[DOI: 10.18502/ssu.v26i12.665]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 19:37 IRST on Wednesday February 3rd 2021

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و ششم، شماره دوازدهم، اسفند ۱۳۹۷
تاریخ دریافت:۱۳۹۶/۱/۲۱
تاریخ پذیرش:۱۳۹۶/۲/۱۲

بررسی حفظ حیات سلول های لیگامان پریودنتال دندان های گوسفند بر حسب زمان‌ها و محیط های نگهدارنده متفاوت

علیرضا نواب اعظم[۱]، سینا قانعان[۲]، محمدحسین امیرزاده ایرانق[۳]، حسین قاسم پور[۴*]

مقاله پژوهشی

مقدمه: بیرون افتادن دندان (Avulsion) یک صدمه جدی به دندان‌هاست. دندان خارج شده فوراً باید در ساکت دندانی ریپلنت شود، وگرنه باید زمان خارج دهانی با قرار دادن دندان در یک محیط نگهدارنده مناسب کم شود. محیط نگهدارنده و زمان خارج دهانی ۲ فاکتور مهم در موفقیت ان می‌باشد. هدف از این مطالعه مقایسه توانایی چند محیط نگهدارنده شامل αMEM، DMEM، HBSS و نعنا در جهت حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال می‌باشد که بر روی دندان‌های گوسفند انجام می‌گیرد تا بتوانیم یک محیط مناسب را ارائه دهیم.

روش بررسی: این مطالعه از نوع مطالعه آزمایشگاهی می‌باشد که سلول‌های DPL از ۱۲۴ دندان گوسفند جمع‌آوری شدند و در ۴ محیط αMEM، DMEM، HBSS وعرق نعنا (بر اساس خواص دارویی و استفاده از عرق نعنا در طب سنتی) برای ۶ بازه زمانی ۹۶،۷۲،۴۸،۲۴،۶،۲ ساعت طراحی شده بودند قرار گرفتند. یک زمان صفر به عنوان گروه کنترل مثبت و یک محیط خشک برای هر بازه زمانی به‌عنوان گروه کنترل منفی در نظر گرفته شد. پس از گذشت زمان‌های مربوطه لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ G سانتریفیوژ شده و سلول‌های ته نشین شده درون محلول کلاژناز نوع یک + دیسپاز قرار گرفتند، سپس یک ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ C° و رطوبت ۵٪ گذاشته شدند، پس از آن سوسپانسیون سلولی را درون بافر PBS حل کرده و حیات سلول‌ها را با رنگ آمیزی تریپان بلو روی لام نئوبار و در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی X۲۰۰ بررسی کردیم، نتایج به وسیله آنالیز آماری با روش 2 - way ANOVA با نرم افزاراماری SPSS v 15 ورژن بررسی شد.

نتایج: آزمون‌های آماری حاکی از اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها ی بین مطالعه بودند. (P<۰/۰۵) αMEM با متوسط میانگین ۹۰٪ بهترین و عرق نعنا قبل از گروه‌های کنترل منفی با متوسط میانگین ۵۲/۲۲٪ بدترین محیط آزمایش بودند.

نتیجه‌گیری: محیط نگهدارنده αMEM یک محیط ایده ال جهت حفظ حیات سلول‌های لیگامان پریودنتال تا زمان ۹۶ ساعت بود و پس از آن به ترتیب DMEM، HBSS و عرق نعنا قرار گرفتند. زمان تأثیر منفی بر روی حیات سلول‌های PDL گذاشت.

واژه‌های کلیدی: لیگامان پریودنتال، حیات سلولی، محیط نگهدارنده

ارجاع: نواب اعظم علیرضا، قانعان سینا، امیرزاده ایرانق محمدحسین، قاسم پور حسین. **بررسی حفظ حیات سلول های لیگامان پریودنتال دندان‌های گوسفند بر حسب زمان‌ها و محیط‌های نگهدارنده متفاوت.** مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۱۲): ۹۴-۱۰۸۷.

۱- جراحی دهان و فک و صورت- استادیار دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، ایران
۲- دندانپزشک - دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، ایران
۳- دندانپزشک
۴- جراحی دهان و فک و صورت- استادیار دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی اصفهان، ایران
*(نویسنده مسئول)؛تلفن: ۰۹۱۲۹۴۷۱۹۱۴ ، پست الکترونیکی:dr_hghasempoor@yahoo.com کد پستی:۸۱۸۵۷۷۴۷۳۵

[DOI: 10.18502/ssu.v26i12.665]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 19:37 IRST on Wednesday February 3rd 2021

مقدمه

بیرون افتادن دندان که صدمه جدی به دندان‌هاست و نسبت به پوسیدگی دندانی شایع‌تر است. از یک طرف جدا شدن دندان می‌تواند بر پالپ و بافت PDL(periodontal ligament) به مانند بافت‌های سخت دندانی، استخوان آلوئول و لثه اثر بگذارد. از طرف دیگر تحلیل جایگزینی ریشه پیش رونده ارتباطی پیچیده با ریپلنت شدن دندان‌های بیرون افتاده دارد. وضعیت لیگامان پریودنتال و پالپ برای ترمیم دندان‌های ریپلنت شده بحرانی است. فاکتورهای گوناگون که شامل طول زمان خارج آلوئولی، محیط نگهدارنده مناسب و نوع و مدت زمان اسپیلنت می‌باشند در میزان موفقیت ریپلنت شدن مهم‌اند. محیط خشک برای دندان‌های بیرون افتاده موجب مرگ سلول‌های PDL متصل به ریشه می‌شود. برای کاهش این پروسه، قرار دادن دندان‌ها در یک محیط نگهدارنده ضروری می‌باشد[۱].

برای جلوگیری از صدمات بیشتر سلول‌های لیگامان پریودنتال (PDL) اگر دندان به هر دلیلی ریپلنت نشد باید زمان خشک ماندن خارج دهان با قرار دادن دندان در یک محیط نگهدارنده مناسب کم شود. محیط نگهدارنده مناسب باید برای نگهداری حیات، میتوژنیسیتی و توانایی کلونوژنیک PDL صدمه دیده و نمونه های آنها استفاده شود (۲). توانایی یک محیط نگهداری انتقال دهنده برای حمایت حیات سلول می‌تواند از زمان خارج ماندن دندان برای وقوع انکیلوز و تحلیل جانشینی مهم تر باشد (۳).

فاکتورهایی در ترمیم PDL پس از صدمات Avulsion نقش دارند شامل تعداد صدمات فیزیکی اولیه به سطح ریشه، نوع محیط نگهدارنده و زمان سپری شده می‌باشد. هدف از درمان بیمار با دندان بیرون افتاده ریپلنت کردن فوری دندان است، ولی همیشه امکان ندارد و این‌جاست که نقش محیط‌های نگهدارنده در حفظ حیات سلول‌های PDL روشن تر می‌گردد (۴). PDL که یک هدف اولیه در آسیب بافت التهابی در بیماری پریودنتال است به‌طور نرمال شامل استئوبلاست‌ها، استئوکلاست‌ها، فیبروبلاست‌ها، بقایای اپی‌تلیالی مالاسز، ماکروفاژها، سلول‌های مزانشیال تمایز نیافته، عناصر عصبی سلول‌های اندوتلیال و سمنتوبلاست‌هاست. فیبروبلاستها سلول‌های عمده در PDL هستند (۵). عامل موفقیت ریپلنت شدن دندان بیرون افتاده بستگی به حیات فیبروبلاست‌های لیگامان پریودنتال (PDLF) دارد، که توانایی پرولیفراسیون کردن قسمت برهنه ریشه‌را دارد. این ضروری است که سطح برهنه ریشه سریعاً با PDLF جایگزینی و پر شود و از چسبیدن استئوکلاستها به سمنتوم جلوگیری کرد (۶). نقش سلول‌های PDL در رژنره شدن بافت به خوبی مشخص است. فقط سلول‌های PDL می‌توانند در چسبیدن جدید شامل سمنتوم جدید با وارد کردن فیبرهای کلاژن اثرگذار و فرم دهنده باشند (۷). هدف از این مطالعه یافتن و معرفی یک محیط نگهدارنده مناسب جهت حفظ سلول‌های لیگامان پریودنتال پس از اوالژن است.

روش بررسی

در این مطالعه که به روش مطالعه آزمایشگاهی انجام شد و روش جمع آوری نمونه‌ها به صورت تصادفی انجام شد، ۱۲۴ دندان از دندان‌های مولر و انسیزال سالم (فاقد پوسیدگی) گوسفند که بیش از ۱ ساعت از مرگ آن نمی‌گذرد انتخاب و Extract می‌گردد. ۲۴ دندان در ۶ گروه به‌عنوان گروه کنترل منفی قرار گرفته و ۴ دندان به‌عنوان گروه کنترل مثبت (زمان صفر) و ۹۶ دندان در گروه‌های آزمایشی جای داده می شوند. گروه آزمایشی حاوی ۳ محیط نگهدارنده HBSS(hank's balanced salt solution)، αMEM (agpha- minimum essential medium)، DMEM(Dulbecco's modified eagle media) و یک محیط پیشنهادی عرق نعنا است که هر کدام جداگانه در ۶ بازه زمانی ۲، ۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بررسی می‌گردند. در هر لوله آزمایش قبل از جداسازی سلول‌ها ۱ml از محیط مربوطه ریخته شد. دندان‌ها پس از خارج شدن از socket با سرنگ حاوی محلول نرمال سالین استریل و کلرهگزیدین ۰/۲٪ شستشو داده شد و سپس سلول‌های PDL از سطح ریشه scrub و به صورت رندوم بین لوله‌های آزمایش تقسیم شدند. بعد از گذشت مدت زمان تعیین شده در دمای اتاق (۲۵c°) لوله‌ها را سانتریفیوژ کرده (دور ۲۰۰۰ G به مدت ۱۰ دقیقه) و محیط رویی را دور

[DOI: 10.18502/ssu.v26i12.665]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 19:37 IRST on Wednesday February 3rd 2021

می‌ریزیم (البته این کار برای گروه کنترل منفی یا محیط خشک صورت نمی‌گیرد ولی مراحل بعدی برای تمامی محیط‌ها یکسان است) سلول‌های ته نشین شده داخل محلول (۳mgr/mlit Collagenase TypeI + Dispase ۴ mgr/mlit) ریخته شده به مدت یک ساعت داخل انکوباتور با دمای ۳۷ c° و رطوبت ۵٪ قرار داده تا آنزیم روی نمونه‌ها اثر کرده و نمونه‌ها را به صورت سوسپانسیون تک سلولی در آورد.

در بین این یک ساعت یک دفعه نمونه‌ها را با استفاده از دستگاه shaker تکان داده تا تاثیر فیزیکی آنزیم در اثر تماس بیشتر افزایش یابد. پس از گذشت یک ساعت نمونه‌ها را از انکوباتور خارج کرده و به آن ۱ ml سرم به ازای هر ۳ ml آنزیم جهت غیر فعال شدن آنزیم اضافه نموده و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه تحت سانتریفیوژ (دور ۲۰۰۰ G) قرار می‌دهیم تا رسوب کند بعد از سانتریفیوژ رسوب حاصل مخلوطی از سوسپانسیون سلولی و مقداری از نمونه هضم نشده بود. محیط رویی (هضم نشده) را دور می‌ریزیم و سوسپانسیون سلولی را درون بافر PBS (Phosphate Buffer Solution) حل کرده و مقدار ۱۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون را با ۱۰ میکرولیتر رنگ زیستی تریپان بولو مخلوط کرده و روی لامل مخصوص شمارش یا لامل نئوبار (هموسیتومتر) Load می‌کنیم با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۲۰۰× مشاهده می کنیم و سلول‌های زنده و مرده را جداگانه می‌شماریم. سلول‌های مرده به علت از بین رفتن غشاء و از دست دادن خاصیت نفوذپذیری انتخابی آن رنگ آبی تریپان بولو را گرفته و از سلول‌های زنده که شفاف اند قابل تمایزاند.

نسبت سلول‌های زنده به کل سلول‌ها (مجموع سلول‌های مرده و زنده) به صورت درصد حیات سلول‌های PDL بیان می‌شود. برای هر محیط در هر بازه زمانی حیات سلول‌های PDL مرتبط با ۴ لوله آزمایش ثبت می گردد.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به وسیله آنالیز آماری با روش 2 Way ANOVA و نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۱۵بررسی شد.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد تایید شد و با توجه به این‌که مطالعه درسال۸۹ انجام گرفته اخذ کداخلاق وجود نداشته است.

نتایج

آنالیزآماری تفاوت آشکاری بین گروه‌ها مختلف نشان می‌دهد. (جدول ۱) آزمون مقایسه‌های دو به دو Bonferroni بین چهار محیط نگهدارنده و گروه کنترل منفی نشان داد که سلول‌های PDL نگهداری شده در محیط αMEM تعداد سلول‌های زنده بالاتری را به صورت معنادار، دارا می‌باشند (میانگین کلی ۹۰/۰۱ درصد) و بدترین محیط نگهدارنده عصاره نعنا بود. (میانگین کلی ۵۲/۲۲ درصد) تمام گروه‌ها آزمایشی به طور معنادار از گروه کنترل مثبت پایین تر و از گروه کنترل منفی بالاتر بودند (جدول ۲). یک ارتباط معکوس بین درصد حیات سلول‌های PDL و زمان نگهداری وجود داشت. (جدول ۳و۴)پس از محیط نگهدارنده αMEM به ترتیب محیط‌های DMEM و HBSS نتایج بهتری را نشان دادند

جدول۱:نتایج حاصل از ازمون اماری2way_ANOVA

	مجموع میانگین	تعداد	میانگین	فراوانی	P-value
گروه ازمایشی	۹/۷۷۶	۴	۴۴۱/۲	۳۵۵۹/۶۱۵	۰/۰۰۰
گروه زمان	۳/۰۷۵	۵	۰/۶۱۵	۸۹۶/۷۲۶	۰/۰۰۰
مجموع	۶۷/۹۵۴	۱۲۰			

[DOI: 10.18502/ssu.v26i12.665]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 19:37 IRST on Wednesday February 3rd 2021

جدول۲:میانگین وانحراف معیارداده‌های حاصل از هر محیط دربازه‌های زمانی موردمطالعه

Group	زمان	میانگین درصد سلول های زنده	انحراف معیار	تعداد نمونه
HBSS	۲ ساعت	۹۶/۵۵	۳/۹۹۱	۴
	۶ ساعت	۸۹/۹۲	۱/۹۷۶	۴
	۲۴ ساعت	۸۵/۵۴	۲/۵۵۸	۴
	۴۸ ساعت	۸۱/۷۳	۳/۲۰۵	۴
	۷۲ ساعت	۷۹/۵۱	۵/۴۸۳	۴
	۹۶ ساعت	۷۲/۸۰	۲/۷۴۷	۴
	Overall	۸۴/۳۴	۸/۳۴۶	۲۴
DMEM	۲ ساعت	۹۷/۰۶	۳/۳۹۶	۴
	۶ ساعت	۹۵/۶۰	۰/۰۹۹	۴
	۲۴ ساعت	۸۹/۴۳	۲/۹۹۱	۴
	۴۸ ساعت	۸۵/۷۱	۰/۰۹۹	۴
	۷۲ ساعت	۸۱/۵۹	۳/۴۸۹	۴
	۹۶ ساعت	۷۷/۰۵	۲/۳۰۹	۴
	Overall	۸۷/۷۴	۷/۶۴۳	۲۴
αMEM	۲ ساعت	۹۸/۰۸	۲/۲۲۱	۴
	۶ ساعت	۹۶/۸۸	۲/۰۸۳	۴
	۲۴ ساعت	۹۲/۰۳	۲/۹۵۷	۴
	۴۸ ساعت	۸۷/۰۷	۰/۴۸۱	۴
	۷۲ ساعت	۸۳/۹۶	۳/۱۲۷	۴
	۹۶ ساعت	۸۲/۰۳	۱/۵۶۲	۴
	Overall	۹۰/۰۱	۶/۵۶۷	۲۴
عصاره نعنا	۲ ساعت	۹۴/۴۷	۲/۱۱۰	۴
	۶ ساعت	۹۰/۰۳	۲/۷۴۱	۴
	۲۴ ساعت	۸۲/۰۵	۳/۴۷۲	۴
	۴۸ ساعت	۴۶/۷۸	۴/۰۲۷	۴
	۷۲ ساعت	۰	۰	۴
	۹۶ ساعت	۰	۰	۴
	Overall	۵۲/۲۲	۴۰/۸۹۹	۲۴
گروه کنترل منفی	۲ ساعت	۶۷/۸۶	۲/۳۸۱	۴
	۶ ساعت	۲۸/۵۳	۴/۲۰۳	۴
	۲۴ ساعت	۰	۰	۴
	۴۸ ساعت	۰	۰	۴
	۷۲ ساعت	۰	۰	۴
	۹۶ ساعت	۰	۰	۴
	Overall	۱/۰۶	۲۶/۰۰۲	۲۴

[DOI: 10.18502/ssu.v26i12.665]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 19:37 IRST on Wednesday February 3rd 2021

جدول۳:میانگین و انحراف معیار گروه‌های زمان(۲و۶و۲۴و۴۸و۷۲و۹۶ساعت)

	زمان	میانگین سلول های زنده	انحراف معیار	تعداد نمونه
Time-groups	۲ ساعت	۹۰/۸۰	۱۲/۱۱۲	۲۰
	۶ ساعت	۸۰/۱۹	۲۶/۶۷۱	۲۰
	۲۴ ساعت	۶۹/۸۱	۳۶/۰۵۹	۲۰
	۴۸ ساعت	۶۰/۲۶	۳۴/۵۲۴	۲۰
	۷۲ ساعت	۴۹/۰۱	۴۱/۱۸۴	۲۰
	۹۶ ساعت	۴۶/۳۸	۳۸/۹۹۶	۲۰
	Overall	۶۶/۰۸	۳۶/۱۶۲	۱۲۰

جدول۴:ازمون آماری *Pearson correlatio* بین زمان مطالعه وتعداد سلول‌های زنده

Correlations			
		زمان	میانگین تعداد سلول زنده
زمان	Pearson Correlation	۱	-۰/۹۶۳**
	معنی دار		۰/۰۰۲
	تعداد	۶	۶

.(ارتباط در سطح۰/۰۱معنی دارمی‌باشد)

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که در کل بازه‌های زمانی، ۹۶ ساعت، αMEM بهترین محیط نگهدارنده جهت حفظ حیات سلول‌های PDL بوده و DMEM و HBSS به ترتیب در جایگاههای دوم و سوم قرار دارند. عصاره نعنا بعنوان محیط پیشنهادی اثر کمتری بر حفظ حیات سلول‌های PDL دارد. با این حال، در فواصل زمانی ۲، ۶ و ۲۴ ساعت نتایج مطلوبی نشان داد. بنابراین، اگرچه برای بازه‌های زمانی طولانی مناسب نیست، ولی در بازه های کوتاه‌تر محیط نسبتا مناسبی می‌باشد. در تمام محیط‌ها زمان نگهداری دو ساعت بهترین و بازه زمانی ۹۶ ساعت بدترین نتایج را در پی داشت. در مطالعه حاضر برای حفظ حداکثر حیات سلول‌های سطح ریشه (لیگامان پریودنتال) تحت تاثیر کلاژناز نوع I و دیسپاز قرار گرفته و از رنگ‌آمیزی تریپان بلو جهت اندازه گیری حیات سلول‌ها و تمایز سلول‌های مرده از سلول‌های زنده استفاده شد (روش Pileggi و همکاران) (۸)Lekic و همکاران در سال ۱۹۹۸ در مطالعه‌ای تاثیر محیط‌های نگهدارنده را بر روی ظرفیت کلونوژنیکی سلول‌های PDL بررسی کردند. آن‌ها این مطالعه را بر روی محیط‌های αMEM، HBSS، بزاق و شیر در دو بازه زمانی ۳۰ و ۶۰ دقیقه انجام دادند. ظرفیت کلونوژنیکی سلول‌های لیگامان پریودنتال نگهداری شده در αMEM کمترین کاهش را در بازه‌های زمانی مورد آزمایش نشان داد و αMEM در بین سایر محیط‌ها که یکی از آن‌ها HBSS باشد بهترین بقای سلولی را نشان داد که نتیجه این مطالعه و مطالعه مشابه دیگری که در سال ۲۰۰۱ توسط Ashkenazi و همکاران انجام شد، با مطالعه حاضر هم خوانی دارد (۹،۶). Ashkenazi و همکاران در سال ۱۹۹۹ در مطالعه‌ای حیات، میتوژنیستی و ظرفیت کلونوژنیکی سلول‌های لیگامان پریودنتال را پس از نگهداری در ۵ محیط مختلف که شامل αMEM، شیر، HBSS، ViaSpan و CM (Conditional nedium) است، بررسی کردند. آن‌ها گزارش نمودند که HBSS و شیر موثرترین محیط‌های نگهداری جهت

[DOI: 10.18502/ssu.v26i12.665]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 19:37 IRST on Wednesday February 3rd 2021

حفظ حیات سلول‌های PDL تا ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بودند. (۷) علت این اختلاف می‌تواند تفاوت در روش کار باشد. علت دیگر، تفاوت در دمای آزمایش می‌باشد که مطالعه ما در دمای اتاق (۲۵ °C) و این مطالعه در دمای ۴°C انجام شده است. همین محقق در مطالعه ای دیگر دما را به‌عنوان یک فاکتور موثر و اصلی معرفی می کند.(۶). هم‌چنین داده‌های تحقیق حاضر نشان داد که نسبتی معکوس مابین تعداد سلول‌های زنده PDL و زمان نگهداری وجود دارد که این الگو به صورت مکرر در مطالعات دیگر هم قابل مشاهده است. هم‌چنین تحقیقات تاکید کرده اند که حیات دندان ریپلنت شده به‌طور مستقیم با تعداد سلول‌های زنده PDL در ارتباط است. (۱۰) و (۱۵). ریپلنت کردن دندان‌ها بعد از گذشت ۳۰ دقیقه از ترومای ایجاد شده نتایج موفقیت آمیز بیشتری نسبت به فواصل زمانی طولانی تر هم‌چون ۲ ساعت باقی ماندن در محیط خشک دارد که هیچ‌گونه سلول زنده ای یافت نمی شود. (۵) و (۱۴). در مطالعه حاضر، در گروه کنترل منفی (محیط خشک) تا بازه زمانی ۶ ساعت تعدادی سلول زنده یافت شد.

برخی مطالعات آزمایشگاهی، بیان دارند که محیط نگهدارنده مناسب، عامل پیشگویی کننده قوی‌تری در مقایسه با بازه زمانی که دندان در محیط خارج دهانی قرار دارد می‌باشد. (۴و۱۱) طبق مطالعه مروری انجام شده توسط Poi و همکاران درمورد محیط‌های نگهدارنده دندان پس از اوالژن، محیط‌های نگهدارنده αMEMو HBSS نتایج خوبی را نشان داده بودند که از این جهت مطالعه حاضر با آن هم‌خوانی دارد. بنابراین، به‌عنوان یک استراتژی پروفیلاکتیک ثانویه، انتخاب و تامین محیط نگهدارنده مناسب در مکان‌هایی که بروز آسیب‌های دندانی بیشتر است، از قبیل مدارس و زمین‌های ورزشی، منطقی به نظر می رسد. (۱۲)(۱۳)

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر ، αMEM جهت حفظ حیات سلول‌های PDL محیط مناسب‌تری نسبت به سه محیط نگهدارنده دیگر شامل DMEM، HBSS و عصاره نعنا می‌باشد. بااین حال عصاره نعنا در مواردی که بازه زمانی محیط خارج دهانی کوتاه‌تر (۲۴ ساعت) است، نگهدارنده نسبتاً مناسبی می‌باشد.

سپاسگزاری

این مقاله منتج از پایان‌نامه بوده ولازم به سپاسگزاری ازمرکز تحقیقات ناباروری یزد می‌باشد. ضمناً هزینه‌های این پایان‌نامه به عهده محققین بوده است .

تعارض در منافع: وجود ندارد

References

1-Khademi AA, Atbaee A, Razavi SM, Shabanian M**. *Periodontal healing of replanted dog teeth stored in milk and egg albumen.*** Dent Traumatol 2008; 24(5): 510-4. [Persian]

2-Kim HS, Park JW, Yeo SI, Choi BJ, Suh JY. ***Effects of high glucose on cellular activity of periodontal ligament cells in vitro.*** Diabetes Res ClinPract 2006; 74(1): 41-7.

3-Ozan F, Tepe B, Polat ZA, Er K. ***Evaluation of in vitro effect of Morusrubra (red mulberry) on survival of periodontal ligament cells***. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod 2008; 105(2): e66-9.

4-Gopikrishna V, Thomas T, Kandaswamy D. ***A quantitative analysis of coconut water: a new storage media for avulsed teeth.*** Oral Surg Oral

[DOI: 10.18502/ssu.v26i12.665]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 19:37 IRST on Wednesday February 3rd 2021

Med Oral Pathol Oral RadiolEndod 2008; 105(2): e61-5.

5-Martin MP, Pileggi R. ***A quantitative analysis of Propolis: a promising new storage media following avulsion***. Dent Traumatol 2004; 20(2): 85-9.

6-Ashkenazi M, Marouni M, Sarnat H. ***In vitro viability, mitogenicity and clonogenic capacity of periodontal ligament cells after storage in four media at room temperature***. Endod Dent Traumatol 2000; 16(2): 63-70.

7-Ashkenazi M, Sarnat H, Keila S. ***In vitro viability, mitogenicity and clonogenic capacity of periodontal ligament cells after storage in six different media***. Endod Dent Traumatol 1999; 15(4): 149-56.

8-Pileggi R, Dumsha TC, Nor JE. ***Assessment of post-traumatic PDL cells viability by a novel collagenase assay***. Dent Traumatol 2002; 18(4): 186-9.

9-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(2): 137-40.

10- Poornima P, Kotari S, Sasalawad SS, Roshan N**.** ***Save cells before tooth replantation: A review.*** International J Contemporary Dental Med Rev 2015; 2015.

11- Poi WR, Sonoda CK, Martins CM, Melo ME, Pellizzer EP, de Mendonça MR, et al. ***Storage media for avulsed teeth: a literature review***. Braz Dent J 2013; 24(5): 437-45.

12- Flores MT, Andersson L, Andreasen JO, Bakland LK, Malmgren B, Barnett F, et al. ***Guidelines for the management of traumatic dental injuries. II. Avulsion of permanent teeth***. Dent Traumatol 2007; 23(3): 130-36.

13- Petersson EE, Andersson L, Sörensen S. ***Traumatic oral vs non-oral injuries***. Swed Dent J 1997; 21(1-2): 55-68.

14- Glendor U, Halling A, Andersson L, Eilert-Petersson E. ***Incidence of traumatic tooth injuries in children and adolescents in the county of Vastmanland, Sweden***. Swed Dent J 1996; 20(1-2): 15-28.

15- Cardoso Lde C, Poi WR, Panzarini SR, Sonoda CK, Rodrigues Tda S, Manfrin TM. ***Knowledge of firefighters with special paramedic training of the emergency management of avulsed teeth***. Dent Traumatol 2009; 25(1): 58-63.

[DOI: 10.18502/ssu.v26i12.665]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 19:37 IRST on Wednesday February 3rd 2021

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 26| NO 12 | Mar 2019
Received: 10 Apr 2017
Accepted: 2 May 2017

Evaluation of preserving the viability of sheep's teeth PDL cells according to the different times and storage medias

Alireza Navabazam[1], Sina Ghanean[2], Mohammad Hosein Amirzade Iranaq[3], Hosein Ghasempoor[†4]

Original Article

Introdution: Vitality of periodontal ligament (PDL) cells is very critical for replantation of complete avulsion teeth due to traumatic injuries. This is important for transferring an avulsed tooth to clinic for replantation that which Medias used for storage.This study aimed to compare the vitality of PDL cells of sheep teeth cultured in different storage medias including α-Minimum Essential Medium (αMEM), Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), Hank's Balanced Salt Solution (HBSS), and mint extract

Methods: In this lab trial study, PDL cells were obtained from 124 healthy anterior and posterior sheep teeth and cultured in αMEM, DMEM, HBSS, and mint extract for periods of 2, 6, 24, 48, 72, or 96 hours (24 groups). For each solution, positive control group were PDL cells without incubation in any storage media. For each group, there was a negative control considered cells growing in dry plate with no medium. After exposure of PDL cells to scheduled solution for scheduled incubation time, centrifuge was performed for 10 minutes at rate of 2000G. Then cell percipitates were added into the solution of collagenase (3mgr/ml) and Dispase (4mgr/ml to cell precipitates, which were incubated at 37° C for 60 minutes. After washing cellular suspension in PBS, vitality of the cells was assessed by Trypan blue exclusion, on a neobar slide by magnification of 200X. The data were analyzed statistically using 2-way ANOVA test by SPSS version 15.

Results: Statistically significant differences in efficacy of different medias were obtained at least between two media (P=0.0001). PDL cells cultured in αMEM and mint extract showed 90% and 52.22% vitality representing, respectively, the best and the weakest storage media.

Conclusion: αMEM can be a suitable transport medium up to 96 hours to preserve the vitality of the PDL cells of avulsed teeth. There is a reverse correlation between the viability of PDL cells and incubation time, increasing the time decreases the viability.

Keywords: PDL, Cell viability, Storage media

Citation: Navabazam A, Ghanean S, Amirzade Iranaq MH, Ghasempoor H. **Evaluation of preserving the viability of sheep's teeth PDL cells according to the different times and storage medias.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2017; 26(12): 1087-94.

[1]Department of Oral and Maxillofacial Surgery- Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Iran
[2] DDS Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Iran
[3]DDS
[4]Department of Oral and Maxillofacial Surgery- Isfahan University of Medical Sciences, Iran
***Corresponding author: Tel:**09129471914, **email:** hsghasempoor@gmail.com