





دانشگاه علوم پزشکی
وخدمات بهداشتی درمانی اردبیل
دانشکده دندانپزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه‌ی دکترای جراحی دندانپزشکی

عنوان:

مقایسه زیست‌سازگاری و خاصیت استخوان‌سازی دو ماده DFDBA (Demineralized)
(Freeze-Dried Bone Allograft) FDDBA و (Freeze-Dried Bone Allograft) FDDBA در مجاورت
سلول‌های شبه استخوانی (an invitro study)

استاد راهنما:

دکتر علیرضا فتحی‌آذر

استادان مشاور:

دکتر ودود قاسمی‌برقی

دکتر عمران حاج‌محمدی

نگارش:

ساناز طلوعی

تقدیم :

این مجموعہ را بہ پدر و مادر بزرگوارم تقدیم می نمایم .

تقدیر و سپاسگزاری:

خدای را بسی شاکرم که از کرم، پدر و مادری فداکار و مهربان نصیم ساخته تا در سایه درخت پر بار
و جودشان میسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم. والدینی که
بودشان تاج افتخاری است بر سرم و نشان دلیلی است بر بودنم، چرا که این دو وجود، پس از
پروردگار، بایه هستی ام بوده اند، دستم را گرفتند و راه رفتن را در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب
آموختند.

آموزگارانی که برایم زندگی، بودن و انسان بودن را معنا کردند.

تقدیم به وجود با ارزشان...

بچنین از آقای دکتر علیرضا فتحی آذربه دلیل یاری ها و راهنمایی های بی چشمداشت ایشان که

بسیاری از سختی ها را برایم آسان تر نمودند شکر و قدردانی می نمایم.

چکیده فارسی

مقدمه و هدف: جایگزین‌های استخوان به طور گسترده در درمان‌های ایمپلنت و بازسازی نقایص استخوانی استفاده می‌شوند. آلوگرافت‌ها به عنوان یکی از جایگزین‌های استخوانی پر استفاده در دندانپزشکی مطرح می‌باشند. مهمترین آلوگرافت‌ها می‌باشند. در مورد تاثیر اثر این دو ماده نتایج متناقضی وجود دارد لذا هدف ما در این مطالعه مقایسه خاصیت زیست‌سازگاری و استخوان‌سازی این دو ماده در محیط آزمایشگاهی است.

مواد و روش: به منظور انجام این مطالعه آزمایشگاهی، DFDBA و FDDBA در مجاورت سلول‌های MG-63 قرار گرفتند. تست MTT به منظور ارزیابی زیست‌سازگاری در دو زمان ۲۴ و ۷۲ ساعته انجام گرفت. به منظور ارزیابی خاصیت استخوان‌سازی تست آلیزارین رد بعد از ۱۴ روز انجام شد. تست MTT با paired-T-test و تست آلیزارین رد با T-Test مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: نتایج تست MTT نشان داد که در هر دوزمان ۲۴ و ۷۲ ساعته میزان پرولیفراسیون سلولی در FDDBA به طور معنی‌داری بیشتر از DFDBA بود ($p < 0.05$). در تست آلیزارین رد میزان تشکیل ندول کلسیفیه در DFDBA به طور معنی‌داری بیشتر از FDDBA بود ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری: DFDBA از انجام پروسه دمینرالیزاسیون روی FDDBA صورت می‌گیرد. بدین منظور از مواد با خاصیت اسیدی استفاده می‌گردد. با توجه به ماهیت اسیدی DFDBA به نظر می‌رسد که میزان پرولیفراسیون سلولی در این ماده کمتر از FDDBA است چون سلول‌ها نسبت به اسید حساس هستند. البته پروسه دمینرالیزاسیون باعث خروج فاکتورهای رشدی می‌گردد که باعث شده DFDBA دارای میزان استخوان‌سازی بیشتری گردد. اگر ما بتوانیم از متدهای دیگری برای خارج سازی فاکتورهای رشدی استفاده کنیم، میزان استخوان‌سازی ممکن است در DFDBA افزایش یابد.

کلمات کلیدی: FDDBA، DFDBA، MG-63، القای استخوانی، زیست‌سازگاری

فصل اول: مقدمه

۲-۱-۱	مقدمه	۲
۲-۱-۲	بیان مسئله و ضرورت اجرای تحقیق	۳
۲-۱-۳	اهداف و فرضیات	۷
۲-۱-۴	تعریف واژه‌ها	۸

فصل دوم: مبانی نظری و پیشینه تحقیق

۲-۱	مقدمه	۱۰
۲-۲	سلول‌های بافت‌های استخوانی	۱۲
۲-۲-۱	استئوسیت‌ها	۱۲
۲-۲-۲	استئوکلاست‌ها	۱۴
۲-۲-۳	استئوبلاست‌ها	۱۴
۲-۳	پیوند استخوان	۱۷
۲-۴	گرافت استخوانی چیست؟	۱۸
۲-۵	انواع گرافت استخوانی بر حسب کاربرد و مواد تشکیل‌دهنده	۱۹
۲-۶	طبقه‌بندی گرافت استخوانی بر حسب کاربرد و استفاده	۲۰
۲-۶-۱	جایگزین طبیعی	۲۰
۲-۶-۱-۱	اتوگرافت اتولوگوس	۲۰
۲-۶-۱-۲	آلوگرافت	۲۱
۲-۶-۱-۳	زنوگرافت	۲۲
۲-۶-۱-۴	پلاسمای غنی از پلاکت	۲۳
۲-۶-۱-۴	هیدروکسی آپاتیت (HA)	۲۳
۲-۶-۱-۵	مرجان‌ها	۲۴
۲-۶-۲	جایگزین‌های مصنوعی گرافت استخوانی	۲۴
۲-۶-۲-۱	کلسیم سولفات	۲۴
۲-۶-۲-۲	سرامیک‌های تری کلسیم فسفات (TCP)	۲۴
۲-۶-۲-۳	گلس‌های زیست فعال	۲۶

۲۶	جایگزین‌های پلیمری
۲۷	FDBA, DFDBA آلوگرفت‌های
۲۸	مروری بر پیشینه پژوهش
۲۸	مروری بر پیشینه پژوهش در ایران
۳۱	مروری بر پیشینه پژوهش در خارج

فصل سوم : مواد و روش‌ها

۳۶	نوع مطالعه، مشخصات و محل انجام کار
۳۶	تعداد نمونه و روش نمونه‌برداری
۳۹	نحوه اجرای تحقیق
۳۹	آماده‌سازی مواد
۳۹	آماده‌سازی محیط کشت و سوسپانسیون سلولی
۴۰	تست MTT
۴۱	تست Alizarian red
۴۱	تحلیل آماری
۴۲	روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

فصل چهارم: یافته‌های پژوهش

۴-۱	مقایسه میزان زیست‌سازگاری FDBA و DFDBA در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی
۴۵	MG-۶۳ بعد از ۲۴ ساعت به روش MTT
۴-۲	مقایسه میزان زیست‌سازگاری FDBA و DFDBA در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی
۴۵	MG-۶۳ بعد از ۷۲ ساعت به روش MTT
۴-۳	مقایسه میزان زیست‌سازگاری FDBA و DFDBA و گروه کنترل مثبت در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی
۴۶	MG-۶۳ بعد از ۲۴ ساعت به روش MTT
۴-۴	مقایسه میزان زیست‌سازگاری FDBA و DFDBA و گروه کنترل مثبت در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی
۴۸	MG-۶۳ بعد از ۷۲ ساعت به روش MTT
۴-۵	نتایج حاصل از ساخت ندول‌های کلسیفیه DFDBA با غلظت ۰/۰۲۵ در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی
۵۰	MG-۶۳ پس از ۱۴ روز به روش ALIZARIAN RED

- ۴-۶- نتایج حاصل از ساخت ندول‌های کلسیفیه FDDBA با غلظت ۰/۰۲۵ در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی MG-۶۳ پس از ۱۴ روز به روش ALIZARIAN RED ۵۱
- ۴-۷- نتایج حاصل از مقایسه ساخت ندول‌های کلسیفیه DFDBA و FDDBA با غلظت ۰/۰۲۵ در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی MG-۶۳ پس از ۱۴ روز به روش ALIZARIAN RED ۵۱
- ۴-۸- نتایج حاصل از مقایسه ساخت ندول‌های کلسیفیه DFDBA و FDDBA در غلظت ۰/۰۲۵ با گروه کنترل در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی MG-۶۳ پس از ۱۴ روز به روش ALIZARIAN RED ۵۲
- ۴-۱۰- نتایج حاصل از ساخت ندول‌های کلسیفیه FDDBA با غلظت ۰/۰۵ در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی MG-۶۳ پس از ۱۴ روز به روش ALIZARIAN RED ۵۴
- ۴-۱۱- نتایج حاصل از مقایسه ساخت ندول‌های کلسیفیه DFDBA و FDDBA در غلظت ۰/۰۵ با گروه کنترل در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی MG-۶۳ پس از ۱۴ روز به روش ALIZARIAN RED ۵۴
- ۵۷..... بحث و نتیجه گیری
- ۵۸..... ۵-۱- بحث
- ۶۳..... ۵-۲- محدودیت‌های مطالعه
- ۶۳..... ۵-۳- پیشنهادها
- ۶۴..... منابع و ماخذ
- ۶۵..... منابع :

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۲: برداشتن گرافت استخوان از بال ایلیاک در ناحیه لگن	۲۰
شکل ۲-۲: نمونه‌ای از پودر استخوان تجاری به شکل قوطی	۲۲
شکل ۳-۲: نوعی هیدروکسی آپاتیت	۲۳
شکل ۴-۲: نمونه‌ای از کاربرد تری کلسیم فسفات	۲۵
شکل ۱-۳: کیت‌های مورد استفاده در پژوهش	۳۶
شکل ۳-۲: برداشت نمونه به حجم ۰/۴ تا ۱ گرم توسط سمپلر	۳۷
شکل ۳-۳: برداشت نمونه به حجم ۰/۴ تا ۲ گرم توسط سمپلر	۳۷
شکل ۳-۴: پس از ۲۴ ساعت مجاورت سلول با عصاره‌ی ۲۴ ساعته نمونه ۱	۳۷
شکل ۳-۵: پس از ۲۴ ساعت مجاورت سلول با عصاره‌ی ۲۴ ساعته نمونه ۲	۳۸
شکل ۳-۶: پس از ۲۴ ساعت مجاورت سلول با نمونه کنترل	۳۸
شکل ۳-۷: پس از ۲۴ ساعت مجاورت سلول با عصاره‌ی ۷۲ ساعته نمونه ۱	۳۸
شکل ۳-۸: پس از ۲۴ ساعت مجاورت سلول با عصاره‌ی ۷۲ ساعته نمونه ۲	۳۸
شکل ۳-۹: تشکیل کریستال فورمازان پس از زدن رنگ MTT و گذشت زمان ۳ ساعت	۳۹
شکل ۳-۴: محیط کشت نمونه‌ها	۳۹

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲: سنتز پروتئوگلیکان‌ها و پروتئین‌های غیر کلاژنی توسط استئوبلاست‌ها.....	۱۷
جدول ۳-۱: تحلیل‌های آماری مورد استفاده در پژوهش حاضر.....	۴۲
جدول ۱-۴: مقایسه‌ی میزان زیست‌سازگاری FDDBA و DFDBA در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی MG-۶۳ بعد از ۲۴ ساعت به روش MTT.....	۴۵
جدول ۲-۴: مقایسه‌ی میزان زیست‌سازگاری FDDBA و DFDBA در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی MG-۶۳ بعد از ۷۲ ساعت به روش MTT.....	۴۵
جدول ۳-۴: مقایسه‌ی میزان زیست‌سازگاری FDDBA و DFDBA و گروه کنترل مثبت در مجاورت سلول‌های شبه استخوانی MG-۶۳ بعد از ۲۴ ساعت به روش MTT.....	۴۶
جدول ۴-۴: مقایسه‌ی میانگین تکثیر سلولی با استفاده از آزمون one way ANOVO.....	۴۷
جدول ۵-۴: مقایسه‌ی میزان زیست‌سازگاری FDDBA و DFDBA.....	۴۸
جدول ۶-۴: مقایسه‌ی میانگین تکثیر سلولی با استفاده از ارزیابی MTT در گروه تیمار شده FDDBA با گروه تیمار شده با DFDBA و گروه کنترل مثبت با استفاده از آزمون one way ANOVO.....	۴۹
جدول ۷-۴: ساخت ندول‌های کلسیفیه DFDBA.....	۵۰
جدول ۸-۴: ساخت ندول‌های کلسیفیه FDDBA.....	۵۱
جدول ۹-۴: مقایسه ساخت ندول‌های کلسیفیه FDDBA و DFDBA.....	۵۱
جدول ۱۰-۴: مقایسه‌ی ساخت ندول‌های کلسیفیه DFDBA و FDDBA در غلظت ۰/۰۲۵ به روش Alizarian red.....	۵۲
جدول ۱۱-۴: مقایسه‌ی ساخت ندول‌های کلسیفیه DFDBA و FDDBA در غلظت ۰/۰۲۵ به روش Alizarian.....	۵۲
جدول ۱۲-۴: ساخت ندول‌های کلسیفیه DFDBA با غلظت ۰/۰۵.....	۵۴

جدول ۴-۱۳: ساخت ندولهای کلسیفیه FDDBA با غلظت ۰/۰۵ ۵۴

جدول ۴-۱۴: مقایسه‌ی ساخت ندولهای کلسیفیه DFDBA و FDDBA در غلظت ۰/۰۵ ۵۵

جدول ۴-۱۵: مقایسه‌ی ساخت ندولهای کلسیفیه DFDBA و FDDBA در غلظت ۰/۰۵ ۵۵

فهرست نمودارها

صفحه	عنوان
۴۷.....	نمودار ۱-۴: مقایسه میانگین تکثیر سلولی با استفاده از ارزیابی MTT بعد از ۲۴ ساعت
۴۸.....	نمودار ۲-۴: مقایسه میانگین تکثیر سلولی
۴۹.....	نمودار ۳-۴: مقایسه میانگین تکثیر سلولی
.....	نمودار ۴-۴: نتایج حاصل از مقایسه میانگین تکثیر سلولی با استفاده از ارزیابی MTT بعد از ۷۲ ساعت
۵۰.....	
۵۳.....	نمودار ۵-۴: مقایسه میانگین تکثیر سلولی
۵۳.....	نمودار ۶-۴: مقایسه میانگین تکثیر سلولی به روش آلیزارین رد با غلظت ۰.۰۲۵
.....	نمودار ۷-۴: مقایسه میانگین تکثیر سلولی با استفاده از ارزیابی آلیزارین رد در گروه تیمار شده با
۵۶.....	FDBA با گروه تیمار شده با DFDBA در غلظت ۰/۰۵
.....	نمودار ۸-۴: مقایسه میانگین تکثیر سلولی با استفاده از ارزیابی Alizarin Red در گروه تیمار شده با
۵۶.....	FDBA با گروه تیمار شده با DFDBA در غلظت ۰/۰۵