Archive of SID

نقش Stem cell و درمان های جدید Regenerative در اندودنتیکس

دکتر هنگامه اشراف*، دکتر مریم کوزه‌کنانی**، دکتر فاطمه محمدیان***

چکیده

سابقه و هدف هر ساله میلیون‌ها دندان توسط درمان کانال ریشه حفظ می‌شوند. اگر چه درمان‌های فعلی از موفقیت بالایی برخوردارند، اما شکل ایده آل درمان، استفاده از روش‌های regenerative اندودنتیک است که در آن از یک شیوه بیولوژیک برای جایگزینی بافت‌های صدمه دیده از قبیل عاج، ساختار ریشه و کمپلکس عاج-پالپ استفاده می‌شود. هدف از این مطالعه جمع‌آوری اطلاعات از منابع مختلف در زمینه stem cell و نقش آن‌ها در درمان‌های جدید regenerative در اندودنتیکس می‌باشد.

مرور مقالات: در این مطالعه مروری ابتدا مطالب از طریق جستجوی کلمات کلیدی نظیر stem cell، regenerative endodontics، مهندسی بافت و خونرسانی مجدد پالپ در محدوده سال‌های ۱۹۵۰ تا ۲۰۱۰ در سایت کتابخانه ملی پزشکی امریکا (PUBMED) و Cochrane و نیز جستجو در کتاب‌های مرجع جمع آوری گردیدند. سپس تحقیقات بر اساس قدرت و ضعف مواد و روش‌های تحقیق و سال انتشار دسته بندی شده، پس از گردآوری از منابع مختلف، ادغام بیشتر مطالب با تکیه بیشتر بر منابع قوی‌تر صورت گرفت.

اگر چه شیوه‌های regenerative endodontics در بازسازی بافت‌های شبه پالپ و به صورت ایده‌ال‌تر کمپلکس عاج و پالپ بسیار موثر هستند، همچنین علیرغم تحول علوم پزشکی خاص در زمینه امور regeneration بافتی، هنوز کاربرد مشخصی از این علوم در حرفه کلینیکی اندودنتیک وجود ندارد.

نتیجه‌گیری: مطالعات بیشتری مورد نیاز است تا بتوان از طریق آنها بر محدودیت‌های تکنیکی و عملکردی شیوه‌های بازسازی بافت عاج و پالپ در کلینیک غلبه کرد، تا نه تنها باعث regeneration بافت پالپ، عاج یا قسمت‌های از دست رفته دندان شد، بلکه حتی باعث تشکیل دندان دائمی از سلول‌های بنیادی گردید.

کلید واژگان: سلول بنیادی، بازسازی بافتی در اندودنتیکس، خونرسانی مجدد پالپ، مهندسی بافت

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۱۰/۷ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۹۰/۱/۲۳ تاریخ تأیید مقاله:۱۳۹۰/۱/۲۸

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۲۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰،۱۰۱-۸۹

مقدمه

امروزه عموماً درمان پیشنهادی در هنگام از دست رفتن vitality پالپ دندان، در صورت وجود ساختار دندانی مناسب، استفاده از درمان کانال ریشه و در صورت عدم وجود ساختار کافی، استفاده از ایمپلنت می‌باشد. اگر چه هر دو درمان می‌توانند با موفقیت انجام شوند، اما موفقیت ایده‌آل هنگامی به دست می‌آید که از روش‌های مهندسی بافت جهت جایگزینی بافت‌های صدمه دیده مانند بافت پالپ، عاج، سمان و ... استفاده شود، که در علم اندودنتیک به آن regenerative endodontic گفته می‌شود. در این شیوه برای بازسازی ساختار دندانی، از پتانسیل تمایزسلول‌های پیش ساز پالپ بالغ یا رویانی کمک گرفته می‌شود(۱).

در سال ۱۹۵۲ Herman برای اولین بار، از شیوه‌های regenerative در علوم دندانپزشکی استفاده کرد. وی از Calcy 1 که نوعی کلسیم هیدروکساید است برای capping یک دندان تحت درمان vital pulp amputation استفاده نمود(۲). بعد از آن به مرور کاربرد روش‌های regenerative در زمینه‌های مختلف علوم دندانپزشکی گسترش یافت تا جایی که امروزه از این شیوه‌ها در مواردی چون بازسازی بافت پریودنتال(۷-۳)، استخوان آلوئول،

* دانشیارگروه اندودانتیکس، دانشکدهٔ دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

** دانشیار گروه اندودانتیکس، دانشکدهٔ دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان.

*** نویسنده مسئول: دستیار تخصصی گروه اندودانتیکس، دانشکدهٔ دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

E-mail: drmohammadianfatemeh@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

کمپلکس پالپ-عاج، استخوان کرانیوفاسیال، بافت مخاط و اعاده فانکشن غدد بزاقی، جوانه‌های چشایی، عضلات زبان و دیگر عضلات صورت استفاده می‌گردد(۸،۹). علیرغم تحولات بسیار در این زمینه، هنوز کاربرد مشخصی از این علوم در حرفه کلینیکی اندودانتیک وجود ندارد.

هدف از کاربرد شیوه‌های regeneration endodontic، بازسازی بافت‌های شبه پالپ، کمپلکس پالپ- عاج، و نیز بازسازی ساختارهای از دست رفته دندان، به دلایلی چون صدمه، پوسیدگی، ضایعات پاتولوژیک و یا عفونی می‌باشد. این علم با به کارگیری تکنیک‌های خاص در صدد است که شیوه‌ای برای ترمیم بافت‌ها و ارگان‌های صدمه دیده توسط بیماری، ضربه، سرطان یا بدشکلی‌های مادرزادی پیدا نماید. همان طور که می‌دانید در مهندسی بافت stem cell growth factor/morphogen, وscaffold سه جزء اصلی برای ایجاد یک بافت یا ارگان جدید دارای عملکرد هستند (۱۰) که در زیر به صورت مختصر در مورد هر کدام توضیح داده می شود:

Stem Cell

تمامی بافت‌ها از stem cell منشأ می‌گیرند، این سلول‌ها، سلول‌های غیر تمایزیافته‌ای هستند که توانایی تقسیم مداوم دارند و در صورت وجود شرایط محیطی مناسب invivo یا invitro می‌توانند سلول‌ها یا بافت‌های تمایز یافته ایجاد کنند (۱۱). stem cellsها توسط ۴ ویژگی خاص زیر شناخته می‌شوند:

۱-این سلول‌ها توانایی تکثیر وسیع برای مدت زمان طولانی را دارا می‌باشند که به آن پتانسیل خودنوسازی (self-renewal potentional) گویند.

۲-در حضور شرایط مناسب کشت، می‌توانند تمایزهای چندگانه پیدا کنند. به عنوان مثال Mesenchymal stem cell پتانسیل ایجاد سلول‌های فیبروبلاست، استئوبلاست، کندروسیت ،آدیپوسیت و هپاتوسیت را دارد (۱۲،۱۳).

۳-پتانسیل رژنره کردن نواقص بافتی حین پیوند را دارند.

۴-این سلول‌ها باید پتانسیل ایجاد بافت‌های کاملا تمایز یافته را حتی در صورت عدم وجود آسیب بافتی داشته باشند (۱۲).

سلول‌های بنیادی به انواع رویانی وpost natal تقسیم می‌شوند (۱۴). سلول‌های رویانی که درinner cell mass بلاستوسیت حین مراحل اولیه تکامل رویان وجود دارند می‌توانند اکثر بافت‌ها را ایجاد کنند (۱۵). به دلیل محدودیت‌های قانونی و اخلاقی در زمینه استخراج و استفاده از سلول‌های بنیادی رویانی، بیشتر مطالعات کنونی بیشتر در زمینه سلول‌های بنیادی post natal متمرکز می‌باشند (۱۶).

سلول‌های post natal توانایی کمتری برای تمایز به دیگر سلول‌ها دارند ولی نسبت به سلول‌های رویانی فواید بیشتری دارند. به عنوان مثال منبعی برای پیوند اتولوگ حساب شده از هر فرد در تمام طول عمر می‌توانند استخراج شوند(۱۵). عموماً سلول‌های بنیادی بر اساس میزان potency آن‌ها یعنی پتانسیل تمایزشان به انواع سلول‌های مختلف، به سه دسته تقسیم می‌شوند:

Totipotent: سلول‌های بنیادی هستند که قابلیت تبدیل شدن به همه سلول‌های سوماتیک رویانی و germ cell را دارند. به عبارت دیگر توانایی ساخت کل بدن جاندار را دارا می‌باشند. از این نوع می توان به zigot و سلول‌های اولیه morula اشاره کرد.

Pluripotent: این سلول‌ها از سلول‌های totipotent ناشی شده، توانایی ایجاد سلول‌های سه لایهgerm layer یعنی اندودرم، مزودرم واکتودرم را دارا می‌باشند.

Multipotent: این سلول‌ها قابلیت ایجاد تعداد محدودی از سلول‌ها و دیگر بافت‌ها را دارند و از این دسته می‌توان به سلول‌های بنیادی post natal اشاره کرد (۱۷،۱۸).

تحقیقات انجام شده بر روی بافت‌های همبندی post natal نشان داده‌اند که اکثر سلول‌های بنیادی مشتق از بافت همبندی(connective tissue derived stem cell)، سلول‌های بنیادی مزانشیمال هستند. این سلول‌های مزانشیمال اولین بار از مغز استخوان به دست آمدند و مشخص شد که (bone marrow stem cells) می‌توانند در صورت وجود شرایط مناسب انواع متعددی از سلول‌ها مانند سلول‌های عضله اسکلتی، ماهیچه قلبی، کبد، بافت‌های عروقی و عصبی، استخوان، غضروف و دیگر بافت‌ها را تولید کنند(۱۹،۲۰).

پس از آن در مطالعات بعدی mesenchymal stem cell دیگر بافت‌های همبندی مورد بررسی قرار گرفت. به خصوص سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی (fat derived stem cell) که multipotent هستند و امروزه بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند، می‌توانند به رده سلول‌های استئوژنیک، کندروژنیک، عصبی، میوسیت و کاردیومیوسیت تبدیل شوند. با توجه به این که می‌توان این سلول‌ها را به

www.SID.ir

Archive of SID

تعداد زیاد و با حداقل morbidity نسبت به مغز استخوان، از بافت‌های چربی استخراج کرد می‌توان دور نمای بسیار خوبی از آن برای کاربرد در علوم مهندسی بافتی متصور شد (۲۱،۲۲).

حداقل ۵ نوع مختلف از سلول‌های بنیادی post natal گزارش شده‌اند که می‌توانند به سلول‌های شبه ادنتوبلاست تمایز یابند. این سلول‌ها عبارتند از:

1-Dental pulp stem cell (۲۳)

2-Stem cells of apical papilla (۲۴،۲۵)

3-Stem cells of human exfoliated deciduouse teeth (۲۶)

4-Bone marrow derived mesenchymal stem cell (۲۷)

5- Dental follicle progenitor cell (۲۸،۲۹)

Dental pulp stem cell:

پالپ دندان، حاوی جمعیتی از سلول‌های بنیادی است که اغلب، سلول‌های ادنتوبلاستوئید نامیده می‌شوند. زیرا به نظر می‌آید که این سلول‌ها باعث سنتز و ترشح ماتریکس عاجی مشابه سلول‌های ادنتوبلاستی که جایگزینشان شده‌اند، می‌شوند (۳۰).

در مورد منبع این سلول‌های ادنتوبلاستوئید Controversy وجود دارد. در نظریه‌ای بیان شده است که progenitor stem cell برای ایجاد سلول ادنتوبلاستوئید، همان سلول مزانشیمال غیر تمایز یافته مقیم است (۳۱). به طور کلی تصور می‌شود که سلول‌های بنیادی مزانشیمال پالپ که در ناحیه اطراف عروق وHoh_2 cell rich zone، نزدیک لایه ادنتوبلاستیک قرار گرفته‌اند، احتمالا به عنوان منبع سلولی برای جایگزینی ادنتوبلاست‌ها محسوب می‌شوند (۳۴-۳۲). تعداد این سلول‌ها در بافت‌های بالغ، ۴-۱٪تخمین زده شده است (۳۵). به دنبال آسیب مجموعه پالپی و عاجی ناشی از پوسیدگی، ضربه، تحریکات مکانیکی و شیمیایی، حضور stem cell در بافت‌ها می‌تواند فرصتی برای بازسازی در پاسخ به پیام‌های رشد و تمایز فراهم کند. کنترل ژنتیکی ممکن است در تعیین بسیج سلول پیش ساز هنگام ساختن عاج ترمیمی مهم باشد.

سلول‌های مزانشیمی تمایز نیافته و پری‌سیت‌ها ممکن است پیش سازهای سلول‌های شبه ادنتوبلاست باشند. تجزیه ماتریکس عاج در نواحی آسیب می‌تواند سبب تحریک جهت کموتاکسی مناسب سلول‌های پالپی و پری‌سیت‌ها شود. سلول‌های مزانشیمی تمایز نیافته در سرتا سر ناحیه پر سلول و ناحیه مرکزی پالپ توزیع شده‌اند. و اغلب ناحیه دور عروقی را اشغال می‌کنند. این سلول‌ها با میکروسکوپ نوری به سختی از فیبروبلاست‌ها متمایز می‌گردند. بعد از تحریک مناسب، این سلول‌ها ممکن است تمایز نهایی را طی کرده، به ادنتوبلاست‌ها یا فیبروبلاست‌ها تبدیل شوند.

در پالپ‌های مسن تر ممکن است تعداد سلول‌های تمایز نیافته کاهش یابد که این توانایی بازسازی پالپ را کاهش می‌دهد. به هر حال تاکنون یافته قطعی و مشخصی مبنی بر این که منشا سلول‌های شبه ادنتوبلاست که در ایجاد سد کلسیفیه در درمان‌های pulp capping نقش دارند، وجود ندارد. سلول‌های تمایز نیافته مزانشیمی، فیبروبلاست‌ها و پری سیت‌ها همه به نوعی در این تبدیل مطرح شده‌اند. ولی آنچه مسلم است ،حذف باکتری در موضع و جلوگیری از ایجاد microleakage ، نقش مهمی در فراهم نمودن شرایط مناسب برای تولید سد عاجی کلسیفیه دارد (۳۶).

سلول‌های بنیادی می‌توانند از جمعیت سلول‌های مخلوط با چهار تکنیک رایج ایزوله و تشخیص داده شوند که این چهار تکنیک عبارتند از:

۱- Fluorescent antibody cell sorting

۲- Immunomagnetic bead selection

۳- رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی

۴- خصوصیات فیزیولوژیک و هیستولوژیک شامل: فنوتیپ، کموتاکسی، تکثیر، تمایز و میزان فعالیت مینرالیزاسیون (۳۷).

بر اساس این شیوه‌ها در مطالعات مشخص شده است که stem cell موجود در پالپ انسان، von willebrand factor CD146,CD44,STRO-1,3-G5 protein alpha, smooth muscle actin را بروز می‌دهند، همچنین دارای فنوتیپ فیبروبلاست با الگوی تکثیر، تمایز و فعالیت مینرالیزیشن خاص هستند (۴۱-۳۷).

۸ ژن نیز وجود دارند که هنگام تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمال، بروزشان افزایش می‌یابد که نشان دهنده نقش آن‌ها در تمایز می‌باشد . این ۸ ژن عبارتند از :

۱- Period homolog 1(PER1)

۲- Neuronal cell adhesion molecule(NRCAM)

۳- Nebulette(NEBL)

۴- FK 506 binding protein 5(FKBP5)

۵- Interleukin 1 type 2 receptor (IL R2)

www.SID.ir

Archive of SID

۶- Zinc finger protein 145(ZNF 145)
۷- Tissue inhibitor of metalloproteinase 4(TIMP4)
۸- Serum amyloid A_2 (۴۲)

Growth factors / Morphogens:

در مهندسی بافت، فاکتورهای رشدی به دلیل تواناییشان در شروع و ادامه تمایز سلول‌های بنیادی انتخابی به سلول‌های شبه ادنتوبلاست بسیار مهم می‌باشند (۱۰).

اگر چه مولکول‌های بسیاری از قبیل سیگنال‌های میتوژنیک و فاکتورهای تمایز می‌توانند برای تحریک تشکیل بافت استفاده شوند، اما تنها تعداد کمی از آن‌ها به صورت کلینیکی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۴۳،۴۴).از این میان می‌توان به کورتیکواستروئیدها و statin اشاره کرد که همان طور که از مطالعات انجام شده برمی‌آید، ممکن است با افزایش فعالیت ادنتوبلاست‌های پالپی در ارتباط باشند (۴۵-۴۸).

همچنین TGFβ1 آزاد شده از عاج دمینرالیزه شده انسانی (به خصوص در صورت استفاده از EDTA)، به طور مشخصی باعث تقویت تمایز سلول های شبه ادنتوبلاست شده، در مهاجرت سلول‌های بنیادی پالپ نقش موثری دارد (۴۹-۵۱).

bone morphogenic proteinها از دیگر مولکول‌هایی هستند که به خوبی مورد بررسی قرار گرفته‌اند و شواهد حاکی از آن هستند که به خصوص نوع Recombinant human BMP_2، گزینه‌ای عالی برای تحریک بافت‌های مینرالیزه و pdl انسانی بوده، تمایز stem cell پالپی بالغ به مورفولوژی ادنتوبلاستوئید در محیط کشت را تحریک می کنند (۵۲-۵۵).

این مسائل بیانگر پتانسیل اضافه کردن عوامل رشدی قبل از pulp capping یا شرکت دادن آن‌ها در مواد دندانپزشکی ترمیمی و معالجه ریشه برای تحریک بازسازی پالپ و عاج است (۵۶).

Scaffolds:

یکی از اجزاء مهم در مهندسی بافت، scaffold فیزیکی است. همان طور که می‌دانید بافت‌ها به صورت یک ساختار سه بعدی ارگانیزه می‌شوند ویک scaffold مناسب به دلایل زیر ضروری است:

۱- فراهم کردن یک موقعیت صحیح برای سلول‌ها
۲- تنظیم تمایز، تکثیر و متابولیسم سلول‌ها (۵۷،۵۸)

به عنوان مثال Mao و همکاران در سال ۲۰۱۰ توانستند با استفاده از انتقال سلول‌های بنیادی وscaffold مناسب به یک socket خالی دندان در یک مدل حیوانی رشد دندان به صورت orthotopically را موجب شدند (۵۹).

مطرح می‌گردد که مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی به خصوص lamenin، کنترل‌کننده تمایز و مهاجرت سلول‌های بنیادی هستند (۶۲-۶۰) و در نتیجه scaffold باید حاوی مواد رشدی برای کمک به تکثیر و تمایز باشد که به تکامل بهتر و سریع‌تر بافت منجر می‌گردند. همچنین باید حاوی مواد مغذی باشند تا رشد و حیات را تقویت نموده، تا حد امکان آنتی بیوتیک داشته باشند تا از رشد باکتری‌ها جلوگیری کنند (۶۳،۶۴).

کلا انواع scaffold به دو دسته طبیعی (نظیر: کلاژن، گلیکوزآمینوگلیکان ها، ماتریکس عاجی دمینرالیزه و فیبرین) و سنتتیک (نظیر :poly lactic acid، poly glycolic acid، هیدروکسی آپاتیت و تری کلسیم فسفات) تقسیم می‌شوند (۶۵-۶۸).

انواع تکنیک های Regenerative در Endodontics:

چندین حیطه مهم در تحقیقات در زمینه انواع تکنیک‌های regenerative endodontics مورد توجه قرار گرفته‌اند که عبارتند از:

۱- Root canal revascularization via blood clotting
۲- Post natal stem cell therapy
۳- Pulp implantation
۴- Scaffold implantation
۵- Injectable scaffold delivery
۶- Three dimentional cell printing
۷- Gene delivery (۳۷)

سه عامل اساسی مورد بررسی در اغلب این تکنیک‌ها همانطور که پیشتر نیز اشاره گردید، stem cell، growth factor و scaffold می باشند.

به عنوان مثال Gotlieb و همکاران در سال ۲۰۰۸ در تحقیقی، سلول‌های بنیادی موجود در پالپ دندان شیری کشیده شده انسان را بر روی دو نوع scaffold (open- cell poly lactic acid, collagen) حاوی و یا فاقد $TGF\beta_1$و BMP_2 قرار داده، این ساختار را در ۱۰۵ دندان پرمولر کشیده شده تک کاناله آماده‌سازی شده انسان قرار دادند. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که در همه موارد، اتصال سلول‌ها به دیواره‌های کانال حاصل شد

www.SID.ir

Archive of SID

وتفاوت اندکی بین انواع scaffold حاوی و یا فاقد فاکتورهای رشدی وجود داشت. در نهایت آن‌ها نتیجه گرفتند که امکان ایمپلنت ساختارهای پالپی با استفاده از تکنیک‌های tissue engineering در دندان‌های پاکسازی و شکل‌دهی شده وجود دارد (۶۹).

در تحقیق دیگری که توسط Demarco در سال ۲۰۱۰ انجام گردید، سلول‌های بنیادی پالپ دندان (dental pulp stem cell) با استفاده از salt crystal و gelatin spheres بر روی poly-l-lactic scaffold قرار داده شدند. سپس این scaffold در اتاقک پالپی مولرهای سوم کشیده شده انسان ایمپلنت گردید. نتیجه حاصل از این مطالعه نشان داد که dentin related morphogens تأثیر بسیار مهمی بر تمایز dental pulp stem cell به ادنتوبلاست و در نتیجه ایجاد ساختارهای شبه پالپ در فضای پالپی دندان دارد (۷۰).

در سال ۲۰۱۰، Budiraharjo و همکاران بررسی خود را در زمینه مهندسی بافت، از لحاظ bioactivity و میزان رسوب کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت روی scaffold جدیدی به نام carboxymethyl chitosan (CMCS) انجام دادند. ایشان به این نتیجه رسیدند که CMCS، bioactive بوده، کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت بر روی آن‌ها تشکیل می‌گردد و میزان رسوب این ماده در CMCS حاوی MTA بیشتر است (۷۱).

لازم به ذکر است که ۷ تکنیک مورد استفاده در endodontic regeneration هنوز در مرحله آزمایشگاهی می‌باشند. در ذیل به سه تکنیک مهمتر به صورت مختصر اشاره می‌شود:

Gene therapy:

برای اولین بار Baum وهمکاران در سال ۱۹۹۵، پتانسیل استفاده از gene therapy در دندانپزشکی را مطرح کردند (۷۲) و بعد از آن، این شیوه در دندانپزشکی موارد کاربرد متعددی مانند ترمیم استخوان، غدد بزاقی، بیماری‌های اتوایمیون، درد و کانسر یافت. در این روش معمولا دو راه عمومی برای انتقال ژن‌ها به سلول وجود دارد:

۱) استفاده از non viral vector

۲) استفاده از viral vector، که این راه کاربرد بیشتری دارد(۷۳)

در استفاده از این تکنیک در regenerative endodontic ژن‌های مینرالیزه‌کننده به داخل سلول‌های پالپی زنده در دندان‌های نکروتیک و دارای علائم منتقل می‌شوند تا mineralization بافتی را تقویت کنند، اگر چه مطالعات در این زمینه بسیار کم است (۳۷).

به عنوان مثال همانطور که می دانید سلول‌های بنیادی پالپ توانایی تمایز به ادنتوبلاست‌ها در پاسخ به BMPs را دارا هستند. در نتیجه یک راه برای رژنراسیون عاج این است که ژن BMPII/GdFI به سلول‌های پالپ منتقل شود (۷۴). از مزایای این شیوه می‌توان به این دو مورد اشاره کرد:

۱) عدم نیاز به تمیز کردن و شکل‌دهی کانال

۲) عدم نیاز به ایمپلنت stem cell.

معایب این تکنیک نیز عبارتند از:

۱)اغلب سلول‌ها در دندان نکروز، مرده هستند. ۲) کنترل این شیوه بسیار دشوار است. ۳) این تکنیک از نظر خطرات سلامتی ریسک بالایی دارد

در نتیجه استفاده از این تکنیک در درمان ریشه در آینده نزدیک، غیر محتمل به نظر می‌رسد (۳۷).

Post natal stem cell therapy:

یکی از تکنیک‌های regenerative endodontic، وارد کردن post natal stem cell اتولوگ یا الوژنیک از طریق یک ماتریکس قابل تزریق به درون کانال‌های ریشه با اپکس باز ضدعفونی شده است. به عنوان مثال می‌توان با ایزوله کردن سلول‌های بنیادی یا سلول‌های پروژنیتور از بافت پالپ، آن‌ها را در مواجهه با BMP-7،bone sialo proteins ،pentonin یا محصولات ژن Amelonin قرار داد. در نتیجه این موضوع باعث تمایز این سلول‌ها به سلول‌های شبه ادنتوبلاست و استئوبلاست شده، می‌توان آن‌ها را به پالپ دندان منتقل کرد. یکی از موانع مهم تحقیقی این است که منبعی مناسب از سلول‌های بنیادی یافت گردد که قابلیت تمایز به انواع مختلف سلول‌های یافت شده در پالپ بالغ (مثل فیبروبلاست، اندوتلیال وادنتوبلاست) را داشته باشند.

استفاده از این روش مزایایی چون سرعت انجام کار، در دسترس بودن سلول‌های بنیادی اتوژن، حداقل درد حین انجام این شیوه و سادگی تکنیک حمل سلول‌ها به دندان را در بردارد (۷۵،۷۶).

اما از طرف دیگر احتمال دارد که این سلول‌ها به نقاط دیگری از بدن مهاجرت کرده، باعث ایجاد mineralization نابجا در بدن شوند. راه حل این موضوع، استفاده از لخته

www.SID.ir

Archive of SID

فیبرینی یا مواد دیگر برای نگه داشتن این سلول‌ها در مکان خود است. بنابراین به طور کلی احتمال ایجاد بافت دارای فانکشن پالپی از طریق تزریق سلول‌ها به تنهایی در پالپ چمبر، بدون استفاده از scaffold یا مولکول‌های سیگنال دهنده بسیار پایین است (۳۷).

Root canal revascularization via blood clotting:

درمان پالپ نکروز در یک دندان نابالغ با اپکس باز برای دندانپزشک چالشی مهم محسوب می‌شود. درمان سنتی این گونه دندان‌ها، کاربرد طولانی مدت کلسیم هیدروکساید برای القای apexificatin می‌باشد (۷۷)، اگر چه باقی ماندن دیواره عاجی نازک شکننده، دندان را مستعد شکستن می‌سازد، حتی برخی مطالعات نشان داده‌اند که استفاده طولانی مدت از کلسیم هیدروکساید، به خودی خود نیز باعث تضعیف عاج می‌شود (۷۸).

اخیرا ازMineral trioxide aggregate (MTA) برای apexification یک جلسه‌ای استفاده می‌شود. MTA باعث ایجاد سد اپیکالی مصنوعی جهت جلوگیری از خارج شدن مواد پرکننده داخل کانال می‌گردد. علیرغم موفقیتی که این تکنیک داشته است، باز هم به دلیل عدم تکامل ریشه، ریشه‌ها همچنان نازک و شکننده باقی می‌مانند (۷۹،۸۰).

امروزه در مورد درمان دندان نکروز با اپکس نابالغ، توجه به سمت تکنیک خونرسانی مجدد معطوف شده است. در این تکنیک اگر فضای کانال ریشه به خوبی ضدعفونی شده، یک لخته خونی به عنوان ماتریکس در آن تشکیل شود، سلول‌های به دام افتاده در آن می‌توانند به تشکیل یک بافت جدید منجر گردند (۸۳-۸۱). مزایای این شیوه به شرح زیر می‌باشند :

۱- این شیوه، از لحاظ تکنیکی ساده بوده، می‌تواند با استفاده از وسایل موجود بدون صرف هزینه‌های بسیار شیوه‌های بیوتکنولوژی مورد استفاده قرار گیرد.

۲- خونرسانی مجدد بافتی در سیستم کانال ریشه توسط سلول‌های خونی خود بیمار انجام می‌شود و در نتیجه باعث واکنش‌های rejection بافتی نمی‌شود.

۳- در این تکنیک ریسک انتقال پاتوژن به داخل کانال بسیار پایین است (۳۷).

امروزه تنها تعداد محدودی case report وcase series در مورد درمان regeneration در دسترس است و تا کنون هیچگونه randomized controlled clinical trial در این زمینه منتشر نشده است. در اینجا به چند مقاله مرتبط با این تکنیک اشاره می‌شود:

Choveh و همکاران در سال ۲۰۰۶ یک مقاله case series در رابطه با درمان regeneration دندان‌های نابالغ با periradicular periodontitis منتشر کردند. درمان regeneration در ۴ بیمار (بازه سنی۱۰-۹) دارای periradicular periodontitis حاد یا مزمن در دندان هایی با پالپ نکروز یا نسبتا نکروز به صورت چند جلسه‌ای انجام گرفت. در تمام این موارد دندان‌ها بدون instrumentation و فقط توسط شستشو با هیپوکلریت سدیم ضد عفونی شده، دارودرمانی بین جلسات با کلسیم هیدروکساید انجام پذیرفت.در هر ۴ بیمار بسته شدن اپکس پس از چند ماه مشاهده شد، اما از لحاظ افزایش ضخامت دیواره عاجی در ۲ بیمار این افزایش در سر تا سر کانال و در دو بیمار دیگرفقط در نیمه اپیکالی مشاهده گردید (۸۴).

در گزارش دیگری که در سال ۲۰۰۸ توسط Young Jung و همکاران ارائه شد، درمان revascularization برای ۹ دندان ۸ بیمار (بازه سنی ۱۴-۹ سال) انجام گرفت. طی درمان، ۵ دندان دارای نشانه‌هایی از بقایای پالپ زنده بودند. برای این موارد آن‌ها بعد از شستشو با هیپوکلریت سدیم و دارودرمانی با ماینوسیکلین، سیپروفلوکسازین و مترونیدازول، دندان‌ها را با MTA و مواد ترمیمی سیل کردند. در ۴ دندان باقیمانده که هیچگونه شواهدی از پالپ زنده وجود نداشت، دندان‌ها با هیپوکلریت سدیم شستشو شده، با خمیر ۳ آنتی‌بیوتیکی، دارودرمانی شدند. سپس لخته خونی در کانال با over instrumentation ایجاد شده، دندان‌ها با MTA و مواد ترمیمی سیل گردیدند. در جلسات مراجعه۱ تا ۵ ساله، شواهد موفقیت در همه دندان‌ها مشاهده شد، بیماران بدون علامت بوده، هیچگونه sinus tract نداشتند، apical periodontitis بهبود یافته بود و شواهد

www.SID.ir

Archive of SID

موفقیت آمیزی از افزایش ضخامت دیواره عاجی، بسته شدن اپکس و افزایش طول ریشه قابل مشاهده بود (۸۵).

در یک مطالعه گذشته‌نگر که در زمینه درمان دندان‌های نابالغ با پالپ نکروز توسط Boss و همکاران در سال ۲۰۰۹ منتشر شد، تغییرات رادیوگرافیک در ۵۴ مورد revascularization مورد مقایسه قرار گرفت. گروه درمان شده از طریق revascularization، بر اساس نوع ماده ضدعفونی‌کننده بین جلسات به سه دسته خمیر سه آنتی‌بیوتیکی، کلسیم هیدروکساید و فرموکرزول تقسیم شدند.

نتایج نشان داد که در ۲ گروه کنترل (درمان ریشه غیر جراحی و MTA apexification)، تغییری در طول و یا قطر ریشه مشاهده نگردید.

درمان revascularization با خمیر سه آنتی بیوتیکی (P<۰/۰۰۱) یا کلسیم هیدروکساید (P<۰/۰۰۱)، باعث افزایش در طول ریشه نسبت به گروه کنترل گردید. گروه فرموکرزول تنها در مقایسه با MTA apexification (P<۰/۰۵) متفاوت بود.

در مورد تغییرات در قطر ریشه، خمیر سه آنتی‌بیوتیکی مشخصاً بیشترین افزایش در ضخامت دیواره عاجی را در مقایسه با ۴ گروه دیگر (P<۰/۰۵) و به خصوص گروه کنترل داشت. درمان با کلسیم هیدروکساید یا با فرموکرزول تغییرات بیشتری در ضخامت دیواره عاجی در مقایسه با گروه درمان ریشه غیر جراحی ایجاد کرد ولی بین آن‌ها با گروه MTA apexification تفاوتی مشاهده نشد.در نهایت گروه فرموکرزول در میان موارد regeneration، کمترین افزایش در طول و ضخامت دیواره عاجی را نشان داد (P<۰/۰۵).

همچنین در این مطالعه گذشته‌نگر مشخص شد که محل قرارگیری کلسیم هیدروکساید، یک پیش‌بینی‌کننده قوی در مورد نتایج رادیوگرافیک است. نتایج بیانگر این مساله بود که به دلیل تداخلات citotoxic کلسیم هیدروکساید با stem cell، در صورتی که کلسیم هیدروکساید در نیمه کرونالی کانال محدود شود، افزایش در ضخامت دیواره عاجی ۵۳/۸٪ خواهد بود در صورتی که با قرار دادن آن در نیمه اپیکالی، افزایش ضخامت ۳/۳٪ خواهد بود (۸۶).

در مطالعه case series دیگری که توسط Petrino و همکاران در سال ۲۰۱۰ منتشر شد درمان revascularization ۶ دندان نابالغ باapical periodontitis در ۳ بیمار مورد بررسی قرار گرفت. در این بیماران، شستشو با هیپوکلریت سدیم، قراردهی خمیر سه آنتی‌بیوتیکی وایجاد سیل کرونال توسط MTA و ترمیم کامپوزیت انجام شد. در معاینات بعدی مشخص گردید که در هر۶ دندان، رادیولوسنسی اطراف ریشه از بین رفته بود در حالی که فقط در ۳ دندان تکامل ریشه قابل مشاهده بود. همچنین در ۲ دندان پاسخ مثبت به تست‌های حیاتی دیده شد. بر این اساس آن‌ها پیشنهاد کردند که برای این که درمان revascularization با موفقیت انجام شود، باید به چند نکته کلیدی توجه کرد:

۱- بهتر است کلینیسین به دلیل این که طی درمان به ایجاد خونریزی در کانال ریشه با انجام عمل over instrumentation نیاز دارد، از محلول‌های بی‌حسی فاقد تنگ‌کننده عروق استفاده نماید.

۲- استفاده از یک ماتریکس کلاژنی برای کنترل قرار دادن MTA در سطح مطلوب، مناسب است.

۳- بهتر است به دلیل جلوگیری از شکستن ریشه و جلوگیری از تشکیل اسمیر لایردر دهانه توبول‌ها و کانال تا حد امکان ازinstrumentation کانال اجتناب کرد تا بافت جدید بتواند جایگزین شود.

۴- باید به بیمار و والدین او در مورد staining حاصله از خمیر حاوی مینوسایکلین یا MTA به خصوص در دندان‌های قدامی اگاهی داد (۸۷).

نمونه‌ای از یک پروتکل revascularization:

اولین موضوع مهم در این درمان، case selection مناسب است. بهترین حالت برای درمان زمانی است که بیمار با دندان دائمی با اپکس ناکامل نکروزه مراجعه می‌کند. در جلسه اول باید درمان های جایگزین، ریسک‌ها و فواید

www.SID.ir

Archive of SID

احتمالی به بیمار توضیح داده شود. سپس مراحل درمانی زیر به ترتیب طی می‌شود:

ایجاد بی‌حسی، ایزوله کردن دندان با رابردم، تهیه حفره، تعیین طول کارکرد، شستشوی آهسته با ۲۰ میلی‌لیتر هیپوکلریت سدیم، ،خشک کردن کانال با paper cone، استفاده از ماده آنتی‌باکتریال بین جلسات که بهترین آن خمیر سه آنتی‌بیوتیکی یا کلسیم هیدروکساید است که البته خمیر سه آنتی‌بیوتیکی به دلیل عدم توکسیک بودن برای سلول‌های بنیادی نسبت به کلسیم هیدروکساید ارجحیت دارد. در نهایت دندان با یک ترمیم موقت سیل می‌گردد.

در جلسه دوم که اغلب ۳ تا ۴ هفته بعد است، بیمار از لحاظ کاهش علائم قبل از درمان مورد بررسی قرار می‌گیرد و در صورت باقی بودن عفونت، درمان آنتی میکروبیال، دوباره تکرار می‌شود. در صورتی که عفونتی وجود نداشته باشد، تکمیل درمان به صورت روبرو انجام می‌گیرد: ابتدا ایجاد بی‌حسی توسط بی‌حس‌کننده‌های فاقد تنگ کننده عروق (مانند Mepivacain 3%) به دلیل نیاز به ایجاد خونریزی در مراحل بعدی، ایزوله کردن با رابردم، شستشو با ۲۰ میلی‌لیتر هیپوکلریت سدیم، استفاده از فایل دستی کوچک برای برداشتن ماده آنتی‌باکتریال، خشک کردن کانال با paper cone، خارج کردن فایل دستی چندین میلی‌متر ورای اپکس برای ایجاد خونریزی در کانال، قراردادن Collaplug برای محدود کردن MTA حین قراردهی آن، گذاشتن MTA به ضخامت ۳ میلی‌متر در کانال برای ایجاد سیل مناسب و سیل نهایی دندان با مواد ترمیمی. دندان بعد از ۱۸-۱۲ ماه مورد بررسی قرار می‌گیرد (۸۸).

در جدول زیر به چند مقاله مهم در زمینه انواع تکنیک‌های درمان Regenerative endodontic اشاره شده است.

جدول ۱ – چند مقاله مهم در زمینه انواع تکنیک‌های درمان Regenerative Endodontic

نویسندگان	سال	تکنیک Regenerative Endodontic	شماره مرجع
Nakashima و همکاران	۲۰۰۵	Gene delivery	۷۴
Shetty و همکاران	۲۰۰۶	Post Natal Stem Cell Therapy	۷۶
Gotlieb و همکاران	۲۰۰۸	Scaffold Implantation	۶۹
Young Jung	۲۰۰۸	Root Canal revascularization Via Blood Clotting	۸۵
Boss و همکاران	۲۰۰۹	Root Canal revascularization Via Blood Clotting	۸۶

نتیجه‌گیری:

علم Endodontic Regeneration به سرعت در حال پیشرفت بوده، تحقیقات آینده بر روی آن متمرکز می‌باشند. زیرا با این که احتمال انجام درمان‌های regeneration وجود دارد اما هر کدام از این شیوه‌ها دارای معایب و محدودیت‌هایی نظیر: صرف هزینه و وقت زیاد، دشوار بودن تکنیک برای اجرا، عدم کنترل بر روی بافت در حال شکل گیری و احتمال خطرات ناشی از این شیوه‌ها برای سلامتی فرد در کلینیک هستند .

به عنوان مثال در تکنیک revascularization، غلظت و ترکیب سلول‌های گیر افتاده در لخته فیبرینی غیر قابل پیش‌بینی است، در صورتی که در مهندسی بافت به غلظت های موثر و مشخصی از سلول‌ها برای تشکیل بافت جدید و دارای عملکرد نیاز است. بنابراین بسیارمحتمل است که تنوع در غلظت و ترکیب سلول‌ها به ویژه در افراد مسن (که به احتمال زیاد غلظت stem cell در گردش کمتری دارند)، به تفاوت در نتیجه درمان منجر شود (۸۹). بنابراین مطالعات بیشتری نیاز است تا بتوان از طریق آن‌ها بر محدودیت‌های تکنیکی و عملکردی شیوه‌های بازسازی بافت عاج و پالپ در کلینیک غلبه کرد.

در نهایت امید است در آینده با پیشرفت اطلاعات در مورد شیوه مهندسی بافت، بتوان نه تنها باعث regeneration بافت پالپ، عاج یا قسمت‌های از دست رفته دندان شد، بلکه حتی باعث تشکیل دندان دائمی از سلول‌های بنیادی گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Tziafas D, Kodonas K : Differentiation potential of dental papilla ,dental pulp apical papilla progenitor cells. J Endod 2010;36:781-789

2. Herman BW: On the reaction of the dental pulp to vital amputation and Calxy1 capping. Dtsch Zahnarzt 1952; 7:1446-1447

3. Chen FM, Jin Y: Periodontal tissue engineering and regeneration: current approaches and expanding apportunities. Tissue Eng B Rev 2010; 16: 219-255

4. Lin NH, Gronthos S, Bartold PM: Stem cells and periodontal regeneration. Aust Dent J 2008; 53: 108-121

5. Elangovan S, Srinivasan S, Ayilavarapu S: Novel regenerative strategies to enhance periodontal therapy outcome. Expert Opin Biol Ther 2009; 99: 399-410

6. Chen FM, Zhang J, Zhang M, An Y, Chen F, Wu ZF: Areview on endogenous regenerative technology in periodontal regenerative medicine. Biomaterials 2010; 31: 7892-7927

7. Chen FM, Shelton RM, Jin Y, Chapple IL: Areview on localized delivery of growth factors for periodontal tissue regeneration: role, strategies and perspectives.Med Res Rev 2009; 29: 472-513

8. Rimondini L,Mele S: Stem cell technologies for tissue regeneration in dentistry.Minerva Stomatol 2009;58:483-500

9. Liu H, Cao T: Dental application potential of mesenchymal stromal cells and embryonic stem cells.Chin J Dent Res 2010;13:95-103

10. Ikada Y:Key factors in tissue engineering. Bull Mater Sci 1999; 22: 627-631

11. Fillip S, Mokry J, Hruska J . Adult stem cell and their importance in cell therapy. Follia Biologica 2003; 49: 9-14

12. Baghban Eslaminegad M, Eftekhari Yazdi P: Mesenchymal stem cells: Invitro differentiation among bone and cartilage cell lineage. Yakhteh Medical Journal 2007; 9: 158-169

13. Ishkitier N, Yaegaki K, Calenic B, Nakahara T: Desiduouse and permanent dental pulp mesenchymal cells acquire hepatic morphologic and functional features in vitro. J Endod 2010; 36: 469-474

14. LØvschall H, Giannobile W, Somerson M, Jin Q, Andreasen J :Stem cells and regeneration of injured dental tissue In: Andreasen F, Andreasen J, Andreasen L: Traumatic injuries to the teeth.4th Ed. Austeralia: Blackwell Munksgaard CO 2007; Chap 3: 114-136

15. Gasagrande L,Cordeiro M,Nor S:Dental pulp stem cell in regenerative dentistry.Odontology 2011; 99:1-7

16. Guenin LM: Afailed noncomplicity scheme. Stem cells Dev 2004; 13: 456-459

17. Martin –Rendon E, Watt SM: Exploitation of stem cellplasticity . Tranfus Med 2003; 13: 325-349

18.Tsonis PA: Bridging knowledge gaps on the long road to regeneration: classical models meet stem cell, manipulation and bioengineering. Molecular intervention 2007; 7: 249-250

19.Phinney D, Prockop D: Concise review: Mesenchymal stem/multipotent stromal cells: The state of trans differentiation and modes of tissue repair.Stem Cells 2007; 25: 2896-2902

20.Muschler G, Midura R, Nakamoto C: Practical modeling concepts for connective tissue stem cell and progenitor compartment kinetics. J Bio Med Thec 2003; 3: 170-193

21.Strem B, Hicok K, Zhu M, Wulur I, Alfonso Z, Schreiber R, et al: Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. Keio J Med 2005; 54: 132-141

www.SID.ir

Archive of SID

22.Mizuno H: Adipose derived stem cells for tissue repair and regeneration: ten years of research and a literature review. J Nippon Sch 2009; 76: 56-66

23.Gronthos S, Mankani M, Brahiim J, Robey PG, Shi S: Post natal human dental pulp stem cells (DPSC) invitro and invivo. Proc Naatl Acad Sci USA 2007; 97: 13625-13630

24.Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, et al: Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in Swin. Plos On 2006; 1:79

25.Sonyama W, Liu Y, Yamaz T, Tuan RS, Wang S, Shi S, et al: Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. J Endod 2008; 34: 166-171

26.Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al: SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 5807-5812

27.Baksh D, Song L, Tuan RS: Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation and application in cell and gene therapy. J Cell Mol Med 2004; 8: 301-305

28.Morsczeck C, Gotz W, Schierholz J, Zeilofer F, Mohl C, et al: Isolation of precursor cells from human dental follicle of wisdom teeth. Matrix Biol 2005; 24: 155-161

29.Peng l, Ye l, Zhou X:Mesenchymal stem cells and tooth engineering. Int Joral Sci 2009;1:6-12

30.Kitasako Y, Shibata S, Pereira PN, Tagami J: Short-term dentin bridging of mechanically-exposed pulps caps with adhesive. Oper Dent 2000; 25: 155-162

31.Ruch JV: Patterned distribution of differentiating dental cells: facts and hypothesis.J Biol Buccale 1990; 18: 91-98

32.Miletch I, Sharpe PT: Neural crest contribution to mammalian tooth formation.Birth Defects Res PartC EmbryoToday 2004; 72: 200-212

33.Fitzgerald M, Chiego J, Heys DR: Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. Arch Oral Biol 1990; 35: 707-710

34.Shi S, Gronthos S: Perivascular niche of post natal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp.J Bone Miner Res 2003; 18: 696-700

35.Poulsom R, Alison MR, Forbes SJ, Wright N: Adult stem cell plasticity. J Pathol 2002; 197: 441-456

36.Mitsiadis T, Fried K, Goridis c: Reactivation of delta notch signaling after injury: complementary expression patterns of ligand and receptor in dental pulp. Exp Cell Res 1999; 246: 312-318

37.Murray P, Godoy F, Hargreaves K: Regenerative endodontics : A review of current statu and a call for action. J Endod 2007; 33:377-390

38.Shi s, Gronthos S: Perivascular niche of post natal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. J Bone Miner Res 2002; 81: 531-535

39.Bluteaue G, Luder H, De Bari C, Mitsiadis T: Stem cell for tooth engineering. ECM 2008; 16: 1-9

40.Andreeva E, Pogach IM, Gordon D, Orekhov AN: Continuse subendothelial network formed by pericyte-lick cells in human vascular bed.Tissue Cell 1998; 30: 127-135

41.Nayak RC, Berman AB, George KL, Eisenbarth G, King G: A monoclonal antibody (3G5)-dfined ganglio side antigen is expressed on the cell surface of microvascular pericytes.J Exp Med 1988; 167: 1003-1015

42.Baksh D, Song L, Tuan RS: Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation and application in cell and gene therapy. J Cell Mol Med 2004; 8: 301-3055

43.Cochran DL, Wozeny IM: Biological mediators for periodontal regeneration. J Peridontol 2000; 19: 40-58

www.SID.ir

Archive of SID

44.Nakashima M, Reddi AH: The application of bone morphpgenetic proteins to dental tissue engineering. Nat Biotechnol 2003; 21: 1025-1032

45.Huang GT, Shagramunova K, Chan SW: Formation of odontoblast like cells from cultured human dental pulp cells on dentin in vitro. J Endod 2006; 32: 1066-1071

46.Wei X, Ling J, Wu L, Liu L, Xiao Y: Expression of mineralization markers in dental pulp cells. J Endod 2007; 33:703-709

47.Takako I: Statin promotes the induction of TGFβ1and BMP_2 and the differentiation to odontoblast in human dental pulp cells. Jpn J Conserve Dent 2006; 49: 425-450

48.Okamato Y, Sonoyama W, Ono M, Akiyana K, Fujisawa T, Oshima M, et al: Simvastatin induces the odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells invivo and invitro. J Endod 2009; 35: 367-370

49.Graham L, Cooper PR, Cassidy N, Nor JE, Sloon AJ, Smith AJ: The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentin matrix components. Biomaterials 2006; 27: 2865

5o.Zhao S, Sloan AJ, Murray PE, Lumeley PJ, mith AJ : Ultrastructural localization of TGFβ1 exposure in dentin by chemical treatment . Histo Chem J 2000; 32: 489-493

51.Tomson PL, Grover LM, Lumely PJ, Sloan AJ, Smith AJ, Cooper PR : Dissolution of bioactive dentin matrix components by mineral trioxide aggregate. J Dent 2007; 35: 636-640

52.Rutherford B,Fitzgerald M:A new biological approach to vital pulp therapy.Crit Rer Oral Biol Med1995;6:218-229

53.Rutherford B, Gu K : Treatment of inflamed ferret dental pulps with recombinant bone morphogenic protein 7. Eur J Oral Sci 2000; 108: 202-206

54.Majumdar MK, Wang E, Morris EK: BMP-2 and BMP-6 promotes chondrogenic differentiation of human multipotentional mesenchymal cells and overcomes inhibitory effect of IL-1. J Cell Physiol 2001; 189: 275-284

55.Ma HL, Hung SC, Lin SY, Chen YL, Lo WH: Chondrogenesis of human mesenchymal stem cells encapsulated in alginate beads. J Bio Med Mater Res 2003; 64: 273-281

56.Anthony S: Dentin formation and repair In: Hargreaves KM, Goodis HE: Dental pulp.3rd Ed. Chicago: Quintessence Publishing Co.2002; Chap 3:41-62

57.Nakashima M, Reddi AH: The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. Nat Biothecnol 2003; 21: 1025-1030

58.Sharma B, Elisseeff JH: Engineering structurally organized cartilage and bone tissue. Ann Biomed Eny 2004;32: 148-155

59.Mao J, Zegarelli E: Body's own stem cells lead to tooth regeneration. Available at: http://repair stem cell/wordpress. com. 2010/05/24

60.Yammamura T: Differentiation of pulpal cells and inductive influences of various matrices with reference to pulpal wound healing. J Dent Res 1985; 64: 530-537

61.Bi Y, Ehirchiou D,Kilts TM,Inkson CA, Embree MC, Sohoyama W, et al: Identification of tendon stem/progenitor cells and the role of the extracellular matrix in their niche. Nat Med 2007; 13: 1219

62.Howard C, Murray PE, Namerow KN: Dental pulp stem cell migration.J Endod 2010; 36: 1963-1966

63.Oringer RJ:Biological mediator for periodontal and bone regeneration.Compend Contin Educ Den 2002;23:501-10

64.Krande TS, Ong IL, Agrawal CM: Diffusion in muscloskeletal tissue engineering scaffolds: design issue related to prosity ,permeability, architecture and nutrient mixing. Ann Biomed Engl 2004; 32: 1728-1743

www.SID.ir

Archive of SID

65.Huang GT, Sonayama W, Chen J, park SH: Invitro characterization of human dental pulp cells: various isolation methods and culturing environment. Cell Tissue Res 2006; 324: 225-232

66.Nakashima M: Induction of dentin in amputated pulp of dogs by recombinant human bone morphogenetic proteins 2 and 4 with collagen matrix. Arch Oral Biol 1994; 39: 1085-1089

67.Guo W, He Y, Zhng X, Lu W, Wang C, Yu H, et al: The use of dentin matrix scaffold and dental follicle cells for dentin regeneration. Biomaterials 2009; 30: 6708-6711

68.Ando Y, Honda MJ, Oshima H, Tonomura A, Ohera T, Itaya T, et al: The induction of dentin bridge- like structuresby constructs of subcultured dental pulp-derived cells and porous HA/TCP in porcine teeth. Nagoya J Med Sci 2009;71: 51-55

69.Gotlieb E, Murray P, Namerow K, Kuttler S, Garcia-Godoy F: An ultra structural investigation of tissue engineered pulp constructs implanted within endodontically treated teeth. JADA 2008; 139: 457-465

70.Demarco F, Casagrande L, Zhang Z, Dong Z, Tarquinio S, Zeitlin B, et al: Effect of morphogen and scaffold porogen on the differentiation of dental pulp stem cells. J Endod 2010; 36: 1805-1811

71.Budiraharjo R, Neok K, Kang E, Kishen A: Bioactivity of novel carboxymethyl chitosan scaffold incorporating MTA in a tooth model. Int Endod J 2010; 43: 930-939

72.Baum BJ, O Connel BC:The application of gene therapy on dentistry. JADA 1995; 126: 179-189

73.Baum BJ, Kok M, Tran S, Yamano S: The impact of gene theraphy on dentistry, A revisiting after six years. J Am Dent Assoc 2002; 133: 35-44

74.Nakashima M: Tissue engineering in endodontics. Aust Endod J 2005;31: 111-113

75.Nakashima M, Akamin A: The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. J Endod 2005; 31: 711-718

76.Shetty S, Farooq M, Chandra B, Nanjappa S: Molecular biology and preservation of tooth vitality current implications. Endodontology 2006; 18: 42-43

77.Rafter M: Apexification: a review. Dent Traumatol 2005; 21:1-8

78.Andreasen JO, Farik B, Munksgard EC: Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase the risk of root fracture. Dent Tramatol 2002; 18: 134-137

79.Witherspon DE, Small JC, Ragan JD, Nunn M: Retrospective analysis of open apex teeth obturated with mineral trioxide aggregate. J Endod 2008; 34: 1171-1176

80.Parirokh M, Torabinejad M: Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review- part III: clinical application, draw backs and mechanism of action. J Endod 2010; 36: 400-413

81.Branch F, Trope M: Revascularization of an immature permanent tooth with apical peridontitis: new treatment protocol. J Endod 2004; 30: 196-200

82.Iwaya S, Ikawa M, Kubota M: Revascularization of an immature teeth with apical periodontitis and sinus tract. Dent Traumatol 2001; 17: 185-187

83.Chueb LH, Ho YC, Kuo TC, Lai WH, Chen YH, Cibang CP: Regenerative endodontic treatment for necrotic immature permanent teeth. J Endod 2009; 35: 160-164

84.Chueh LH, Huang GT: Immature teeth with periradicular periodontitis or abscess undergoing apexogenesis: a paradigm shift. J Endod 2006; 32: 1205-1213

www.SID.ir

Archive of SID

85.Jung Y, Hargreaves KM: Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. J endod 2008; 34: 876-887

86.Bose R, Nummikoski P, Hargreaves K: A retrospective evaluation of radiographic outcomes in immature teeth with necrotic root canal systems treated with regenerative endodontic procedures. J Endod 2009; 35: 1343-1349

87.Petrino JA, Bowles WR, Boda KK, Shambarger S, Mcclanaban SB: Challeng in regeneration endodontics. J Endod 2010; 36: 536-541

88.Hargreaves K, Law A: Regeneration endodontics In: Hargreaves K, Cohen S: Pathwayes of the pulp. 10rd Ed. St Louis: The C.V.Mosby Co. 2010; Chap 16: 602-620

89.Liames SG, Del Rio M, Larcher F: Human plasma as a dermal scaffold for the generation of a completely autologous bioengineered skin. Transplantation 2004; 77: 350-355

www.SID.ir