

مقایسه واکنش بافتی به MTA خارجی (ProRoot) و MTA داخلی (Root) در

موش صحرایی

دکتر معصومه صدر لاهیجانی^{*}، دکتر رضا عابدینی^{**}، دکتر محمد خاکساری^{***}، دکتر حسین شجاعی فر^{****}، دکتر عبدالرضا شادکام فرخی^{*****}، دکتر حمید رضا رؤف کاتب^{*****}

Comparison of Biocompatibility of foreign MTA (Proroot) and Iranian MTA (Root) in Rat

¹Sadr Lahijani M. *DDS. MS.* ²Abedini R. *DDS. MS.* ³Khaksari M. *PhD.* ⁴Shojaeifar H. *DDS.* ⁴Shadkam Farrokhi A. *DDS.* ⁵Raof Kateb HR. *PhD.*

¹Assistant Prof., Dept. of Endodontics, Dental School, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan-Iran, ²Dental Pathologist, ³Associate Prof., Dept. of Physiology, Medical School, Kerman University of Medical Sciences, Kerman-Iran, ⁴Dentist. ⁵Research Consultant, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan-Iran.

Key words: Biocompatibility, subcutaneous implant, Mineral Trioxide aggregate (MTA), Root, Proroot.

Purpose: Mineral trioxide aggregate (MTA) is one of the new materials that was introduced for apicectomy at first but today is used for many purposes in endodontics. This study is done due to the importance of economical points in dental materials and decreasing the dental fees and to use new products. The aim of this study was to compare tissue reaction of foreign MTA (proroot) and Iranian MTA (Root) by subcutaneous implanted tube in rat.

Methods & Materials: Fifty four rats were divided into four groups of experiments (40 rat) and 2 groups of control (14 rat). In experimental groups two isolated regions were incised to implant two polyethylene tubes filled with Root and ProRoot, and in control groups two empty tubes were implanted. Animals were sacrificed after 7 and 30 days. After histopathologic preparation, H&E staining, samples were evaluated for the thickness of capsule, intensity, type and extension of inflammation and necrosis. The results were analysed by chi-square.

Results: There was no statistical difference in the tissue reaction between Root and pro Root.

Conclusion: Root is a biocompatible material as ProRoot. *Beheshti Univ. Dent. J. 2005; 23(1):80-87*

خلاصه

سابقه و هدف: Mineral Trioxide aggregate (MTA) جزء مواد تأیید شده ای است که ابتدا جهت جراحی انتهای ریشه ارائه شد و امروزه استفاده های متعددی در رشته درمان ریشه دارد. به دلیل اهمیت مقوله خودکفائی اقتصادی در زمینه مواد دندانپزشکی و پائین آوردن هزینه درمان و بهره گیری از دستاوردهای جدید علمی این مطالعه با هدف مقایسه واکنش بافتی MTA داخلی (root) با خارجی (proRoot) در زیر پوست موش صحرایی انجام گرفت.

مواد و روشها: در این مطالعه مداخله ای - تجربی، 54 سر موش صحرایی بالغ انتخاب و به طور تصادفی به چهار گروه (دو گروه آزمایشی و دو گروه شاهد) تقسیم شدند. در گروه های آزمایشی در دو طرف پشت حیوان دو لوله پلی اتیلنی حاوی MTA داخلی و خارجی و در گروه های شاهد دو لوله خالی پلی اتیلن در زیر پوست کاشته شدند. حیوانات بعد از دو دوره زمانی 7 و 30 روز کشته

^{*}استادیار گروه اندودانتیکس، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
^{**}متخصص پاتولوژی
^{***}دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
^{****}دندانپزشک
^{*****}مشاور آمار، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

شدند. پس از طی مراحل آماده سازی هیستوپاتولوژیک و رنگ آمیزی با H&E، نمونه ها در ارتباط با متغیرهای ضخامت کیسول، شدت التهاب، نوع التهاب، میزان تکثیر عروقی، وسعت التهاب و نکروز مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: نتایج نشان داد که از نظر ضخامت کیسول، شدت و نوع التهاب، تکثیر عروقی و وسعت التهاب بین MTA داخلی و خارجی در دوره یک ماهه اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت و در دوره یک هفته فقط در مورد ضخامت کیسول اختلاف آماری معنی داری وجود داشت. میزان التهاب و تکثیر عروقی در نمونه های یک هفته ای بیشتر از نمونه های یک ماهه بود. در هیچیک از نمونه ها نکروز دیده نشد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که MTA نوع داخلی از نظر واکنش بافتی با نوع خارجی برابری می کند.

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۲/۳/۱۰

تاریخ تأیید مقاله: ۸۲/۴/۳۰

واژه های کلیدی: واکنش بافتی، کاشت زیرجلدی، Root, ProRoot, (MTA) Mineral Trioxide aggregate

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی سال ۱۳۸۴؛ جلد(۱) ۲۳: صفحه ۸۰ الی ۸۷

مقدمه

سه تایی با ذرات آبدوست معدنی می باشد که در حضور رطوبت ساختمان بلورین پیدا می کند^(۱). این ماده ابتدا به عنوان یک ماده پر کننده انتهای ریشه معرفی شد اما امروزه استفاده های متعددی از جمله Apexification، pulp cap، پر کردن داخل کانال و درمان فورکیشن، dens invagination و حتی درمانهای مشترک پریو دارد^(۲-۸). طبق مطالعاتی که ترابی نژاد (۱۹۹۵) و Holland (۱۹۹۹) و Keiser (۲۰۰۰) از نظر سمیت سلولی، تأثیرات ضد باکتریایی، ترمیم پرفوریشن و سازگاری نسجی بر روی خوکیچه هندی، سگ و موش انجام دادند، این ماده نتایج مطلوبی داشته و مورد تأیید قرار گرفته است^(۹-۱۲). با نگرشی به برنامه های توسعه اقتصادی دولت جمهوری اسلامی ایران و اهمیت مقوله خودکفایی در زمینه مواد و ابزار پزشکی و بهره گیری از دستاوردهای جدید علمی جهت بهبود درمان بر آن

پیشرفت فن آوری و علم مواد دندانپزشکی در جهت بهبود نقایص موجود و افزودن بر مزایای مواد، ابزار و روشهای مورد استفاده در علم پزشکی و در نتیجه بهبود متعاقب درمان و جلوگیری از شکست های درمان پیش می رود. یکی از طرح درمانهای پر کاربرد در دندانپزشکی، معالجه ریشه می باشد که به منظور از بین بردن التهاب و با عفونت جهت حفظ دندان و بافت های نگهدارنده آن کاربرد دارد. به کار گیری ابزار و مواد جدید منوط به تأیید مزایا و مشخص شدن مشکلات و عوارض آنها از طریق مطالعات تجربی و اثبات سود بخشی آنها می باشد. این مطالعات شامل بررسی اثرات ضد میکروبی مواد، سازش نسجی در حیوانات و سپس انسان، و سمیت سلولی می باشد.

Mineral Trioxide Aggregate (MTA) ماده جدیدی است که به صورت پودر بوده و شامل ترکیب اکسیدهای

استفاده از نخ نایلون ۰-۲ (switzerland-Assut) بخیه و این محل با بتادین ضد عفونی گردید. پس از این اقدامات، گروه آزمایش به دو زیر گروه ۲۰ تایی تقسیم شد که یک گروه را پس از ۷ روز و گروه دیگر را پس از ۳۰ روز با استفاده از تزریق داخلی قلبی کتامین هیدروکلراید (Trittau-آلمان) کشته و ناحیه کاشت لوله با وسعت ۲×۲ سانتی متر برداشته شد^(۷). گروه شاهد شامل ۱۴ سر حیوان بود که در ناحیه قدامی پشت آنها نیز دو برش طبق مراحل بالا ایجاد و در هر کدام لوله خالی پلی اتیلین گذاشته شده بود. این گروه نیز به دو زیر گروه ۷ تایی تقسیم و یک گروه پس از ۷ روز و دیگری پس از ۳۰ روز به روش فوق کشته و برش های بافتی تهیه گردیدند. برشهای بافتی در داخل فرمالین ۱۰٪ (Merk-آلمان) PH=۷ قرار گرفتند. پس از طی مراحل آماده سازی و تهیه برش ۵ میکرونی، نمونه ها توسط هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی و لام های تهیه شده در زیر میکروسکوپ نوری (Zise-آلمان) توسط پاتولوژیست از نظر ۶ متغیر وابسته زیر با استفاده از مقیاس کمی مورد سنجش قرار گرفتند:

- ۱- ضخامت کپسول: بسته به ضخامت در دو سر لوله از ۱+ تا ۳+ طبقه بندی شد.
- ۲- شدت التهاب: بر اساس تراکم سلولهای آماسی و وجود فضای خالی بدین صورت طبقه بندی شد که در صورت وجود فضاهای خالی زیاد ۱+، وجود فضاهای خالی کم ۲+ و عدم وجود فضاهای خالی بین سلولهای آماسی ۳+ فرض گردید.

شدیم که MTA ساخت داخل را که طبق نظر سازنده آن با نمونه خارجی مطابقت کامل داشته و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه می باشد، مورد بررسی قرار دهیم. بدین منظور این مطالعه با هدف مقایسه واکنش بافتی MTA نوع داخلی با نوع خارجی از طریق کاشت در زیر پوست موش صحرایی انجام گرفت.

مواد و روشها

در این مطالعه مداخله ای - تجربی (experimental) از ۵۴ سر موش صحرایی (rat) ماده بالغ نژاد Albino-N-Mary با میانگین وزنی 25 ± 20 گرم استفاده گردید. ابتدا موش ها به طریق تصادفی به دو گروه آزمایش و شاهد تقسیم شده و با استفاده از تزریق داخلی صفاقی کتامین هیدروکلراید (Tritau - آلمان) به میزان ۹۰ mg/kg بیهوش گردیدند. سپس موی بدن در ناحیه پشت حیوان در قسمت قدامی تراشیده و توسط محلول بتادین ۱۰٪ (داروپخش ایران) ضد عفونی گردید. در گروه آزمایش (۴۰ سر) در ۲ ناحیه قدام، راست و چپ برش های یکسانی در جهت محور سری توسط تیغ بیستوری شماره ۱۵ (Martin - آلمان) در شرایط استریل ایجاد و لوله های پلی اتیلنی آماده استریل به طول ۵ میلی متر و قطر ۱/۵ میلی متر که با MTA داخلی (Root - ساخت دکتر لطفی، تبریز) و خارجی (paris, Franse, Dentsply, Pro Root) که طبق دستور کارخانه با سرم استریل مخلوط شده بودند، پر شده و پس از ایجاد پاکت در زیر پوست کاشته شدند. سپس لبه های فلپ با

۶- نکروز: بر اساس وجود نکروز (۱) و عدم وجود نکروز (۰) تقسیم بندی انجام شد. در این مطالعه از آزمون آماری Chi-square استفاده شد. داده ها با $P=0/05$ معنی دار فرض شدند.

یافته ها

ارزیابی نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژیک نمونه ها در دو فاصله زمانی ۷ و ۳۰ روز نشان داد که در نمونه های کنترل حد اقل تراکم سلولهای آماسی و وسعت التهاب مشاهده شد. همچنین در هیچ یک از نمونه ها نکروز مشاهده نگردید. نتایج حاصل در مورد سایر متغیرها به شرح زیر می باشد: (جدول ۱ و ۲)

۳- نوع التهاب: این متغیر بر اساس مشاهده نوع سلولهای آماسی حاد و مزمن بود و هم چنین بسته به میزان تراکم سلولهای حاد یا مزمن از ۰ تا ۳ تقسیم بندی شد. مجموع این دو سلول نیز با هم ۳ می شد.

۴- میزان تکثیر عروقی: عدم وجود عروقی خونی ۰، وجود عروقی خونی به میزان ۱ تا ۲ عدد در اطراف لوله ۱+، وجود عروقی خونی به میزان ۲ تا ۴ عدد ۲+، وجود عروقی خونی به میزان بیش از ۴ عدد ۳+ فرض گردید.

۵- وسعت التهاب: مشاهده ارتشاح آماسی در یک میدان میکروسکوپی با درشت نمایی ۱:۴۰+، ارتشاح در دو میدان با درشت نمایی ۲: ۴۰+ و مشاهده سلولهای آماسی در بیش از دو میدان ۳+ فرض گردید.

جدول ۱: فراوانی نسبی گروههای آزمایشی بر حسب ۴ متغیر در دوره زمانی ۷ روزه

نوع التهاب			تکثیر عروقی				شدت التهاب			ضخامت کپسول			نوع متغیر شدت پاسخ	نوع ماده
شدید	متوسط	بهبود	شدید	متوسط	بهبود	عدم	شدید	متوسط	بهبود	شدید	متوسط	بهبود		
۳	۵	۱۲	۴	۱	۱۵	۰	۲	۸	۱۰	۲	۷	۱۱	MTA(proroot) خارجی	
۱	۹	۱۰	۴	۱	۱۵	۰	۲	۶	۱۲	۰	۴	۱۶	MTA(root) داخلی	
۲	۴	۸	۲	۱	۱۱	۰	۳	۴	۷	۴	۳	۷	کنترل	
۰.۹۹			۰.۶۲				۰.۷۸			۰.۰۲			ارزش P (دو دامنه)	

جدول ۲: فراوانی نسبی گروههای آزمایشی بر حسب ۴ متغیر در دوره زمانی ۳۰ روزه

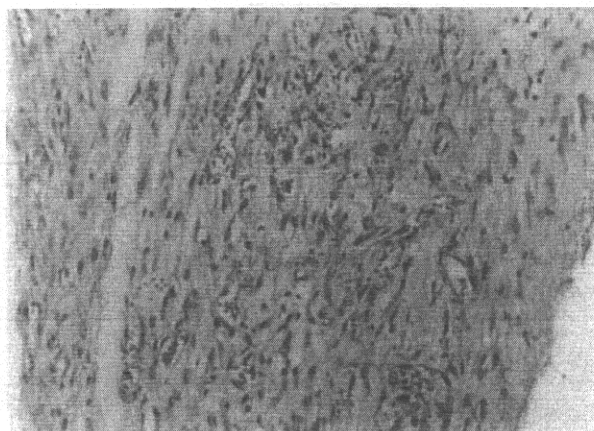
نوع التهاب			تکثیر عروقی				شدت التهاب			ضخامت کپسول			نوع متغیر شدت پاسخ	نوع ماده
شدید	متوسط	بهبود	شدید	متوسط	بهبود	عدم	شدید	متوسط	بهبود	شدید	متوسط	بهبود		
۱	۱	۱۸	۱	۲	۱۱	۶	۱	۰	۱۹	۰	۱	۱۹	TA(proroot) خارجی	
۰	۱	۱۹	۱	۰	۱۴	۵	۰	۱	۱۹	۱	۲	۱۷	MTA(root) داخلی	
-	-	۱۴	۱	۲	۱۰	۱۰	-	-	۱۴	۱	۳	۱۰	کنترل	
۰.۶۴			۰.۵۲				۰.۴۸			۰.۴۲			ارزش P (دو دامنه)	

فواصل زمانی یک هفته ای و یک ماهه هیچ اختلاف معنی داری وجود نداشت.

۴- تکثیر عروقی: میزان تکثیر عروقی در نمونه های یک ماهه نسبت به یک هفته ای کاهش پیدا کرد ولی تفاوت معنی داری بین نمونه ها در دو دوره زمانی مشاهده نشد. (شکل ۳)



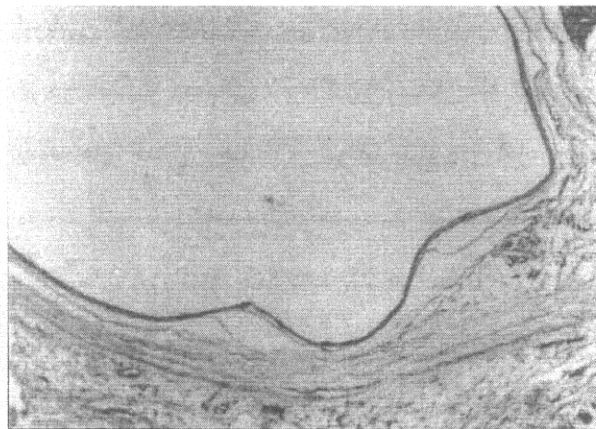
شکل ۲: نمای میکروسکوپی MTA خارجی در دوره ۷ روزه با سلولهای آماسی حاد و شدت آماس زیاد (+۳)



شکل ۳: نمای میکروسکوپی MTA داخلی در دوره ۷ روزه با تکثیر عروقی متوسط (+۲) و سلولهای آماسی مزمن

۵- وسعت التهاب: وسعت التهاب در نمونه های داخلی و خارجی عمدتاً $40 \times (+1)$ و $40 \times (+2)$ بودند که در نمونه های مربوط به یک ماهه وسعت التهاب کمتر

۱- کپسول: ضخامت کپسول بیشتر از +۱ در نمونه های یک هفته ای بیشتر از نمونه های یک ماهه بود. از نظر ضخامت کپسول تفاوت آماری معنی داری بین نمونه داخلی و خارجی و کنترل در فاصله زمانی یک ماهه وجود نداشت ولی در دوره یک هفته این اختلاف معنی دار بود ($P > 0.05$). (شکل ۱)



شکل ۱: نمای میکروسکوپی MTA داخلی در دوره ۳۰ روزه با ضخامت کپسول نازک (+۱) و آماس مزمن.

۲- شدت التهاب: در ارتباط با این متغیر نیز در نمونه های یک هفته ای شدت التهاب بیشتر از نمونه های یک ماهه بود. اما تفاوت آماری معنی داری بین نمونه های مورد بررسی داخلی- خارجی و کنترل در دو دوره زمانی مشاهده نشد. (شکل ۲)

۳- نوع التهاب: نتایج نشان دادند اکثر سلولها در هر دوره زمانی از نوع مزمن بودند اگر چه در دوره یک هفته ای تراکم سلولهای حاد بیشتر از تراکم این سلولها در دوره یک ماهه بود. هم چنین تراکم سلولهای مزمن در دوره یک ماهه افزایش پیدا کرده بود، اما از نظر نوع التهاب حاد و مزمن بین نمونه های داخلی- خارجی و کنترل در

مشاهده شد. همچنین آنالیز آماری نتایج نشان داد که از نظر وسعت التهاب، اختلاف معنی داری بین نمونه ها در دو دوره زمانی وجود نداشت.

بحث

در چند سال اخیر ماده جدیدی تحت عنوان MTA به عنوان یک ترکیب با قابلیت انسداد مسیرهای ارتباطی بین سیستم کانال ریشه و سطح خارجی دندان معرفی شده است. اخیراً این ماده در داخل کشور ساخته شده و از آنجایی که یکی از معیارهای تأیید این ماده سازگاری یا واکنش بافتی آن می باشد در مطالعه حاضر واکنش بافتی MTA نوع داخلی با نوع خارجی مقایسه شد. برای بررسی واکنش یا سازگاری بافتی از یک روش مرسوم و معتبر استفاده شد. در این روش جهت تعیین میزان سازگاری بیولوژیکی مواد مورد استفاده در دندانپزشکی، مطالعات *invivo* بصورت کاشت زیرجلدی این مواد در لوله های پلی اتیلین، تفلون، سیلیکون های عاجی صورت گرفت. Makkes و همکاران (۱۹۷۷) از لوله های پلی اتیلین جهت کاشت مواد استفاده نمودند^(۱۳) که از مزیت های آن کاهش حرکت مواد کاشته شده و پیدا کردن سریع و آسان محل ماده کاشته شده می باشد.

بعلاوه در این روش می توان از وسط لوله به عنوان کنترل استفاده نمود و واکنش حاد ناشی از برش ناحیه جهت جایگزینی Implant را از واکنش ناشی از اثر ماده Implant شده افتراق داد^(۱۴،۱۵).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تفاوتی میان MTA

داخلی یا خارجی از لحاظ سازگاری بافتی وجود ندارد به طوری که مقدار کپسول فیبرزه در نمونه های داخلی و خارجی یک ماهه نسبت به یک هفته ای کاهش پیدا کرد که این امر موافق مطالعه ترابی نژاد در ۱۹۹۵ در رابطه با مقایسه MTA نسبت به super-EBA می باشد. همچنین در تحقیق ترابی نژاد (۱۹۹۵) مقدار کپسول در اطراف MTA نسبت به super-EBA بسیار کمتر بوده است که موافق مطالعه حاضر است^(۹). در مطالعه حاضر اگر چه کپسول اطراف موارد کنترل دارای ضخامت بیشتری نسبت به سایر نمونه های مورد مطالعه بود، اما سلولهای آماسی زیادی در اطراف آن مشاهده نمی شد. بدین لحاظ می توان ادعا نمود که لوله های پلی اتیلینی همانطور که قبلاً ثابت شد^(۱۳) بخوبی توسط بافت همبندی تحمل شده و تأثیری در واکنش نسبت به مواد مورد بررسی ندارند. در مطالعه فعلی تعداد نمونه هایی که در دوره یک هفته ای ضخامت کپسول بیشتر از +۱ داشتند، در دوره یک ماهه کاهش پیدا کرده بودند، که این تعداد بیشتر در نمونه های خارجی بود. این کاهش ضخامت کپسول نشاندهنده افزایش تطابق بافتی طبق نظر Makkes (۱۹۷۷) می باشد که مطابق روند طبیعی ترمیم می باشد، بدین صورت که به مرور کپسول فیبروزه کاهش یافته و ترمیم با نسج سخت جای آنرا می گیرد^(۱۳).

از نظر شدت التهاب، نمونه داخلی و خارجی مانند هم بوده و هیچ اختلاف آماری بین آنها دیده نشد.

از نظر نوع التهاب در مطالعه انجام شده در ۷۰٪ نمونه های خارجی و ۶۶٪ نمونه های داخلی یک هفته ای

H&E بود. شاید اگر طول دوره زمانی افزایش می‌یافت، این بلورها با این رنگ آمیزی نیز دیده می‌شدند. از نظر وسعت التهاب، در نمونه‌های یک ماهه چه داخلی و چه خارجی نسبت به نمونه‌های یک هفته‌ای کمتر بوده، بطوری که در دوره یک ماهه در یک یا دو مورد در دامنه میکروسکوپی با بزرگنمایی بیشتر از 1×40 دیده شد که مطابق مطالعه ترابی نژاد (۱۹۹۵) می‌باشد^(۹). در این مطالعه در هیچ یک از نمونه‌ها مشکلی از نظر حرکت دو نمونه وجود نداشت همچنین در هیچ کدام از حیوان‌ها عفونتی دیده نشد.

نتیجه‌گیری

در مجموع بررسی حاضر نشان داد که Root یا MTA داخلی سازش بافتی خوبی داشته و مشابه MTA خارجی می‌باشد البته قبل از استفاده از این ماده در انسان انجام کلیه آزمایش‌های سازگاری بیولوژیک جهت تأیید کامل این ماده لازم است. در صورت مثبت بودن نتایج این آزمایش‌ها می‌توان MTA ساخت داخلی را جایگزین MTA خارجی نموده و از این طریق ضمن صرفه‌جویی اقتصادی، وابستگی به خارج را نیز کاهش داد.

قدردانی

با تشکر و قدردانی از معاونت پژوهشی دانشکده دندانپزشکی رفسنجان که هزینه این طرح را تقبل نموده‌اند.

سلول‌ها از نوع مزمن بودند در حالی که در دوره یک ماهه التهاب مزمن در نمونه‌های داخلی و خارجی کاملاً شبیه هم بوده و ۱۰٪ نمونه‌ها نوع التهاب مزمن را نشان دادند که این موافق تحقیقات ترابی نژاد در سال ۱۹۹۵ و Holland در سال ۱۹۹۹ می‌باشد که در آنها اکثر سلول‌ها از نوع مزمن بودند^(۹،۱۱).

از نظر تکثیر عروقی در نمونه‌های یک ماهه نسبت به یک هفته‌ای تکثیر عروقی کاهش یافته بود که روند طبیعی هیستولوژیک از نظر التهاب می‌باشد و نشان‌دهنده افزایش سازش نسجی در دوره یک ماهه می‌باشد، همان طوریکه میزان تکثیر عروقی در نمونه‌های کنترل حداقل بود. از نظر تکثیر عروقی در نمونه‌های یک‌ماهه داخلی و خارجی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

نکروز در هیچ‌یک از نمونه‌ها دیده نشد که موافق مطالعه ترابی نژاد در سال ۱۹۹۵ و Holland در سال ۱۹۹۹^(۹،۱۱) می‌باشد. در مطالعه Holland در سال ۱۹۹۹ کریستال‌های کلیست در کنار MTA خارجی دیده شدند که روند اولیه ساخته شدن بافت در ارتباط با تیوب عاجی می‌باشد، ولی در مطالعه حاضر این کریستال‌ها دیده نشد که می‌تواند بدلیل اختلاف تیوب در تحقیق حاضر باشد که از جنس پلی‌اتیلن بود. روش بررسی هیستولوژیک در مطالعه Holland (۱۹۹۹) با مطالعه فعلی کمی فرق داشت، بطوریکه روش رنگ آمیزی آن Von Kossa بود که در آن بلورهای کلیست بطور اختصاصی بهتر دیده می‌شوند^(۱۱) ولی در مطالعه حاضر رنگ آمیزی از نوع

References:

1. Silva Herzog-Flores D, Andrade VLM, Mendez GV, Medellin RFJ, Benavidez GMV, Gonzalez BV: Physical-chemical analysis of mineral trioxide aggregate (MTA) by x-rays diffraction, calorimetry and electronic microscopy. *Rev ADM* 2000;**57**:125-131.
2. Aqrabawi J, Nicholson J: Sealing ability of amalgam super EBA cement and MTA when used as retrograde filling materials. *B D J* 2000;**188**:266-268.
3. White C Jr, Bryant N: Combined therapy of mineral trioxide aggregate and guided tissue regeneration in the treatment of external root resorption and an associated osseous defect. *J Periodontol* 2002;**73**:1517-21.
4. Weldon JK Jr, Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN, Kimbrough WF: Sealing ability of mineral trioxide aggregate and super-EBA when used as furcation repair materials: a longitudinal study. *J Endod* 2002;**28**:467-70.
5. Witherspoon DE, Ham K: One-visit apexification: technique for inducing root-end barrier formation in apical closures. *Pract Proced Aesthet Dent* 2001;**13**:455-60.
6. Schmitt D, Lee J, Bogen G: Multifaceted use of ProRoot MTA root canal repair material. *Pediatric Dent* 2001;**23**: 326-30.
7. Roda RS: Root perforation repair: surgical and nonsurgical management. *Pract Proced Aesthet Dent* 2001;**13**: 467-72.
8. Koh ET, Pittford TR, Kariyawasam SP, Chen NN, Torabinejad M: Prophylactic treatment of dens evaginatus using mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2001;**27**: 540-2.
9. Torabinejad M, Hong CU Pitt Ford TR, Kariya Wasam SP: Tissue reaction to implanted super- EBA and mineral trioxide aggregate in the mandible of guinea pigs: a preliminary report. *J Endod* 1995;**21**:569-71.
10. Torabinejad M, Hong CU, Less SJ, Monsef M, Pittford TR: Investigation of mineral trioxide aggregate for root end filling in dogs. *J Endod* 1995; **21**:603-8.
11. Holland R, De souza V, Nery M, filho JO, Bernabe P, Dezan E: Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod* 1999;**25**: 161-6.
12. Keiser K, Johnson C, Tipton DA: Cytotoxicity of Mineral Trioxide aggregate using human periodontal ligament Fibroblasts. *J Endod* 2000;**26**:288-91.
13. Makkes PCH, Thoden van velzen SK, wesselink PR, et al: Polyethylene tubes as a model for the root canal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1977;**44**:293-99.
14. Stanford JW: FDI technical report No 9: recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. *Int Dent J* 1980;**30**:140-4.
15. Olsson B, Sliwkoski A, Langland K: Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. *J Endod* 1981; **7**:355-367.