

تأثير استخدام الليفين الغني بالصفائح (PRF) كسقالة في إعادة التروية الدموية في شفاء الآفات الذروية في الأسنان مكتملة الذروة: دراسة سريرية

هبة وهبة*

محمد سالم ركاب**

الملخص

خلفية البحث وهدفه: كانت إجراءات إعادة التروية مقتصرة على الأسنان المتموتة غير مكتملة الذروة، أما في الأسنان المتموتة المكتملة فما زالت المعالجة الأكثر قبولاً هي المعالجة اللبّية التقليدية غير الجراحية، إلا أن أنظار الباحثين اتجهت إلى تطبيق إعادة التروية عليها والبدء بالدراسات لتطوير بروتوكولات العمل للحصول على أفضل النتائج.

من المكونات الأساسية للمعالجات التجديدية (ومنها إعادة التروية) وجود السقالة المناسبة التي تسمح بالتصاق الخلايا الجذعية وتكاثرها وتمايزها، وعادة ما تكون السقالة المستخدمة هي الخثرة الدموية، فيما بعد استخدمت مشتقات الدم الأخرى كالليفين الغني بالصفائح بسبب كونه من الليفين القادر على التحرير المستمر لعوامل النمو والسايوتوكينات الالتهابية، إن الهدف من هذه الدراسة تقييم تأثير استخدام الليفين الغني بالصفائح على شفاء الآفات الذروية عند استخدامه كسقالة في إعادة تروية الأسنان مكتملة الذروة بالمقارنة مع سقالة الخثرة الدموية.

مواد البحث وطرقه: تألفت العينة من 20 سناً دائمة مكتملة الذروة، وحيدة الجذر ومستقيمة، ومتموتة 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 وحُضرت ميكانيكياً وكيميائياً وطُبق ضماد الصادات الثلاثي، وفي الجلسة الثانية قسّمت العينة عشوائياً إلى مجموعتين متساويتين مختلفتين في السقالة المستخدمة، وفي المجموعة الأولى تم التحريض على النزف ضمن القناة للحصول على الخثرة الدموية، وفي المجموعة الثانية تم التحريض على النزف وتطبيق الليفين الغني بالصفائح، ثم خُتمت جميع الأسنان في المجموعتين بخماسي الأكاسيد المعدنية وبالإسمنت الزجاجي الشاردي ورُمّت ترميماً نهائياً بالكومبوزيت، وتمت متابعة الحالات على فترات (شهر، 3، 6، 12، 18 شهراً)، قِيم خلالها وجود أعراض أو علامات وشفاء 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 كلٌّ من المجموعتين المدروستين نجاحاً في المعالجة بإعادة التروية دون فروقٍ دالةٍ 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 مع الليفين الغني بالصفائح مع تفوق بسيط لليفين الغني بالصفائح. الكلمات المفتاحية: إعادة التروية، أسنان مكتملة الذروة، خثرة دموية، الليفين الغني بالصفائح.

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

**أستاذ في قسم مداواة الأسنان - كلية طب الأسنان - جامعة دمشق dr.alcyone@gmail.com

The Effect of Using Platelet Rich Fibrin (PRF) as a Scaffold in Revascularization on Apical Periodontitis Healing in Mature Teeth: Clinical Study

Heba Wahbeh *

Mhd. Salem Rekab **

Abstract

Background & aim: Revascularization procedure was limited to immature necrotic teeth treatment, 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. Usually, blood clot is used as a scaffold, then blood derivatives such as platelet rich fibrin (PRF) have been started to be used due to its fibrin composition capable of sustained release of growth factors and inflammatory cytokines. The aim of this study is to evaluate the effectiveness of platelet rich fibrin 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 PRF 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 ≤ 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 PRF, with slightly favorable results when PRF is used as scaffold.

Keywords: Revascularization, Mature teeth, Blood clot, Platelet Rich Fibrin (PRF).

* PhD student in Department of Operative Dentistry and Endodontics, Faculty of dentistry, Damascus University e-mail: dr.alcyone@gmail.com

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

المقدمة والمراجعة النظرية:

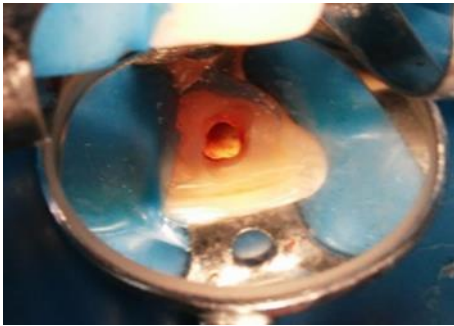
Abou Samra, R. A, *et al*,) (Nagas, E. *et al*, 2018)
 Paryani, K. &) (Saoud, T. M, *et al*, 2016) (2018
 Kim, SG. 2013) حيث أنه وفقاً للجمعية الأمريكية
 لأخصائيي المعالجة اللبّية فإنّ الهدف الرئيس للمعالجة
 اللبّية التّجديديّة هو زوال الأعراض والعلامات وشفاء الآفات
 حول الذّروية أي هو هدف المعالجة اللبّية التّقليديّة نفسه
 (American Association of Endodontists, 2016) إلاّ
 أنّه في المعالجة التّجديديّة تملأ القناة بنسيج حيّ عوضاً عن
 الموادّ الصنعيّة الغريبة عن الجسم (Saoud, T. M, *et al*,
 2016). تعرّف إعادة التّروية الدّمويّة بأنّها عودة التّوعيّة
 الدّمويّة إلى نسيج أو عضو (Huang, G. T. J. *et al*,)
 (2009)، وفي المداواة اللبّية يستخدم مصطلحاً المعالجة
 اللبّية التّجديديّة وإعادة التّروية بشكل تبادليّ (Kim, S. G.)
 (2018 *et al*،) لأنّه من الواضح اعتماد التقنيّات المستخدمة
 في إعادة التّروية على عناصر الهندسة النسيجيّة والتي لا بدّ
 من توفّرها لتحقيق التّجدد (Hargreaves, K. M., *et al*,)
 (2021) وهي الخلايا الجذعيّة (Chrepa, V. *et al*, 2015)
 وعوامل النّمّو ((Begue-Kirn, C. *et al*, 1992) والسقالات
 (Topcuoglu, G. *et al*, 2016). الخلايا الجذعيّة Stem
 cells: تعرّف بأنّها خلايا غير متخصصة، قادرة على
 التّمايز إلى خلايا النّسج التي نشأت منها (Moore, K. A.)
 (2006 & Lemischka, I. R.)، توجد الخلايا الجذعيّة
 المشاركة في المعالجة التّجديديّة في منطقة حول الذّروة،
 يذكر منها الخلايا الموجودة حول ذروة الأسنان مكتملة
 الذّروة تحديداً وهي: الخلايا الجذعيّة في الرّباط حول السنّ
 (Seo, B. M. *et al*, 2004) والخلايا السلف الذّروية
 الملتهبة (Liao, J. *et al*, 2011)، والخلايا الجذعيّة في
 نقيّ العظم (Friedenstein, A. J. *et al*, 1974) .
 عوامل النّمّو Growth factors: هي بروتينات ترتبط إلى
 مستقبلات موجودة على سطح الخلايا الهدف لتنظيم
 نشاطاتٍ خلويّة عديدة (Lind, M. 1996).

أصبح تموت اللبّ من أكثر المشاكل الصحيّة انتشاراً وهو
 أحد مضاعفات النّخر والرّضّ والمعالجات اللبّية غير
 الصحيّة (Peres, M. A., *et al*, 2019)، لا يؤثر تموت
 اللبّ على السنّ بحدّ ذاتها فقط، بل هو مصدرٌ للإنتان
 الذي ينتشر إلى المنطقة حول الذّروية وحتّى إلى المسافات
 الوجهيّة الفكّيّة ومن المعروف أنّ هناك ارتباطاً بين
 الإنتانات الفمويّة وبعض الأمراض الجهازية كالأمراض
 القلبية الوعائيّة (Sasaki, H., *et al*, 2016). حتّى يومنا
 هذا ما تزال المعالجة اللبّية التّقليديّة المعالجة الأكثر قبولاً
 في حالات تموت اللبّ وهي تعتمد على استبدال اللبّ
 المتّموت بمادّة حاشية صنيّة (Schmalz, G., *et al*,)
 (2020)، وهذا ما يؤدي إلى زيادة هشاشة السنّ وقصافتها
 (Yang, J., *et al*, 2016) وفقدانها للنّظام الوعائيّ العصبيّ
 (Kim, S. G. *et al*, 2018)، وبالتالي التّغذية والحماية
 المناعيّة ونقل المعلومات الحسيّة (Li, Z. *et al*, 2021)،
 لذلك بدأت الهندسة النسيجيّة التي تعدّ استراتيجيّة علاجيةً
 هامّةً للاستخدام في الطبّ التّجديدي (Rodríguez-
 Vázquez, M, *et al*, 2015)، تجذب الأنظار لتطبيقها في
 مجالات طبّ الأسنان كمجال المعالجة اللبّية. تعرّف
 المعالجة اللبّية التّجديديّة بأنّها استخدام إجراءات حيويّة
 مصمّمة لاستبدال البنى المتضرّرة متضمّنة العلاج ونسج
 الجذر بالإضافة إلى خلايا المعقدّ العاجي اللبّي.
 (Hargreaves, K. M. *et al*, 2021)، وقد أظهرت آفاقاً
 واسعةً في التّطبيق السريريّ الذي اعتمد من قبل جمعيّة
 طبّ الأسنان الأمريكيّة (American Dental
 Association, 2010)، ولم يعد تطبيقها محدوداً بالأسنان
 غير مكتملة الذّروة كما كان في البداية بل بدأت تقارير
 وسلاسل الحالات حول المعالجات التّجديديّة في الأسنان
 مكتملة الذّروة تنتشر كدراسات: (Xu, Q. & Li, Z. 2018)

السقالات Scaffolds: هي بنى تدعم نمو الخلايا أي تسمح بهجرتها والتصاقها وتمايزها وتكاثرها وتؤمن البيئة المناسبة لتشكّل النسيج (Alshehadat, S. A. et al, 2016)، بشكل عام يجب أن تكون متقبلةً حيويًا وفعالةً وقابلةً للانحلال بتوافقٍ مع تشكّل النسيج الجديدة (Kretlow, J. D. et al, 2007). وظيفتها: تأمين الموقع الصحيح للخلايا الجذعية، ونقل المغذيات والغازات التي تسمح لها بالبقاء حيّةً والتكاثر وترسب القلب خارج الخلوي (Gathani, K. M, 2016). في إعادة التروية تعدّ الخثرة الدموية السقالة المعيارية (Eltawila, A. M.& El Backly, R. S 2019) والحصول عليها عن طريق الحثّ على النزف في المنطقة حول التروية من خلال التّعبية التروية (Garcia-Godoy, F. & Murray, P. E, 2012) وبذلك تصل الخلايا الجذعية الميزانثيمية إلى القناة (Lovelace, T. W, et al, 2011) وتتشكّل شبكة ثلاثية الأبعاد للبدء بعملية التجدد (Garcia-Godoy, F. & Murry, P. E, 2012). تدعى هذه الطريقة بالاستراتيجية الخالية من الخلايا Cell-free strategy أو توجيه الخلايا Cell Homing لأنها لا تعتمد على زرع خلايا جذعية بل على استقطابها من منطقة حول التروية (Yang, J. et al, 2016). مؤخرًا، زاد الاهتمام بالمواد والمنتجات الحيوية وأظهرت دراسات سابقة إمكانية استخدام أحدها أي مركّزات الصفائح Platelet concentrates في تجديد النسيج بشكل عام (Lv, H., et al, 2018)، لدورها المحتمل في تحسين الشفاء وتولّد أوعية دموية جديدة (Chignon-Sicard, B. et al, 2012). إنّ هذه المركّزات ذاتية أي مصدرها المريض نفسه وتعدّ سهلة التحضير في العيادة وتحتوي على تراكيز عالية من عوامل النمو كعامل النمو المحول بيتا TGF-b وعامل النمو الوعائي البطاني VEGF وعامل النمو المشتق من الصفائح (Mehta, S., & Watson, J. T.)

(2008). ومؤخرًا بدأ استخدامها بنجاح في إعادة التروية في الأسنان، حيث استخدم الجيل الأول من مركّز الصفائح البلاسما الغنية بالصفائح Platelet Rich Plasma (PRP) في الأسنان ذات الآفات التروية غير مكتملة التروية وقد أثبتت فعاليتها في تحسين شفاء الآفات (Torabinejad, M., & Turman, M. 2011) (Sachdeva, G. S., et al, 2015) (Bezgin, T., et al, 2015) (Jdhav, G., et al, 2012). فيما بعد استخدم الجيل الثاني من مركز الصفائح: الليفين الغني بالصفائح Platelet Rich fibrin (PRF) فهي لا تتطلب إضافة عوامل خارجية كالثرومبين كما أنّها تشكّل شبكة ليفين منتظمة تحتبس فيها الصفائح والكريات البيضاء وتشكّل مخزنًا لعوامل النمو (Lv, H., et al, 2018) التي يستمرّ تحريرها لمدة 7 إلى 14 يومًا وفي بعض الدراسات 28 يومًا متفرقةً بذلك على البلاسما الغنية بالصفائح التي يستمرّ تحرير عوامل النمو منها لمدة 7 إلى 14 ساعة (He, L., et al, 2009) إذًا فإنّ الغاية من التثقيب هي فصل مكونات الدم للتخلص من المكونات التي تعدّ غير مفيدة (غالبًا كريات الدم الحمراء) ولتركيز المكونات التي من الممكن أن تكون مفيدة (مثل مولّد الليفين/ الليفين والصفائح وعوامل النمو والكريات البيضاء) (Ehrenfest, D. M., et al, 2009)، كلّ ذلك يجعل من المنطقيّ دراستها لتصبح السقالة الحيوية المثالية في حالات إعادة التروية ومن هذه الدراسات تقارير (Shivashankar, V.Y. et al, 2012) (Yadav, P., et al, 2015) ودراسات (Narang, I., et al, 2015) (Sharma, S. et al, 2016) (Lv, H., et al, 2018) (Mittal, N., et al, 2019) التي أجريت على الأسنان غير مكتملة التروية.

الثلاثي، طبقت المادة الزابطة على الجدران الداخلية لتاج السن، (Kim JH et al, 2010)، حيث خرشت في البداية بحمض الفوسفور 37% ووضعت المادة الزابطة من شركة Crestaline الأمريكية. بعد تحضير الضماد الثلاثي، حُفّن تحت مستوى الملتقى المينائي الملاطي واستخدم مبرد k قياس 25 لإيصال الضماد إلى كامل القناة وذلك بإدخاله إلى ما قبل الطول العامل ب 2 مم وفتله عكس عقارب الساعة، نظفت بقايا الضماد من الحجرة اللببية، وختمت بالاسمنت الزجاجي الشاردي GIC. بعد 3 أسابيع، في حال عدم وجود أعراض أو علامات، تم الانتقال إلى الجلسة الثانية، وجدّد تطبيق الضماد عند وجود أعراض أو علامات. الجلسة الثانية: استخدم مخدر ليدوكائين 2% مع مقبض وعائي أدريالين 1:80000 موضعياً، وعزلت السن بالحاجز المطاطي وفتحت الحجرة، أزيل ترميم GIC ومن ثم الضماد الثلاثي بمبرد هيدستروم وتم 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: تم 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 حتى يملأها إلى ما دون مستوى الملتقى المينائي الملاطي ب 3 ملم، الشكل (1)



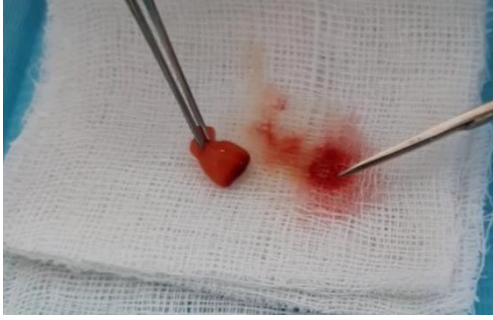
الشكل (1): التحريض على النزف

الهدف: حتى الآن ما تزال الأبحاث تظهر جدوى المعالجة اللببية التجديدية، لكن معظمها أجري على أسنان غير مكتملة الذروة، ونظراً لكون تطبيق هذه الإجراءات على الأسنان مكتملة الذروة جديداً نسبياً فمعظم ما نشر هو تقارير وسلاسل حالات ونظراً للمميزات التي تتمتع بها مركّزات الصّفيحات ومنها PRF تم اختيارها لتطبق في هذا البحث لتقييم فعاليتها في تحقيق أحد أهداف المعالجة اللببية التقليدية والتجديدية وهو شفاء الآفات الذروية عند استخدامها في إعادة التروية بالمقارنة مع الخثرة الدموية لدعم أو نفي نتائج ما نشر سابقاً.

مواد البحث وطرائقه:

العينة Sample: تألفت العينة من 20 سنّاً وحيدة القناة ومستقيمة الجذر ومكتملة الذروة ذات أفات ذروية بقياس أصغر من 1 سم على الصورة الشعاعية، قابلة للترميم التاجي دون الحاجة إلى التداخل على القناة. بعد تأكيد التشخيص بالفحص السريري والشعاعي تم الحصول على موافقة المرضى على المعالجة والالتزام بمواعيد المعالجة والمتابعة، وكانت طريقة العمل كالتالي: الجلسة الأولى: عزلت السن بالحاجز المطاطي وفتحت الحجرة اللببية ثم سبرت القناة بمبرد k وحدد الطول العامل، حضرت القناة ميكانيكياً باستخدام جهاز التحضير الآلي (x-smart) من شركة (dentsply, USA) ومبارد (Dia-Xfile) الكورية وتوبع التحضير بالمبارد اليدوية إلى قياس تراوح بين 60 إلى 80 مع الاستمرار بالتحضير الكيميائي بالإرواء البطيء ب 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، وبنفس الطريقة استخدم سائل EDTA 17% لينهي الإرواء بالمصل الفيزيولوجي، تم تجفيف القناة بالأقماع الورقية. ولتقليل حدوث التلون التالي لتطبيق معجون الضماد

بالصفائح وطبقتان واضحتان هما طبقة الليفين الغني بالصفائح وطبقة كريات الدم الحمراء، فصلت طبقة الليفين الغني بالصفائح، الشكل (4) ووضعت بين قطعتي شاش معقم لتصبح بشكل غشاء.



الشكل (4): طبقة PRF بعد فصلها عن باقي الطبقات

المتابعة: استدعي المرضى بعد شهر و3 و6 و12 و18 شهراً للفحص السريري والشعاعي والاعتماد على نتائجهما لتتوزع على أربع فئات وفق معايير النجاح السريري المذكورة في مؤشرات ضبط الجودة التي نشرت من قبل جمعية طب الأسنان الأمريكية وذلك وفق ما يلي: 1- نجاح: الحالة التي تقرّر فيها شعاعياً اختفاء الآفة نهائياً وكانت السن سليمة سريريّاً دون أعراضٍ أو علامات. 2- تطوّر نحو الشفاء: الحالة التي تقرّر فيها شعاعياً نقصان حجم الآفة دون الاختفاء التام وكانت السن سليمة سريريّاً دون أعراضٍ وعلامات. 3- شك: الحالة التي بقي فيها حجم الآفة كما هو شعاعياً مع عدم وجود أعراضٍ أو علامات. 4- فشل: الحالة التي زاد فيها حجم الآفة شعاعياً أو أنّ الآفة الموجودة لم يتبدّل حجمها مع وجود أعراضٍ أو علامات.

يبين الشكلان (5) و (6) مراقبة حالة خثرة دموية وحالة خثرة دموية مع PRF على الترتيب.

المجموعة الثانية، مجموعة الخثرة الدموية مع PRF: تمّ التحريض على النزف بنفس الطريقة في المجموعة الأولى لكن دون ملأ القناة، ودكّت قطع غشاء PRF الشكل (2) بلطفٍ بوساطة مدكات يدوية وأصبعية.



الشكل (2): قطعة من PRF في الحجرة اللبية قبل دكّها

بعد هذه المرحلة، تمّ تطبيق خطوات العمل نفسها في المجموعتين، طبقت مادة خماسي الأكاسيد المعدنية من شركة (SHAM Dentico) بسماكة 3 ملم تقريباً بعد مزج مسحوقها بالماء المقطر، الشكل (3)



الشكل (3): مادة MO5

وغطيت بقطنه رطبة، وختمت بترميم مؤقت. الجلسة الثالثة: بعد 24 ساعة أزيلت القطنه وتمّ التأكد من صلابة مادة MO5 ورممت السن ترميماً نهائياً بـ GIC والراتنج المركّب. طريقة تحضير غشاء PRF: سحب 5 مل من دم المريض ووضع في أنبوبٍ خالٍ من مضادات التخثر وثقل مباشرة، استخدمت المثقلة بسرعة 3000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق. بعد التثقيب تمّ الحصول على ثلاث طبقات، وهذه الطبقات هي: طبقة رقيقة من البلاسما الالاخلوية الفقيرة

النتائج والدراسة الإحصائية:

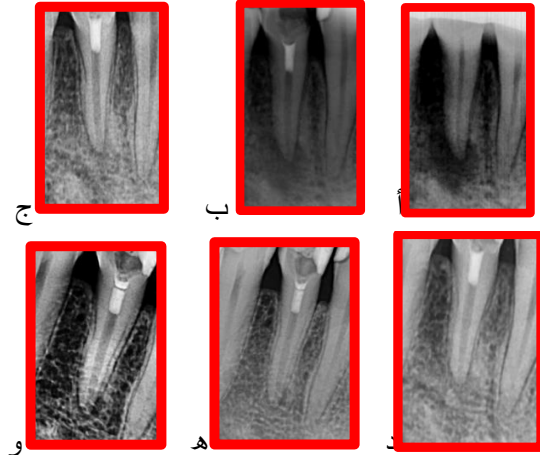
تألّفت عيّنة الدراسة السريرية من 20 سنّاً دائمةً وحيدة القناة، مستقيمة ومكتملة الدّورة ذات آفاتٍ ذروية، وقسمت عشوائياً إلى مجموعتين متساويتين وفقاً للسقالة المستخدمة، المجموعة الأولى: الخثرة الدموية والمجموعة الثانية PRF مع الخثرة الدموية. رُوّقت درجة نجاح المعالجة بإعادة التّروية في خمس فتراتٍ زمنيّةٍ مختلفةٍ (بعد شهر، بعد 3، بعد 6، بعد 12، وبعد 18 شهراً) لكلّ سنّ في عيّنة الدراسة. وقد أُعطيت كلّ 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

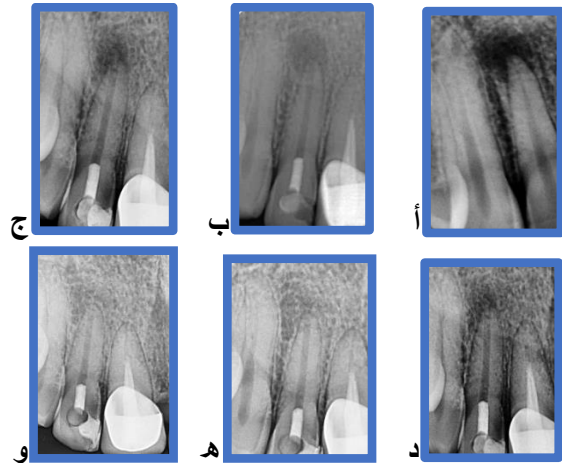
القيمة الموافقة المعطاة	درجة نجاح المعالجة اللبية
0	فشل
1	شك
2	في طور الشفاء
3	نجاح

ثم تمّت دراسة تأثير السقالة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة في درجة نجاح المعالجة، فقد تمّ بدايةً حساب النسبة المئوية لتكرارات درجة النجاح في المجموعتين خلال الفترات الزمنية المدروسة، وكانت على النحو الآتي: بلغت نسبة النجاح الكليّ (نجاح، في طور الشفاء) في المجموعة الأولى أي الخثرة الدموية فقط خلال الفترة 6 أشهر و12 شهر و18 شهر (80%، 100%، 90%) توزّعت على النحو التالي: (80% في طور الشفاء، 0% نجاح) (30% في طور الشفاء، 70% نجاح) (10% في طور الشفاء، 80% نجاح) في حين بلغت نسبة النجاح الكليّ في المجموعة الثانية أي الخثرة الدموية مع PRF خلال الفترات السابقة نفسها (90%، 100%، 100%) توزّعت على النحو التالي: (90% في طور الشفاء، 0% نجاح) (40% في طور الشفاء، 60% نجاح) (0% في طور الشفاء، 100% نجاح) كما في الجدول (2).



الشكل (5): 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.



الشكل (6): مراقبة حالة سقالة PRF 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 تمّ الحصول 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 مجموعة الخثرة الدموية ومجموعة الخثرة الدموية مع PRF وفقاً للفترة الزمنية المدروسة.

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
بعد شهر واحد	خثرة دموية مع ليفين غني بالصفائح	0	7	3	0	10	0	30.0	0
	خثرة دموية فقط	0	10	0	0	10	0	0	0
بعد ثلاثة أشهر	خثرة دموية مع ليفين غني بالصفائح	0	5	5	0	10	0	50.0	0
	خثرة دموية فقط	0	3	7	0	10	0	70.0	0
بعد ستة أشهر	خثرة دموية مع ليفين غني بالصفائح	0	1	9	0	10	0	90.0	0
	خثرة دموية فقط	0	2	8	0	10	0	80.0	0
بعد اثني عشر شهراً	خثرة دموية مع ليفين غني بالصفائح	0	0	4	0	10	6	40.0	60.0
	خثرة دموية فقط	0	0	3	0	10	7	30.0	70.0
بعد ثمانية عشر شهراً	خثرة دموية مع ليفين غني بالصفائح	0	0	0	0	10	10	0	100
	خثرة دموية فقط	0	1	1	0	10	8	10.0	80.0

الجدعية وتكاثرها وتمايزها يجب توفر السقالة التي تؤمن التوجيه المكاني للخلايا وتسهل تحرر عوامل النمو (Lv, H. et al, 2018). إذاً يعتبر 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)، والتي يمكن الحصول عليها من خلال إدخال مبرد إلى القناة الجذرية بحيث يتجاوز الثقبية الدروية ويتم التحريض على النزف عن طريق تخريش النسج في المنطقة حول الدروة (Banchs, F. & Trope, M, 2004) ورغم فعالية هذه الطريقة إلا أن للخثرة عدة سلبيات منها عدم الاستقرار (Moreira, M. S, et al 2021) ومن الصعوبة أحياناً الحصول على نزف كافٍ ضمن القناة (Garcia-Godoy F & Murry PE, 2012). من مشتقات الدم التي استخدمت للحث على تجديد النسج: الليفين الغني بالصفائح PRF بسبب ما يتمتع به من خواص قد تجعله سقالة مثالية، أجري هذا البحث لمعرفة انعكاس تلك

كما تم إجراء 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 PRF، خثرة دموية فقط) مهما كانت الفترة الزمنية المدروسة في عينة البحث.

المناقشة Discussion: تعدّ المعالجة اللببية التجديدية ثورة في طب الأسنان من حيث أن السن غير الحية قد تستعيد حيويتها خلال معالجة القناة اللببية (Östby, B. N., 1961) ، وهي تعتمد على مبادئ الهندسة النسيجية (Langer, R, 1993 & Vacanti, J. P) التي تتطلب التخلص من العوامل الممرضة والحفاظ على الخلايا الجذعية ووجود عوامل النمو والسقالات (Hargreaves, K. M., et al, 2008)، ومن أجل خلق بيئة مجهرية مفضلة لهجرة الخلايا

الخصائص على نتائج التطبيق السريري. لا بدّ أولاً من ذكر تأثير حجم الآفة على شفاؤها إذ أنّ حجم الآفات المتوسّط سيساهم في الحصول على الشفاء، فالآفات بمساحة 200 مم² غالباً ما تكون كيساً وليست ورماً حبيبيّاً (Natkin, E., *et al*, 1984) وهي تحتاج إلى تداخلٍ جراحيّ وعلى الرّغم من وجود جدلٍ حول الاختلاف بين إنذار الآفات الصغيرة والكبيرة بعد المعالجة (Çalışkan, M. K. 2004) إلّا أنّه يلاحظ انخفاضاً في معدّل نجاح المعالجات اللبية عندما يكون قطر الآفة أكبر من 5 مم (Bornstein, M. M, *et al*, 2015)، واستمرّت المراقبة في هذا البحث لمدة 18 شهراً حيث لوحظ أن معظم الآفات التي شفيت في النهاية في دراسات سابقة، كانت قد شفيت أو في طور الشفاء خلال مدة أقلّ وهي 12 شهراً. نحتاج في إعادة التروية إلى درجة من تعقيم القناة قد تفوق التعقيم في المعالجة اللبية التقليدية ففي هذا البحث استخدم للإرواء هيبوكلوريت الصوديوم NaOCl بتركيز 2.5% وهو ذو خواصّ مشابهة لتركيز 5.25% لكنّه ذو سميّة أقلّ على الخلايا الجذعية (Marion, J. J., *et al*, 2012). استكمل التعقيم بتطبيق الضّماد الثلاثيّ المؤلّف من سيبروفلوكساسين وميترونيدازول وصاداً حيويّ من زمرة التتراسكليتات (Sato, I. *et al*, 1996) هو الدوكسيسايلكلين لعدم توفّر المينوسايلكلين، مع محلّ للمزيج هو بروبيلين غليكول لأنّ حلّه بالماء قد يؤدّي إلى تخرّبته (Petrino, J., *et al*, 2010). إنّ هذا الضّماد يقضي على الجراثيم حتّى في طبقات العاج العميقة (Sato, I., *et al*, 1996)، وهناك دراسات اعتبرته أقوى من ضماد ماءات الكالسيوم (Adl, A., *et al*, 2012). بالنسبة إلى تحضير القناة فقد أنجز بحيث يصل قياس الدّروة إلى 60-80، لآلاً تتأثّر توعية وتعصيب الأسنان بشكلٍ سلبيّ إذا كان قياس الدّروة صغيراً (Yang, J., *et al*, 2016) بالإضافة إلى ما ذكر في مراجعة Fang وزملائه أن قياس الدّروة المتراوح بين 0.5 إلى 1 مم أعطى نسبة النّجاح

الأكبر في المعالجات اللبية التجدّدية (Fang, Y., *et al*, 2018). في الدّراسة الحالية تبينّت فعالية المعالجة بإعادة التروية في تحقيق أهداف المعالجة اللبية التقليدية بالنسبة لشفاء الآفات بغضّ النظر عن نوع السقّالة المستخدمة (خثرة دمويّة فقط، خثرة دمويّة مع PRF) إذ لم يكن هناك فروق دالّة إحصائيّاً بين المجموعتين على الرّغم من تفوّق مجموعة PRF عند مقارنة النسبة المئويّة الكليّة. يعود تحقيق كلا المجموعتين لشفاء الآفات إلى طريقة القضاء على الإنتان التي ذكرت سابقاً، ومن جهة أخرى إلى إجراءات التجدّد حيث يؤدّي إحداث نزيف ذرويّ إلى قناة الجذر إلى وجود بيئة مناسبة لتجدّد اللّب، غنيّة بالخلايا الجذعية الذاتيّة للمضيف وعوامل النّمّو (Xu, Q, & Li, Z. 2018). مصدر الخلايا الجذعية المتواجدة في الخثرة الدمويّة هو المنطقة حول الدّروية (Chrepa, V., *et al*, 2015) بما فيها الآفة (Hargreaves, K. M., *et al*, 2021) حيث وجد ارتفاع كبير في واسمات تلك الخلايا في عينة الدّم المأخوذة ضمن القناة إذا قورنت بعينة الدّم الجهازية (Chrepa, V. *et al*, 2015) أمّا عوامل النّمّو: فإنّ الخثرة الدمويّة تحوي على عوامل النّمّو المشتقة من الصّفائح (Lubkowska, A *et al*, 2012)، أيضاً يستفاد من عوامل النّمّو ضمن القالب العاجي التي تتحرّر بعد إزالة التّمعدن في جدران القناة باستخدام ثنائي أمين الإيثيلين رباعي حمض الأسيتيك (EDTA) (Galler, K. M., *et al*, 2015). أمّا بالنسبة لعنصر السقّالة ففي المجموعة الأولى عملت الخثرة الدمويّة المتشكّلة كسقّالة ربّما سمحت بنّمّو النسيج بشكل ثلاثي الأبعاد (Hargreaves KM *et al*, 2008) أمّا في المجموعة الثّانية فقد عملت PRF كسقّالة ثلاثية الأبعاد ذات مرونة ومقاومة تجعلها تتحلّل ببطء بعد التّطبيق (Dohan Ehrenfest, D. M., *et al*, 2010) مما يسمح بهجرة الخلايا واحتباس السائتوكينات والتحرير البطيء المستمر لها ولعوامل النّمّو مثل عامل النّمّو

حجم الآفات وبعد 60 شهراً لم توجد أعراض (Nagas, E.) (et al, 2018). دراسة El-Kateb, N.M وزملاؤه عام 2020 على 18 حالة لوحظ بعد المراقبة لمدة 12 شهراً شفاء جميع الحالات (El-Kateb, N. M. et al, 2020). - سلسلة حالات Saoud, T. M وزملائه عام 2016 على 7 أسنان لوحظ بعض المراقبة من 8 إلى 26 شهراً، شفاء في سنيين وتطور نحو الشفاء في 5 حالات (Saoud, T. M.,) (et al, 2016). أما بالنسبة لـ PRF فقد اتفقتنا مع Nageh وزملائه عام 2018 حيث شفيت جميع الآفات المترافقة مع حالاته ولم يلاحظ أي تغيير عظمي في المنطقة حول الذروية في الحالات التي لم تتوافق أصلاً مع آفات ذروية عند تشخيصها وذلك بعد متابعة لمدة 12 شهراً (Nageh,) (M., et al, 2018). لم نلاحظ وجود اختلافات لقلّة الدراسات التي تناولت مجال المعالجات اللبّية التّجديّة في الأسنان مكتملة الذروة.

الاستنتاجات:

بناءً على الموجودات السريرية والشعاعية في هذا البحث يمكن استنتاج أن تقنية إعادة التروية المتضمنة تعقيم القناة بضماد الثلاثي وبسوائل الإرواء ومن ثم الحثّ على النزف ضمن القناة مع استخدام PRF أو بدونه، هي تقنية فعّالة في تحقيق شفاء الآفات الذروية، مع تفوق بسيط لـ PRF، وربما يكون من الممكن في المستقبل تطبيق المعالجة اللبّية التّجديّة على الأسنان مكتملة الذروة بحيث تصبح بديلاً عن المعالجة اللبّية التقليدية خاصة مع تطوّر التقنيات والمواد المستخدمة بما فيها السقالات، وذلك بعد القيام بالمزيد من الأبحاث السريرية الموسّعة وطويلة الأمد.

المشتق من الصفائح وعامل النمو المحوّل بيثا وعامل النمو المصور لليف وعامل النمو الوعائي البطاني (He,) (L., et al, 2009) وهي العوامل التي تتدخل في كلّ مرحلة من مراحل شفاء الجروح (Drago, L., et al, 2013) ويستمرّ تحرير العوامل لمدة 28 يوماً وتصل ذروة تحريرها إلى اليوم 14 وهو ما يتزامن مع نموّ الخلايا وهذا يعني أن PRF تقود هجرة الخلايا الجذعية وتكاثرها وتمايزها بالإضافة إلى عملية تشكّل الأوعية (He, L., et al, 2009) (Dohan Ehrenfest, D. M., et al, 2010). إنّ تولّد الأوعية angiogenesis من العمليات الأساسية التي يجب أن تحصل بعد الإجراءات التّجديّة (Hameed, M. H., et al, 2019) نتيجةً للتفاعل بين الخلايا الجذعية وعوامل النمو والسقالة والتي تدعم وظيفة النسيج الرخوة المتجددة (Ko, Y. G, et al, 2010). يضاف إلى ذلك احتواء PRF على الكريات البيضاء والسايوتوكينات التي تلعب دوراً هاماً في التنظيم الذاتي للعمليات الالتهابية والسيطرة على الإنتان (Toffler, M., et al, 2009) وهذا يعني دعماً طبيعياً للمناعة وزيادة في القضاء على الجراثيم التي قد تبقى ضمن القناة حيث أنّ نسبة الكريات البيضاء أعلى بـ 50% من نسبة وجودها في الدم العادي (Dohan) (Ehrenfest, D. M., et al, 2010). إنّ الدراسات المنشورة حالياً حول موضوع المعالجات التّجديّة في الأسنان مكتملة الذروة ذات الآفات الذروية لا تزال معدودة وتقتصر غالباً على استخدام الخثرة الدموية كسقالة وقد اتفقت مع دراستنا من حيث نجاح الحالات وشفاء الآفات وهذه الدراسات هي: -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). -تقرير Nagas, E وزملائه عام 2018، على سنيين، لوحظ تناقص

References:

1. 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.
2. 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
3. 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
4. American Association of Endodontists, (2016). **Clinical Considerations for a Regenerative Procedure**.; American Association of Endodontists: Chicago, IL, USA.
5. --Banchs F& Trope M. (2004) **Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol?** J Endod: 30: 196- 200.
6. 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.
7. Bezgin, T., Yilmaz, A. D., Celik, B. N., Kolsuz, M. E., & Sonmez, H. (2015). **Efficacy of platelet-rich plasma as a scaffold in regenerative endodontic treatment**. J endod, 41(1), 36-44.
8. -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.
9. -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.
10. 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.
11. Chignon-Sicard B, Georgiou CA, Fontas E, David S, Dumas P, Ihrat T, et al. (2012), **Efficacy of leukocyte- and platelet-rich fibrin in wound healing: a randomized controlled clinical trial**. Plast Reconstr Surg; 130(6), 819e-829e.
12. Dohan Ehrenfest, D. M., Del Corso, M., Diss, A., Mouhyi, J., & Charrier, J. B. (2010). **Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane**. J. periodontol, 81(4), 546-55.
13. - Drago, L., Bortolin, M., Vassena, C., Taschieri, S., & Del Fabbro, M. (2013). **Antimicrobial activity of pure platelet-rich plasma against microorganisms isolated from oral cavity**. BMC microbiol, 13(1), 1-5.
14. Ehrenfest, D. M. D., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). **Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF)**. Trends Biotechnol, 27(3), 158-67.
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. 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
18. -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.
19. Galler, K.M.; Buchalla, W.; Hiller, K.-A.; Federlin, M.; & Eidt, A.; Schiefersteiner, M.; & Schmalz, G. (2015), **Influence of root canal disinfections on growth factor release from dentin.** J. Endod., 41, 363–368
20. -Garcia-Godoy, F., Murray, P. E. (2012); **Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth.** Dent Traumatol 28(1):33-41.
21. -Gathani, K. M, Raghavendra SS. **Scaffolds in regenerative endodontics:a review.** Dent Res J 2016; 13(5): 379–86.
22. --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.
23. -Hargreaves, K. M, Cohen S, & Berman LH. (2021) **Cohen’s pathways of the pulp.** 12th ed, Missouri: USA. Mo: Mosby Elsevier.605, 1583.
24. He, L., Lin, Y., Hu, X., Zhang, Y., & Wu, H. (2009). **A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro.** Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 108(5), 707-13.
25. -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.
26. Jadhav, G., Shah, N., & Logani, A. (2012). **Revascularization with and without platelet-rich plasma in nonvital, immature, anterior teeth: a pilot clinical study.** J endod, 38(12), 1581-7.
27. -Kim, S. G, Malek M, Sigurdsson A, & Lin LM, Kahler B. (2018) **Regenerative endodontics: a comprehensive review,** Int Endod J: 51(12):1367-88.
28. 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
29. -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.
30. Langer, R., & Vacanti, J. P. (1993). **Tissue engineering.** Science, 260(5110), 920-6.
31. 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.
32. -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.** Journal of endodontics, 37(9), 1217-24.
33. -Lind, M. (1996) **Growth factors: possible new clinical tools A review.** Acta Orthop Scand; 67(4), 407–17.
34. 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), 133-8.

35. 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
36. 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), 139.
37. --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
38. Mehta, S., & Watson, J. T. (2008). **Platelet rich concentrate: basic science and current clinical applications.** J Orthop Trauma. 22(6), 432-438.
39. Mittal, N., & Parashar, V. (2019). **Regenerative evaluation of immature roots using PRF and artificial scaffolds in necrotic permanent teeth: a clinical study.** J Contemp Dent Pract, 20, 720-6.
40. -Moore, K. A. & Lemischka, I. R. (2006). **Stem cells and their niches,** Science;311(5769), 1880-5.
41. --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.
42. 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.
43. Nageh, M., Ahmed, G. M., & El-Baz, A. A. (2018). **Assessment of regaining pulp sensibility in mature necrotic teeth using a modified revascularization technique with platelet-rich fibrin: a clinical study.** J. endod, 44(10), 1526-1533
44. Narang, I., Mittal, N., & Mishra, N. (2015). **A comparative evaluation of the blood clot, platelet-rich plasma, and platelet-rich fibrin in regeneration of necrotic immature permanent teeth: a clinical study.** Contemp Clin Dent., 6(1), 63.
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. Östby, B. N. (1961). **The role of the blood clot in endodontic therapy an experimental histologic study.** Acta Odontologica Scandinavica, 19(3-4), 323-53
47. 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.
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. 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.
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. Sachdeva, G. S., Sachdeva, L. T., Goel, M., & Bala, S. (2015). **Regenerative endodontic treatment of an immature tooth with a necrotic pulp and apical periodontitis using platelet-rich plasma (PRP) and mineral trioxide aggregate (MTA): a case report.** Int endod j, 48(9), 902910.

52. 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
53. 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.
54. -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
55. Schmalz, G., Widbiller, M., & Galler, K. M. (2020). **Clinical perspectives of pulp regeneration.** J Endod, 46(9), S161-S174.
56. -Seo, B. M, et al. (2004) **Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament.** Lancet; 364 :(9429): 149- 55.
57. Sharma S, Mittal N. (2016), **A comparative evaluation of natural and artificial scaffolds in regenerative endodontics: A clinical study.** Saudi Endod J;6:9-15
58. Shivashankar, V. Y., Johns, D. A., Vidyanath, S., & Kumar, M. R. (2012). **Platelet rich fibrin in the revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex.** J Conserv Dent.: JCD, 15(4), 395.
59. Toffler, M., Toscano, N., Holtzclaw, D., Corso, M. D., & Ehrenfest, D. D. (2009). **Introducing Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery milieu.** J Implant Adv Clin Dent, 1(6), 21-30.
60. -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.
61. Torabinejad, M., & Turman, M. (2011). **Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: a case report.** J. Endod, 37(2), 265-8.
62. Xu, Q., & Li, Z. (2018). **Regenerative endodontic treatment of a maxillary mature premolar.** Case Rep. Dent, 2018, 1-5.
63. Yadav, P., Pruthi, P. J., Naval, R. R., Talwar, S., & Verma, M. (2015). **Novel use of platelet-rich fibrin matrix and MTA as an apical barrier in the management of a failed revascularization case.** Dent Traumatol., 31(4), 328-31.
64. -Yang J, Yuan G, & Chen Zhi, (2016) **Pulp Regeneration: Current Approaches and Future Challenges.** Front Physiol.; 7: 58