

مقایسه سه ماده CEM، MTA و GeriStore بر میزان کمی چسبندگی سلولهای فیروبلاست لتهای

دکتر زهره خلیلیک^۱ دکتر مهدی وطن پور^{۱#} دکتر احسان اثنا عشری^۲

۱- استادیار بخش اندودونتیکس، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دندانپزشکی تهران

۲- اندودونتیسیت

خلاصه:

سابقه و هدف: کیفیت و کمیت سلولهای چسبیده به مواد پرکننده انتهای ریشه از موارد تعیین کننده سازگاری نسجی مواد می باشد. این تحقیق با هدف مقایسه میزان کمی چسبندگی سلولهای فیروبلاست لتهای به سه ماده ترمیمی رتروگرید CEM و GeriStore و MTA انجام شد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی تعداد ۸ عدد دیسک از هر ماده مورد آزمایش تهیه گردید و در داخل محیط کشت سلولی حاوی سلولهای فیروبلاست لتهای قرار گرفت، بعد از طی ۳ بازه زمانی ۲۴، ۷۲ ساعت و یک هفته دیسک ها توسط اسمیوم و غلظت های متفاوتی از الکل ثابت شدند و شمارش سلولی در زیر میکروسکوپ الکترونی انجام شد. میزان چسبندگی سلولهای فیروبلاست در گروه های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات چندگانه Tukey محاسبه شد.

یافته ها: نتایج نشان داد میزان سلولهای فیروبلاست چسبیده به ماده CEM ($1/4 \pm 0/24$)، ($8/6 \pm 0/4$)، ($8/2 \pm 0/2$) به ماده MTA ($0/4 \pm 0/24$)، ($2/8 \pm 0/96$)، ($6/8 \pm 0/37$) و به ماده GeriStore ($0/6 \pm 0/2$)، ($0/4 \pm 0/2$)، ($0/2 \pm 0/2$) به ترتیب در زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعت و یک هفته بوده و در هر سه مقطع زمانی اختلاف معنی داری بین میانگین سلولهای چسبیده به سه ماده مورد آزمایش وجود داشت. ($p < 0/05$)

نتیجه گیری: بیشترین چسبندگی سلولی مربوط به ماده CEM در زمان ۷۲ ساعت و کمترین میزان چسبندگی مربوط به ماده GeriStore در زمان یک هفته بود. میزان چسبندگی سلولی در طول زمان در CEM و MTA افزایش یافته و اما در GeriStore کاهش یافت.

کلید واژه ها: CEM، MTA، GeriStore، فیروبلاست، چسبندگی سلولی، مواد پر کننده انتهای ریشه

وصول مقاله: ۹۰/۳/۲۲

اصلاح نهایی: ۹۰/۴/۳۱

پذیرش مقاله: ۹۰/۵/۲۲

مقدمه:

به عنوان پرکننده انتهای ریشه می تواند منجر به عدم ایجاد بازسازی واقعی گردد و در این صورت ترمیم ایجاد شده قابلیت باز گرداندن عملکرد طبیعی به دندان را نخواهد داشت.^(۱) همچنین کیفیت و کمیت سلولهای چسبیده به مواد پرکننده انتهای ریشه از موارد تعیین کننده سازگاری نسجی مواد می باشد.^(۲)

یکی از نگرانی ها به دنبال جراحی های انتهای ریشه دندان، شکل گیری مجدد استخوان و پرپودنشیم و اتصال طبیعی آنها به یکدیگر می باشد. ایده آل ترین نتیجه درمان، بازسازی مجدد پرپودنشیم و چسبندگی طبیعی سلول ها به سطح استخوان، سمنتوم و ماده پرکننده ریشه می باشد.^(۱) عدم توجه به میزان چسبندگی سلول ها به ماده مورد استفاده

نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر مهدی وطن پور، خیابان پاسداران-خیابان نیستان دهم- واحد دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی- بخش اندودونتیکس، تلفن: ۲۲۵۶۴۷۱

Email: drvatanpour@gmail.com

مواد و روش ها:

۱-تهیه سلول های فیبروبلاست لثه ای:

در این مطالعه تجربی با توجه به فرمول تعیین حجم نمونه و با در نظر گرفتن میزان خطای نوع ۱ (α) برابر ۰/۰۵ و توان آزمون ۰/۸ و با توجه به میانگین و انحراف معیارهای به دست آمده از مطالعه pilot تعداد حجم نمونه برای هر گروه ۸ عدد تعیین گردید. سلول لثه انسانی (human gingival fibroblast) (NCBI Codce C165) (fibroblast) منظر انجام این تحقیق از انستیتو پاستور ایران تهیه شد. محیط کشت سلولها حاوی ۱۰ درصد fetalbovin serum ، penicillin و streptomycin و amphotercin B سلولها در محیط ۳۷ درجه سانتیگراد با شرایط مرطوب ۵ درصد CO_2 قرار گرفت. برای اینکه سلولها به تعداد لازم جهت انجام آزمایش برسد ۵ بار تحت passage قرار گرفت.

روش تهیه نمونه ها: برای تهیه دیسک ها با روش Rabeahe عمل شد.^(۱۲) پس از مخلوط کردن MTA ساخت کارخانه (Denstply Philadelphia USA و CEM) ساخت شرکت تولیدی عسگری (مطابق دستور کارخانه آنها را درون یک لوله پلاستیکی به قطر ۶ میلی متر و ضخامت ۵ میلی متر ضخامت توسط کندانسور پک کردیم. سپس اجازه داده شد که مواد مطابق زمان و شرایط توصیه شده set شوند. در مورد GeriStore (ساخت کارخانه DENMATSanta Maria, USA) سطح ماده توسط دستگاه لایت کیور Kerr (با نور هالوژن) با قدرت 600mw cm^2 که در فاصله استاندارد ۲ میلی متر از سطح ماده قرار دارد به مدت ۳۰ ثانیه (طبق دستور کارخانه سازنده) کیور شد. کلیه مواد به مدت ۱ ساعت درون انکوباتور CO_2 با محیط مرطوب و درجه حرارت ۳۷ درجه قرار داده شدند.

۲-کشت سلولی بر روی نمونه ها:

بعد از آماده شدن نمونه ها و تعداد کافی سلول، برای هر بازه زمانی یک عدد محیط کشت ۹۶ چاهکی در نظر گرفته شد و هر دیسک درون یک چاهک قرار داده شد و تعداد ۱۰۴ سلول فیبروبلاست به هر خانه اضافه گردید. هر کدام از ۹۶ well

امروزه طیف وسیعی از مواد به عنوان ماده پرکننده انتهای کانال مورد استفاده قرار می گیرند که از آن جمله می توان به آمالگام، کامپوزیت، Super EBA, MTA، گلاس آینومر، کویت و غیره اشاره نمود.^(۴) GeriStore (ساخت کارخانه Rizini dual cure است که به عنوان ماده پرکننده انتهای ریشه از آن استفاده می گردد. در برخی تحقیقات صورت گرفته مشاهده شده است که فیبروبلاستهای بافت پرپودنتال و لثه ای به Geristore متصل می گردند.^(۱۵،۶) همچنین Camp و همکاران در بررسی خود به این نتیجه رسیدند که با ادامه incubation اتصال سلولها به Geristore افزایش می یابد.^(۱) MTA (ساخت کارخانه Denstply Philadelphia USA) نیز یکی از مواد پرکننده انتهای ریشه می باشد که یک مخلوط از سیمان پورتلند، اکسید بیسموت و Gypsum می باشد. در بررسی میکروسکوپ الکترونی این ماده نیز چسبندگی فیبروبلاستها به صورت کیفی مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعات صورت گرفته کیفیت سلولهای فیبروبلاست چسبیده به سطح MTA با گذشت زمان بهبود می یابد.^(۱۰،۷) اخیرا یک سمان دندانپزشکی جدید (CEM) (شرکت تولیدی عسگری) شامل ترکیبات متفاوتی از کلسیم (مانند اکسید کلسیم، فسفات کلسیم، کریبات کلسیم، هیدروکسید کلسیم و کلرید کلسیم) معرفی شده است. که خواص فیزیکی آن مورد تایید ISO 6876:2001 می باشد و استفاده کلینیکی آن شبیه MTA است و هر دو سمان، زمان سخت شدن، ثابت ابعادی و PH مشابه دارند.^(۸-۱۱) در هیچکدام از تحقیقات صورت گرفته میزان چسبندگی فیبرو بلاستها به صورت کمی مورد مطالعه قرار نگرفته است تا بتوان قضاوت صحیحی در مورد انتخاب ماده مناسب انجام گیرد. لذا این تحقیق با هدف مقایسه میزان کمی چسبندگی سلولهای فیبرو بلاست لثه ای به سه ماده ترمیمی رتروگرید GeriStore, MTA, CEM با روش آنالیز کمی (Scanning Electron Microscope) SEM انجام شد.

گروه در زمانهای مختلف استفاده شد. از تست tukey به عنوان آزمون تکمیلی استفاده شد.

نتایج:

مقایسه گروه ها نشان داد بیشترین چسبندگی سلولی مربوط به ماده CEM در زمان یک هفته ($۰/۲ \pm ۸/۲$) و کمترین میزان چسبندگی مربوط به ماده GeriStore در زمان یک هفته ($۰/۲ \pm ۰/۲$) میباشد. در جدول ۱ مقایسه گروه ها به تفکیک زمانهای مورد مطالعه دیده می شود.

جدول ۱ - میانگین تعداد سلولهای چسبیده به دیسک های ساخته شده از CEM، MTA و GeriStore در زمان های ۲۴ ساعت، ۷۲ ساعت و یک هفته

۱ هفته	۷۲ ساعت	۲۴ ساعت	
X ±SE	X ±SE	X ±SE	
۸/۲±۰/۲	۸/۶±۰/۴	۱/۴±۰/۲۴	CEM
۶/۸±۰/۳۷	۲/۸±۰/۹۶	۰/۴±۰/۲۴	MTA
۰/۲±۰/۲	۰/۴±۰/۲	۰/۶±۰/۲	GeriStore

در هر سه مقطع زمانی اختلاف معنی داری بین میانگین سلولهای چسبیده به سه ماده مورد آزمایش وجود داشت. ($p < ۰/۰۵$) ANOVA پس از ۲۴ ساعت تعداد سلولهای چسبیده به دیسک های تهیه شده از ماده CEM به طور معنی داری از MTA بیشتر بود (tukey's post Hoc) ($p < ۰/۰۵$) اما با GeriStore تفاوت معنی داری نداشت. اما میانگین تعداد سلولهای چسبیده CEM بیشتر از GeriStore بود. همچنین تفاوت بین MTA و GeriStore نیز معنی دار نبود.

در مقطع زمانی ۷۲ ساعت میزان سلولهای چسبیده به CEM به طور معنی داری بیشتر از GeriStore و MTA بوده. همچنین سلولهای MTA به طور معنی داری بیشتر از GeriStore بود. ($p < ۰/۰۵$) (tukey's post Hoc)

در مقطع زمانی یک هفته میزان چسبندگی در CEM به طور معنی داری بیشتر از MTA بود ($p < ۰/۰۵$) و نیز این میزان در CEM به طور معنی داری بیشتر از GeriStore

culture plate در زمان های ۲۴ ساعت، ۷۲ ساعت و یک هفته در محیط با درجه حرارت ۳۷ درجه و ۵ درصد CO_2 تحت انکوباسیون قرار گرفتند. ^(۱۳) به دنبال پایان یافتن زمان مورد نظر، همه دیسک ها ۳ بار توسط PBS با فشار شستشو داده شدند.

جهت ثبوت دیسکها ابتدا دیسک ها به مدت ۲ ساعت درون محلول گلو تار آلدئید ۲/۵ درصد قرار گرفتند و بعد از آن به مدت ۲۰ دقیقه ۵ بار با آب مقطر شسته شدند و در مرحله بعدی به مدت ۲ ساعت درون محلول ۱ درصد اسمیوم تتراکساید رقیق شده در آب مقطر قرار داده شده و سپس برای ۲۰ دقیقه ۵ بار توسط آب مقطر شسته شدند در آخرین مرحله ثبوت، ابگیری به ترتیب توسط الکل با غلظت های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۹۵ انجام شد و نمونه ها برای خشک شدن به مدت ۲۴ ساعت در هوای آزاد قرار داده شدند. ^(۱۳)

۳- بررسی سطوح دیسک ها با SEM :

دیسک های ثابت شده بر روی یک ورق از جنس آلومینیوم درون دستگاه (Hunmer 2) sputter coater به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند تا یک لایه نازک طلا به قطر ۱۵ نانومتر بر سطح دیسک ها قرار گیرد. در مرحله بعد دیسک ها توسط همان ورق آلومینیومی به میکروسکوپ Field Emission Scanning Electron Microscope (Hittachi S4160, Stanford, CA) انتقال داده شد.

سطح هر دیسک به چهار قسمت فرضی تقسیم شد و در هر ربع ۲ نقطه با بزرگنمایی ۳۰۰ برابر توسط اپراتور SEM که اطلاعی از نحوه انجام مطالعه نداشت، انتخاب شد. و عکس برداری از آن صورت گرفت. شمارش تعداد سلول ها در هر عکس توسط دو نفر انجام گردید و در صورت عدم توافق دو مشاهده گر عدد کمتر در جداول خالی ثبت گردید. مراحل فوق برای هر ۳ زمان ۲۴ ساعت، ۷۲ ساعت و یک هفته تکرار گردید.

پس از جمع آوری داده ها نتایج توسط تست One way ANOVA برای مقایسه بین گروهها در هر مقطع زمانی و از تست repeated measured ANOVA برای بررسی هر



شکل ۳- چسبندگی فیبروبلاستهای لته ای به ماده CEM

بحث:

موادی که به عنوان ماده پرکردگی رترو گرید مورد استفاده قرار می‌گیرند باید حداقل سمیت را برای انساج پری رادیکولار داشته باشند. طبق بررسی های انجام شده توسط Safavi و همکاران کمیت و کیفیت چسبندگی سلول ها به این مواد یکی از شاخص‌های سازگاری نسجی می‌باشد^(۳). همچنین چسبیدن سلولها و منتشر شدن آنها در سطح مواد پرکننده انتهای ریشه یکی از شاخص های بررسی کیفیت مواد پرکننده انتهای ریشه می باشد.^(۲)

افزایش معنی دار چسبندگی اولیه فیبرو بلاست ها به سطوح نشان دهنده افزایش مراحل بهبودی می‌باشد. این مرحله ابتدایی حساس ترین مرحله نیز در پروسه بهبود زخم به حساب می آید.^(۱۴)

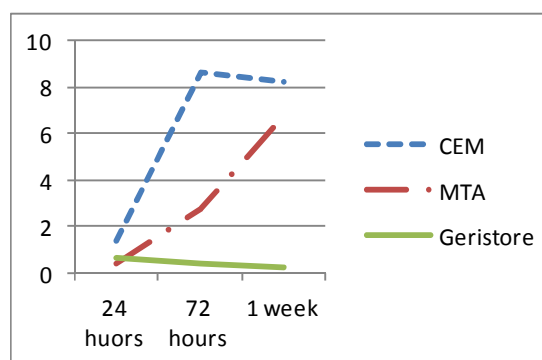
یک ماده پرکننده رتروگرید باید ارتباط بین سیستم کانال ریشه و انساج اطراف آن را به خوبی مهروموم نماید. این ماده باید غیر سمی، غیر قابل حل در انساج، دارای ثبات ابعادی و دارای سازگاری نسجی باشد. با توجه به این که مواد مورد استفاده در درمان های اندودانتیکس دارای همه شرایط فوق نبود MTA به عنوان ماده پرکننده انتهای ریشه عرضه گردید^(۱۵). این ماده به عنوان یک ماده بیواکتیو، تحریک کننده ساخت نسج سخت و دارای سازگاری نسجی شناخته می‌شود و مطالعات مختلفی در مورد خواص شیمیایی، سازگاری نسجی و کاربرد های کلینیکی آن منتشر گردیده است.^(۱۶)

به همین دلیل در این تحقیق به عنوان یک استاندارد طلایی مورد استفاده قرار گرفته است.

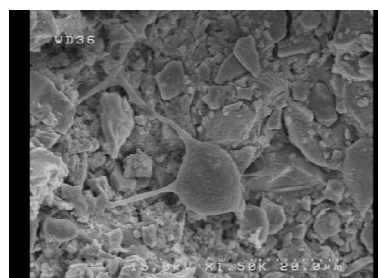
بود. میزان چسبندگی به MTA نیز به طور معنی داری بیشتر از GeriStore بود.

میزان چسبندگی سلولها به دو ماده MTA و CEM با افزایش زمان به طور معنی داری افزایش یافت.

میزان چسبندگی سلولی به دیسکها برای GeriStore در طول زمان تفاوت معنی داری نداشته است. (نمودار شماره ۱)



نمودار ۱- تغییرات تعداد سلولهای چسبیده به مواد CEM، MTA و GeriStore در طول زمان ۲۴ ساعت، ۷۲ ساعت و یک هفته



شکل ۱- چسبندگی فیبروبلاستهای لته ای به ماده MTA



شکل ۲- چسبندگی فیبروبلاستهای لته ای به ماده GeriStore

که چسبندگی ندارند یا در خلل و فرج مواد تهیه شده باقی مانده‌اند و اتصال محکمی ندارند جدا شود و تنها سلول‌هایی که چسبندگی واقعی دارند در سطح دیسک بررسی شوند.^(۱۳)

استفاده از سایر روشهای بررسی میزان چسبندگی سلولی مانند MTT یا Ki67 علاوه بر اینکه امکان بررسی خصوصیات سطحی ماده مورد آزمایش، شکل و خصوصیات سلول‌های چسبیده و تاثیر مواد پرکننده را بر سلولها نشان نمی‌دهد علاوه بر این در روشهای ذکر شده مشخص نمی‌باشد که سلولهای شناسایی شده چسبندگی داشته یا صرفا در تماس فیزیکی با مواد بوده‌اند این روشهای آزمایشگاهی بعضی موارد قادر نیست کمیت سلولهای چسبیده را مشخص نماید و فقط سیتوتوکسیستی مواد را مورد آزمایش قرار می‌دهد.^(۲۱)

در این مطالعه از سلول‌های فیبروبلاست لته انسانی به عنوان سلول مورد آزمایش استفاده شد. مطابق مطالعات انجام شده سلولهای فیبروبلاست لته‌ای و فیبروبلاست لیگامان پریدونت از نظر مورفولوژیک و خصوصیات چسبندگی مشابه یکدیگر می‌باشند و مطابق مطالعه انجام شده می‌توان از این دو سلول به جای یکدیگر استفاده نمود.^(۱)

استفاده از این رده سلولی در مطالعه، شرایط کلینیکی را بازسازی می‌نماید و مزیت آن تکرارپذیری و امکان انجام آن برای همه مواد مورد آزمایش می‌باشد و همچنین توسط ISO برای بررسی‌های اولیه سیتوتوکسیستی پیشنهاد شده‌است.^(۲۲) در مطالعه حاضر در مورد مواد MTA و CEM با گذشت زمان میزان کمی سلول‌ها افزایش می‌یابد که احتمالا به علت سمیت مواد تازه مخلوط شده می‌باشد. Balto در مطالعه خود عنوان کرد مورفولوژی سلول‌ها در معرض MTA تازه تهیه شده (۴ ساعت) به فرم کروی بوده، گسترشی بر سطح نداشته و تقریبا از سوبسترا جدا می‌باشد که احتمالا ناشی از سمیت ماده می‌باشد در حالیکه در نمونه‌های سخت شده سلول‌ها در سطح ماده از طریق زواید سیتوپلاسمی گسترش می‌یابند و حالت مسطح به خود می‌گیرند و خصوصیات سلول‌های چسبیده را دارند. و از این نظر مطالعه انجام شده در توافق با

CEM در سال ۲۰۰۶ معرفی شد^(۱۷) و از لحاظ توانایی سخت شدن در حضور رطوبت^(۱۱)، القا ساخت بافت سخت^(۱۸) و قابلیت سیل^(۱۷) با MTA قابل مقایسه می‌باشد. از سوی دیگر ضخامت لایه‌ای، فلو و خاصیت آنتی باکتریال^(۱۹) آن بهتر از MTA می‌باشد. با توجه به برتریهای CEM بر MTA لزوم بررسی این ماده در این مطالعه ضروری به نظر می‌رسید.

Geristore یک نوع گلاس آینومر تغییر یافته با رزین است که به عنوان ماده پرکننده انتهای ریشه و همچنین نواقص زیر لته ای دندانها پیشنهاد شده است. این ماده لیکچ کمی در حد MTA دارد.^(۲۰) این ماده حساسیت کمی به وجود رطوبت دارد و طی بعضی مطالعات ادعا شده که فیبروبلاست های لته ای قابلیت چسبندگی به این ماده را دارند.^(۱) با توجه به ماهیت رزینی این ماده می‌توان انتظار چسبندگی به سطوح آماده شده دندانی را داشت و لذا در مواردی که وجود سوراخهای فرعی متعدد محتمل است و طی روند جراحی امکان آماده سازی همه آنها به طور دقیق وجود ندارد مورد تجویز قرار می‌گیرد.

بررسی تعداد سلول های چسبیده به سطح دیسک ها مطابق روشی که قبلا توسط Mustafa و همکاران آن توصیف شده بود انجام شد و نشان داده شده که روش حاضر یک متد مناسب برای تعیین چسبندگی سلولی به حساب می‌آید. در این روش آنالیز چسبندگی سلولها توسط عکس هایی که از مناطق اتفافی به دست آمده است انجام می‌شود.^(۱۳)

در طی مراحل بررسی چسبندگی یکی از مراحل که اهمیت بسزایی دارد این است که سلولهای چسبیده مورد آزمایش قرار بگیرند. اهمیت این موضوع در آن است که صرف تماس فیزیکی بین سلول و ماده موجب شروع رزئراسیون بافتی نمی‌شود و این پروسه فقط هنگامی آغاز می‌شود که این اتصال توسط استتاله های سلولی و به صورت محکم بر قرار شود. در این روش آزمایشگاهی قبل از ثابت کردن نمونه ها هر دیسک ۳ بار توسط محلول فسفات بافری شستشو داده شده تا سلولهایی

مطالعه فوق می باشد.^(۷)

بوده و کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت دنتین (به عنوان اصلی ترین ترکیب عاج) و CEM نیز بسیار به یکدیگر شبیه می باشند احتمالا علت افزایش تعداد سلول‌های چسبیده به CEM می باشد.^(۲۴)

در این مطالعه میزان سلول‌های چسبیده به ماده GeriStore در طول زمان انکوباسیون به طور معنی‌داری کاهش می یابد و در بازه زمانی ۷۲ ساعت و یک هفته به صفر می‌رسد .

وجود چسبندگی سلول در بازه زمانی ۲۴ ساعت می‌تواند به علت زمان کوتاه انکوباسیون باشد و با گذشت زمان به علت آزاد شدن رزین‌های سخت نشده سمی که در ترکیب ماده وجود دارد چسبندگی سلولها از بین می‌رود .

نتایج مطالعه حاضر در تشابه با مطالعه Bonson و همکاران است. در آن مطالعه عنوان شده که GeriStore مانع بروز ژن‌های لازم برای سمنتوزن و نیز آلکالین فسفاتاز می‌شود که نشان دهنده عدم سازگاری نسجی این ماده است در حالیکه ژن های یاد شده در مورد MTA به طور کامل بروز می‌یابد.^(۲۵)

نتیجه گیری:

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، CEM به عنوان یک محصول داخلی که نتایج بهتری هم ارائه کرده به عنوان ماده انتخابی در جراحی‌های رترگرید مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به نمودار رسم شده ممکن است در صورت ادامه زمان های مورد آزمایش میزان چسبندگی در دو ماده CEM و MTA برابر شود که لزوم بررسی بیشتر را ضروری می‌سازد.

از سوی دیگر مطالعه حاضر در توافق با مطالعه Oviir و همکاران است که عنوان نمودند با افزایش زمان سخت شدن از ۲۴ ساعت به ۱۲ روز میزان پرولیفراسیون سلولهای سمنتوبلاست و کراتینوسیت در مجاورت MTA سفید افزایش می‌یابد.^(۲۳) دلیل احتمالی این پدیده این است که با گذشت زمان MTA سختتر می‌شود و به دنبال آن سلولها نمی‌توانند به راحتی از سطوح سخت شده جدا شوند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در زمان ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌داری بین میزان سلول‌های چسبیده MTA و GeriStore وجود ندارد و با گذشت زمان یعنی در زمان های ۷۲ ساعت و یک هفته این اختلاف به نفع MTA معنی دار شده است. این نتایج با نتایج به دست آمده از مطالعه Camp و همکاران در تناقض می‌باشد (در مطالعه Camp چسبندگی سلولها به GeriStore بیشتر گزارش شده است) که احتمالا این تناقض به علت تفاوت در زمان‌های مورد بررسی در این دو مطالعه می‌باشد. (زمانهای مورد مطالعه در بررسی Camp ۳ ، ۶ ، ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت بوده است). همچنین روش بررسی در مطالعه فوق Fluorometrically بوده که امکان بررسی شکل ظاهری سلول‌ها و ارتباط آنها با مواد وجود نداشته است.^(۱)

در مطالعه حاضر با توجه به نتایج حاصله میزان کمی سلولهای چسبیده به CEM به طور معنی‌داری از MTA بیشتر می‌باشد که با توجه به مطالعه Asgari و همکاران که تاکید داشتند که ساختار سطحی CEM بر خلاف MTA از نظر توزیع کلسیم، فسفر و اکسیژن بسیار شبیه به دنتین

References:

- 1- Camp MA, T Jeansonne BG, Lallier T. Adhesion of Human Fibroblasts to Root-end-Filling Materials. *J Endod.* 2003 Sep;29(9):602-7.
- 2- Zhu Q, Haglund R, Safavi KE, Spangberg LS. Adhesion of Human Osteoblasts on Root-end Filling Materials. *J Endod.* 2000 Jul;26(7):404-6.
- 3- Safavi KE, Spangberg L, Sapounas G, MacAlister TJ. In Vitro Evaluation of Biocompatibility and Marginal Adaptation of Root Retrofilling Materials. *J Endod.* 1988 Nov;14(11):538-42.
- 4- Friedman S. Retrograde approaches in endodontictherapy. *Endod Dent Traumatol.* 1991 Jun;7(3):97-107.
- 5- Tawil PZ, Trope M, Curran AE, Caplan DJ, Kirakozova A, Duggan DJ, et al. Periapical Microsurgery: An In Vivo Evaluation of Endodontic Root-end Filling Materials. *J Endod.* 2009 Mar;35(3):357-62.
- 6- Al-Sabek F, Shostad S, Kirkwood KL. Preferential attachment of human gingival fibroblasts to the resin ionomer Geristore. *J Endod.* 2005 Mar;31(3):205-8.
- 7- Balto HA. Attachment and Morphological Behavior of Human Periodontal Ligament Fibroblasts to Mineral Trioxide Aggregate: A Scanning Electron Microscope Study. *J Endod.* 2004 Jan;30(1):25-9.
- 8- Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Cytotoxicity of Four Root end Filling Materials. *J Endod.* 1995 Oct;21(10):489-92.
- 9- Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and Chemical Properties of a New Root-end Filling Material. *J Endod.* 1995 Jul;21(7):349-53.
- 10- Torabinejad M, Pariookh M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod.* 2010 Feb;36(2):190-202.
- 11- Asgary S, Shahabi S, Jafarzadeh T, Amini S, Kheirieh S. The Properties of a New Endodontic Material. *J Endod.* 2008 Aug;34(8):990-3.
- 12- Al-Rabeah E, Perinpanayagam H, MacFarland D. Human Alveolar Bone Cells Interact with ProRoot and Tooth-Colored MTA. *J Endod.* 2006 Sep;32(9):872-5. Epub 2006 May 2.
- 13- Mustafa K, Silva LB, Hultenby K, Wennerberg A, Arvidson K. Attachment and Proliferation of Human Oral Fibroblasts to Titanium Surfaces Blasted with TiO₂ Particles. A Scanning Electron Microscopic and Histomorphometric Analysis. *Clin Oral Implants Res.* 1998 Jun;9(3):195-207.
- 14- Zmener O, Cabrini RL. Adhesion of Human Blood Monocytes and Lymphocytes to Different Endodontic Cements. A Methodological Invitro Study. *J Endod.* 1986 Apr;12(4):150-5.
- 15- Torabinejad M, Pitt Ford TR. Root end Filling Materials: a Review. *Endod Dent Traumatol.* 1996 Aug;12(4):161-78.
- 16- Torabinejad M, Chivian N. Clinical Applications of Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod.* 1999 Mar;25(3):197-205.
- 17- Asgary S, Eghbal MJ, Pariookh M. Sealing Ability of a Novel Endodontic Cement as a Root-end Filling Material. *J BiomedMater Res A.* 2008 Dec 1;87(3):706-9.

18-Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghanavati F

, Rahimi H. *A Comparative Study of Histologic Response to Different Pulp Capping Materials and a Novel Endodontic Cement. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Oct;106(4):609-14. Epub 2008 Aug 20.

19-Asgary S, Kamrani FA. *Antibacterial Effects of Five Different Root Canal Sealing Materials. J Oral Sci.* 2008 Dec;50(4):469-74.

20-Scheerer SQ, Steiman HR, Cohen J. *A comparative Evaluation of Three Root-end Filling Materials: An In Vitro Leakage Study Using Prevotella Nigrescens. J Endod.* 2001 Jan;27(1):40-2.

21-BaltoH, Al-Nazhan S. *Attachment of Human Periodontal Ligament Fibroblasts to 3 Different Root-end Filling Materials: Scanning Electron Microscope Observation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003 Feb;95(2):222-7.

22-Al-Nazhan S, SpangbergL. *Morphological Cell Changes Due to Chemical Toxicity of a Dental Material: An Electron Microscopic Study on Human Periodontal Ligament Fibroblasts and L929 cells. J Endod.* 1990 Mar;16(3):129-34.

23-Oviir T, Pagoria D, Ibarra G, Geurtsen W. *Effects Ofgray and White Mineral Trioxide Aggregate on the Proliferation of Oral Keratinocytes and Cementoblasts. J Endod.* 2006 Mar;32(3):210-3.

24-Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghoddusi J, Kheirieh S, Brink F. *Comparison of Mineral Trioxide Aggregate's Composition with Portland Cements and a New Endodontic Cement. J Endod.* 2009 Feb;35(2):243-50. Epub 2008 Dec 13.

25-Bonson S, Jeansonne BG, Lallier TE. *Root-end Filling Materials Alter Fibroblast Differentiation. J Dent Res.* 2004 May;83(5):408-13.