دیسک‌ها به روش Rabeahه عمل شد.<sup>(۱۲)</sup> پس از مخلوط کردن MTA ساخت کارخانه (CEM و DenstplyPhiladelphiaUSA) ساخت شرکت تولیدی عسگری) مطابق دستور کارخانه آنها را درون یک لوله پلاستیکی به قطر  $6$  میلی‌متر و ضخامت  $5$  میلی‌متر ضخامت توسط کندانسور پک کردیم. سپس اجازه داده شد که مواد مطابق زمان و شرایط توصیه شده set شوند. در مورد DENMATSanta کارخانه (GeriStore) ساخت Kerr USA (Maria) سطح ماده توسط دستگاه لایت کیور (با نور هالوژن) با قدرت  $600\text{ mw cm}^2$  که در فاصله استاندارد  $2$  میلی‌متر از سطح ماده قرار دارد به مدت  $30$  ثانیه (طبق دستور کارخانه سازنده) کیور شد. کلیه مواد به مدت  $1$  ساعت درون انکوباتور CO<sub>2</sub> با محیط مرطوب و درجه حرارت  $37$  درجه قرار داده شدند.

### ۲- کشت سلولی بر روی نمونه‌ها:

بعد از آماده شدن نمونه‌ها و تعداد کافی سلول، برای هر بازه زمانی یک عدد محیط کشت  $96$  چاهکی در نظر گرفته شد و هر دیسک درون یک چاهک قرار داده شد و تعداد  $10^4$  سلول فیبروبلاست به هر خانه اضافه گردید. هر کدام از well

امروزه طیف وسیعی از مواد به عنوان ماده پر کننده انتهای کanal مورد استفاده قرار می‌گیرد که از آن جمله می‌توان به آمالگام، کامپوزیت، Super EBA، MTA، گلاس آینومر، کویت و غیره اشاره نمود.<sup>(۴)</sup> GeriStore (ساخت کارخانه DENMAT Santa Maria, USA) یک گلاس آینومر رزینی dual cure است که به عنوان ماده پر کننده انتهای ریشه از آن استفاده می‌گردد. در برخی تحقیقات صورت گرفته مشاهده شده است که فیبروبلاستهای بافت پریوپنال و لشه‌ای به Geristore متصل می‌گردند.<sup>(۱۵,۶)</sup> همچنین Camp و همکاران در بررسی خود به این نتیجه رسیدند که با ادامه incubation اتصال سلولها به Geristore Denstply MTA (ساخت کارخانه Philadelphia USA) نیز یکی از مواد پر کننده انتهای ریشه می‌باشد که یک مخلوط از سیمان پورتلند، اکسید بیسموت و Gypsum می‌باشد. در بررسی میکروسکوپ الکترونی این ماده نیز چسبندگی فیبروبلاستها به صورت کیفی مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعات صورت گرفته کیفیت سلولهای فیبروبلاست چسبیده به سطح MTA با گذشت زمان بهبود می‌یابد.<sup>(۱,۷)</sup> اخیراً یک سمان دندانپزشکی جدید (CEM) (شرکت تولیدی عسگری) شامل ترکیبات متفاوتی از کلسیم (مانند اکسید کلسیم، فسفات کلسیم، کربنات کلسیم، هیدروکسید کلسیم و کلرید کلسیم) معرفی شده است. که خواص فیزیکی آن مورد تایید ISO 6876:2001 می‌باشد و استفاده کلینیکی آن شبیه MTA است و هر دو سمان، زمان سخت شدن، ثبات ابعادی و PH مشابه دارند.<sup>(۸,۹)</sup> در هیچ‌کدام از تحقیقات صورت گرفته میزان چسبندگی فیبروبلاست‌ها به صورت کمی موردمطالعه قرار نگرفته است تا بتوان قضایت صحیحی در مورد انتخاب ماده مناسب انجام گیرد. لذا این تحقیق با هدف مقایسه میزان کمی چسبندگی سلولهای فیبروبلاست لشه‌ای به سه ماده ترمیمی رتروگرید CEM, MTA, GeriStore با روش آنالیز کمی Scanning Electron Microscope (SEM) انجام شد.

گروه در زمانهای مختلف استفاده شد. از تست tukey به عنوان آزمون تکمیلی استفاده شد.

#### نتایج:

مقایسه گروه ها نشان داد بیشترین چسبندگی سلولی مربوط به ماده CEM در زمان یک هفته ( $0/2 \pm 0/2$ ) و کمترین میزان چسبندگی مربوط به ماده در زمان یک هفته ( $0/2 \pm 0/0$ ) میباشد. در جدول ۱ مقایسه گروه ها به تفکیک زمانهای مورد مطالعه دیده می شود.

جدول ۱- میانگین تعداد سلولهای چسبیده به دیسک های ساخته شده از CEM، MTA و Geristore در زمان های ۲۴ ساعت، ۷۲ ساعت و یک هفته

۱ هفته X $\pm$ SE	۷۲ ساعت X $\pm$ SE	۲۴ ساعت X $\pm$ SE	
$8/2 \pm 0/2$	$8/6 \pm 0/4$	$1/4 \pm 0/24$	CEM
$6/8 \pm 0/37$	$2/8 \pm 0/96$	$0/4 \pm 0/24$	MTA
$0/2 \pm 0/2$	$0/4 \pm 0/2$	$0/6 \pm 0/2$	Geristore

در هر سه مقطع زمانی اختلاف معنی داری بین میانگین سلول های چسبیده به سه ماده مورد آزمایش وجود داشت. (ANOVA, p < 0/05) پس از ۲۴ ساعت تعداد سلول های چسبیده به دیسک های تهیه شده از ماده CEM به طور (tukey's post Hoc) بیشتر بود MTA معنی داری از Geristore بود. همچنین تفاوت معنی داری نداشت. اما میانگین تعداد سلول های چسبیده CEM بیشتر از Geristore بود. همچنین تفاوت معنی دار نبود. Geristore در مقطع زمانی ۷۲ ساعت میزان سلولهای چسبیده به CEM به طور معنی داری بیشتر از Geristore بود. همچنین سلولهای MTA به طور معنی داری بیشتر از Geristore بود. (tukey's post Hoc, p < 0/05). در مقطع زمانی یک هفته میزان چسبندگی در CEM طور معنی داری بیشتر از MTA بود (p < 0/05) و نیز این میزان در CEM به طور معنی داری بیشتر از Geristore

culture plate تحت انکوباسیون قرار گرفتند. (۱۳) به دنبال پایان یافتن زمان مورد نظر، همه دیسک ها ۳ بار توسط PBS با فشار شستشو داده شدند.

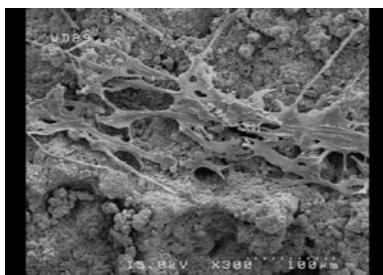
جهت ثبوت دیسک ها ابتدا دیسک ها به مدت ۲ ساعت درون محلول گلوتارتآلدئید ۲/۵ درصد قرار گرفتند و بعد از آن به مدت ۲۰ دقیقه ۵ بار با آب قطر شسته شدند و در مرحله بعدی به مدت ۲ ساعت درون محلول ۱ درصد اسミوم تتراکساید رقیق شده در آب قطر قرار داده شده و سپس برای ۲۰ دقیقه ۵ بار توسط آب قطر شسته شدند در آخرین مرحله ثبوت، ابگیری به ترتیب توسط الكل با غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۹۵ انجام شد و نمونه ها برای خشک شدن به مدت ۲۴ ساعت در هوای آزاد قرار داده شدند. (۱۳)

#### ۳- بررسی سطوح دیسک ها با SEM :

دیسک های ثابت شده بر روی یک ورق از جنس آلومینیوم درون دستگاه sputter coater(Hunmer 2) به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند تا یک لایه نازک طلا به قطر ۱۵ نانومتر بر سطح دیسک ها قرار گیرد. در مرحله بعد دیسک ها توسط Field Emission Scanning Electron Microscope (Hittachi S4160, Stanford, CA) انتقال داده شد.

سطح هر دیسک به چهار قسمت فرضی تقسیم شد و در هر ربع ۲ نقطه با بزرگنمایی ۳۰۰ برابر توسط اپراتور SEM که اطلاعی از نحوه انجام مطالعه نداشت، انتخاب شد. و عکس برداری از آن صورت گرفت. شمارش تعداد سلول ها در هر عکس توسط دو نفر انجام گردید و در صورت عدم توازن دو مشاهده گر عدد کمتر در جداول خالی ثبت گردید. مراحل فوق برای هر ۳ زمان ۲۴ ساعت، ۷۲ ساعت و یک هفته تکرار گردید.

پس از جمع آوری داده ها نتایج توسط تست One way ANOVA برای مقایسه بین گروهها در هر مقطع زمانی و از تست repeated measured ANOVA برای بررسی هر

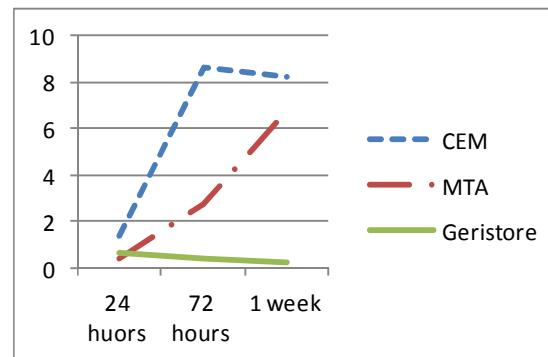


شکل ۳- چسبندگی فیبروبلاستهای لثه ای به ماده CEM

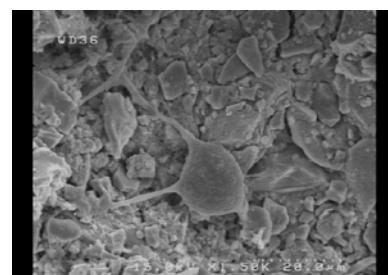
بود. میزان چسبندگی به MTA نیز به طور معنی داری بیشتر از GeriStore بود.

میزان چسبندگی سلولها به دو ماده CEM و MTA با افزایش زمان به طور معنی داری افزایش یافت.

میزان چسبندگی سلولی به دیسکها برای Geristore در طول زمان تفاوت معنی داری نداشته است. (نمودار شماره ۱)



نمودار ۱- تغییرات تعداد سلولهای چسبیده به مواد CEM و MTA در طول زمان ۲۴ ساعت، ۷۲ ساعت و یک هفته



شکل ۱- چسبندگی فیبروبلاستهای لثه ای به ماده MTA



شکل ۲- چسبندگی فیبروبلاستهای لثه ای به ماده Geristore

به همین دلیل در این تحقیق به عنوان یک استاندارد طلایی مورد استفاده قرار گرفته است.

که چسبندگی ندارند یا در خلل و فرج مواد تهیه شده باقی مانده‌اند و اتصال محکمی ندارند جدا شود و تنها سلول‌هایی که چسبندگی واقعی دارند در سطح دیسک بررسی شوند.<sup>(۱۳)</sup>

استفاده از سایر روش‌های بررسی میزان چسبندگی سلولی مانند MTT یا Ki67 علاوه بر اینکه امکان بررسی خصوصیات سطحی ماده مورد آزمایش، شکل و خصوصیات سلول‌های چسبیده و تاثیر مواد پر کننده را بر سلول‌ها نشان نمی‌دهد علاوه بر این در روش‌های ذکر شده مشخص نمی‌باشد که سلول‌های شناسایی شده چسبندگی داشته یا صرفاً در تماس فیزیکی با مواد بوده اند این روش‌های آزمایشگاهی بعضی موارد قادر نیست کمیت سلول‌های چسبیده را مشخص نماید و فقط سیتوکسیستی مواد را مورد آزمایش قرار می‌دهد.<sup>(۱۴)</sup>

در این مطالعه از سلول‌های فیبرو بلاست لثه انسانی به عنوان سلول مورد آزمایش استفاده شد. مطابق مطالعات انجام شده سلول‌های فیبرو بلاست لثه‌ای و فیبرو بلاست لیگامان پریودونت از نظر مورفولوژیک و خصوصیات چسبندگی مشابه یکدیگر می‌باشند و مطابق مطالعه انجام شده می‌توان از این دو سلول به جای یکدیگر استفاده نمود.<sup>(۱۵)</sup>

استفاده از این رده سلولی در مطالعه، شرایط کلینیکی را بازسازی می‌نمایدو مزیت آن تکرارپذیری و امکان انجام آن ISO برای همه مواد مورد آزمایش می‌باشد و همچنین توسط بررسی‌های اولیه سیتوکسیستی پیشنهاد شده است.<sup>(۱۶)</sup> در مطالعه حاضر در مورد مواد CEM و MTA با گذشت زمان میزان کمی سلول‌ها افزایش می‌یابد که احتمالاً به علت سمتی مواد تازه مخلوط شده می‌باشد. Balto در مطالعه خود عنوان کرد مورفولوژی سلول‌ها در معرض MTA تازه تهیه شده (۴ ساعت) به فرم کروی بوده، گسترشی بر سطح نداشته و تقریباً از سوبسترا جدا می‌باشد که احتمالاً ناشی از سمتی ماده می‌باشد در حالیکه در نمونه‌های سخت شده سلول‌ها در سطح ماده از طریق زواید سیتوپلاسمی گسترش می‌یابند و حالت مسطح به خود می‌گیرند و خصوصیات سلول‌های چسبنده را دارند. و از این نظر مطالعه انجام شده در توافق با

CEM در سال ۲۰۰۶ معرفی شد<sup>(۱۷)</sup> و از لحاظ توانایی سخت شدن در حضور رطوبت<sup>(۱۸)</sup>، القا ساخت بافت سخت<sup>(۱۹)</sup> و قابلیت سیل<sup>(۲۰)</sup> با MTA قابل مقایسه می‌باشد. از سوی دیگر ضخامت لایه‌ای، فلو و خاصیت آنتی باکتریال<sup>(۲۱)</sup> آن بهتر از MTA می‌باشد. با توجه به برتریهای CEM بر MTA<sup>(۲۲)</sup> بررسی این ماده در این مطالعه ضروری به نظر می‌رسید.

یک نوع گلاس آینومر تغییر یافته با رزین Geristore است که به عنوان ماده پرکننده انتهای ریشه و همچنین نواقص زیر لثه ای دندانها پیشنهاد شده است. این ماده لیکیج کمی در حد MTA دارد.<sup>(۲۳)</sup> این ماده حساسیت کمی به وجود رطوبت دارد و طی بعضی مطالعات ادعا شده که فیبرو بلاست های لثه ای قابلیت چسبندگی به این ماده را دارند.<sup>(۲۴)</sup> با توجه به ماهیت رزینی این ماده می‌توان انتظار چسبندگی به سطوح آماده شده دندانی را داشت و لذا در مواردی که وجود سوراخهای فرعی متعدد محتمل است و طی روند جراحی امکان آماده سازی همه آنها به طور دقیق وجود ندارد مورد تجویز قرار می‌گیرد.

بررسی تعداد سلول‌های چسبنده به سطح دیسک‌ها مطابق روشی که قبل از توضیف Mustafa و همکاران آن توصیف شده بود انجام شد و نشان داده شده که روش حاضر یک متد مناسب برای تعیین چسبندگی سلولی به حساب می‌آید. در این روش آنالیز چسبندگی سلول‌ها توسط عکس‌هایی که از مناطق اتفاقی به دست آمده است انجام می‌شود.<sup>(۲۵)</sup>

در طی مراحل بررسی چسبندگی یکی از مراحلی که اهمیت بسزایی دارد این است که سلول‌های چسبیده مورد آزمایش قرار بگیرند. اهمیت این موضوع در آن است که صرف تماس فیزیکی بین سلول و ماده موجب شروع رئنزاپیون بافتی نمی‌شود و این پروسه فقط هنگامی آغاز می‌شود که این اتصال توسط استطلاعه‌های سلولی و به صورت محکم بر قرار شود. در این روش آزمایشگاهی قبل از ثابت کردن نمونه‌ها هر دیسک ۳ بار توسط محلول فسفات بافری شستشو داده شده تا سلول‌هایی

بوده و کریستالهای هیدروکسی آپاتیت دنتین ( به عنوان اصلی ترین ترکیب عاج) و CEM نیز بسیار به یکدیگر شبیه می باشند احتمالاً علت افزایش تعداد سلولهای چسبیده به CEM می باشد.<sup>(۲۴)</sup>

در این مطالعه میزان سلولهای چسبیده به ماده GeriStore در طول زمان انکوباسیون به طور معنی داری کاهش می یابد و در بازه زمانی ۷۲ ساعت و یک هفته به صفر می رسد.

وجود چسبندگی سلول در بازه زمانی ۲۴ ساعت می تواند به علت زمان کوتاه انکوباسیون باشد و با گذشت زمان به علت آزاد شدن رزین های سخت نشده سمی که در ترکیب ماده وجود دارد چسبندگی سلولها از بین می رود.

نتایج مطالعه حاضر در تشابه با مطالعه Bonson و GeriStore همکاران است. در آن مطالعه عنوان شده که مانع بروز ژن های لازم برای سمنتوزن و نیز آلکالین فسفاتاز می شود که نشان دهنده عدم سازگاری نسجی این ماده است در حالیکه ژن های یاد شده در مورد MTA به طور کامل بروز می یابد.<sup>(۲۵)</sup>

### نتیجه گیری:

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه CEM به عنوان یک محصول داخلی که نتایج بهتری هم ارایه کرده به عنوان ماده انتخابی در جراحی های رترگرید مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به نمودار رسم شده ممکن است در صورت ادامه زمان های مورد آزمایش میزان چسبندگی در دو ماده CEM و MTA برابر شود که لزوم بررسی بیشتر را ضروری می سازد.

مطالعه فوق می باشد.<sup>(۷)</sup>

از سوی دیگر مطالعه حاضر در توافق با مطالعه Oviiir و همکاران است که عنوان نمودند با افزایش زمان سخت شدن از ۲۴ ساعت به ۱۲ روز میزان پرولیفراسیون سلولهای سمنتوبلاست و کراتینوسیت در مجاورت MTA سفید افزایش می یابد.<sup>(۲۳)</sup> دلیل احتمالی این پدیده این است که با گذشت زمان MTA سختر می شود و به دنبال آن سلولها نمی توانند به راحتی از سطوح سخت شده جدا شوند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در زمان ۲۴ ساعت تفاوت معنی داری بین میزان سلولهای چسبیده MTA و GeriStore وجود ندارد و با گذشت زمان یعنی در زمان های ۷۲ ساعت و یک هفته این اختلاف به نفع MTA معنی دار شده است. این نتایج با نتایج به دست آمده از مطالعه Camp و همکاران در تنافق می باشد ( در مطالعه Camp میزان چسبندگی سلولها به GeriStore بیشتر گزارش شده است) که احتمالاً این تنافق به علت تفاوت در زمان های مورد بررسی در این دو مطالعه می باشد. ( زمانهای مورد مطالعه در بررسی ۳ ، ۶ ، ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت بوده است).

همچنین روش بررسی در مطالعه فوق بوده که امکان بررسی شکل ظاهری سلول ها و ارتباط آنها با مواد وجود نداشته است.<sup>(۱)</sup>

در مطالعه حاضر با توجه به نتایج حاصله میزان کمی سلولهای چسبیده به CEM به طور معنی داری از MTA بیشتر می باشد که با توجه به مطالعه Asgari و همکاران که MTA تاکید داشتند که ساختار سطحی CEM بر خلاف از نظر توزیع کلسیم، فسفر و اکسیژن بسیار شبیه به دنتین

**References:**

- 1- Camp MA, T Jeansson BG, Lallier T. Adhesion of Human Fibroblasts to Root-end-Filling Materials. *J Endod.* 2003 Sep;29(9):602-7.
- 2- Zhu Q, Haglund R, Safavi KE, Spangberg LS. Adhesion of Human Osteoblasts on Root-end Filling Materials. *J Endod.* 2000 Jul;26(7):404-6.
- 3-Safavi KE, Spangberg L, Sapounas G, MacAlister TJ. In Vitro Evaluation of Biocompatibility and Marginal Adaptation of Root Retrofilling Materials. *J Endod.* 1988 Nov;14(11):538-42.
- 4-Friedman S. Retrograde approaches in endodontic therapy. *Endod Dent Traumatol.* 1991 Jun;7(3):97-107.
- 5-Tawil PZ, Trope M, Curran AE, Caplan DJ, Kirakozova A, Duggan DJ, et al. Periapical Microsurgery: An In Vivo Evaluation of Endodontic Root-end Filling Materials. *J Endod.* 2009 Mar;35(3):357-62.
- 6-Al-Sabek F, Shostad S, Kirkwood KL. Preferential attachment of human gingival fibroblasts to the resin ionomer Geristore. *J Endod.* 2005 Mar;31(3):205-8.
- 7-Balto HA. Attachment and Morphological Behavior of Human Periodontal Ligament Fibroblasts to Mineral Trioxide Aggregate: A Scanning Electron Microscope Study. *J Endod.* 2004 Jan;30(1):25-9.
- 8-Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Cytotoxicity of Four Root end Filling Materials. *J Endod.* 1995 Oct;21(10):489-92.
- 9-Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and Chemical Properties of a New Root-end Filling Material. *J Endod.* 1995 Jul;21(7):349-53.
- 10- Torabinejad M, Parirokh M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod.* 2010 Feb;36(2):190-202.
- 11-Asgary S, Shahabi S, Jafarzadeh T, Amini S, Kheirieh S. The Properties of a New Endodontic Material. *J Endod.* 2008 Aug;34(8):990-3.
- 12- Al-Rabeah E, Perinpanayagam H, MacFarland D. Human Alveolar Bone Cells Interact with ProRoot and Tooth-Colored MTA. *J Endod.* 2006 Sep;32(9):872-5. Epub 2006 May 2.
- 13-Mustafa K, Silva LB, Hultenby K, Wennerberg A, Arvidson K. Attachment and Proliferation of Human Oral Fibroblasts to Titanium Surfaces Blasted with TiO<sub>2</sub> Particles. A Scanning Electron Microscopic and Histomorphometric Analysis. *Clin Oral Implants Res.* 1998 Jun;9(3):195-207.
- 14-Zmener O, Cabrini RL. Adhesion of Human Blood Monocytes and Lymphocytes to Different Endodontic Cements.A Methodological Invitro Study. *J Endod.* 1986 Apr;12(4):150-5.
- 15-Torabinejad M, Pitt Ford TR. Root end Filling Materials: a Review. *Endod Dent Traumatol.* 1996 Aug;12(4):161-78.
- 16-Torabinejad M, Chivian N. Clinical Applications of Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod.* 1999 Mar;25(3):197-205.
- 17-Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M. Sealing Ability of a Novel Endodontic Cement as a Root-end Filling Material. *J Biomed Mater Res A.* 2008 Dec 1;87(3):706-9.

18-Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghanavati F

, Rahimi H. A Comparative Study of Histologic Response to Different Pulp Capping Materials and a Novel Endodontic Cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Oct;106(4):609-14. Epub 2008 Aug 20.

19-Asgary S, Kamrani FA. Antibacterial Effects of Five Different Root Canal Sealing Materials. *J Oral Sci.* 2008 Dec;50(4):469-74.

20-Scheerer SQ, Steiman HR, Cohen J. A comparative Evaluation of Three Root-end Filling Materials: An In Vitro Leakage Study Using *Prevotella Nigrescens*. *J Endod.* 2001 Jan;27(1):40-2.

21-BaltoH, Al-Nazhan S. Attachment of Human Periodontal Ligament Fibroblasts to 3 Different Root-end Filling Materials: Scanning Electron Microscope Observation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003 Feb;95(2):222-7.

22-Al-Nazhan S, SpangbergL. Morphological Cell Changes Due to Chemical Toxicity of a Dental Material: An Electron Microscopic Study on Human Periodontal Ligament Fibroblasts and L929 cells. *J Endod.* 1990 Mar;16(3):129-34.

23-Oviir T, Pagoria D, Ibarra G, Geurtzen W. Effects Ofgray and White Mineral Trioxide Aggregate on the Proliferation of Oral Keratinocytes and Cementoblasts. *J Endod.* 2006 Mar;32(3):210-3.

24-Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghoddusi J, Kheirieh S, Brink F. Comparison of Mineral Trioxide Aggregate's Composition with Portland Cements and a New Endodontic Cement. *J Endod.* 2009 Feb;35(2):243-50. Epub 2008 Dec 13.

25-Bonson S, Jeansson BG, Lallier TE. Root-end Filling Materials Alter Fibroblast Differentiation. *J Dent Res.* 2004 May;83(5):408-13.