Archive of SID

مجـــــله علمی علـــــوم پزشکی صدرا
دوره ۱، شماره ۲، بهار ۱۳۹۲، صفحات ۱۰۳ تا ۱۱۲
تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۳۰ تاریخ دریافت: ۹۱/۱۲/۱۰

بررسی توانایی یک محیط حد واسط جدید در حفظ حیات سلولهای لیگامان پریودنتال

دکترعلی نوذری[۱]، دکتر طاهره اسماعیل پور[۲]، دکتر سلیمان فیجان[۳*]

[۱]گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ایران
[۲]آزمایشگاه تحقیقات سلولهای بنیادی،گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ایران
[۳*]دستیار سال آخر، گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ایران (نویسنده مسئول)، Email: fsoleiman@yahoo.com،۰۹۱۷۳۱۹۲۹۰۲

چکیده

مقدمـــه: (بیـرون افتـادن) دنـدان بـه معنـای جابجـایی کامـل دنـدان از حفـره دنـدانی اسـت کـه باعـث آسـیب بـه ساختارهای لیگامان پریودونتـال، سـمان، اسـتخوان آلوئـول، لثـه و پالـپ دنـدان مـی‌شـود. بـا توجـه بـه ایـن کـه شـیر یـک محیط ایده‌آل برای زنـده نگـه داشـتن سـلول‌هـا در مـدت زمـان کوتـاه مـی باشـد، هـدف از مطالعـه حاضـر بررسـی میـزان زنـده مانـدن سـلول‌هـای لیگامـان پریودونتـال در محـیط ترکیبـی شـیر و داروی گیـاهی سـیمفیتوم در مـدت زمـان طولانی (۲۴ ساعت) و مقایسه‌ی آن با محیط‌های استاندارد بود.

مـــواد و روش: سـلول‌هـای لیگامـان پریودونتـال در محـیط کشـت DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) در پلیـت 96-well کشـت داده شـد و تـا زمـان اتصـال سـلول‌هـا بـه پلیـت، در ۳۷° انکوبـه شـد. بعـد از آن محـیط کشـت DMEM را برداشـته و بـه هـر well، بـه میـزان ۱۰۰ میکـرو لیتـر از محـیط‌هـای شـیر مـدت‌دار مـیهن، شـیر معمـولی آپـادا، Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) و محـیط ترکیبـی (سـیمفیتوم + شـیر مـدت‌دار میهن) اضافه شد.(DMEM) بـه عنـوان محـیط کنتـرل مثبـت و محـیط خشـک بـه عنـوان محـیط کنتـرل منفـی در نظـر گرفتـه شـد. سـپس پلیـت‌هـا بـه مـدت ۱ و ۳و۶ و ۲۴ سـاعت در انکوبـاتور ۳۷° قـرار داده شـد. زنـده مانـدن سـلول‌هـا بـا اسـتفاده از روش MTT(Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide) ارزیـابی شـد. نتـایج مطالعـه بـا اسـتفاده از نـرم افزار SPSS و آزمون آماری One-Way ANOVA , post Hoc (LSD) بررسی شد.

یافته‌ها: بعـد از گذشـت ۲۴ سـاعت میـزان بقـای سـلول‌هـا در محـیط ترکیبـی بـه صـورت معنـی‌داری نسـبت بـه محـیط شیر معمولی آپـادا بیشـتر بـود($p = ۰/۰۳$). عـلاوه بـر ایـن، نتـایج آنـالیز واریـانس یـک طرفـه نشـان داد کـه بعـد از گذشـت ۲۴ سـاعت میـانگین زنـده مانـدن سـلول‌هـای PDL در محـیط ترکیبـی بیشـتر از HBSS بـود. بعـد از گـذ شـت ۲۴ساعت میزان سـلول‌هـای زنـده در محـیط ترکیبـی ۱۳۵٪ بـود، در حـالی کـه در محـیط شـیر بلنـد مـدت مـیهن ۳۵٪ و در محیط HBSS ۶۴٪ سلول‌ها زنده ماندند.

بحث و نتیجه‌گیری: بـر طبـق نتـایج مطالعـه ی حاضـر محـیط ترکیبـی(سـیمفیتوم +شـیر مـدت دار مـیهن) را مـی‌تـوان به عنوان یک محیط حد واسـط قابـل مقایسـه بـا محـیط HBSS در نظـر گرفـت. ایـن محـیط نـه تنهـا توانـایی نگهـداری میـزان سـلول‌هـای بیشـتری بعـداز گذشـت ۲۴ سـاعت نسـبت بـه محـیط HBSS دارد، بلکـه نسـبت بـه ایـن محلـول تجاری پرهزینه به راحتی در دسترس و قابل استفاده می‌باشد.

واژگان کلیدی: لیگامان پریودنتال، سیمفیتوم، DMEM

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیرون افتادن دندان(Avulsion) به معنای جابجایی کامل دندان از حفره دندانی است که باعث آسیب به ساختارهای لیگامان پریودونتال، سمان، استخوان آلوئول، لثه و پالپ دندان می‌شود (۱). در بیشتر ضربه‌هایی که منجر به خروج کامل دندان از حفره دندانی می‌شوند، فقط یک دندان درگیر می‌شود و شایع‌ترین دندان درگیر غالبا ثنایای میانی فک بالا است (۲). این صدمات تروماتیک معمولاً در سنین ۹-۷ سال بروز می‌کند و پسرها ۳ برابر دخترها گرفتار می‌شوند.پیش آگهی درمان دندان Avulsed شده عمدتاً تحت تاثیر زنده ماندن سلول‌های لیگامان پریودونتال و توانایی آنها برای پرولیفره شدن در سطح ریشه می‌باشد (۳). برای افزایش موفقیت درمان، می‌بایست هرچه سریع‌تر دندان در حفره دندانی جاگذاری مجدد شود (درمان انتخابی) و یا آنکه تا زمان جاگذاری مجدد در یک ماده حد واسط مناسب نگهداری شود(۱و۲).

دو عامل تاثیر بیشتری بر پیش آگهی دندان‌هایAvulsed شده دارند. یکی طول مدت زمانی که از خروج آن از حفره آلوئول می‌گذرد و دیگری محیط حد واسطی که دندان در آن نگهداری می‌شود. مطالعات تجربی نشان دادند که نوع ماده حد واسط بیشتر از مدت زمان خارج آلوئول بودن در پیش آگهی نهایی درمان نقش دارد. نا مناسب بودن محیط حد واسط، سبب افزایش نکروز سلولها و در نتیجه انکیلوز و یا تحلیل ریشه دندان پس از جاگذاری مجدد می‌شود (۴).

تاکنون مواد حد واسط متعددی جهت زنده نگهداشتن سلولهای لیگامان پریودونتال مورد بررسی قرار گرفته اند. از آن جمله می توان به شیر، سرم فیزیولوژی، بزاق، آب شرب شهری(۵)، شیر نارگیل (۶)، سفیده تخم مرغ(۷)و. . . و همچنین مواد تجاری مثل HBSS وViaspan (۸) اشاره نمود. از بین این مواد Viaspan ایده‌آل‌ترین ماده است و مطالعات تجربی نشان دادند که حتی تا ۹۶ ساعت توانایی زنده نگهداشتن سلولها را دارد(۹). هر چند مواد تجاری فوق بسیار موثر هستند، اما گران بوده و غالبا در محل حادثه دردسترس نمی‌باشند.

شیر ماده‌ای است با اسمولالیتی mosmol/kg ۲۷۵ که تعداد باکتری آن ناچیز است و حاوی مواد مغذی ضروری می‌باشد (۱۰). لذا از شیر به عنوان یک ماده حدواسط مطلوب و کاملاً دردسترس برای دندان‌هایAvulsed شده، یاد می‌شود. شیر به عنوان کاربردی‌ترین محیط حد واسط جهت نگهداری کوتاه مدت دندان Avulsed شده مطرح می‌باشد. شیر حاوی آمینو اسیدها و ویتامین‌هایی می‌باشد که سبب غیر فعال کردن آنزیم‌هایی که برای سلولهای PDL مضر هستند، می‌شوند(۱۱).

در سطح سلولی، شیر دارای رتبه‌ای برابر با HBSS به عنوان محیط حد واسط می‌باشد، هرچند که تاثیر آن بعد از ۲ ساعت کاهش می یابد. شیر نسبت به بزاق با توجه به میزان زنده نگهداشتن و توانایی بهبود سلول‌ها و ترمیم زخم‌ها برتری دارد (۱۲). شیرهای پاستوریزه‌ی معمولی طول عمر کمی داشته و برای نگهداری احتیاج به یخچال دارند. شیرهای بلند مدت می‌توانند بدون این محدودیت‌ها در محیط‌هایی که صدمات دندانی شایع‌تر می باشد به راحتی دردسترس باشند.

یکی از معایب شیر به عنوان محیط حد واسط عدم توانایی نگهداری سلول‌ها برای مدت زمان طولانی می‌باشد. با توجه به سهولت دسترسی و هزینه‌ی ارزان شیر، نیاز است که این مشکل مرتفع گردد. گیاه سیمفیتوم (symphytum) دارای سه گونه‌ی مختلف به نام‌های asperunz، officinale و ktsrclicun می‌باشد. ه سیمفیتوم officinale

www.SID.ir

Archive of SID

یا comfrey گیاهی است که جهت درمان زخم‌های پوستی به کار می‌رود (۱۳).

گیاه سیمفیتوم منبعی برای موکو پلی‌ساکاریدها (گلوکز وفروکتوز) محسوب می شود. در هر ۱۰۰ میلی گرم از این گیاه ۰/۵ میلی‌گرم تیامین، ۱ میلی گرم ریبوفلاوین، ۵میلی‌گرم اسید نیکوتینیک،۰/۰۷ میلی‌گرم ویتامین B12، ۲۸۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین C، ۳۰ میلی‌گرم ویتامینE و۰/۱۸ میلی‌گرم آلانتوئین وجود دارد. این گیاه دارای میزان قابل توجهی تانن است که دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی این دارو می‌باشد.گیاه سیمفیتوم سریع‌ترین منبع سازنده‌ی پروتئن جهان در بین گیاهان است و یکی از معدود گیاهانی است که تولید کننده‌ی ویتامین B12 می باشد (۱۴). این گیاه یکی از اجزای مهم بسیاری از داروهای گیاهی، داروها و فرآورده‌های دارویی می‌باشد. تجزیه‌ی این گیاه (۸۴/۹ درصدآب) بر پایه‌ی وزن خشک ۲۲/۷۳ درصد پروتئین خام و مقادیر قابل توجهی کلسیم، فسفر وپروتیین می‌باشد. این گیاه حاوی آلانتوئین می‌باشد که تمایز دهنده‌ی سلول‌ها، به هم آورنده‌ی زخمها و بهبود دهنده‌ی جراحت‌ها است. این گیاه دارویی به جهت خصوصیات ضد التهابی، تحریک رشد سلولی و ضد دردی مورد استفاده قرار می‌گرفته است.این گیاه باعث بازسازی سلولها وبافتهای همبندی می‌گردد (۱۵). تا کنون در حیطه ی صدمات دندانپزشکی از گیاه سیمفیتوم استفاده نشده است. با توجه به این که شیر یک محیط ایده آل برای زنده نگه داشتن سلولها در مدت زمان کوتاه می باشد؛ هدف از تحقیق حاضر بررسی میزان زنده ماندن سلولهای PDL در محیط ترکیبی شیر و سیمفیتوم در مدت زمان طولانی (۲۴ ساعت) و مقایسه ی آن با محیط‌های استاندارد بود.

مواد و روش

مطالعه حاضر یک پژوهش کارآزمایی بالینی بود که با هدف بررسی میزان زنده ماندن سلول‌های PDL در شش محیط کشت مختلف در سال ۱۳۹۱ انجام شد.

برای تهیه سلولهای لیگامان پریودونتال از دندان‌های پرمولر و مولر سوم سالم که به دلیل اهداف درمانی مختلف کشیده شده‌اند استفاده می‌شود. بافت پریو دنتالی در این افراد باید سالم بوده و فاقد هرگونه التهاب باشد. سپس دندان ۳ بار توسط نرمال‌سالین شسته شده و داخل لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM(Biosera, South Africa) حداکثر طی ۳۰ دقیقه به آزمایشگاه منتقل شد. سپس سلول‌های ناحیه ۱/۳ میانی سطح ریشه با استفاده از تیغ جراحی استریل از سطح دندان جدا شد. پس از شستشوی بافت جدا شده، آن‌را به قطعات کوچک تقسیم کرده و با استفاده از کلاژناز(mg/ml4) و دیسپاز(mg/ml3) به صورت سوسپانسیون سلولی در آورده و ازStrainer رد کردیم و سپس در محیط کشت DMEM همراه با FBS 10% (Biosera)، AB-Serum 10%، پنی سیلین 100 U/ml، استرپتومایسین (100 U/ml(PAA و ۱٪ Antimycotic در درجه حرارت ۳۷ °، ۹۵٪ هوا و۵٪Co_2 کشت داده شد. پس از۴-۶روز که سلول‌ها به۷۰-۸۰٪ confluence رسیدند، trypsinized شده و برای ادامه روند تکثیر به پلیت جدید منتقل شد. جهت انجام آزمایش از سلول‌های پاساژ ۷-۵ استفاده شد. سلولها تا مرحله آزمایش فریز شد. بعد از ذوب سلول‌ها، آن‌ها را با هموسایتومتر شمرده و سپس به میزان یکسان(۸×۱۰^3 سلول در هرخانه) در محیط کشت DMEM در پلیت۹۶-well کشت داده شد و سپس تا زمان اتصال سلولها به پلیت، در ۳۷ ° انکوبه

www.SID.ir

Archive of SID

شد. بعد از آن محیط کشت DMEM را برداشته و به هر well، به میزان ۱۰۰ میکرولیتراز محیط‌های مورد آزمایش به ترتیب زیر اضافه گردید:

(۱) شیر مدت‌دارمیهن (Mihan food industries Group) با چربی ۱/۵ درصد

(۲) ترکیب شیر مدت‌دار میهن و سیمفیتوم*

(۳) شیر معمولی آپادا با چربی ۲/۵درصد (شرکت زرین غزال)

(۴) محیط کشت DMEM (کنترل مثبت)

(۵) محیط کشت خشک (کنترل منفی)

(۶) محیط کشت (Biosera-XC-S2065)HBSS

*محیط ترکیبی شامل ۷۰٪ شیر مدت‌دار میهن به همراه ۳۰٪ از داروی گیاهی سیمفیتوم (Organic Comfrey Herb Tincture-Fushi co) می‌باشد.

سپس پلیت‌ها به مدت ۱ و۳و۶ و ۹ ساعت در انکوباتور ۳۷° قرار گرفتند. پس از طی مدت زمان مورد نظر، مواد مورد آزمایش از روی سلول‌ها برداشته شده و مدیای حاوی DMEM و FBS ۱۰٪ به سلول‌ها اضافه شد و پس از گذشت ۴۸ ساعت میزان سایتوتوکسیسیتی مواد مورد آزمایش با انجام تست(MTT) اندازه گیری شد. اساس این تست احیاء نمک تترازولیوم و تولید یک رنگ (رنگ آبی) است که می‌توان تعداد سلول‌های زنده را اندازه‌گیری نمود. بدین صورت که ابتدا محیط آزمایش با محلول MTT جایگزین شده و پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷° انکوبه شدند. سپس محلول MTT برداشته شده و محلول DMSO(Dimethyl sulfoxide) به wellها افزوده شدند. زنده ماندن سلول‌ها با اندازه‌گیری Optical Density(OD) در nm ۴۹۰ بر روی اسپکتروفوتومتر برای هر گروه جداگانه محاسبه گردید.

مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد تایید قرار گرفت.

اطلاعات با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آماری(LSD) post Hoc و One-Way ANOVA تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

در مطالعه‌ی حاضر شش محیط کشت مختلف مورد بررسی قرار گرفت. دو محیط مربوط به شیرهای بلندمدت میهن و شیر معمولی آپادا، ترکیب شیر بلندمدت میهن و سیمفیتوم، DMEM به عنوان کنترل مثبت و محیط خشک به عنوان محیط کنترل منفی در نظر گرفته شد. HBSS نیز به عنوان یک محیط استاندارد در نظر گرفته شد.

نتایج مطالعه نشان داد که میزان بقای سلول‌های PDL در تمام محیط‌ها و در تمام زمان‌ها به صورت معنی‌داری نسبت به محیط کنترل منفی بهتر بود. میانگین سلولهای PDL زنده در محیط شیر معمولی تا یک ساعت با سایر محیط‌ها تفاوت نداشت، اما بعد از گذشت ۳ ساعت ۷۵٪ و بعد از گذشت ۶ ساعت حدود ۵۰٪ از سلول‌های PDL در محیط شیر معمولی زنده ماندند. در حالی که در این زمان میزان سلول‌های سالم در محیط شیرهای مدت‌دار میهن، محیط ترکیبی و HBSS به مراتب بیشتر بود. نتایج مطالعه گویای این بود که بعد از گذشت ۲۴ ساعت میزان بقای سلول‌ها در محیط ترکیبی به صورت معنی‌داری نسبت به محیط شیر معمولی آپادا بیشتر بود($p = ۰/۰۳$). علاوه بر این نتایج آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بعد از گذشت ۲۴ ساعت میانگین زنده ماندن سلول‌های PDL در محیط ترکیبی بیشتر از HBSS بود. بدین صورت که میزان سلول‌های زنده در محیط ترکیبی ۱۳۵٪ بود؛ در حالی که در محیط شیر بلندمدت میهن ۳۵٪ و در محیط HBSS ۶۴٪ بود(جدول ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: میانگین زنده ماندن سلولهای لیگامان پریودنتال در محیط‌ها و زمان‌های مختلف

محیط حد واسط	زنده ماندن سلولهای لیگامان پریودنتال			
	۱ ساعت	۳ ساعت	۶ ساعت	۲۴ ساعت
	میانگین(انحراف معیار)	میانگین(انحراف معیار)	میانگین(انحراف معیار)	میانگین(انحراف معیار)
DMEM(کنترل مثبت)	(۳/۰۷)۱۰۰	(۲/۲۳)۱۰۰	(۲/۵۲)۱۰۰	(۳/۰۵)۱۰۰
شیر آپادا	(۲/۹)۹۴	(۳/۲۲) ۷۵	(۳/۰۵)۵۷	(۲/۰۹)۱۲
شیر مدت‌دار میهن	(۲/۱۴)۹۶	(۱/۱۹)۹۴	(۳/۰۷)۸۳	(۴/۱۳) ۳۵
محیط ترکیبی(شیر+سیمفیتوم)	(۴/۵)۹۲	(۲/۳۳)۹۰	(۲/۹۱)۱۲۶	(۲/۸۲)۱۳۵
HBSS	(۱/۹۷)۹۴	(۰/۴۸)۹۵	(۱/۰۷)۸۷	(۲/۷۸)۶۴
محیط خشک (کنترل منفی)	(۴/۰۲)۳۸	(۳/۰۵)۳۵	(۲/۲۳)۳۰	(۱/۲۸)۱۰

Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), Hank's Balanced Salt Solution (HBSS), *Negative Control: Media free conditio*

بحث

روند درمان دندانهای Avulsed شده بایستی شامل کنترل سلول‌های پالپ وPDL به منظور بهبود پیش‌آگهی طولانی مدت و بقای این دندان‌ها باشد. استفاده از محیط‌ها یا مواد حد واسط نامناسب به طور بالقوه سبب افزایش ریسک نکروز سلولهای PDL ،که می‌تواند باعث بروز Ankylosis و تحلیل جایگزینی ریشه گردد، شود(۴). زمان بیرون بودن دندان از محیط دهان و محیطی که دندان در آن قرار دارد به عنوان مهم‌ترین فاکتورها در زنده ماندن سلولهای PDL می‌باشد(۲). محیط‌های حد واسط مختلفی تاکنون مورد بررسی قرار گرفته است. اندریاسن نشان داد که ۴۵ دقیقه ماندن دندان در محیط نامناسب شانس زنده ماندن سلول‌های PDL را تا ۲۰٪ کاهش می‌دهد(۴). سلول‌های فیبروبلاست که در این مطالعه مورد بررسی قرارگرفت از دندان‌های پرمولر و مولر سوم سالم که به دلیل اهداف درمانی مختلف کشیده شده بودند، تهیه شد. نتایج مطالعه‌ی حاضر یک محیط حد واسط جدید که از ترکیب شیر و سیمفیتوم تشکیل شده است مورد بررسی قرار داد و نشان داد که بعد از گذشت ۲۴ساعت میزان سلول‌های زنده در این محیط ترکیبی ۱۳۵٪ بود که درصد زنده بودن سلولها در این محیط بیشتر از سایر موارد بود. شیر به عنوان کاربردی‌ترین محیط حد واسط جهت نگهداری کوتاه مدت دندان‌های Avulsed شده، است که به راحتی و به آسانی در هر مکانی در دسترس می‌باشد. شیر، که دارای ویتامین‌ها و آمینواسیدهای مختلف است، توانایی غیر فعال کردن آنزیم‌هایی که برای سلول‌های PDL مضر هستند، را دارد (۱۱). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که توانایی شیر در حفظ حیات PDL پس از گذشت ۲-۳ ساعت کاهش می یابد. بلوملوف (Blomelof) و همکاران شیر را به عنوان یک محیط حد واسط مناسب برای مدت زمان کوتاه معرفی کردند(۱۶). در مطالعه‌ای دیگر بلوملوف نشان داد پس از ۱۲ ساعت تنها ۵۰٪ سلولهای PDL زنده ماندند(۱۷). در مطالعه‌ی حاضر سیمفیتوم به عنوان یک داروی گیاهی محرک رشد و پرولیفراسیون سلولی با شیر مدت‌دار میهن ترکیب شد تا میزان بقای سلولهای PDL در مدت زمان طولانی ارزیابی و با محیط های استاندارد نظیر HBSS و DMEM مقاسه گردید. شیربلند مدت میهن دارای حداقل ۸٪ ماده ی خشک شیر بدون چربی،۳/۳ گرم پروتئین،۴/۷ گرم کربوهیدرات،۰/۱

www.SID.ir

Archive of SID

گرم کلسیم و۰/۱۲گرم فسفر است در حالی که شیر های معمولی فاقد مادهی خشک بوده و مقدار پروتئین، کلسیم و فسفر کمتری دارد. گیاه سیمفیتوم سریعترین منبع سازندهی پروتئن جهان در بین گیاهان است و یکی از معدود گیاهانی است که تولید کنندهی ویتامین B12 است(۱۴). این گیاه یکی از اجزای مهم بسیاری از داروهای گیاهی، داروها و فرآوردههای دارویی است. تجزیهی این گیاه (۸۴/۹ درصدآب) بر پایهی وزن خشک ۲۲/۷۳ درصد پروتئین خام و مقادیر قابل توجهی کلسیم، فسفر وپروتیین است. این گیاه حاوی آلانتوئین میباشد که تمایز دهندهی سلولها، به هم آورندهی زخمها و بهبود دهندهی جراحتها است. این گیاه دارویی به جهت خصوصیات ضد التهابی، تحریک رشد سلولی و ضد دردی مورد استفاده قرار میگرفته است. این گیاه باعث بازسازی سلولها و بافتهای همبندی میگردد (۱۵). HBSS یک محلول استاندارد است که به طور گسترده در مطالعات Biomedical به منظور رشد بسیاری از انواع سلولها به کار می رود. این محلول غیر سمی، دارای PHبالانس وحاوی بسیاری مواد غذایی ضروری می باشد (۱۸). نتایج مطالعهی حاضر نشان می دهد که در محیط شیر معمولی آپادا بعد از گذشت ۳ ساعت به میزان ۷۵٪ و در محیط های شیر مدت دار میهن، محیط ترکیبی و HBSS بیش از ۹۰٪ سلولها زنده ماندند. بعد از گذشت ۶ ساعت تنها ۵۰٪ سلولهای PDL در محیط شیر زنده ماندند. در مطالعهی لکیک و مککلوچ (Lekic & McCulloch) و همکاران شیر ارزشی برابر با HBSS نشان داد هر چند که بعد از گذشت ۲ ساعت تاثیر آن کاهش پیدا کرد(۱۶). در زمان ۶ ساعت بهترین نتایج مربوط به محیط ترکیبی بود که میزان شمارش سلولی ۱۲۶٪ بود. دراین زمان در محیط شیر مدتدار میهن ۸۳٪ و در محیط HBSS ۸۷٪ سلولها زنده ماندند. در مطالعه ای که توسط توماس(Tomas) و همکاران صورت گرفت میزان بقای سلولهای PDL در محیط شیرهای بلندمدت بعد از گذشت ۹ ساعت بهتر از HBSS بود(۱۷). HBSS یک محیط حد واسط ایدهآل است که توانایی حفظ سلولها تا مدت زمان ۲۴ ساعت را دارد (۱۸). در مطالعهی حاضر نیز بعد از گذشت ۲۴ ساعت بیش از ۶۰٪ سلولها در محیط HBSS زنده ماندند. در محیط شیر مدتدار میهن بعد از گذشت ۲۴ ساعت ۳۵٪ سلولها زنده ماندند. میزاان بقای سلولها در این زمان در دو محیط خشک و شیر معمولی آپادا تقریباً یکسان بود. این در حالی است که در محیط ترکیبی سیمفیتوم و شیر میهن میزان بقای سلولها بعد از ۲۴ ساعت حدود ۱۳۵٪سلولهای زنده شمارش شد. تاکنون در چندین مطالعه اثر بخشی سیمفیتوم در رشد و تحریک سلولی بررسی شده است(۱۳و۱۴). در مطالعهی حاضر نیز با اضافه کردن این ماده به شیر مدتدار میهن اثر این ترکیب بر بقای سلولهای PDL افزایش یافت. در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۲ به صورت in vivo بر روی موشها(rat) به منظور ارزیابی اثر سیمفیتوم بر ترمیم زخم صورت گرفت میزان رسوب کلاژن در بافت صدمه دیده از روز سوم تا بیست وهشتم از ۴۰٪به ۲۴۰٪ افزایش یافت. همچنین حدود ۴۳٪ کاهش اینفیلتراسیون سلولهای التهابی در این مدت مشاهده شد(۱۹). مطالعهی حاضر به طور واضح نشان دهندهی خاصیت تحریک پرولیفراسیون سلولی و بهبود زخم این دارو می‌باشد. با توجه به خاصیت پرولیفراسیون سلولی سیمفیتوم بعد از گذشت ۲۴ ساعت، محیط ترکیبی نسبت به تمام محیطها از جمله محیط کنترل،HBSS و شیر مدتدار میهن میزان بیشتری سلولهای زنده شمارش گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به این که مطالعه ی حاضر نخستین کاربرد داروی گیاهی سیمفیتوم در دندانپزشکی می‌باشد پیشنهاد می‌گردد که با مطالعات بیشتر در این زمینه، دسترسی به یک محیط حد واسط کم هزینه و قابل دسترس جهت نگهداری سلول‌های PDL مهیا گردد.

نتیجه‌گیری

یکی از اهداف این مطالعه دسترسی به محیطی که توانایی شیر را جهت حفظ طولانی مدت سلول‌های لیگامان پریودنتال افزایش دهد بود. مطالعه‌ی حاضر با بررسی ترکیب شیر مدت‌دار میهن با داروی گیاهی سیمفیتوم نشان داد که این محیط در مقایسه با سایر محیط‌ها، از میزان بقای سلولی بیشتری برخوردار است. بر طبق نتایج این مطالعه می‌توان این ترکیب را به عنوان یک محیط حد واسط جدید در نظر گرفت.

تقدیر و تشکر

مقاله‌ی حاضر مستخرج از پایان نامه‌ی دانشجویی دکتر سلیمان فیجان با شماره طرح ۴۵۶۱ در دانشگاه علوم پزشکی شیراز می‌باشد. بدین وسیله از جناب آقای دکتر وثوق در مرکز توسعه‌ی پژوهش دانشکده‌ی دندانپزشکی به جهت راهنمایی‌های آماری تقدیر و تشکرمی‌گردد.

The authors thank The Vice-chanellery of Shiraz University of Medical sciences for supporting the research (Grant#4561).

References

1- Andreason JO, Andreason F.M. Avulsion" In": J. Text book and color atlas of traumatic injuries to the teeth (4th edition). Chapter 17; p: 444

2. Gomes M, Westphalen V, Westphalen F, Neto U, Fariniuk F and Everdan C. Study of storage media for avulsed tooth. Brazilian Journal of Dental Traumatology 2009; 1(2): 69-76

3. McDOnald R E, Avery's R D, Dean J A Management of trauma to the teeth and supporting tissues "In": Mosby Dentistry for the child and adolescent. Ninth edition, 2011; p: 428.

4. Andreasen JO, Reinholdt J, Dybdahl R, Soder PO, Otteskog P. Periodontal and pulpal healing of monkey incisors preserved in tissue culture before replantation. Int J Oral Surg 1978; 7(2):104-12.

5. Trope M, Chivian N, Sigurdsson A, Vann, Jr WF. Traumatic Injuries In: Pathways of the pulp, Cohen S, Burns RC Editors, 8th ed. St. Louis: Mosby; 2002:636-637.

6. Moreira-Neto J J S, Gondim J O, Raddi M S G, Pansani C A. Viability of human fibroblasts in coconut water as a storage medium. International Endodontic Journal 2009; 42:827–830.

7. Khademi AA, Saei S, Mohajeri MR, Mirkheshti N, Ghassami F, Torabi nia N. A new storage medium for an avulsed tooth. J Contemp Dent Pract 2008; 9(6):25-32.

8. Hiltz J, Trope M. Vitality of human lip fibroblasts in milk, Hanks balanced salt solution and Viaspan storage media. Endod Dent Traumatol 1991; 7:69–72.

9. Hupp JG, Mesaros SV, Aukhil I, Trope M. Periodontal ligament vitality and histologic healing of teeth stored for

www.SID.ir

Archive of SID

Symphytum. Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences 2009; 3(1):159-164.

15- Rose J. Herbal guide to inner health. Grosett & Dunalp, New Yourk, 1979; P: 239

16- Lekic P, McCulloch CA. Periodontal ligament cell population: the central role of fibroblasts in creating a unique tissue. Anat Rec. 1996; 245(2):327-341.

17- Marino TG, West LA, Liewehr FR, Mailhot JM, Buxton TB, Runner RR, et al. Determination of periodontal ligament cell viability in long shelf-life milk. J Endod 2000; 26(12):699-702.

18- Krasner PR. Avulsed teeth: improving the diagnosis. Dent Prod Rep 2007; 2: 52–64.

19- Araújo LU, Reis PG, Barbosa LC, Saúde-Guimarães DA, Grabe-Guimarães A, Mosqueira VC, et al. In vivo wound healing effects of Symphytum officinale L. leaves extract in different topical formulations. Pharmazie 2012; 67(4):355-360.

extended periods before transplantation. Endod Dent Traumatol 1998; 14: 79–83.

10. Fagade OO. Extra-alveolar storage media for tooth autotransplants and replants. Internet J Dent Sci 2005; 2: 1–10.

11. Thomsson M, Blomlöf L, Otteskog P, Hammarström L. A clinical and radiographic evaluation of cultivated and autotransplanted human teeth. Int J Oral Surg 1984; 13: 211–220.

12. Lindskog S, Blomlöf L, Hammarström L. Mitoses and microorganisms in the periodontal membrane after storage in milk or saliva. Scand J Dent Res 1983; 91(6):465-472.

13- Sosa S, Balick MJ, Arvigo R, Esposito RG, Pizza C, Altinier G, et al. Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. J Ethnopharmacol 2002; 81(2):211-215.

14- Barbakadze V, Mulkijanyan K, Gogilashvili L, Amiranashvili L, Merlani M, Novikova Z, Sulakvelidze M. Allantoin- and Pyrrolizidine Alkaloids-Free Wound Healing Compositions from

www.SID.ir