تحقیقی

مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان/ دوره ۱۷، ویژه نامه اندو – پریو / تابستان ۱۳۸۴، ۸۹-۹۵

بررسی مقایسه ای محیطهای مختلف در حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال

دکترعباسعلی خادمی*– دکترسعید ساعی**– دکترسیدعلی علوی***– دکترنوشین میرخشتی***– فاطمه قسامی****

*– دانشیار گروه آموزشی اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

**– اندودنتیست.

***– پزشک عمومی.

****– دانشجوی پزشکی.

چکیده

زمینه و هدف: *در جاگذاری سریع دندانهای بیرون افتاده درمان انتخابی برای بدست آوردن حداکثر التیام، پریودنتال می‌باشد. اگر دندان به فوریت ری‌پلانت نشود، حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال روی سطح ریشه باید به وسیله یک محیط واسط مناسب حفظ شود. هدف از این مطالعه مقایسه اثر محیطهای: آب، Hanks Balanced Salt Solution (HBSS)، شیر و سفیده تخم‌مرغ در حفظ حیات سلولهای لیگامان پریودنتال می باشد.*

روش بررسی: *طی یک مطالعه آزمایشگاهی، ۱۰۵ دندان پرمولر انسان بدون بیماری پریودنتال که علت خارج کردن آن درمان ارتودنسی بود بدون تروما خارج گردید. دندانها پس از خارج شدن با HBSS از خون عاری شد و داخل لوله آزمایش محتوی ده میلی‌لیتر محلول HBSS درون فلاسک حاوی یخ طی مدت نیم ساعت به آزمایشگاه منتقل شد. محیطهای مورد آزمایش شامل آب، شیر، سفیده تخم‌مرغ و HBSS بود. زمانهای ارزیابی: یک، دو، چهار، هشت و دوازده ساعت بود. پس از طی این زمان دندانها مجدداً با HBSS شسته شد. پس از جدا کردن سلول‌ها از سطح ریشه دندان به وسیله تریپسینه کردن و سپس استفاده از کلاژناز، حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال توسط رنگ آمیزی تریپان بلو بررسی شد. شمارش فیبروبلاست‌ها و نسبت تعداد سلول‌های زنده به کل سلول‌ها محاسبه گردید برای مقایسه نتایج از آزمون آماری ANOVA استفاده گردید.*

یافته‌ها: *براساس نتایج این مطالعه بین محیط سفیده تخم مرغ و HBSS از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، همچنین بین آب و شیر نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و محیطهای سفیده تخم مرغ و HBSS از نظر حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال نسبت به محیطهای آب و شیر مناسبتر بودند.*

نتیجه گیری: *سفیده تخم مرغ می‌تواند بعنوان یک محیط مناسب برای حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال در دندانهای بیرون افتاده پیشنهاد شود. از خصوصیات مهم آن این است که به سهولت در دسترس می باشد.*

کلید واژه ها: *سلول‌های لیگمان پریودنتال - کشت سلولی - دندانهای بیرون افتاده - محیط واسط (انتقالی)*

وصول مقاله: ۸۳/۸/۳۰ اصلاح نهایی: ۸۳/۱۲/۲۴ پذیرش مقاله: ۸۴/۲/۲۵

نویسنده مسئول: گروه آموزشی اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان khademi@dnt.mui.ac.ir

مقدمه

براساس تقسیم‌بندیWHO در مورد دندانهای ضربه‌خورده، بیرون افتادن دندان یا جابه‌جایی کامل دندان از ساکت خود و خروج و بیرون افتادن دندان می‌باشد(۱)، ضربه به دندانها از اتفاقات شایع امروزی می‌باشد. بررسیهای کلینیکی نشان می‌دهد که این صدمات در اطفال به عنوان یک مشکل عمومی محسوب شده و شیوع آن در حال افزایش می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

طبق نظر Andreasen شیوع این صدمات ممکن است به مرور زمان از شیوع پوسیدگی دندان بیشتر شود(۲)، در دندانهای بیرون افتاده، جایگذاری فوری دندان به عنوان درمان انتخابی می‌باشد، وقتی آسیب و صدمه رخ می‌دهد، دندان بیرون افتاده باید فوراً جایگذاری شود تا از صدمات وارد به سلول‌های لیگامان پریودنتال در آینده پیشگیری شود. به علت عوامل مرتبط با حادثه مانند حالت هیجانی والدین، عدم داشتن دانش کافی افراد حاضر در محل حادثه در رابطه با این مسئله و سایر موارد مشابه جایگذاری فوری دندانهای بیرون افتاده به طور استثنا انجام می‌شود. در این شرایط دندان باید در یک محیط مناسب نگهداری شود تا در اسرع وقت توسط دندانپزشک جایگذاری شود.(۳–۴)، دو عامل تأثیر بیشتری بر روی پیش‌آگهی دندانهای بیرون افتاده دارند. یکی زمان خشک شدن دندان بیرون از دهان و دیگری محیطی که دندان قبل از درمان در آن نگهداری می‌شود.(۵)، در یک زمان کوتاه پس از بیرون افتادن دندان سلول‌های لیگامان پریودنتال چسبیده شروع به نکروز شدن می‌کند. Andreasen نشان داد که اگر دندان سریعاً جایگذاری شود دندان بدون تحلیل و با فانکشن طبیعی در قوس دندانی باقی می‌ماند. محیط واسط (انتقالی) ممکن است از زمان خارج بودن دندان نیز مهمتر باشد. محیط واسط نامناسب سبب افزایش نکروز سلول‌ها و نتیجتاً انکیلوز و تحلیل ریشه دندان می‌شود.(۶)

برای حفظ Viablity سلول‌های لیگامان پریودنتال محیطهای مختلفی پیشنهاد شده است که از آن جمله می‌توان به محیطهای: شیر، سالین، بزاق، آب، محیطهای کشت Save – A - Tooth و HBSS اشاره کرد(۷)، بنا به پیشنهاد انجمن اندودنتیست‌های آمریکا (AAE) برای درمان دندانهای بیرون افتاده، HBSS به عنوان محیط واسط انتخابی می‌باشد و علت آن قدرت این محیط در حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال برای زمان طولانی است(۸)، علی‌رغم تمام ویژگیهای مثبت HBSS جهت حفظ دندانهای بیرون افتاده دسترسی به این محیط در محلهایی که معمولاً این حادثه رخ می‌دهد (مدرسه، منزل، زمینهای ورزشی) مشکل می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه معرفی محیط واسط مناسب برای انتقال دندانهای بیرون افتاده شده می‌باشد که ضمن دارا بودن خواص مطلوب دیگر قابل دسترسی نیز باشد. به واسطه این موضوع محیطهای شیر و سفیده تخم‌مرغ را به عنوان محیطهای آزمایش، HBSS و آب را به ترتیب به عنوان شاهد مثبت و منفی انتخاب گردید. هدف از تکرار آزمون شیر، بررسی اثربخشی شیر تولید داخل برای این منظور می باشد. در مورد سفیده تخم‌مرغ نیز به دلیل در دسترس بودن آن برای غالب آسیب دیدگان و تطابق آن با شرایط فیزیولوژیک نگهداری و رشد سلولی، مورد بررسی‌قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه آزمایشگاهی، ۱۰۵ دندان پرمولر دائمی افراد جوان (۱۲–۳۰ ساله) مورد استفاده قرار گرفت. دندانها فاقد بیماری پریودنتال بود و دقت لازم برای حداقل آسیب به ریشه در هنگام خارج کردن دندانها لحاظ شد (علت خارج کردن دندان درمان ارتودنسی بود).

مواد مورد استفاده عبارت بودند از:

آب شهری، محلول HBSS (Sigma, H-4891)، تریپسین استخراج شده از پانکراس خوک (Sigma, T - 4799)، کلاژناز نوع چهار، محیط کشت RPMI 1640, Sigma, R - 5382 و اسید هیدروکلریک (HCL, Merck, 159415)، تریپتان بلو (Trypan Blue, Sigma, T–6146)، شیر پگاه (پاستوریزه پگاه اصفهان) و سفیده تخم‌مرغ، آب شهری به عنوان شاهد منفی و محلول HBSS به عنوان شاهد مثبت

Archive of SID
www.SID.ir

مورد استفاده قرار گرفت.

مدت آزمون بقای سلول‌های فیبروبلاست در محیطهای مورد نظر عبارت بودند از یک ساعت، دو ساعت، چهار ساعت، هشت ساعت و دوازده ساعت، در مورد سفیده تخم مرغ یک مورد چهل ساعت آزمایش انجام پذیرفت. (پنج دندان به این منظور استفاده گردید)

روش مورد استفاده در این طرح روش Doyle DL و همکارانش در سال ۱۹۹۸ با اندکی تغییرات می‌باشد.(۹) بر این اساس تعداد دندان مورد استفاده برای هر محیط، بیست و پنج دندان بود که در زمانهای مورد نظر (یک، دو، چهار، هشت و دوازده ساعت) مورد ارزیابی قرار گرفت. تعداد دندان مورد استفاده در هر زمان پنج عدد بود.

تمام دندانها پس از خارج شدن با استفاده از پیست محتوی محلول HBSS بدون کلسیم منیزیوم از خون عاری شدند و داخل لوله آزمایش محتوی ده میلی لیتر محلول HBSS، درون فلاسک حاوی یخ خورد شده، ظرف مدت نیم ساعت به محل آزمایشگاه انتقال داده شدند. سپس با استفاده از تیغ بیستوری در حالی‌که دندان از محل تاج با پنس نگه داشته می‌شد، زوائد مربوط به باقیمانده‌های لثه از روی دندانها جداسازی شد.

دندانها درون لوله‌های آزمایش حاوی محیط آزمایش در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد برای مدت مورد نظر قرار داده شدند (محیطها از قبل با دمای مورد نظر هم‌دما شده بودند).

پس از خاتمه زمان مورد آزمون، دندانها مجدداً با محلول HBSS فاقد کلسیم منیزیوم شسته و سلول‌های فیبروبلاست ریشهٔ دندانها به ترتیب زیر جدا گردید.

دندانها ابتدا به مدت ده دقیقه در ده میلی‌لیتر محلول تریپسین ۲/۵٪ در انکوباتور ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد بر روی میکسر هماتولوژی قرار داده شدند (روی میکسر مورد نظر برای جلوگیری از سقوط لوله، یک چهارچوب محافظ قرار داده شد). بلافاصله محلول رویی تخلیه شد و ده میلی‌لیتر محلول ۰/۰۱٪ کلاژناز (با دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد) اضافه و چهل دقیقه در آنکوباتور ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد بر روی شیکر قرار داده شد. در نهایت مایع رویی جدا و بدان ml ۰/۵ محلول RPMI 1640 با FCS ۱۰٪ (برای غیرفعال کردن کلاژناز) اضافه گردید.

سوسپانسیون سلولی به مدت پنج دقیقه با هزار و دویست دور در دقیقه در چهار درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. مایع رویی تخلیه و رسوب ته لوله توسط شیکر لوله معلق شد. ده میلی‌لیتر محلول HBSS فاقد کلسیم منیزیوم با دمای ۴-۶ درجهٔ سانتی‌گراد اضافه و از فیلتر با قطر منافذ صد میکرومتر عبور داده شد و مشابه روش قبل سانتریفوژ تکرار گردید. مایع رویی تخلیه و چهارصد میکرولیتر HBSS فاقد کلسیم منیزیوم اضافه و رسوب ته لوله معلق شد.

توسط سمپلر، µl ۱۵ از سوسپانسیون برداشته و درون ویال اپندورف به µl۱۵ از رنگ حیاتی تریپان بلو (۰/۴٪) اضافه و پس از پنج دقیقه (و قبل از ۱۵ دقیقه) زیر لام هماسیتومتری وارد شد. در چهار خانهٔ ۱۶ تایی، شمارش کل فیبروبلاست‌ها و شمارش تعداد فیبروبلاست‌های آبی شده (مرده) انجام و نسبت تعداد سلول مرده و زنده به کل محاسبه گردید.

جهت مقایسه درصد زنده ماندن سلول‌ها بین محیطهای مختلف از آزمون آماری ANOVA استفاده گردید.

یافته‌ها

براساس نتایج این مطالعه بین محیط سفیدهٔ تخم‌مرغ و HBSS و نیز بین آب و شیر اختلاف معنی‌داری از نظر حفظ حیات سلول‌های پریودنتال وجود نداشت، ولی بین شیر و آب با سفیدهٔ تخم‌مرغ و HBSS اختلاف معنی‌دار بود ($P<0/001$) (جدول ۱). در یک مورد آزمون، درصد سلول‌های زنده در سفیدهٔ تخم‌مرغ پس از چهل ساعت ۶۷٪ بود.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱: میانگین درصد سلول‌های زنده مانده به کل سلول‌ها در ساعات مختلف قرار گرفتن در هر یک از محیطها

زمان / محیطهای مورداستفاده	یک ساعت	دو ساعت	چهار ساعت	هشت ساعت	دوازده ساعت
آب	۰	۰	۰	۰	۰
شیر	۱/۶	۰/۸	۰	۰	۰
HBSS	۹۵	۹۰/۶	۹۰/۲	۹۰/۴	۸۷
سفیده	۹۳/۴	۹۰/۸	۹۰/۲	۸۶/۸	۸۷

بحث

دو روش برای ارزیابی قابلیت محیطهای مختلف در زنده نگهداشتن سلول‌های فیبروبلاست دندانی وجود دارد. در روش متداولتر ابتدا سلول‌های فیبروبلاست از ریشه دندانها جدا می‌شوند و پس از تکثیر، محیط مورد نظر بر روی آنها ریخته می‌شود و بقای سلول‌ها در زمانهای متفاوت ارزیابی می‌گردد. در این روش از Cell Line برای آزمون استفاده می‌شود.(۱۰)

روش دوم، روش Doyle DL و همکاران در ۱۹۹۸ که در آن دندان مستقیما وارد محیط مورد آزمون می‌شود و پس از زمان مورد نظر از محیط خارج و فیبروبلاست‌ها از ریشه جدا و بقای سلول‌ها ارزیابی می‌گردد. این روش در واقع همان Primary Cell Culture می باشد. هر یک از دو روش مزایا و معایبی دارند. مزیت اصلی روش اول، در اختیار بودن تعداد بسیار زیاد سلول فیبروبلاست برای آزمون، با استفاده از تعداد اندکی دندان در ابتدای کار می‌باشد. اما اشکال مهم آن تفاوت با وضعیتی است که واقعا و در عمل اتفاق می‌افتد چون در این روش، سلول‌ها از مرحله تکثیر (از محیط کشت) مستقیما وارد محیط مورد آزمون می‌شوند که از لحاظ مواد غذایی از غنای کمتری برخوردار است. ممکن است پاسخ سلول در این حالت نسبت به آنچه در عمل اتفاق می‌افتد تفاوت کند.

روش استفاده شده در مطالعه حاضر، به دلیل نیاز به تأمین تعداد زیاد دندان در عمل مشکلتر از روش فوق می‌باشد ولی تشابه بیشتری به آنچه در هنگام بروز حادثه اتفاق می‌افتد دارد.

عملکرد فیبروبلاست‌ها تحت تأثیر سن، تروما و التهاب می‌باشد.(۱۱)، لذا در این مطالعه بیماران جوان با دندانهای سالم و بدون بیماری پریو انتخاب شدند و تلاش گردید خارج کردن دندانها با حداقل تروما انجام شود. نتایج بدست آمده از این مطالعه در مورد HBSS و آب تأیید کننده مطالعات پیشین ولی در مورد محیط شیر نتایج حاصل با نتایجی که در اکثر مطالعات قبلی بدست آمده مغایر می‌باشد.

محیط آب محیط مناسبی برای حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال در دندانهای بیرون افتاده نمی‌باشد و محیط HBSS در این مورد محیط مناسب می‌باشد.

نشان داده شده است که PH و اسمولالیتی نسبت به ترکیب شیمیایی محیط در حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال از اهمیت بیشتری برخوردار است.(۱۲)

اسمولالیتی آب mosm/L ۳ و PH آن ۷/۴-۷/۴۹ می‌باشد و آب به واسطه هیپوتونیستی آن باعث لیز سریع سلول می‌شود.(۱۳)

مشاهده شده است که رشد سلول در اسمولالیتی ۲۳۰-۴۰۰ رخ می‌دهد و رشد اپتیمال آن در اسمولالیتی ۲۹۰-۳۳۰ صورت می‌گیرد. رشد اپتیمال سلول‌ها در PH، ۷/۲-۷/۴ انجام می‌شود ولی در PH، ۶/۶-۷/۸ نیز رشد سلول رخ می‌دهد. (۱۲و۱۴)

اسمولالیتی HBSS، ۲۷۰-۲۹۰ و PH آن ۷/۲ می‌باشد. اسمولالیتی شیر ۲۵۰ و PH آن ۶/۵-۶/۸ می‌باشد. اسمولالیتی

Archive of SID
www.SID.ir

سفیده تخم مرغ در حدود دویست و پنجاه و PH آن ۸/۹ می‌باشد.(۱۵)

طبق اکثر مطالعات پیشین شیر یک محیط مؤثر و مناسب برای حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال می‌باشد. براساس این مطالعات محیط شیر در سه ساعت با جایگذاری فوری از لحاظ حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال تفاوتی نداشت و پس از ۱۲ ساعت از نظر هیستولوژیک التیام کامل یا حداقل تحلیل التهابی یا جایگزینی مشاهده شد(۱۲و۱۶-۱۸) ولی در مطالعه حاضر شیر مورد آزمایش (شیر پگاه) حتی در یک ساعت نیز محیط مناسبی برای حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال نبود و از این لحاظ در مقایسه با آب تفاوتی معنی‌داری مشاهده نگردید.

در مطالعه Nathan Rozenfarb و همکاران که به صورت In-vitro برای مقایسه محیطهای سفیده تخم مرغ، شیر، بزاق و MEM (محیط کشت) در حفظ حیات فیبروبلاست‌های پوست انسان انجام شد، مشاهده گردید که بهترین محیط MEM بوده و بین سفیده تخم مرغ و شیر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و هر سه محیط از بزاق مناسبتر بودند.(۱۵)

تفاوتهایی که این مطالعه با مطالعه حاضر دارد این است که اولاً بررسی بر روی فیبروبلاست پوست انجام شده و ثانیاً زمانهایی که در آن مطالعه انتخاب شده فقط زمانهای ۱۵، ۴۵ و نود دقیقه بود.

طبق نتیجه‌ای که در مطالعه حاضر بدست آمد بین سفیده تخم مرغ و HBSS از نظر حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال در زمانهای یک، دو، چهار، هشت و ۱۲ ساعت تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید و هر دو محیط نسبت به شیر مورد آزمایش (شیر پگاه) و آب مناسبتر بودند.

تحقیقات نشان می‌دهد که فیبروبلاست‌های بدست آمده از منابع دیگر مانند، لثه، لب، پوست گر چه از نظر مورفولوژی با فیبروبلاست‌های لیگامان پریودنتال شبیه هستند ولی در محیط کشت رفتار مشابهی نشان نمی‌دهند. (۱۶-۱۷)

بعضی از انواع شیر که در مطالعات پیشین مورد استفاده قرار گرفت مانند مطالعه حاضر نتایج مطلوبی از نظر حفظ حیات سلول‌ها لیگامان پریودنتال نشان ندادند (حتی در یک ساعت) به عنوان مثال Blomlof مشاهده کرد که یک شیر به نام Viability, Filmjolk سلول‌های لیگامان پریودنتال را فقط در سطح پایینی حفظ می‌کند (حدود یک ساعت) احتمالاً علت آن مربوط به PH پایین آن (۴/۲-۴/۵) می‌باشد.(۱۸)

نشان داده شده است که شیر کم چرب نسبت به شیر با چربی بیشتر در حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال مؤثرتر است.(۱۹)

زمانهای انتخاب شده در این مطالعه (یک، دو، چهار، هشت و ۱۲ ساعت) زمانهایی است که در اکثر مطالعات قبل نیز مورد استفاده قرار گرفته و معمولاً فاصله زمانی بین بیرون افتادن دندان و جایگذاری آن در این محدوده می‌باشد، البته در مطالعه، یک مورد چهل ساعت نیز انجام شد که نتایج آن نسبتاً مطلوب بود.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که سفیدهٔ تخم مرغ می‌تواند محیط واسط مناسبی برای انتقال دندانهای بیرون افتاده شده باشد و با محلول بالانس شدهٔ کمکی (HBSS) برابری می‌کند و از طرف دیگر نسبت به HBSS قابلیت دسترسی بهتری دارد و در محیطهایی که حادثه اتفاق می‌افتد و HBSS وجود ندارد، بهتر است به جای استفاده از شیر، آب، بزاق و سالین نرمال از سفیده تخم‌مرغ به‌عنوان محیط انتقال واسط (Storage media) استفاده گردد.

Archive of SID
www.SID.ir

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از شرکت تحقیقاتی حکیمان شرق وابسته به شهرک علمی تحقیقاتی اصفهان که در انجام این مطالعه همکاری کردند تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. World Health Organization Application of international classification of disease and stomatology. Geneva: World Health Organization; 1992.
2. Andreasen JO, Andreasen FM. Dental text book and color atlas of traumatic injuries to the teeth. Copenhagen: Munksgaard ; 1994, 383–419.
3. Hamilton F, Hill FJ, Mackie IC. Investigation of lay knowledge of the management of avulsed permanent incisors. Endod Dent Traumatol 1997;13:19-23.
4. Marino TG. Determination of periodontal ligament cell viability in long shelf–life milk. J Endod 2000;26:699-702.
5. Andreasen JO, Borum MK, Andreasen FM. Replantation of 400 traumatically avulsed permanent incisors. Part 1. Diagnosis of healing complications. Endod Dent Traumatol 1995;11:51–58.
6. Andreasen JO. Effect of extra alveolar period and storage media upon periodontal and pulpal healing after replantation of mature permanent incisors in monkeys. Int J Oral Surg 1981;10:43- 53.
7. 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.
8. Treatment of the avulsed tooth. Recommended guidelines of The American Association of Endodontists. Dent Clin North Am 1995; 39(1):221-5.
9. Doyle DL, Dumsha TC, Sydiskis RJ. Effect of soaking in han 0..k,s balanced salt solution or milk on PDL cell viability of dry stored human teeth. Endod Dent Traumatol 1998;14:221-224.
10. Ragnarsson B, Carr G, Daniel JC. Isolation & growth of human periodontal ligament cells in – vitro. J Dent Res 1985;64(8):1026-30.
11. Partovi M, Sadeghein A, Azizi E, Qstad SN. Mitogenic effect of L-dopa on human periodontal ligament fibroblast cells. J Endod 2002;28:193- 196.
12. Lindskog S, Blomlof L. Influence of osmolality and composition of some storage media on human periodontal ligament cells. Acta Odontol Scand 1982;40:435–41.
13. Hammarstrom L, Pierce A, Blomlof L, Feiglin B, Lindskog S. Tooth avulsion and replantation – A review. Endod Dent Traumatol 1986;2:1-8.
14. Blomlof L, Otteskoge P, Hammarstrom L. Effect of storage in media with different ion strengths and osmolalities on human periodontal ligament cells. Scand J Dent Res 1981;89:180-187.
15. Rozenfarb N, Kupietzky A, Shey Z. Milk and egg albumen are superior to human saliva in preserving human skin fibroblasts. Pediatr Dent 1997;19:347-8.
16. Martin MP, Pileggi R. A quantitative analysis of propolis: A promising new storage media following avulsion. Dent Traumatol 2004;20:85-9.
17. Trope M, Friedman S. Periodontal healing of replanted dog teeth stored in viaspan, milk and Hank,'s balanced salt solution. Endod Dent Traumatol 1992;8:183-188.

Archive of SID

www.SID.ir

18. Lekic PC, Kenny DJ, Barrett EJ. The influence of storage conditions on the clonogenic capacity of periodontal ligament cells. Implications for tooth replantation. Int Endod J 1998;31:137-40.
19. Courts FJ, Mueller WA, Tabeling HJ. Milk as an interim storage medium for avulsed teeth. Pediatr Dent 1983;5: 183-86.

Archive of SID

www.SID.ir