

تأثير استخدام الكيتوزان كسقالة في إعادة التروية الدموية في شفاء الآفات حول الذروية في الأسنان مكتملة الذروة: دراسة سريرية

هبة وهبه*

محمد سالم ركاب**

الملخص

خلفية البحث وهدفه: كانت إجراءات إعادة التروية محدودة بالأسنان المتموتة غير المكتملة الذروة، أما في الأسنان المتموتة المكتملة فما زالت المعالجة الأكثر قبولاً هي المعالجة اللبية التقليدية غير الجراحية، إلا أن أنظار الباحثين اتجهت إلى تطبيق إعادة التروية عليها، والبدء بالدراسات لتطوير بروتوكولات العمل للحصول على أفضل النتائج. ومن المكونات الأساسية للمعالجات التجديدية (ومنها إعادة التروية) وجود السقالة المناسبة التي تسمح بالتصاق الخلايا الجذعية وتكاثرها وتمايزها، ومؤخراً زادت شعبية السقالات المكونة من البوليميرات الطبيعية في الطب التجديدي مثل الكيتوزان بسبب خصائصه البيولوجية والكيميائية، إن الهدف من هذه الدراسة تقييم تأثير استخدام الكيتوزان في شفاء الآفات الذروية عند استخدامه كسقالة في إعادة تروية الأسنان مكتملة الذروة مقارنة مع سقالة الخثرة الدموية. مواد البحث وطرقه: تألفت العينة من 20 سناً دائمة مكتملة الذروة، وحيدة الجذر، ومستقيمة، وتموتة ذات آفات ذروية، قابلة للترميم النهائي دون الحاجة إلى التداخل على القناة، وعولجت بإعادة التروية الدموية في جلستين رئيسيتين، في الأولى عزلت الأسنان باستخدام الحاجز المطاطي، وحضرت ميكانيكياً وكيميائياً، وطبق ضماد الصادات الثلاثي، وفي الجلسة الثانية قسّمت العينة بشكل عشوائي إلى مجموعتين متساويتين مختلفتين في السقالة المستخدمة، في المجموعة الأولى تم الحث على النزف ضمن القناة للحصول على الخثرة الدموية، وفي المجموعة الثانية تم الحث على النزف، وتطبيق سقالة الكيتوزان، ثم خُتمت جميع الأسنان في العينتين بخماسي الأكاسيد المعدنية وبالإسمنت الزجاجي الشاردي، ورُممت ترميماً نهائياً بالكومبوزت، وتمت متابعة الحالات على فترات (شهر، 3، 6، 12، 18 شهراً)، وتم خلالها تقييم وجود أعراض أو علامات، ومراقبة شفاء الآفات حول الذروية. وأخضعت البيانات إلى اختبار Mann-Whitney U؛ لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة نجاح المعالجة بين المجموعتين، عند مستوى الدلالة $(P \leq 0.05)$.

النتائج: أظهرت كل من المجموعتين المدروستين نجاحاً في المعالجة بإعادة التروية دون فروق دالة إحصائية. الاستنتاجات: ضمن حدود هذه الدراسة السريرية، وخلال فترة المراقبة المعتمد عليها في هذا البحث، يمكن الاستنتاج أن المعالجة بإعادة التروية فعالة في شفاء الآفات حول الذروية سواء كانت السقالة المستخدمة خثرة دموية أم بمشاركة الكيتوزان مع تفوق بسيط للكيتوزان.

الكلمات المفتاحية: إعادة التروية، أسنان مكتملة الذروة، خثرة دموية، كيتوزان.

*طالبة دكتوراه في قسم مداواة الأسنان - كلية طب الأسنان - جامعة دمشق

**أستاذ في قسم مداواة الأسنان - كلية طب الأسنان - جامعة دمشق

The effect of using chitosan as a scaffold in revascularization on Periapical lesions healing in mature teeth: Clinical study

Heba Wahbeh*

M.Salem Rekab**

Abstract

Background & aim: Revascularization procedure was limited to the treatment of immature necrotic teeth, while nonsurgical traditional endodontic is still the most acceptable treatment for mature necrotic teeth. However, researchers' attention turned to apply revascularization on mature teeth and to start studies to improve protocols for getting the best results.

An essential component of regenerative endodontics (including revascularization) is the appropriate scaffold that allows stem cell adhesion, proliferation, and differentiation. Recently, scaffolds composed of natural polymers such as chitosan have gained more popularity in regenerative medicine due to their biological and chemical properties. The aim of this study is to evaluate the effectiveness of chitosan on periapical lesions healing when it's used as a scaffold in mature teeth revascularization and compare it with blood clot scaffold.

Materials and Methods: the sample of this study consisted of 20 single rooted, straight permanent mature teeth with periapical lesions. revascularization was performed in two main sessions. In the first session, the teeth were isolated using a rubber dam, prepared mechanically and chemically, and a triple antibiotic dressing was applied. In the second session, the sample was randomly distributed into 2 groups: bleeding was induced into the canal to achieve blood clot in one group and chitosan scaffold with blood clot was applied in the other. Then all teeth were sealed using five mineral oxides and glass ionomer cement and finally restored with composite. The cases were followed up at different time intervals (1, 3, 6, 12 and 18 months) to evaluate the presence of signs and symptoms and the periapical lesion healing. Data were subjected to Mann-Whitney U statistical test to study the significance of differences in the frequency of the treatment success between the two groups, with (P-value \leq 0.05) as the level of significance.

Results: Both of the studied groups showed success in the revascularization treatment, without statistically significant differences.

Conclusions: Within the limitations of this in vivo study, it could be concluded that revascularization is effective in the healing of apical lesions if the used scaffold was only blood clot or in combination with chitosan, with slightly favorable results when chitosan is used as scaffold.

Keywords: Revascularization, Mature teeth, Blood clot, Chitosan.

* PhD student in Department of Operative Dentistry and Endodontics, Faculty of dentistry, Damascus University

** Professor - Endodontics and Operative dentistry - Faculty of Dentistry - Damascus University

المقدمة:

(Saoud) (Abou Samra, RA, *et al*, 2018) (2018) (Paryani, K. & Kim, SG. 2013) (TM, *et al*, 2016) حيث إنه وفقاً للجمعية الأمريكية لأخصائيي المعالجة اللبية AAE، فإن الهدف الرئيس للمعالجة اللبية التجديدية هو زوال الأعراض، والعلامات، وشفاء الآفات حول الذر وية؛ أي هدف المعالجة اللبية التقليدية نفسه (American Association of Endodontists, 2016) إلا أنه في المعالجة التجديدية تملأ القناة بنسيج حي عوضاً عن المواد الصناعية الغريبة عن الجسم (Saoud TM, *et al*, 2016). وتعرف إعادة التروية الدموية بأنها عودة النوعية الدموية إلى نسيج أو عضو (Huang, G. T. J. *et al*, 2009)، وفي مداواة اللبية يستخدم مصطلحاً المعالجة اللبية التجديدية، وإعادة التروية بشكل تبادلي (Kim SG *et al*, 2018)؛ لأنه من الواضح اعتماد التقنيات المستخدمة في إعادة التروية على عناصر الهندسة النسيجية التي لا بد من توفرها لتحقيق التجدد (Hargreaves KM *et al*, 2021)، وهي الخلايا الجذعية (Chrepa, V. *et al*, 2015) ،وعوامل النمو (Begue-Kirn, C. *et al*, 1992) ،والسقالات (Topcuoglu, G. *et al*, 2016)، والخلايا الجذعية Stem cells: وتعرف الخلايا الجذعية بأنها: خلايا غير متخصصة، قادرة على التمايز إلى خلايا النسيج التي نشأت منها (Moore & Lemischka, 2006)، وتوجد الخلايا الجذعية التي تشارك في المعالجة التجديدية في منطقة حول الذروة، ويذكر منها الخلايا الموجودة حول ذروة الأسنان مكتملة الذروة تحديداً، وهي: الخلايا الجذعية في الرباط حول السن (Seo, B. M. *et al*, 2004)، والخلايا السلف الذروية الملتهبة (Liao, J. *et al*, 2011)، والخلايا الجذعية في نقي العظم (Friedenstein, A. J. *et al*, 1974). وعوامل النمو Growth factors: وهي ببنيات متعددة أو بروتينات ترتبط إلى مستقبلات على سطح

أصبح تموت اللب من أكثر المشاكل الصحية انتشاراً وهو أحد مضاعفات النخر والرّضّ والمعالجات اللبية غير الصحيحة (Peres, MA., *et al*, 2019). ولا يؤثر تموت اللب في السنّ بعد ذاته فقط، بل هو مصدرّ للإنتان الذي ينتشر إلى المنطقة حول الذروية، وحتى المسافات الوجهية الفكّية، ومن المعروف أنّ هناك ارتباطاً بين الإنتانات الفموية، وبعض الأمراض الجهازية، كالأمراض القلبية الوعائية (Sasaki, H., *et al*, 2016). ولا تزال حتى اليوم المعالجة اللبية التقليدية المعالجة الأكثر قبولاً في حالات تموت اللب، وهي تعتمد على استبدال اللب المتموت بمادة حاشية صناعية (Schmalz, G., *et al*, 2020)، وهذا ما يؤدي إلى زيادة هشاشة الأسنان، وقصافتها (Yang, J., *et al*, 2016)، وفقدتها للنظام الوعائي العصبي (Kim, S. G. *et al*, 2018)، ومن ثم التغذية، والحماية المناعية، ونقل المعلومات الحسية (Li, Z. *et al*, 2021)؛ لذلك بدأت الهندسة النسيجية التي تعدّ استراتيجية علاجية مهمة للاستخدام في الطبّ التجديدي (Rodríguez-Vázquez, M., *et al*, 2015)، تجذب الأنظار لتطبيقها في مجالات طبّ الأسنان ك مجال للمعالجة اللبية. وتعرف المعالجة اللبية التجديدية بأنها: استخدام إجراءات حيوية مصممة لاستبدال البنى المتضررة متضمنة العاج، ونسج الجذر إضافة إلى خلايا المعقد العاجي اللبي. (Hargreaves KM *et al*, 2021)، وقد أظهرت آفاقاً واسعة في التطبيق السريري الذي اعتمد من قبل جمعية طبّ الأسنان الأمريكية ADA (American Dental Association, 2010)، ولم يعد تطبيقها مقتصرًا على الأسنان غير المكتملة الذروة كما كان في البداية، بل بدأت تقارير وسلاسل الحالات حول المعالجات التجديدية في الأسنان مكتملة الذروة تنتشر كدراسات: (Xu, Q.& Li, Z. 2018) (Nagas, E. *et al*,)

ينتج عن طريق نزع الأستيل من الكيتين الذي هو عنصر بنائى في الهيكل الخارجى للقشريات (كالسرطان والروبيان)، وفي جدران الفطريات (Cicciù, M, 2019)، وهو عديد سكارى طبيعى غير سامّ ومتقبل حيوياً، وقابل للانحلال، وذو خواصّ مضادة للجراثيم (Qasim SB et al, 2018)، ويحفز على التّمدن (Mathews, S, 2011)، ويسرع في تشكّل العظم عن طريق زيادة مصوّرات العظم (Erpaçal B, et al, 2019)، ويزيد تكاثر مصوّرات الليف ومصوّرات العاج (Croisier, F, & Jérôme, C 2013)، وله القدرة على تجديد النسيج الضام (Erpaçal, B et al, 2019)، إذ يستطيع التفاعل مع غليكوزأمينوغليكانات، وبروتيوغليكانات؛ وهي المركبات الأساسية في القالب خارج الخلوى الموجود في جميع أنسجة الجسم (Mi, F. L., et al, 2006). وهو قابلٌ للدوبان في الحموض المخففة. ومن المفيد معرفة أن جعله بشكل هلامي هو من أكثر الطّرق المفضّلة لتطبيقاته (Guo, B, et al, 1998).

الهدف من البحث Aim of Study: حتى الآن لاتزال الأبحاث تظهر جدوى المعالجة اللبية التجديدية، لكنّ معظمها أجري على أسنان غير مكتملة الذّروة؛ لذلك يعد تطبيق هذه الإجراءات على الأسنان مكتملة الذّروة جديداً نسبياً، فمعظم ما نشر هو تقارير وسلاسل حالات ونظراً لصفات الكيتوزان التي يتمتّع بها أختير ليطبّق في هذا البحث؛ لتقييم فعاليته في تحقيق أحد أهداف المعالجة اللبية التقليدية والتجديدية؛ وهو شفاء الآفات الذروية عند استخدامه في إعادة التروية مقارنة مع الخثرة الدمويّة.

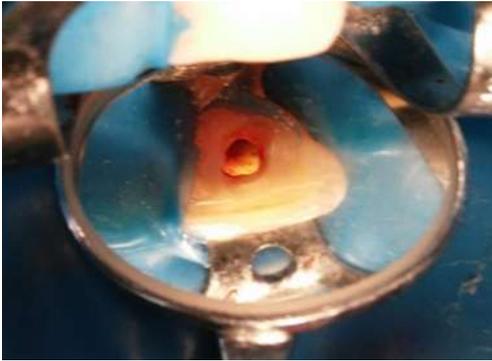
الخلايا الهدف لتنظيم نشاطاتٍ خلويّة متعدّدة (Lind, M. 1996)، والسقالات Scaffolds: والسقالة هي بنية تدعم نمو الخلايا، فهي تسمح بهجرتها، والتصاقها، وتمايزها، وتكاثرها، وتؤمّن البيئة المناسبة لتشكّل النّسج (Alshehadat, S. A. et al, 2016)، وبشكلٍ عامّ يجب أن تكون فعّالةً ومتقبّلةً حيوياً، وقابلةً للانحلال بتوافقٍ مع تشكّل النّسج الجديدة (Kretlow, J. D. et al, 2007). ووظيفتها تأمين الموقع الصّحيح للخلايا الجذعيّة، ونقل المغذيات والغازات التي تسمح لها بالبقاء والتكاثر، وترسّب القالب خارج الخلوى (Gathani, K. M, 2016). وفي إعادة التروية تعدّ الخثرة الدمويّة السقالة المعيارية (Eltawila, A. 2019) M.& El Backly, R. S. 2019، ويمكن الحصول عليها عن طريق الحثّ على التّزف في المنطقة حول الذّروية من خلال النّقبة الذّروية (Garcia-Godoy, F. & Murray, P. 2012) E, 2012، وبذلك تصل الخلايا الجذعيّة الميزانشيميّة إلى القناة (Lovelace, T. W, et al, 2011)، وتشكّل شبكة ثلاثيّة الأبعاد للبدء بعملية التّجدد (Garcia-Godoy F & Murry PE, 2012)، وتدعى هذه الطّريقة بالاستراتيجية الخالية من الخلايا Cell-free strategy، أو توجيه الخلايا Cell Homing؛ لأنّها لا تعتمد على زرع خلايا جذعيّة، بل على استقطابها من منطقة حول الذّروة (Yang, J. et al, 2016). ومؤخراً ركّزت الأبحاث على المواد الحيويّة على تصميم وتطوير وتحسين السقالات (Shi, C. et al, 2006)، ومن هذه المواد البوليميرات التي أصبحت تجذب قدراً كبيراً من الاهتمام نظراً لميزاتها الفريدة مثل مساميّتها العالية، وصغر حجم المسامات، وخصائصها الميكانيكيّة، وقدرتها على التّحكم بالتحلّل الحيويّ إضافة إلى ما تتمتّع به من الخصائص الحيويّة المهمة في تطبيق هندسة الأنسجة (Dhandayuthapani B, 2011)، وفي هذا السّياق كان الكيتوزان من البوليميرات التي لفتت الأنظار. والكيتوزان:

مواد البحث وطرائقه:

العينة Sample:

تألفت العينة من 20 سنّاً وحيدة القناة، ومستقيمة الجذر، ومكتملة الذروة، وذات أفات ذروية بقياس أصغر من 1 سم على الصورة الشعاعية، وقابلة للترميم التاجي دون الحاجة إلى التداخل على القناة. بعد تأكيد التشخيص بالفحص السريري والشعاعي تمّ الحصول على موافقة المرضى على المعالجة، والالتزام بمواعيد المعالجة والمتابعة، وكانت طريقة العمل على النحو الآتي: الجلسة الأولى: عزلت السن بالحاجز المطاطي، وفتحت الحجرة اللببية، ثم سبرت القناة بمبرد k، وحدد الطول العامل، وحضرت القناة ميكانيكياً باستخدام جهاز التحضير الآلي (x-smart) من شركة (dentsply, USA)، ومبارد (Dia-Xfile) الكورية، وتُوجع التحضير بالمبارد اليدوية إلى قياس تراوح بين 60 إلى 80 مع الاستمرار بالتحضير الكيميائي بالإرواء البطني بهيبوكلوريت الصوديوم NaOCl 2.5 %، بحيث يصل رأس الإبرة مغلقة النهاية ذات الفتحة الجانبية إلى ما قبل الذروة ب 2 مم؛ لتقليل مرور سائل الإرواء إلى المنطقة حول الذروة، وبالطريقة نفسها استخدم سائل 17% EDTA لينهي الإرواء بالمصل الفيزيولوجي، وتمّ تجفيف القناة بالأقماع الورقية. ولتقليل حدوث التلون التالي لتطبيق معجون الضماد الثلاثي طبقت المادة الرابطة على الجدران الداخلية لتاج السن، (Kim JH et al, 2010). وبعد تحضير الضماد الثلاثي حُقن تحت مستوى الملتقى المينائي الملاطي، واستخدم مبرد k قياس 25؛ لإيصال الضماد إلى كامل القناة، وذلك بإدخاله إلى ما قبل الطول العامل ب 2مم، وفتله عكس عقارب الساعة، ونُظفت بقايا الضماد من الحجرة اللبية، وختمت بالإسمنت الزجاجي الشاردي. وبعد 3 أسابيع، في حال عدم وجود أعراض أو علامات، تم الانتقال إلى الجلسة الثانية. وفي الجلسة الثانية تم استخدام

مخدر ليدوكائين 2% مع مقبض وعائّي أدريالين 1:80000 موضعياً، وعزلت السنّ بالحاجز المطاطي، وفتحت الحجرة، وأزيل ترميم الإسمنت الزجاجي الشاردي، ومن ثم الضماد الثلاثي بمبرد هيدستروم وتمّ الإرواء بالمصل الفيزيولوجي بمقدار 5 مل، ثم ب EDTA 17% بمقدار 20 مل، ثم بالمصل الفيزيولوجي 10 مل، ثم جفقت القناة بالأقماع الورقية. وهنا قسّمت العينة عشوائياً إلى مجموعتين: المجموعة الأولى: مجموعة الخثرة الدموية: تمّ التحريض على النزف بإدخال مبرد k 25 محني عند نهايته بحيث يتجاوز الطول العامل بمقدار 3 ملم، وفتله 3-4 مرّات مع عقارب الساعة ثم بعكسها إلى أن يحدث النزف داخل القناة حتّى يملأها إلى ما دون مستوى الملتقى المينائي الملاطي ب 3 ملم، الشكل (1).



الشكل (1): التحريض على النزف

المجموعة الثانية: مجموعة الخثرة الدموية مع الكيتوزان: تم التحريض على النزف بالطريقة نفسها في المجموعة الأولى لكن دون ملء القناة، ثم حُقن هلام الكيتوزان الذي سبق تحضيره، الشكل (2).



الشكل (4): محلول الكيتوزان على الرجاجة المغنطة

ثم عدّل الـ pH باستخدام هيدروكسيد الصوديوم NaOH بتركيز N4 ليكون 5.5، وعقّم بالأشعة فوق البنفسجية، وحفظ في وعاء زجاجي في البرّاد ريثما يستخدم. ويبين الشكل (5) هلام الكيتوزان بعد تحضيره.



الشكل (6): هلام الكيتوزان

المتابعة: استدعي المرضى بعد شهر، و3، و6، و12، و18 شهراً للمتابعة والفحص السريري والشعاعي، والاعتماد على نتائجهما لتتوزع على أربع فئات وفق معايير النّجاح السريري في مؤشرات ضبط الجودة المنشورة من قبل جمعية طبّ الأسنان الأمريكيّة وذلك وفق الآتي:

1-نجاح: الحالة التي تقرّر فيها شعاعياً اختفاء الآفة نهائياً، وكانت السنّ سليمةً سريريّاً دون أعراضٍ أو علامات.



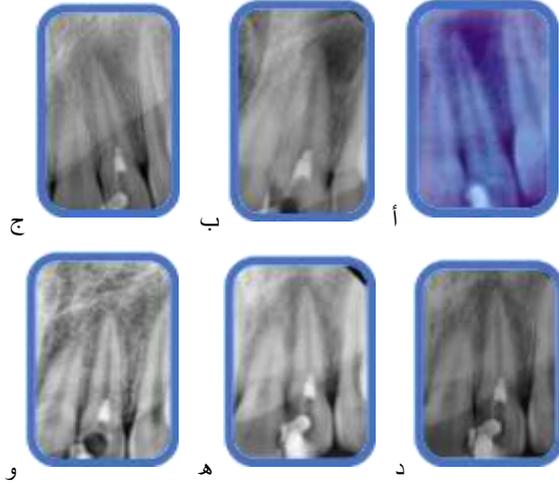
الشكل (2): حقن هلام الكيتوزان

وأزيل الزائد بحيث يصل إلى ما تحت مستوى الملتقى المينائي الملاطي بحوالي 3 ملم. وبعد هذه المرحلة طبقت خطوات العمل نفسها في المجموعتين، وطبقت مادة خماسي الأكاسيد المعدنية من شركة (SHAM Dentico) بسماكة 3 ملم تقريباً بعد مزج مسحوقها بالماء المقطّر، الشكل (3)



الشكل (3): مادة MO5

وغطيت بقطنه رطبة، وختمت بترميم مؤقت. وفي الجلسة التالّثة بعد 24 ساعة أزيلت القطنه، وتمّ التّأكد من صلابة مادة MO5، ورممت السنّ ترميماً نهائياً بالإسمنت الرّجاجي الشّارديّ GIC والكومبوزيت. طريقة تحضير الكيتوزان: حضّر الكيتوزان في جامعة دمشق، في كليّة العلوم، بقسم البيولوجية، إذ وزن 300 مغ من الكيتوزان ذي الوزن الجزيئي المرتفع من شركة (Sigma- Aldrich)، ومزج مع 15 مل من حمض الخلّ بتركيز 2%، وتمّ النّحرك لمدة 24 باستخدام الرّجاجة المغنطة، الشكل (4).



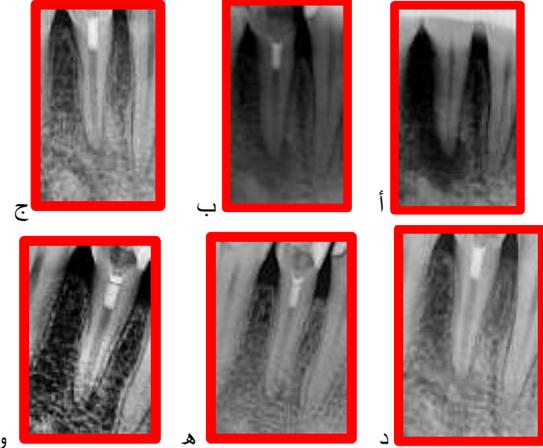
الشكل (7): مراقبة حالة سقالة كيتوزان مع الخثرة الدموية: أ: قبل المعالجة، ب: بعد المعالجة، ج: بعد 3 أشهر، د: بعد 6 أشهر، هـ: بعد 12 شهراً، و: بعد 18 شهراً
 دوّنت النتائج التي حُصل عليها، وحلّلت إحصائياً باستخدام برنامج SPSS الإصدار 13.0 عند مستوى الدلالة $p \leq 0.05$ ، ومستوى الثقة 95% وأجري اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة نجاح المعالجة بين المجموعة الأولى؛ وهي مجموعة الخثرة الدموية، والمجموعة الثانية؛ وهي مجموعة الخثرة الدموية مع الكيتوزان وفقاً للفترة الزمنية المدروسة.

2-تطوّر نحو الشفاء: الحالة التي تقرّر فيها شعاعياً نقصان حجم الآفة دون الاختفاء التام، وكانت السنّ سليمةً سريريّاً دون أعراضٍ وعلامات.

3-شكّ: الحالة التي بقي فيها حجم الآفة كما هو شعاعياً مع عدم وجود أعراض أو علامات.

4-فشل: الحالة التي زاد فيها حجم الآفة شعاعياً أو أنّ الآفة الموجودة أصلاً لم يتبدّل حجمها مع وجود أعراض أو علامات.

يبين الشّكلان (6) و(7) مراقبة حالة خثرة دموية وحالة خثرة دموية مع كيتوزان على الترتيب.



الشكل (6): مراقبة حالة سقالة الخثرة الدموية: أ: قبل المعالجة، ب: بعد المعالجة، ج: بعد 3 أشهر، د: بعد 6 أشهر، هـ: بعد 12 شهراً، و: بعد 18 شهراً.

النتائج والدراسة الإحصائية:

وُدِرَسَ تأثير السقالة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة في درجة نجاح المعالجة، فقد تمَّ بدايةً حساب النسبة المئوية لتكرارات درجة النجاح في المجموعتين خلال الفترات الزمنية المدروسة، وكانت على النحو الآتي: بلغت نسبة النجاح الكلي (نجاح، في طور الشفاء) في المجموعة الأولى خلال الفترة 6 أشهر، و12 شهراً، و18 شهراً (80%، 100%، 90%)، وتوزعت على النحو الآتي: (80% في طور الشفاء، 0% نجاح) (30% في طور الشفاء، 70% نجاح) (10% في طور الشفاء، 80% نجاح) في حين بلغت نسبة النجاح الكلي في المجموعة الثانية خلال الفترات السابقة نفسها (100%، 100%، 100%)، وتوزعت على النحو الآتي: (90% في طور الشفاء، 10% نجاح) (70% في طور الشفاء، 30% نجاح) (0% في طور الشفاء، 100% نجاح) كما في الجدول (2):

تألّفت عينة الدراسة السريرية من 20 سناً دائمةً وحيدة القناة، ومستقيمة ومكتملة الذروة ذات آفاتٍ ذروية، وقسمت عشوائياً إلى مجموعتين متساويتين وفقاً للسقالة المستخدمة بنسبة 50% من العينة لكل مجموعة، والمجموعة الأولى: الخثرة الدموية، والمجموعة الثانية الكيتوزان مع الخثرة الدموية. وزُجبت درجة نجاح المعالجة بإعادة التروية في خمس فتراتٍ زمنيةٍ مختلفةٍ (بعد شهرٍ واحد، بعد 3 أشهر، بعد 6 أشهر، بعد 12 شهراً، بعد 18 شهراً) لكل سن في عينة الدراسة السريرية. وقد أُعطيت كل درجةٍ من درجات نتيجة المعالجة قيمةً متزايدةً تصاعدياً وفقاً لدرجة الشفاء كما في الجدول (1).

الجدول (1): درجات نجاح المعالجة المعتمدة

في عينة الدراسة والقيمة الموافقة المعطاة لكل درجة

درجة نجاح المعالجة اللبّية	القيمة الموافقة المعطاة
فشل	0
شك	1
في طور الشفاء	2
نجاح	3

الجدول (2): يبين نتائج مراقبة درجة الشفاء في عينة البحث وفقاً لنوع السقالة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة

الفترة الزمنية	نوع السقالة المستخدمة	عدد الأسنان				النسبة المئوية				
		فشل	شك	في طور الشفاء	شفاء	المجموع	فشل	شك	في طور الشفاء	شفاء
بعد شهر واحد	خثرة دموية مع كيتوزان	0	6	4	0	10	0	40.0	0	100
بعد ثلاثة أشهر	خثرة دموية فقط	0	10	0	0	10	0	0	0	100
بعد ستة أشهر	خثرة دموية مع كيتوزان	0	3	7	0	10	0	70.0	0	100
بعد ثمانية أشهر	خثرة دموية فقط	0	3	7	0	10	0	70.0	0	100
بعد اثني عشر شهراً	خثرة دموية مع كيتوزان	0	0	9	1	10	10.0	90.0	0	100
بعد ثمانية عشر شهراً	خثرة دموية فقط	0	2	8	0	10	0	80.0	0	100
بعد ثمانية عشر شهراً	خثرة دموية مع كيتوزان	0	0	7	3	10	30.0	70.0	0	100
بعد ثمانية عشر شهراً	خثرة دموية فقط	0	0	3	7	10	70.0	30.0	0	100
بعد ثمانية عشر شهراً	خثرة دموية مع كيتوزان	0	0	0	10	10	100	0	0	100
بعد ثمانية عشر شهراً	خثرة دموية فقط	0	1	1	8	10	80.0	10.0	10.0	100

والسقالات (Hargreaves, K. M et al, 2008)، ومن أجل خلق بيئة مجهرية مفضلة لهجرة الخلايا الجذعية وتكاثرها وتميزها يجب توفر السقالة التي تؤمن التوجيه المكاني للخلايا وتسهل تحرر عوامل النمو (Lv, H, et al, 2018). إذاً يعد وجود سقالة ثلاثية الأبعاد مطلباً أساسياً للتجدد الحيوي للنسج، وفي إعادة التروية عادةً ما تكون السقالة المعتمد عليها هي الخثرة الدموية (Eltawila, A M, & El Backly, R, 2019)، التي يمكن الحصول عليها من خلال إدخال مبرد إلى القناة الجذرية بحيث يتجاوز النقبه الذروية ويتم التحريض على النزف عن طريق تخريش النسج حول الذروة (Banchs, F. & Trope, M, 2004)، ومع فعالية هذه الطريقة إلا أن للخثرة عدة سلبيات منها عدم الاستقرار (Moreira, M. S, et al 2021)، ولا يمكن دائماً الحصول على نرف كافٍ ضمن القناة (Garcia-Godoy F & Murry PE, 2012)، ونظراً لكون الكيتوزان ذا إمكانيات واعدة كسقالة في الطب التجديدي بسبب ما يملكه من خواص (Zein, N et al, 2019)، وما أظهر من تأثير

كما أُجري اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة النجاح بين المجموعة الأولى والمجموعة الثانية وفقاً للفترة الزمنية المدروسة، وقد بين الاختبار أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة 0.05 مهما كانت الفترة الزمنية المدروسة، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات درجة الشفاء بين مجموعتي نوع السقالة المستخدمة المدروسة (خثرة دموية مع كيتوزان، وخثرة دموية فقط)، ومهما كانت الفترة الزمنية المدروسة في عينة البحث.

المناقشة:

تعدّ المعالجة اللبية التجديدية ثورة في طب الأسنان من حيث إن السنّ غير الحية قد تستعيد وظائفها خلال معالجة القناة اللبية (Murray, P. E., et al, 2007)، وهي تعتمد على مبادئ الهندسة النسيجية (Langer, R, & Vacanti, J. P, 1993) التي تتطلب التخلص من العوامل المرضية، والحفاظ على الخلايا الجذعية، ووجود عوامل النمو

لئلا تتأثر توعية وتعصيب الأسنان بشكلٍ سلبيّ إذا كان قياس الدروة صغيراً (Yang, J., et al, 2016) إضافة إلى ما ذكر في مراجعة Fang وزملائه أن قياس الدروة المتراوح بين 0.5 إلى 1 مم أعطى نسبة النجاح الأكبر في المعالجات اللبّية التجدّدية (Fang, Y., et al, 2018). وفي الدراسة الحالية تبين فعالية المعالجة بإعادة التروية في تحقيق أهداف المعالجة اللبّية التقليدية بالنسبة لشفاء الآفات بغض النظر عن نوع السقالة المستخدمة (خثرة دموية فقط، وخثرة دموية مع كيتوزان) إذ لم تكن هناك فروق دالة إحصائية بين المجموعتين مع تفوق سقالة الكيتوزان عند مقارنة النسبة المئوية الكلّية. ويعود تحقيق المجموعتين لشفاء الآفات إلى طريقة القضاء على الإنتان التي ذكرت سابقاً، ومن جهة أخرى إلى إجراءات التجدّد حيث يؤدي إحداث زريف درويّ إلى قناة الجذر إلى بيئة مناسبة لتجدّد اللبّ، غنيّة بالخلايا الجذعيّة الذاتيّة للمضيف، وعوامل النّمّو (Xu, Q, & Li, Z. 2018)، ومصدر الخلايا الجذعيّة الموجودة في الخثرة الدّمويّة هو المنطقة حول الدرويّة (Chrepa V et al, 2015) بما فيها الآفة_ (Hargreaves KM et al, 2021)، فقد وجد ارتفاع كبير في واسمات تلك الخلايا في عيّنة الدّم المأخوذة ضمن القناة إذا قورنت بعينة الدّم الجهازّي (Chrepa V et al, 2015)، أما عوامل النّمّو فإنّ الخثرة الدّمويّة تحتوي على عوامل النّمّو المشتقّة من الصّفّيات (Lubkowska, A et al, 2012)، ويستفاد أيضاً من عوامل النّمّو ضمن قالب العاجيّ التي تتحرّر بعد إزالة التّمعدن في جدران القناة باستخدام EDTA (Galler, K.M et al, 2015). أما بالنسبة لعنصر السقالة ففي المجموعة الأولى عملت الخثرة الدّمويّة المتشكّلة كسقالة ربّما سمحت بنّمّو النسيج بشكل ثلاثيّ الأبعاد (Hargreaves KM et al, 2008). أما في المجموعة الثّانية فقد عمل هلام الكيتوزان كسقالة، فهو

إيجابيّ في الخلايا الجذعيّة وتمايزها في الدّراسات المخبريّة كدراسات: (Zhang, J et al, 2016) و (Aksel, H et al, 2020) وأجري هذا البحث لمعرفة انعكاس تلك الخصائص على نتائج التّطبيق السريريّ، ولا بدّ بدايةً من ذكر تأثير حجم الآفة في شفاؤها؛ إذ إن حجم الآفات المتوسّط سيساهم في الحصول على الشفاء، فالآفات بمساحة 200 مم² غالباً ما تكون كياساً، وليست ورماً حبيبيّاً (Natkin, E et al, 1984)، وهي تحتاج إلى تداخلٍ جراحيّ، ومع وجود جدلٍ حول الاختلاف بين إنذار الآفات الصغيرة والكبيرة بعد المعالجة (Çalışkan, M.K. 2004) إلّا أنّه يلاحظ انخفاض في معدّل نجاح المعالجات اللبّية عندما يكون قطر الآفة أكبر من 5 مم (Bornstein, M. M, et al, 2015)، واستمرّت المراقبة في هذا البحث 18 شهراً حيث لوحظ أن معظم الآفات التي شفيت في النهاية قد شفيت أو في طور الشفاء خلال مدّة أقلّ؛ وهي 12 شهراً. ونحتاج في إعادة التروية إلى درجة من تعقيم القناة قد تفوق التّعقيم في المعالجة اللبّية التقليديّة، ففي هذا البحث استخدم للإرواء هيبوكلوريت الصوديوم NaOCl بتركيز 2.5%، وهو ذو خواصّ مشابهة لتركيز 5.25%، لكنّه ذو سمّيّة أقلّ على الخلايا الجذعيّة (Marion, J. J. et al, 2012). واستكمل التّعقيم بتطبيق الضّماد الثّلاثيّ المؤلف من سيبروفلوكساسين، وميترونيدازول، وصاد حيويّ من زمرة التتراسكليتات هو الدوكسي ساكليتيد لعدم توفّر المينوسايتكليت (Sato, I. et al, 1996)، مع محلّ للمزيج هو بروبولين غليكول؛ لأنّ حلّه بالماء قد يؤدي إلى تخريبه (Petrino, J., et al, 2010). إنّ هذا الضّماد يقضي على الجراثيم حتّى في طبقات العاج العميقة (Sato, I., et al, 1996)، وهناك دراسات عدته أقوى من ضماماء الكالسيوم (Adl, A., et al, 2012). وبالنسبة إلى تحضير القناة فقد أنجز بحيث يصل قياس الدروة إلى 60-80،

يعزز عندما يكون بتماس مع الخلايا الجذعية قابليتها للحياة والتصاقها وتكاثرها (Soares, D. G *et al*, 2017)، ويحث على تكاثر مصورات اللبف (Croisier, F & Jérôme, C) (2013)، وهو ذو قدرة على تجديد النسيج الضام (Erpaçal B *et al*, 2019) حيث إنه مفيد في عملية تولد الأوعية angiogenesis، العملية المهمة لدعم وظيفة النسيج الرخوة المتجددة (Ko, Y. G., *et al*, 2010)، ويزداد تهلم هلام الكيتوزان عندما يصبح بدرجة حرارة الجسم، وهذا يزيد من هجرة الخلايا كما أن وجود المسام المترابطة في بنيته يسهل تغذيتها (Moreira, M. S, *et al*, 2021). وربما جعلت هذه الخصائص التي يتمتع بها الكيتوزان أن يتكون نسيج ضام أكثر ختماً للمنظومة القنوية الجذرية. ويضاف إلى كل ذلك كونه مضاداً للجراثيم (Croisier, F, & Jérôme, C 2013)، وهذا يزيد تعقيم الأوعية الجذرية، ويرفع نسبة نجاح المعالجة. إن الدراسات المنشورة حالياً حول موضوع المعالجات التجديدية في الأسنان مكتملة الذروة ذات الآفات الذروية محدودة، وتقتصر في معظمها على استخدام الخثرة الدموية كسقالة، وقد اتفقت مع دراستنا من حيث نجاح الحالات، وشفاء الآفات، وهذه الدراسات هي:

-سلسلة حالات Saoud, T. M وزملائه عام 2016 على 7 أسنان لوحظ بعض المراقبة من 8 إلى 26 شهراً، وشفاء في سنين، وتطور نحو الشفاء في 5 حالات (Saoud (TM, *et al*, 2016).

-دراسة El-Kateb, N.M وزملائه عام 2020 على 18 حالة لوحظ بعد المراقبة لمدة 12 شهراً شفاء جميع الحالات (El-Kateb, N.M.*et al*, 2020).

أما بالنسبة للأبحاث المتعلقة باستخدام الكيتوزان فلم توجد دراسات عن تطبيقه على أسنان مكتملة الذروة ذات آفات ذروية، وإنما أجريت دراسات نسيجية ومخبرية تتعلق به.

الاستنتاجات:

وبناءً على الموجودات السريرية والشعاعية في هذا البحث يمكن استنتاج أن تقنية إعادة التروية المتضمنة تعقيم القناة بمعجون الضماد الثلاثي وبسوائل الإرواء، ومن ثم الحث على النزف ضمن القناة مع استخدام الكيتوزان أو دونه، وهي تقنية فعالة في تحقيق شفاء الآفات الذروية، مع تفوق بسيط للكيتوزان، وربما يكون من الممكن في المستقبل تطبيق المعالجة اللبية التجديدية على الأسنان مكتملة الذروة؛ إذ تصبح بديلاً عن المعالجة اللبية التقليدية ولاسيما مع تطور التقنيات والمواد المستخدمة بما فيها السقالات، وذلك بعد القيام بالمزيد من الأبحاث السريرية الموسعة وطويلة الأمد.

-تقرير Nagas, E وزملائه عام 2018، على سنين لوحظ تناقص حجم الآفات، وبعد 60 شهراً لم توجد أعراض (Nagas, E. *et al*, 2018).

-سلسلة حالات Abou Samra, R. A وزملائها عام 2018 على 3 أسنان، وكانت النتيجة شفاء الآفات بعد 9 أشهر (Abou Samra, RA, *et al*, 2018).

References:

1. Adl A, Shojaee NS, & Motamedifar M. (2012) **A Comparison between the Antimicrobial Effects of Triple Antibiotic Paste and Calcium Hydroxide Against Entrococcus Faecalis.** Iran Endod J.;7 :(3):149-55
2. Abou Samra, R. A., El Backly, R. M., Aly, H. M., Nouh, S. R., & Moussa, S. M. (2018). **Revascularization in mature permanent teeth with necrotic pulp and apical periodontitis: case series.** Alex. Dent. J., 43(2), 7-12
3. Aksel, H., Mahjour, F., Bosaid, F., Calamak, S., & Azim, A. A. (2020). **Antimicrobial activity and biocompatibility of antibiotic-loaded chitosan hydrogels as a potential scaffold in regenerative endodontic treatment.** J Endod, 46(12), 1867-1875.
4. -Alshehadat S A, Thu H A, Abdul Hamid S Sh, Nurul A A, Abdul Rani S & Ahmad A. (2016) **Scaffolds for dental pulp tissue regeneration: A review,** J. Int. Dent. Medical Res., 2(1): 1–12
5. American Association of Endodontists, (2016). **Clinical Considerations for a Regenerative Procedure.**; American Association of Endodontists: Chicago, IL, USA
6. -American Dental Association, (2010) **Practical Guide to Dental Procedure Codes,** American Dental Association, Chicago, IL, USA.
7. --Banchs F& Trope M. (2004) **Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol?** J Endod: 30: 196- 200.
8. -Begue-Kirn, C. et al. (1992) **Effects of dentin proteins, transforming growth factor beta 1 (TGF beta 1) and bone morphogenetic protein 2 (BMP2) on the differentiation of odontoblast in vitro,** Int J Dev Biol: 36:(4) 491- 503.
9. -Bornstein, M. M., Bingisser, A. C., Reichart, P. A., Sendi, P., Bosshardt, D. D., & Von Arx, T. (2015). **Comparison between radiographic (2-dimensional and 3-dimensional) and histologic findings of periapical lesions treated with apical surgery.** J Endod, 41(6), 804-11.
10. -Çalışkan, M. K. (2004). **Prognosis of large cyst-like periapical lesions following nonsurgical root canal treatment: a clinical review.** Int Endod J, 37(6), 408-16.
11. -Cicciù, M., Fiorillo, L., & Cervino, G. (2019). **Chitosan use in dentistry: A systematic review of recent clinical studies.** Marine drugs, 17(7), 417
12. -Chrepa, V, Henry MA, Daniel BJ, & Diogenes, A. (2015) **Delivery of apical mesenchymal stem cells into root canals of mature teeth,** J Dent Res: 94 :(12): 1653-59.
13. -Croisier, F., & Jérôme, C. (2013). **Chitosan-based biomaterials for tissue engineering.** Eur Polym J, 49(4), 780-92
14. -Dhandayuthapani, B., Yoshida, Y., Maekawa, T., & Kumar, DS. (2011). **Polymeric scaffolds in tissue engineering application: a review.** Int J Polym Sci, 2011
15. El-Kateb, N. M., El-Backly, R. N., Amin, W. M., & Abdalla, A. M. (2020). **Quantitative assessment of intracanal regenerated tissues after regenerative endodontic procedures in mature teeth using magnetic resonance imaging: a randomized controlled clinical trial.** J endod, 46(5), 563-74.
16. -Eltawila, A. M., & El Backly, R. (2019). **Autologous platelet-rich-fibrin-induced revascularization sequelae: Two case reports.** World J Stomatol, 7(3), 28-38
17. -Erpaçal, B., Adigüzel, Ö., Cangül, S., & Acartürk, M. (2019). **A general overview of chitosan and its use in dentistry.** Biochem Biophys Res Commun 5(1), 1-11
18. Fang Y, Wang X, Zhu J, Su, C, Yang Y & Meng L. (2018). **Influence of Apical Diameter on the Outcome of Regenerative Endodontic Treatment in Teeth with Pulp Necrosis: A Review.** J Endod, 44(3), 414–31

19. -Friedenstein, A. J, Chailakhyan RK, Latsinik NV, & Keiliss-Borok, IV. (1974) **Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. Cloning in vitro and retransplantation in vivo.** Transplantation; 17(4), 331-40.
20. Galler, K.M.; Buchalla, W.; Hiller, K.-A.; Federlin, M.; Eidt, A.; Schiefersteiner, M.; et al, (2015), **Influence of root canal disinfections on growth factor release from dentin.** J. Endod., 41, 363-368
21. -Garcia-Godoy, F., Murray, P. E. (2012); **Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth.** Dent Traumatol 28(1):33-41.
22. -Gathani, K. M, Raghavendra SS. **Scaffolds in regenerative endodontics:a review.** Dent Res J 2016; 13(5): 379-86
23. -Guo, B., Elgsaeter, A., & Stokke, B. T. (1998). **Gelation kinetics of scleraldehyde-chitosan co-gels.** Polymer Gels and Networks, 6(2), 113-135.
24. --Hargreaves, K. M., Giesler, T., Henry, M., & Wang, Y. (2008). **Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold?** Pediatric dentistry, 30(3), 253-60.
25. -Hargreaves, K. M, Cohen S, & Berman LH. (2021) **Cohen's pathways of the pulp.** 12th ed, Missouri: USA. Mo: Mosby Elsevier.605, 1583.
26. -Huang, G. J., Gronthos, S., & Shi, S. (2009). **Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine.** J Dent Res, 88(9), 792-806.
27. -Kim, JH., Kim, Y., Shin, S. J., Park, JW., & Jung, IY. (2010). **Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report.** J Endod, 36(6), 1086-91
28. -Kim, S. G, Malek M, Sigurdsson A, & Lin LM, Kahler B. (2018) **Regenerative endodontics: a comprehensive review,** Int Endod J: 51(12):1367-88.
29. Ko, Y. G, Kawazoe N, Tateishi T, Chen G. (2010) **Preparation of chitosan scaffolds with a hierarchical porous structure.** J. Biomed. Mater. Res. B.93:341-50
30. -Kretlow, J. D., Klouda, L., & Mikos, A. G. (2007). **Injectable matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering.** Adv Drug Deliv Rev, 59(4-5), 263-73.
31. Langer, R., & Vacanti, J. P. (1993). **Tissue engineering.** Science, 260(5110), 920-6
32. Li, Z., Liu, L., Wang, L., & Song, D. (2021). **The effects and potential applications of concentrated growth factor in dentin-pulp complex regeneration.** Stem Cell Res.Ther. 12(1), 1-10.
33. -Liao J., Al Shahrani, M., Al-Habib, M., Tanaka, T., & Huang, G. T. (2011). **Cells isolated from inflamed periapical tissue express mesenchymal stem cell markers and are highly osteogenic.** J endod, 37(9), 1217-24.
34. -Lind, M. (1996) **Growth factors: possible new clinical tools A review.** Acta Orthop Scand; 67(4), 407-17.
35. Lovelace, T. W., Henry, M. A., Hargreaves, K. M., & Diogenes, A. (2011). **Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure.** J. Endod, 37(2), 133-138.
36. Lubkowska, A.; Dolegowska, B.& Banfi, G. (2012) **Growth factor content in PRP and their applicability in medicine.** J. Biol. Regul. Homeost. Agents: 26, 3S-22S.
37. --Lv, H., Chen, Y., Cai, Z., Lei, L., Zhang, M., Zhou, R., & Huang, X. (2018). **The efficacy of platelet-rich fibrin as a scaffold in regenerative endodontic treatment: a retrospective controlled cohort study.** BMC oral health, 18(1), 1-8.

38. --Marion JJC, Manhaes FC, Bajo H & Duque TM. (2012) **Efficiency of different concentrations of sodium hypochlorite during endodontic treatment. Literature review.** Dental Press Endod. ;2 :(4):32-7
39. -Mathews, S., Bhonde, R., Gupta, P. K., & Totey, S. (2011). **A novel tripolymer coating demonstrating the synergistic effect of chitosan, collagen type 1 and hyaluronic acid on osteogenic differentiation of human bone marrow derived mesenchymal stem cells.** Biochem Biophys Res Commun, 414(1), 270-6
40. Mi, F. L., Shyu, S. S., Peng, C. K., Wu, Y. B., Sung, H. W., Wang, P. S. et al. (2006). **Fabrication of chondroitin sulfate-chitosan composite artificial extracellular matrix for stabilization of fibroblast growth factor.** J Biomed Mater Res A, 76(1), 1-15.
41. -Moore, K. A. & Lemischka, I. R. (2006). **Stem cells and their niches,** Science;311(5769), 1880-5.
42. --Moreira, M. S., Sarra, G., Carvalho, G. L., Gonçalves, F., Caballero-Flores, H. V., Pedroni, A. C. F., & Marques, M. M. (2021). **Physical and Biological Properties of a Chitosan Hydrogel Scaffold Associated to Photobiomodulation Therapy for Dental Pulp Regeneration: An In Vitro and In Vivo Study.** BioMed Research International, 2021.
43. -Murray, P. E., Garcia-Godoy, F., & Hargreaves, K. M. (2007). **Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action.** J. Endod, 33(4), 377-90.
44. Nagas, E., Uyanik, M. O., & Cehreli, Z. C. (2018). **Revitalization of necrotic mature permanent incisors with apical periodontitis: a case report.** Restor. Dent. Endod, 43(3), e31.
45. -Natkin, E., Oswald, R. J., & Carnes, L. I. (1984). **The relationship of lesion size to diagnosis, incidence, and treatment of periapical cysts and granulomas.** Oral surgery, oral medicine, oral pathology, 57(1), 82
46. Paryani, K., & Kim, S. G. (2013). **Regenerative endodontic treatment of permanent teeth after completion of root development: a report of 2 cases.** J Endod, 39(7), 929-34.
47. Petrino, J. A., Boda, K. K., Shambarger, S., Bowles, W. R., & McClanahan, S. B. (2010). **Challenges in regenerative endodontics: a case series.** J Endod, 36(3), 536-41.
48. Peres, M. A., Macpherson, L. M., Weyant, R. J., Daly, B., Venturelli, R., Mathur, M. R., et al. (2019). **Oral diseases: a global public health challenge.** The Lancet, 394(10194), 249-60.
49. Qasim, SB., Zafar, MS., Najeeb, S., Khurshid, Z., Shah, AH., Husain, S., & Rehman, IU. (2018). **Electrospinning of Chitosan-Based Solutions for Tissue Engineering and Regenerative Medicine.** Int. J. Mol. Sci, 19(2), 407.
50. Rodríguez-Vázquez, M., Vega-Ruiz, B., Ramos-Zúñiga, R., Saldaña-Koppel, D. A., & Quiñones-Olvera, L. F. (2015). **Chitosan and its potential use as a scaffold for tissue engineering in regenerative medicine.** Biomed Res. Int., 2015.
51. Saoud, T. M., Martin, G., Chen, Y. H. M., Chen, K. L., Chen, C. A., Songtrakul, K. et al. (2016). **Treatment of mature permanent teeth with necrotic pulps and apical periodontitis using regenerative endodontic procedures: a case series.** J Endod, 42(1), 57-65.
52. Sasaki, H., Hirai, K., M Martins, C., Furusho, H., Battaglino, R., & Hashimoto, K. (2016). **Interrelationship between periapical lesion and systemic metabolic disorders.** Curr. Pharm. Des, 22(15), 2204-15.
53. --Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M & Hoshino E. (1996) **Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ.** Int Endod J.;29 :(2):118-24

54. Schmalz, G., Widbiller, M., & Galler, K. M. (2020). **Clinical perspectives of pulp regeneration**. J Endod, 46(9), S161-S174.
55. -Seo, B. M, et al. (2004) **Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament**, Lancet; 364 :(9429): 149- 55.
56. -Shi C., Zhu, Y., Ran, X., Wang, M., Su, Y., & Cheng, T. (2006). **Therapeutic potential of chitosan and its derivatives in regenerative medicine**. J Surg Res, 133(2), 185-92.
57. -Soares, D. G., Rosseto, H. L., Scheffel, D. S., Basso, F. G., Huck, C., Hebling, J., & de Souza Costa, C. A. (2017). **Odontogenic differentiation potential of human dental pulp cells cultured on a calcium-aluminate enriched chitosan-collagen scaffold**. Clinical oral investigations, 21(9), 2827-39
58. -Topcuoglu G, Topcuoglu HS. (2016) **Regenerative endodontic therapy in a single visit using platelet-rich plasma and biodentine in necrotic and asymptomatic immature molar teeth: a report of 3 cases**, J Endod; 42(9): 1344-46.
59. Xu, Q., & Li, Z. (2018). **Regenerative endodontic treatment of a maxillary mature premolar**. Case Rep. Dent, 2018, 1-5
60. -Yang J, Yuan G, & Chen Zhi, (2016) **Pulp Regeneration: Current Approaches and Future Challenges**, Front Physiol.; 7: 58
61. Zein, N., Harmouch, E., Lutz, J. C., Fernandez De Grado, G., Kuchler-Bopp, S., Clauss, F., & Fioretti, F. (2019). **Polymer-based instructive scaffolds for endodontic regeneration**. Materials, 12(15), 2347.
62. --Zhang, J., Lu, X., Feng, G., Gu, Z., Sun, Y., Bao, G., & Cui, Z. (2016). **Chitosan scaffolds induce human dental pulp stem cells to neural differentiation: potential roles for spinal cord injury therapy**. Cell Tissue Res, 366(1), 129-42.

