مجلّه پزشکی کوثر
تابستان ۸۱، شماره ۷(۲)
صفحات ۱۱۰-۱۰۳
Archive of SID

بررسی اثر القایی ژلاتین ماتریکس استخوانی داخل غضروفی بر روی تمایز سلولهای پالپ و دنتین‌سازی ثانویه

علیقلی سبحانی*.Ph.D ، علی شعاع‌کاظمی**.Ph.D ، بهروز نیک‌نفس***.Ph.D
سعید کاظمی****.Ph.D

* دانشگاه علوم‌پزشکی تهران - دانشکده پزشکی - گروه آناتومی ** دانشگاه تربیت مدرس - دانشکده پزشکی - گروه آناتومی - *** دانشگاه علوم‌پزشکی تبریز - دانشکده پزشکی - گروه آناتومی **** جهاد دانشگاهی دانشگاه علوم‌پزشکی ایران - گروه پژوهشی فیزیوتراپی

آدرس مکاتبه: جهاد دانشگاهی دانشگاه علوم‌پزشکی ایران - گروه پژوهشی فیزیوتراپی - تهران - ایران

خلاصه

ژلاتین ماتریکس استخوانی داخل غضروفی (Endochondral Bone Matrix Gelatin; Ec BMG) و مشتقات آن تا بحال بصورت زیر پوستی و داخل عضلانی جهت هدایت استخوان‌سازی مورد استفاده قرار گرفته است. اما استفاده از این ماده جهت تمایز سلولهای پالپ و ساختن دنتین ثانویه تابحال گزارش نشده است. هدف از این مطالعه ارزیابی نقش این ماده (Ec BMG) در تمایز سلولهای پالپ و دنیتن سازی ثانویه می‌باشد. برای این منظور Ec BMG طبق روش Urist از استخوانهای بلند (Ulna, Radius, Humerus, Tibia, Femur) خرگوش تهیه گردید. BMG بدست آمده در ناحیه پالپ دندان راست ۱۲ خرگوش که در ۳ گروه چهارتایی تقسیم شده بودند کار گذاشته شد و دندان چپ بعنوان کنترل انتخاب شد (یعنی از BMG استفاده نشد). گروههای حیوانی بترتیب در روزهای ۷ و ۱۴ و ۲۱ بعد از عمل کشته شدند و دندانهای پیشین هر دو طرف کشیده شد. دندانهای بدست آمده از مراحل روتین تهیه بافت عبور داده شده و با روش هماتوکسیلین-آئوزین و تری‌کروم‌ماسون رنگ‌آمیزی شدند. لامهای بدست آمده با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ۷ روز بعد از عمل هیچگونه تمایز سلولهای پالپی و عاج‌سازی ثانویه اتفاق نمی‌افتد و تنها خونریزی و سلولهای آماسی در اطراف ذرات BMG قابل رؤیت هستند. ۱۴ روز بعد از عمل، ذرات BMG با سلولهای شبیه ادنتوبلاستی محاصره گشته و عاج ثانویه قابل رویت بود و ۲۱ روز بعد از عمل علاوه بر تمایز سلولهای پالپی به سلولهای شبه ادنتوبلاستی، گسترش دنتین‌سازی ثانویه چشمگیر بود و ذرات BMG تقریباً بطور کامل جذب شده بود. با توجه به نتایج بالا ذرات Ec BMG می‌تواند موجب تمایز سلولهای پالپی به سلولهای شبه ادنتوبلاستی و تشکیل عاج ثانویه گردد. بنابراین بنظر می‌رسد با تحقیقات بیشتر این ماده می‌تواند کاربرد بالینی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: ژلاتین ماتریکس استخوانی داخل غضروفی، عاج ثانویه، تمایز سلولهای پالپی.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

فرآیند دنتین‌سازی در دوران جنینی و کودکی انجام گرفته و به میزان کمتر در بزرگسالان مشاهده می‌گردد [۱] . البته میزان عاج‌سازی ثانویه در موقع آسیبهای دندانی افزایش می‌یابد اما هیچ موقع این دنتین‌سازی قادر به ترمیم دندان آسیب دیده بطور کامل نیست [۳،۲] ، لذا در مواردی که با نقایص و ضایعات دندانی نظیر از بین رفتن عاج و آسیبهای پالپ مواجه هستیم، همواره ماده‌ای که بتواند در ترمیم دندان به ما کمک کند مدنظر بوده است. برای یافتن مواد مناسب جهت جایگذاری در پالپ دندان به منظور بهبود و تسریع ترمیم، بسیاری از محققین بر روی پدیدهٔ القاء تأکید کرده‌اند [۷-۴] و مواد مختلفی با خاصیت القاء دنتین‌سازی معرفی نموده‌اند [۹-۷] .

Yamamura (۱۹۸۵) برای ترمیم عاج از هیدراکسید کلسیم استفاده نموده و گزارش کرد که این ماده بر روی تمایز سلولهای پالپی اثر گذاشته و در تشکیل عاج‌سازی ثانویه نقش دارد [۱۰] . خیلی از محققین [۱۳،۷-۱۱] جهت هدایت استخوان سازی و دنتین‌سازی استفاده از ژلاتین ماتریکس استخوانی و مشتقات آن را که محتوی پروتئینهای شکل دهندهٔ استخوان (Bone Morphogenetic Protein;BMP) هستند پیشنهاد نموده‌اند. Urist [۱۵،۱۴] و Reddi [۱۷،۱۶] از پیشگامان استفاده از ژلاتین ماتریکس استخوانی و مشتقات آن هستند که این کار را ابتدا در زیر پوست و در داخل عضله انجام دادند. در تحقیقی که توسط Tziafas و Kolokuris (۱۹۹۰) انجام گرفت، اثر القایی ماتریکس استخوان غیرمعدنی استخوان (Demineralized Bone Matrix; DBM) را بر روی سلولهای پالپ دندان سگ در دو ناحیه پالپ و پاپیلای دندان بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که در ناحیه پالپ، پره‌دنتین لوله‌ای تشکیل می‌گردد، اما در نواحی پاپیلا هیچگونه ماده سختی تشکیل نمی‌شود [۱۸] .

Nakashoma (۱۹۹۰) نیز اثر القایی ماتریکس دنتین دمینرالیزه (Demineralized Dentin Matrix;DDM) را بر روی سلولهای پالپی دندان سگ مورد بررسی قرار داد. او در این تحقیق گزارش کرد که استفاده از این ماده موجب تغییرات فراساختمانی در سلولهای اکتومزانشیمی شده و موجب تمایز این سلولها به Preodontoblast و متعاقباً ادنتوبلاست می‌گردد و این سلولها نیز با ترشح مادهٔ متشابه Predentin لوله‌ای یا پل استخوانی ـ دنتینی (Osteodentinal bridge) فضای پالپی را پر می‌کند. در یک مطالعه دیگر Nakashima و همکارانش [۱۳] پروتئین‌های موجود در استخوان و دنتین را که دارای ظرفیت القایی بودند، جداکرده و در داخل پالپ دندان سگ کار گذاشتند و به نتایج مثبتی در زمینهٔ دنتین سازی دست یافتند.

Rutherford و همکاران او [۱۹] با کشت پروتئین استخوان‌ساز نوع یک (Osteoprogenitor Protein 1;OP1) در پالپ دندان میمون نتایج رضایتبخشی را ارائه نمودند. در سال ۱۹۹۶ و ۱۹۹۸ عده‌ای از محققین [۲۲-۲۰] فاکتور رشد TGF-β و BMP_{2-4} را به منظور تحریک عاج‌سازی استفاده کرده و به این نتیجه رسیدند که تمامی این مواد بعنوان یک واسطهٔ تحریک در عاج‌سازی نقش دارند. با توجه به فعالیت محققین قبلی بنظر می‌رسد که استفاده از ژلاتین ماتریکس استخوانی داخل غضروفی (Ec BMG) اگرچه به عنوان هدایت کننده استخوان‌سازی در داخل عضله [۲۴،۲۳] و ترمیم استخوان [۲۵] بکار گرفته شده ولی در ترمیم ضایعات دندانی استفاده نشده است. البته مطالعات وسیع دیگر محققین در مورد DBM در نقص‌های متفاوت استخوانی و مقایسهٔ نتایج ترمیمی این ماده با گرافت‌های خودی و غیرخودی [۲۸-۲۶] نشانگر جایگاه علمی و کاربردی مادهٔ حاضر در ترمیم نقایص استخوانی می‌باشد. به همین خاطر در این تحقیق به منظور بررسی توانایی القاء سلولهای تمایز نیافته پالپ به ادنتوبلاست و دنتین‌سازی ثانویه اقدام به کشت Ec BMG (که روند تهیه آن اندکی با DBM متفاوت است) در داخل پالپ دندان پیشین فک پایین در خرگوش شده است.

مواد و روشها

الف. تهیه ژلاتین ماتریکس استخوانی داخل غضروفی (Ec BMG) . به منظور تهیه Ec BMG چهار سر خرگوش نر سفید ۶-۴ ماهه با وزن ۲-۱/۵ کیلوگرم از نژاد Deutch - Poland استفاده شد. BMG طبق روش Urist [۱۵،۱۴] و مطالعات قبل نگارندگان [۲۹،۳۰] تهیه شد که خلاصه آن بشرح

www.SID.ir

Archive of SID

زیر است: ابتدا حیوانها با میزان بالای کلروفرم کشته شده و استخوانهای فمور، تیبیا، هومروس، رادیوس و اولنای آنها جدا گردیده و بافت نرم آن برداشته شد. جهت جلوگیری از تخریب پروتئینهای استخوان‌ساز (BMPs) استخوانها بلافاصله وارد نیتروژن مایع (دمای منهای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد) شدند. سپس استخوانها یکی‌یکی از ظرف نیتروژن بیرون آورده و با قیچی استخوان‌بُر اپی‌فیز آنها کاملاً جدا گردید. بافت نرم باقیمانده و مغز استخوان داخل کانال مرکزی بطور کامل پاک شدند و استخوانهای بدست آمده با قیچی استخوان‌بر به قطعاتی کوچکتر «چیپس استخوانی» شکسته شدند. قطعات استخوانی جهت پردازش از مراحل شش‌گانه زیر عبور داده شدند.
۱. محلول کلروفرم ـ متانل با نسبت ۱:۱ به مدت ۴ ساعت در دمای اتاق جهت برداشتن چربیهای استخوان. ۲. محلول اسید کلریدریک (HCl) ۰/۶ نرمال به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد جهت برداشتن مواد معدنی. ۳. محلول کلرید کلسیم (Cacl) ۲ مولار به مدت ۴ ساعت در درمای ۲ درجه سانتی‌گراد جهت برداشتن ملکولهای پروتئینی کم وزن. ۴. محلول (Ethylendiamid Tetraacetic Acid; EDTA) EDTA ۰/۵ مولار به مدت ۴ ساعت در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد جهت برداشتن پروتئین پلی ساکارید و سایر پروتئینها ۵. محلول کلریدلیتیم (licl) ۸ مولار به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد جهت برداشتن مولکولهای پروتئین پلی‌ساکارید با وزن بالا. ۶. آب مقطر با دمای بالا ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت جهت برداشتن ذرات محلول در آب ژلاتین استخوانی. قطعات BMG بدست آمده پس از لیوفلیزاسیون در داخل هاون با استفاده از نیتروژن مایع به ذرات تبدیل شدند. این ذرات با استفاده از دو الک استاندارد ۵۰۰ و ۲۰۰ میکرونی الک شده و ذرات با ابعاد حدفاصل این ارقام بعنوان ژلاتین ماتریکس استخوانی جمع‌آوری شدند.

ب. حجم نمونه و اعمال جراحی . ۱۲ سر خرگوش با مشخصات بند الف در سه گروه چهارتایی تقسیم شدند. دندان پیشین فک پایین در طرف راست بعنوان نمونهٔ تجربی و طرف چپ بعنوان نمونهٔ کنترل انتخاب شدند. جهت کشت BMG در داخل پالپ دندان حیوانها با استفاده از تزریق داخل عضلانی کتامین (۱ میلی‌لیتر به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن) و دیازپام (۲ میلی‌لیتر به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند [۲۴،۲۳] . جهت اکسپوز کردن پالپ دندان ابتدا اندکی از بافت لثهٔ ناحیه توسط تیغ بیستوری از روی دندان کنار زده شد. دندانهای پیشین در هر طرف با استفاده از متهٔ الماسی استریل به قطر ۲ میلی‌متر از سطح بیرون سوراخ گردید. به منظور کاهش گرمای حاصل از چرخش سریع مته در طول عمل روی محل، محلول نرمال‌سالین ریخته می‌شد. در نمونه تجربی (سمت راست) ۲ میلی‌گرم ذرات BMG در داخل پالپ Implant شد و در گروه کنترل از این ماده استفاده نشد. سوراخ ایجاد شده در هر دو طرف توسط مخلوط اووژنول با اکسید روی پانسمان گردید. خرگوشها پس از به هوش آمدن به داخل قفسهای بهداشتی منتقل شده و در شرایط آزمایشگاهی استاندارد بصورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت خاموشی با دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و مواد غذایی (Pellet) مخصوص نگهداری شدند.

ج. نمونه برداری . حیوانها در روزهای ۱۴،۷ و ۲۱ بعد از عمل با استفاده از کلروفرم دوز بالا کشته شدند. پوست و بافت نرم محل با تیغ بیستوری کنار زده شد و استخوانهای فک پایین بیرون آورده شدند و دندانهای مورد عمل با دقت از داخل آلوئول بیرون آورده شده و در محلول ثبوت (فرمالین ۱۰٪) به مدت ۷ روز قرار داده شدند. جهت دمینرالیزه کردن در این تحقیق از اسید تری‌کلرواستیک ۵ درصد استفاده شد. نمونه‌های دمینرالیزه در پارافین مرک قالب‌گیری شده و از آنها برشهای ۶ میکرونی تهیه شد. برشهای بدست آمده با روش هماتوکسیلین‌ـائوزین و تری‌کروم ماسون رنگ‌آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

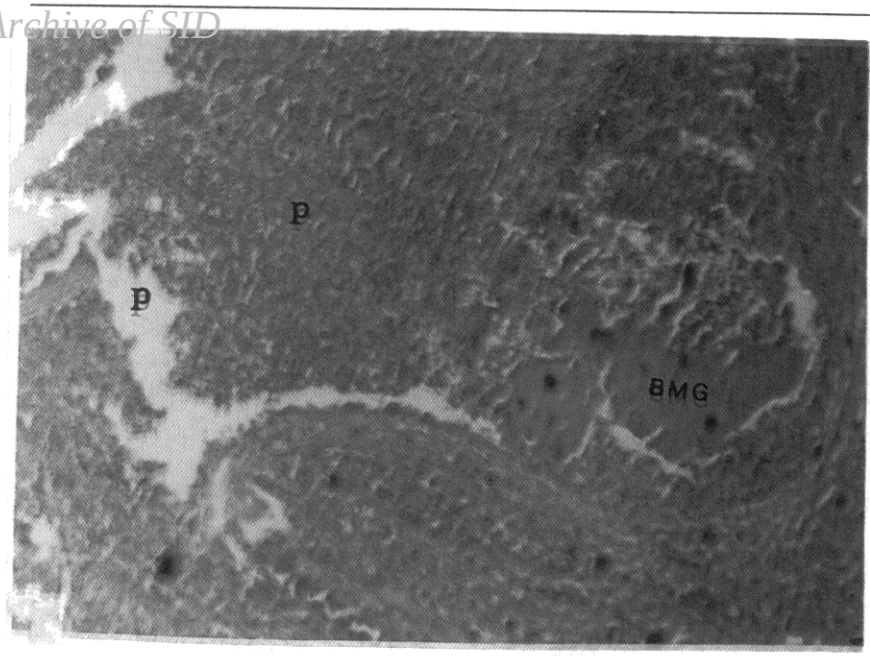
نتایج

مطالعهٔ بافت‌شناسی نمونه‌های بدست آمده از رنگ‌آمیزیهای هماتوکسیلین‌ـائوزین و تری‌کروم‌ماسون نتایج زیر را به همراه داشت:

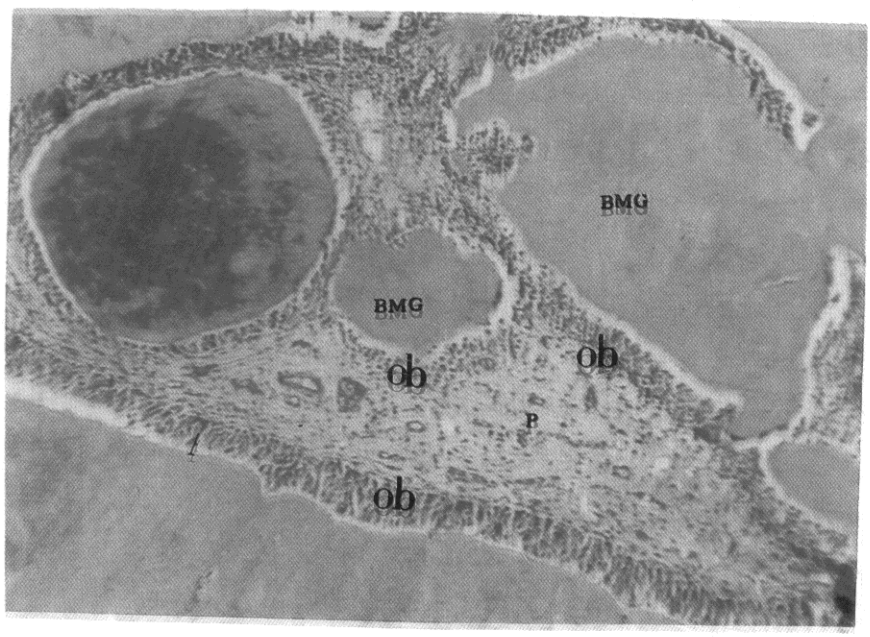
روز هفتم . در این روز فضای پالپ در حیوانهای مورد آزمایش توسط سلولهای خونی، رشته‌های مشابه فیبرین و قطعات

www.SID.ir

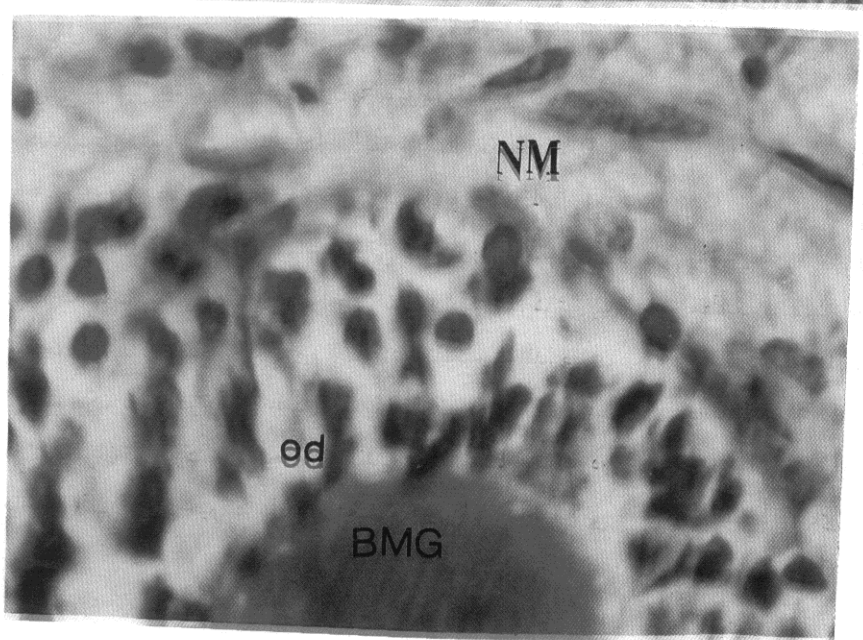
Archive of SID



شکل ۱. تصویر میکروسکوپ نوری از پالپ دندان حیوان تجربی در محل کشت BMG هفت روز بعد از عمل. در این روز فضای پالپ با سلولهای خونی پر شده و اثری از تمایز سلولی و یا چسبندگی آنها به ذرات ماتریکس استخوانی BMG مشاهده نمی‌شود. رنگ‌آمیزی: هماتوکسیلین ائوزین بزرگنمایی: X۲۵.



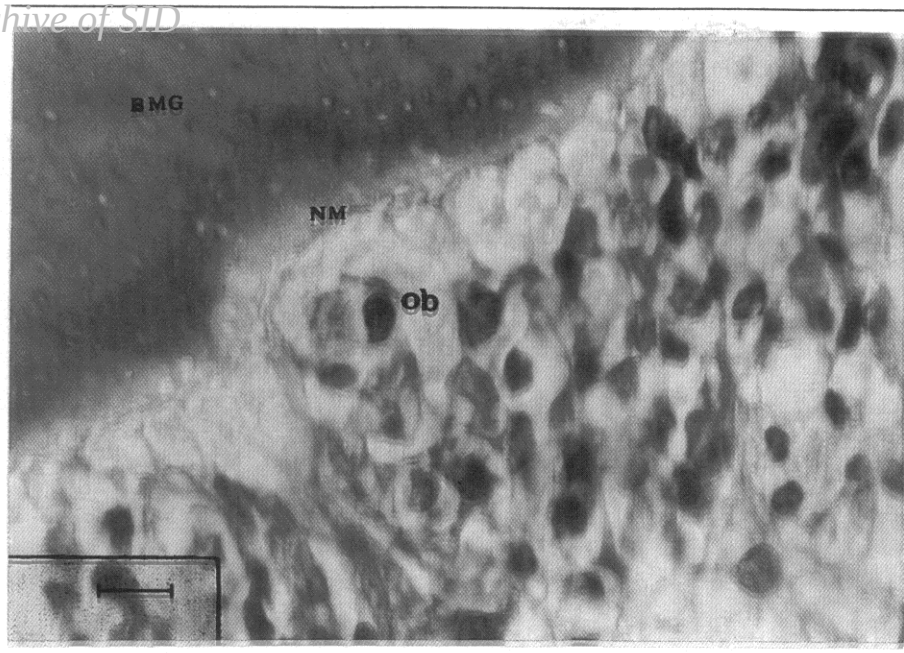
شکل ۲. تصویر میکروسکوپ نوری از پالپ دندان حیوان تجربی در محل کشت BMG چهارده روز بعد از عمل. در این روز سلول‌های تمایز یافته شبه‌ادنتوبلاست (ob) در اطراف ذرات ماتریکس استخوانی (BMG) مرتب شده‌اند. رنگ‌آمیزی: تری‌کروم‌ماسون، بزرگنمایی X۱۰۰.



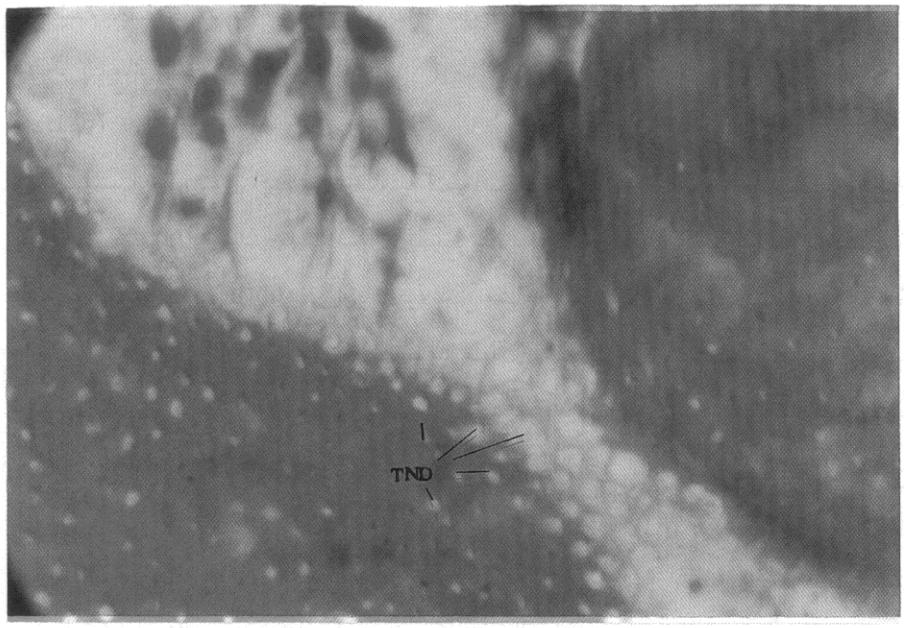
شکل ۳. تصویر میکروسکوپ نوری از پالپ دندان حیوان تجربی در محل کشت BMG ۱۴ روز بعد از عمل با بزرگ‌نمایی بیشتر. در این روز ماتریکس ترشحی جدید (NM) توسط سلولهای در حال تمایز بخوبی مشخص است. همچنین سلولهای تمایز یافته شبه‌ادنتوبلاست (ob) در اطراف ذرات ماتریکس استخوانی (BMG) قابل رؤیت است. رنگ‌آمیزی: تری‌کروم‌ماسون، بزرگنمایی: X۱۰۰۰.

www.SID.ir

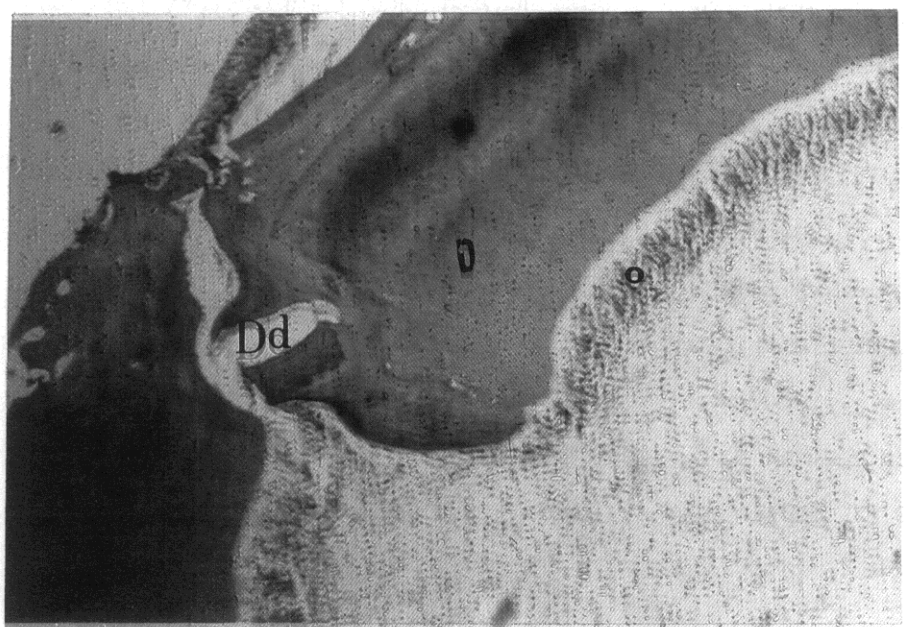
Archive of SID



شکل ۴. تصویر میکروسکوپ نوری از پالپ دندان حیوان تجربی در محل کشت BMG بیست‌ویک روز بعد از عمل. در این روز علاوه بر تمایز سلولهای پالپی به سلولهای شبه‌ادنتوبلاست (ob)، ماتریکس ترشحی جدید (NM) نیز در اطراف ذرات ماتریکس استخوانی (BMG) بخوبی مشخص است. رنگ‌آمیزی: هماتوکسیلین-آئوزین، بزرگنمایی: X۱۰۰۰.



شکل ۵. تصویر میکروسکوپ نوری از پالپ دندان حیوان تجربی در محل کشت BMG بیست‌ویک روز بعد از عمل. در این تصویر دنتین ترشحی جدید توبوله (TND) در مجاورت سلولهای شبه‌ادنتوبلاست (ob) گسترش یافته است. رنگ‌آمیزی: تری‌کروم‌ماسون، بزرگنمایی: X۱۰۰۰.



شکل ۶. تصویر میکروسکوپ نوری از پالپ دندان حیوان کنترل در محل ایجاد آسیب بیست‌ویک روز بعد از عمل در این روز در گروه کنترل هیچگونه تمایز سلولی مشاهده نمی‌شود و بافت ترمیمی نیز قابل رؤیت نیست. رنگ‌آمیزی: هماتوکسیلین - اثوزین، بزرگنمایی: X۲۵ .

www.SID.ir

Archive of SID

ماتریکس استخوانی داخل غضروفی (Ec BMG) پر شده و اثری از سلولهای تمایز یافتهٔ شبه ادنتوبلاستی در اطراف‌قطعات ماتریکس استخوانی مشاهده نمی‌شد (شکل ۱).

روز چهاردهم . در این روز یک سری از سلولهای پالپی در اطراف قطعات ماتریکس استخوان به سلولهای شبه ادنتوبلاستی (ob) تمایز یافته بودند. این سلولها تقریباً استوانه‌ای یا مکعبی شکل بودند (شکل ۲) و ترتیب قرارگیری این سلولها همانند سلولهای ادنتوبلاستی طبیعی در مجاورت داخلی دنتین بود (Ob) . همچنین در برخی نواحی پیرامون قطعات ماتریکس استخوانی سلولهای تمایز یافتهٔ شبه ادنتوبلاستی (Ob) از قطعات ماتریکس استخوانی کشت داده شده فاصله داشتند و بین این سلولها و قطعات ماتریکس استخوان، ماتریکس ترشحی جدید (NM) مشاهده می‌شد (شکل ۳) .

روز بیست‌ویکم . در این روز حاشیهٔ قطعات ماتریکس استخوانی کشت داده شده جذب شده و تجمع سلولهای تمایز یافتهٔ شبه ادنتوبلاستی (obl) در این ناحیه قابل مشاهده است (شکل ۴). وسعت ماتریکس ترشحی جدید (NM) ساخته شده توسط سلولهای تمایز یافته در این روز افزایش یافته بود به نحوی که در برخی نقاط فضای بین قطعات ماتریکس استخوانی را پر کرده بود. این ماتریکس تازه تشکیل یافته به صورت عاج ثانویهٔ لوله‌ای جوان (TND) مشاهده می‌گردد (شکل ۵).

در نمونهٔ کنترل ۲۱ روز بعد از عمل، سراسر فضای پالپی بافتی به حالت طبیعی داشت که این فضا توسط سلولهای تمایز نیافتهٔ پالپی چند وجهی در برگرفته شده بود و هیچ گونه اثری از تمایز سلولی در داخل پالپ مشاهده نمی‌شد و تنها در مجاورت ناحیهٔ نقص دنتین (Dd) یک سری سلولهای در حال تمایز آنهم به صورت ضعیف مشاهده می‌شد (شکل ۶).

بحث

استفاده از مشتقات هیدروکسی آپاتیت برای پوشاندن پالپ (Pulp Capping) و هدایت دنتین سازی (Dentin Conduction) مدتها است که توسط محققین دنبال می‌شود [۳۳-۳۱] ، اگرچه این مواد مورد توجه دندانپزشکان بوده است اما بطور کامل نتوانسته است از نظر ترمیم دندان، رضایت دندانپزشکان را بخود جلب کند. اخیراً خیلی از محققین جهت تسریع و تکمیل ترمیم دندان به محتویات پروتئین استخوان و دنتین روی آورده‌اند [۳۴-۳۶،۲۱،۲] .

Tziafas برای پوشاندن پالپ دندان از محتویات ماتریکس عاج استفاده کرده و گزارش نمود که این ماده با اثر القایی خود در روی سلولهای تمایز نیافته موجب مهاجرت این سلولها به حفرهٔ پالپ اکسپوز شده گردیده و سبب تکثیر و تمایز این سلولها به ادنتوبلاستها می‌گردد [۳۶] . Yamada معتقد بود که محتویات فیبرونکتین ماتریکس خارج سلولی در فعالیتهای سلولی مانند چسبندگی، مهاجرت و تمایز سلولها نقش اساسی دارد [۳۱] . Yoshiba و همکارانش (۱۹۹۶ با بکار بردن کلسیم هیدراکسید در پالپ اکسپوز شده اعلام نمودند، این فیبرونکتین‌ها هستند که موجب تمایز سلولهای پالپی به ادنتوبلاستها می‌گردد [۳۷] . Ruch گزارش نمود که فیبرودنتین‌ها بعنوان داربستی برای اتصال سلولهای اکتومزانشیمی عمل کرده و موجب تمایز این سلولها به ادنتوبلاستها و ترشح ماتریکس عاج می‌گردد [۳۸] . Veis چسبندگی سلولهای پالپی به یک سطح مناسب را پیش نیاز اصل جهت ظهور سلولهای قطبی طویل و شبه ادنتوبلاست دانست [۳۹] .

Nakashima اعلام نمود که دنتین ماتریکس کشت داده شده می‌تواند بعنوان داربستی جهت اتصال سلولهای مزانشیمی و آرایش آنها عمل کند. از عقیده Nakashima چنین استنباط می‌شود که ماتریکس کشت داده شده حتی در غیاب تشکیل استئودنتین که بعضی از محققین تشکیل آن را پیش شرط عاج سازی ثانویه دانسته‌اند، می‌تواند دنتین‌سازی را سبب شود. در این مطالعه در روز هفتم سراسر پالپ توسط سلولهای خونی و عناصر بافت همبند اشغال شده بود و هیچگونه تمایز سلولی و حتی سلولهای پالپی قابل تفکیک نبودند و هیچ نشانه‌ای از

www.SID.ir

Archive of SID

چسبندگی سلولهای پالپی به BMG رؤیت نمی‌شد. Nakashima در روز هفتم بعد از عمل با استفاده از DDM چنین حالتی را گزارش نمود و مدعی شد که در این روز هیچگونه اثری از تمایز سلولهای پالپی و یا چسبندگی آنها به ذرات کاشت داده شده مشاهده نمی‌گردد [۳۶].

روز چهاردهم بعد از عمل و کارگذاشتن Ec BMG، در اطراف بسیاری از قطعات کشت داده شده سلولهای پالپی تجمع یافته و با آرایشی منظم شبیه به ادنتوبلاستهای طبیعی شروع به تمایز نموده بوده‌اند که چنین حالتی را Yamamura با کشت عاج دمینرالیزه [۱۰] و محققین دیگر با کشت DBM گزارش کرده‌اند [۱۸]. مشاهده ترشحات Predentin در اطراف Ec BMG چهارده روز بعد از عمل که یک حالت غربالی داشته و به پردنتین نمای‌شان عسلی داده است با گزارشهای بعضی از محققین متفاوت است [۱۳،۷]، چراکه آنها معتقد هستند که ابتدا ماتریکس استئودنتین ظاهر می‌گردد و سپس با گذشت زمان پره‌دنتین جای آن را می‌گیرد. در روز ۲۱ بعد از عمل علاوه بر نظم یافتن سلولهای تمایز یافته شبه ادنتوبلاستی، دنتین ثانویه نیز توسعه چشمگیری یافته، اما بافت استئودنتین مورد انتظار خیلی کم دیده می‌شود و ماتریکس استئودنتین نسبت به گزارشهای قبلی دیرتر ظاهر شده است.

با توجه به اینکه گزارشهای قبلی مدعی هستند که ابتدا بافت استئودنتین ظاهر شده و سپس بافت دنتین ثانویه جایگزین می‌گردد، بنظر می‌رسد استفاده از Ec BMG تا روز ۲۱ بعد از عمل تنها ساخته شدن دنتین ثانویه را تحریک می‌کند. این مسئله می‌تواند دلایلی متفاوتی داشته باشد که از آن جمله می‌توان به مدل حیوانی، نوع مادهٔ القاء کننده (که اغلب آنها DBM و یا DDM استفاده کرده‌اند) و حتی واکنشهای اختصاصی بافتی هر حیوان اشاره نمود. بهرحال استفاده از Ec BMG در پالپ دندان، بصورت مستقیم موجب دنتین‌سازی ثانویه می‌گردد و این را می‌توان به عنوان یک قدم مثبت در ترمیم دندان در نظر گرفت. حال با توجه به اینکه تهیه BMG داخل غضروفی نسبت به ژلاتین ماتریکس دنتین با صرفه‌تر است، لذا با مطالعات بیشتر (ایمنولوژی و پاتولوژی) این ماده می‌تواند بعنوان یکی از مواد ترمیم کننده دندان کاربرد بالینی داشته باشد.

تقدیر و تشکر. نویسندگان مقاله از جهاد دانشگاهی علوم‌پزشکی ایران بخاطر حمایت مالی و از اعضاء این نهاد بخاطر همکاری صمیمانه تشکر می‌نمایند.

منابع

1. Orban B (1985). Development and Growth of Teeth. Oral Histology and Embryology. 10th ed. Louis. CV Mosby, pp. 24.
2. Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, and Harada T (1990). Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. Proc Natl Acad sci USA; 87: 2220-24.
3. Farnosh A (1984). Mast cells in human dental pulp. J Endod; 10: 250.
4. Beque-Kirin, Smith AJ, Ruch JV, Wozny JM, Purchio M, Hartmann D, and Lesot H (1992). Effects of dentin proteins transforming growth factor b1 (TGF-b1) and bone morphogenetic proteins (BMP2) on the differentiation of odontoblast in vitro. Int J Dev Biol; 36: 491-503.
5. Nakashima M (1994). Induction of dentin formation on canine amputed pulp by recombinant human bone morphogenetic proteins (BMP)-2 and -4. J Dent Res. 73(9): 1515-22.
6. Ozkynak E, Schnegelsberg PNJ, Tin DF, Clifford GM, Warren FD, and Drier EA (1992). Osteogenic Protein 2. A new number of the transforming growth factor-b superfamily expressed early in embryogenesis. J Biol Chem; 267: 25220-27.
7. Yamamura T (1985). Differentiation of pulp cells and inductive influences of varius matrixes with reference to pulp wound healing. J Dent Res; 64: 530-40.
8. Nakashima M (1990). The induction of reparative dentin in the amputed dentin pulp by bone morphogenetic protein. Arch Oral Biol; 35: 493-97.
9. Anneroth G, and Bang G (1972). The effect of allogenic demmineralized dentin as a pulp capping agent in java monkeys. Odont Revy; 23: 315-28.
10. Bang G (1973). Induction of hetrotopic bone formation by demineralized dentin: An experimental model in Guina pigs. Scand J Dent Res; 81: 240-50.
11. Bang G, Nordenram A, and Anneroth G (1972). Allogenic demineralized dentin implants in Jaw defects of Java monkeys. Int J Oral Surg; 1: 126-36.
12. Bessho K, Tanaka N, Matsunuto J, Tagawa T, and murata M (1991). Human dentin-matrix-derived bone morphogenetic protein. J Dent Res; 70: 171-75.
13. Nakashima M (1990). An ultrastructural study of the differentiation of mesenchymal cells in implants of allogenic dentin matrix on the amputed dental pulp of the dog. Arch Oral Biol; 35: 277-28.
14. Urist MR (1965). Bone formation by antoinduction. Sciences 15; 0: 893-9.
15. Urist MR, Iwata H, Ceccotti PL, Dorfman AL, Bayed SD, Mc-Dowell MR, and Chien C (1972). Bone morphogenesis in

www.SID.ir

Archive of SID

implants of insoluble bone gelatin. Proc Natl Acad Sci USA; 70: 3511-15.

16. Reddi AH, and Huggins CB (1972). Biochemical sequences in the formation of normal fibroblast in adlucent rats. Proc Natl Acad Sci USA; 69: 1601-5.

17. Reddi AH, and Anderson WA (1976). Collagenous bone matrix induced endochondral ossification on hemopoisis. J Cell Biol; 69: 557-72.

18. Tziafas D, and Kolokuris I (1990). Inductive influence of demineradized dentin and bone matrix on pulp cells: An apprach of secondary dentinogenesis. J Dent Res; 69: 75-81.

19. Rutherford LB, Spongber GL, Tuker M, Mar Jori, Rueger D, and Charette M (1994). The time course of the induction of reparative dentin formation in monkeys by recombinant human osteogenic protein. Arch Oral Biol; 39(10): 833-38.

20. Thomas AL, and Mohan S (1996). Growth factor for bone growth and repair: IGF-b and BMP. Bone. 19(1): 16-125.

21. Li H, Bartold BM, Zang CZ, Clarkson RW, Young WG, and Waters MJ (1998). Growth horomone and insulin-like growth factor I induced bone morphogenetic proteins 2 and 4: A mediator role in bone and tooth formation. Endocrinol; 139(9): 3855-61.

22. Mayer H, and Scutt AM (1996). Subtle differences in the mitogenic effects of recombinant bone morphogenetic proteins-2 to 7 on DNA synthesis on primary bone forming cells and identicial of BMP-2/4 receptor. Calcif. Tissue Int. 58: 249-55.

23. Yamashitha K, Hirosaka Y, okamato Yoshimura Y, Natsumoto N, Kawata T, and Takagi T (1991). Effect of bupivacain on muscle tissue and new bone formation induced by demineralized bone matrix gelatin. Acta Anat; 141: 1-7.

24. Yamashita K, and Takagi T (1992). Ultrastructural observation of calcification preceding new bone formation induced by demineralized bone matrix gelatin. Acta Anat; 143: 261-7.

25. ABM Rabie, Z Don, and N Samman (1996). Ultrastructural identification of cell involved in the healing of intramembranous and endochondral bones. Int; 25: 383-8.

26. Rabie AB, and Chay SH (2000). Clinical application of composite intramemebranous bone grafts. Am J Orthod Dentofacial. Orthop; 117(4): 372-83.

27. Rabie AB, Chay SH, and Wong AM (2000). Healing of autogenous intramemoranous bone in the presence and absence of homologous demineralized amembrancus bone. AM J Orthce Dentofacial Orthop; 117(3): 288-97.

28. Kawcak CE, Trotter GV, powers BE, Park RD, and turner AS (2000). Comparison of bone healing by demineralized bone matrix and autogenous cancellous bone in horses. Vet Surg; 29(3): 218-26.

۲۹. سبحانی علیقلی، یاماشیناکی‌کوجی، حسینی احمد، رضازاده مجتبی (۱۳۷۷). اثـر دیـابت آزمـایشی در کـالسیفیکاسیون بـدون سـلولی در استخوان‌سازی جدید با استفاده از ژلاتین مـاتریکس استخوان، مجله پزشکی کوثر، شماره ۳، صفحات ۱۸۹-۱۸۳.

۳۰. علیقلی سبحانی، احـمدرضا راجی، بیژن رادمـهر (۱۳۷۹). ارزیـابی بـافت‌شناسی اسـتفاده از ژلاتـین مـاتریکس اسـتخوان در تـرمیم نـقص استخوانی درشت‌نی در خرگوش، مجله پزشکی یاخته، شماره ۶، صفحات ۹۶-۹۱.

31. Yamada KM (1983). Cell surface interactions with extracellular materials Ann. Res Biochem; 52: 761-99.

32. Horsted P, Sondergaad B, and Thylstrup A (1985). A retrospective study of direct pulp capping with calcium hydroxied compounds. Endodon. Dent Traumatol; 1: 29-35.

33. Schorder U (1985). Effects of calciu hydroxide containing pulp capping agents on pulp cell migration, proliferation and differentiation. J Dent Res; 46: 541-48.

34. Tziafas D, Kolokuris I, Alvanou A, and Kaidoglou K (1992). Short-term dentinogenetic response of dog dental pulp tissue after its induction demineralized or native dentin or prodentin. Arch oral Biol; 37: 119-28.

35. Tziafas D, Alvanou A, Panagio Takopoulos, smith AJ, Lesot H, Komnenou A, and Ruch JV, (1995). Induction of odontoblast-like cell differentiation in dog dental Pulps after in vivoimplantation of dentin matrix components. Arch oral. Biol; 40(10): 883-93.

36. Nakashima M (1989). Dentin induction by implants of autolyzed antigen extracted allogenetic (AAA) dentin on amputed pulp of dogs: Endo. Dent. Tramatol; 5: 279-86.

37. Yoshiba K, Yoshiba N, Nakamura H, Iwaku M, and Ozawa H (1996). Immonolocalization of fibronectin during reparative dentinogenesis in human teeth after pulp capping with calcium hydroxide. J Dent Res; 75(8): 1590-97.

38. Ruch JV (1985). Odontoblasts differentiation and the formation of the odontoblast layer. J Dent Res; 64: 489-98.

39. Veis A (1985). The role of dental pulp- throughts on the session on pulp repair processes. J Dent Res; 64: 552-54.

www.SID.ir