دراسة نسيجية مناعية كيميائية لتأثير وحيدات تماثر الكمبوزيت المرمم في حيوية لب السن باستخدام الواسمات الحيوية Ki-67 و p53

* د . حسان الحلبية

(الإيداع: 5 آب 2019 ، القبول: 15 آيلول 2019)

الملخص:

تتفاوت بشدة التأثيرات الجانبية لإجراءات تحضير ترميم النخور السنية في حيوية لب السن، بل يمكن أن تتفاقم في الترميمات القريبة من اللب، مؤدية إلى اضطراب خطير في وظائفه الأساسية، ومن ثم إلى تموته على المدى البعيد. يهدف البحث إلى تقصي التأثيرات الجانبية لنفوذ وحيدات تماثر ترميمات الكمبوزيت العميقة، عبر القنيات العاجية، في نسبة وطبيعة الانقسام الخلوي في لب السن.

أجريت الدراسة على أسنان بشرية معدة للقلع التقويمي، قسمت الأسنان إلى (9) مجموعات لدراسة تأثير تقنية التخريش، ومدة التصليب الضوئي لترميمات الكمبوزيت العميقة، في نسبة وطبيعة الانقسام الخلوي في لب السن، اعتماداً على الوسم النسيجي المناعي الكيميائي باستخدام الأضداد وحيدة النسيلة Ki-67 و p53. تم الوسم بعد مرور 3 أسابيع و 3 أشهر من الترميم. روقبت التغيرات الطارئة في مستوى تعبير هذه البروتينات بناء على معايير كمية متدرجة من حيث مدى انتشار ودرجة تركيز التلوين لخلايا لب السن.

بَّينت التحاليل الإحصائية ($P<0.05$) وجود فروق جوهرية بين بعض مجموعات الدراسة. روقبت أدنى حالات اضطراب اللب عند التخريش الذاتي وفترة التصليب الطويلة للكومبوزيت، فكانت مستويات تعبير البروتينات Ki-67 و p53 منخفضة. روقبت أسوأ حالات اللب اضطراباً عند التخريش الكامل وفترة التصليب القصيرة للكومبوزيت، لوحظ ارتفاع متزامن فمستويات تعبير البروتينات Ki-67 و p53، مشيرة إلى أذية محتملة لسلاسل الـ DNA في الخلايا الانقسامية. نستنتج أنه يمكن لوحيدات التماثر المرتشحة أن تسبب إجهاداً تأكسدياً وتعباً لبياً مبكراً في حالة ترميمات الكمبوزيت القريبة من لب السن، لذلك يوصى باستخدام التخريش الذاتي لمحافظته على نفوذية عاجية معتدلة، وتطبيق زمن تصليب مديد لتحسين نسبة تحويل عملية التماثر.

الكلمات المفتاحية: وحيدات التماثر، النفوذية العاجية، التخريش الكامل والذاتي، الوسم النسيجي المناعي الكيميائي، مشعر الانقسام الخلوي Ki-67، البروتين الكابح للانقسام الخلوي p53.

*أستاذ مساعد – رئيس قسم مداواة الأسنان– عميد كلية طب الأسنان – جامعة حماه

Immunohistochemical Study of Restorative Composite Monomers Effect on Dental Pulp Vitality Using Biomarkers Ki-67 and p53

Dr. Hassan AL HALABIAH

(Received: 5 August 2019, Accepted: 15 September 2019)

Abstract:

The sides effects of dental caries preparation and restoration on pulp vitality vary significantly, and could exacerbate in deep restorations, leading to serious functional disorder then necrosis of pulp at the long term. The aim of this study is to investigate the effect of monomers penetration of deep composite restoration, *via* dentinal tubuli, on the rate & nature of cellular division in dental pulp. Human teeth, scheduled for orthodontic extraction, have been used, where divided into (9) groups to follow the effects of etching technique, and light-curing period of deep composite restorations on cellular division in dental pulp, using immunohistochemical marking *via* monoclonal antibodies Ki-67 and p53. Marking carried out after 3 weeks and 3 months from restoration, modifications in Ki-67 and p53 expression levels were followed, and function of gradual quantitative criteria regarding spreading and concentration index of pulpal stained cells. Statistical Analysis ($P<0.05$) show significant differences between some studied groups. The minimal pulp disorders are detected using Self-etching, with long light-curing period, showing reduced expression level of Ki-67 and p53. The maximal pulp disorders are detected using total etch, with short light-curing period, showing simultaneous increasing level of Ki-67 and p53 expression, indicating a potential injury in DNA chains of mitotic cells. We conclude that the dentinal infiltrated monomers could cause oxidative stress and early pulp fatigue in deep composite restorations, so it is recommended to use self-etching, maintaining moderate dentinal permeability, and long light-curing period, in order to improve the polymerization conversion rate.

Key words: monomers, Dentinal permeability, total etch & self-etching technique, Immunohistochemical marking, division index Ki-67, division suppression Protein p53.

*Dean of Faculty of Dentistry – Hama University

1-المقدمة :

يشيع استخدام الكمبوزيت لترميم الإصابات النخرية التي تتعرض لها الأسنان أثناء أدائها الوظيفي ضمن البيئة الفموية. طرأ الكثير من التطور والتحسين على الخصائص التقنية والتركيب البنيوي والمواصفات الميكانيكية والتجميلية للمادة، ما أدى إلى زيادة العمر الوظيفي لهذه الترميمات بشكل واضح، إلا أن تقبلها الحيوي مازال يفتقد للدراسات المعمقة (Goldberg,2008).

لا ترتبط الآثار الجانبية الحيوية السلبية لترميمات الكمبوزيت بإجراءات التطبيق فحسب، بل تمتد لتشمل مرحلة الاستخدام السريري على المدى البعيد. من غير الواضح فيما إذا كانت هذه التأثيرات عابرة أم دائمة، موضعية أو عامة، آنية أو تالية، الأمر الذي يستلزم أبحاثاً دقيقة وموجهة وذات موثوقية عالية لتجيب بشكل حاسم عن هذه التساؤلات (Demirci وزملاؤه، 2008). إن إدراك العوامل والمتغيرات التي من شأنها أن تعزز التقبل الحيوي لترميمات الكمبوزيت أصبح ضرورة ملحة كون هذه الترميمات أضحت خياراً علاجياً حتمياً في كثير من الحالات (Moharamzadeh وزملاؤه، 2009).

تندرج هذه الدراسة ضمن الأبحاث السريرية، التي تبين الآثار الحيوية الموضعية لترميمات الكمبوزيت على المدى القريب والمتوسط، فيما يتعلق بحالة وطبيعة الانقسام الخلوي في لب السن المرمم، باستخدام تقنية الوسم النسيجي المناعي الكيميائي لبروتينات دورة الانقسام الخلوي Ki-67 و p53.

يتكون الكمبوزيت من قالب راتنجي عضوي مؤلف من وحيدات تماثر مختلفة المواصفات، قابلة للارتباط لتشكيل سلاسل عديدات التماثر، وجزيئات مالئة لا عضوية داعمة، ترتبط بالقالب الراتنجي بواسطة عنصر السيلان. يؤمن هذا التركيب الهجين خصائص ميكانيكية وتجميلية تحاكي إلى حد ما النسج السنية المفقودة التي تم ترميمها في سبيل إعادة التأهيل الوظيفي والتجميلي للسن. يؤمن التصليب الضوئي وسيلة عملية ملائمة لوصول الكمبوزيت إلى حالة الصلابة عبر تشكيل سلاسل عديدات تماثر مختلطة تتكامل فيما بينها لتخفيض نسبة التقلص التماثري ورفع مقاومة الاهتراء وزيادة العمر السريري للترميم (Chan وزملاؤه، 2010)(García وزملاؤه، 2006).

في هذا السياق، يمكن لإجراءات الإنهاء والتلميع أن تزيل طبقة التثبيط الأكسجيني السطحية الغنية بوحيدات تماثر القالب الراتنجي الحرة، إلا أن وحيدات التماثر الحرة المتبقية في بنية الترميم، خصوصاً في الحفر العميقة، سوف ترتشح عبر البنية الأنبوبية للعاج لتصل إلى لب السن، ما سيؤثر سلباً في الحالة الحيوية الاستقلابية والدفاعية للب السن بدرجات متفاوتة تبعاً لمتغيرات عديدة من أهمها معدل التحويل وطبيعة وقدرة العاج الدارئة ومواصفات وحيدات التماثر المطبقة (Bakir وزملاؤه، 2017).

هناك تفاوت كبير في نتائج دراسات التقبل الحيوي لعناصر ترميمات الكومبوزيت وأنظمة الربط العاجي بين المزارع الخلوية مقارنة بالدراسات السريرية. أثبتت العديد من الدراسات المخبرية التأثيرات السمية التخريشية لوحيدات التماثر في المزارع الخلوية وذلك فيما يتعلق بالاستقلاب الخلوي والقدرة التطفيرية واضطراب دورة الانقسام الخلوي (About وزملاؤه، 2002) (Demirci وزملاؤه، 2008) (Galler وزملاؤه، 2011) (Bakopoulou وزملاؤه، 2012) (Nocca وزملاؤه، 2014) (Kim وزملاؤه، 2015) (Kwon وزملاؤه، 2015) (Barelli وزملاؤه، 2017)، بالمقابل لازال التقبل الحيوي لهذه الترميمات من قبل لب السن على المدى القريب والبعيد موضع جدل نظراً لتعدد المتغيرات عند التطبيق السريري (Moharamzadeh وزملاؤه، 2009) (Yalcin وزملاؤه، 2013) (Kouros وزملاؤه، 2013) (Cobanoglu وزملاؤه، 2015) (Nowicka وزملاؤها، 2016) (Saraswati وزملاؤه، 2017).

يتمتع الدوران الدموي اللمفاوي في لب السن بآليات تناضحية ودفاعية تعمل على تحييد وارتشاف العناصر السامة عبر نهج دفاعي التهابي تعويضي يعتمد على خصائص المركب اللبي العاجي وقدرته الدارئة الفريدة ضمن عتبة تحمل تتفاوت تبعاً لخصائصه الذاتية، وهذه الآليات لا يمكن مصادفتها في أطباق الزرع الخلوي (Hargreaves & Goodis، 2002).

تسمح البنية العاجية الأنبوبية بنفوذ وحيدات التماثر الراتنجية الحرة عبرها إلى أعماق تزداد بازدياد أعداد وأقطار وانتظام القنيات العاجية، الأمر الذي يجعل قدرة العاج الدارئة في حدها الأدنى في حالة الترميمات العميقة (Lourdes وزملاؤه، 2005) (Castan وزملاؤه، 2013). إن ارتفاع النفوذية العاجية واضطراب تشكل سلاسل عديدات التماثر خلال تطبيق الترميم لأسباب إجرائية، يجعل من مخزون وحيدات التماثر مصدر خطر انسمامي داهم ومستمر، يعيق آليات التلاؤم والاستقلاب اللبية ويؤدي إلى تموت اللب التدريجي (Tay وزملاؤه، 1994) (Schweikl وزملاؤه، 2006) (Yasuda وزملاؤه، 2008) (Silva وزملاؤه، 2018).

انطلاقاً من هذه المعطيات، فقد تم تصميم هذه الدراسة لاستقصاء تأثير بعض إجراءات تطبيق ترميمات الكمبوزيت الضوئي في حالة وطبيعة الانقسام الخلوي في لب السن، على المدى القصير والمتوسط، بالاعتماد على الوسم النسيجي المناعي الكيميائي، باستخدام بروتينات دورة الانقسام الخلوي Ki-67 و p53.

مشعر الانقسام الخلوي Ki-67

بروتين نووي، يبلغ وزنه الجزيئي (395 kD)، يرتبط إلى عدد من البروتينات المسؤولة عن تنظيم دورة انقسام الخلية (Scholzen & Gerdes، 2000). يشير مستوى تعبير هذا البروتين عن حالة الانقسام الخلوي بموثوقية، فهو يظهر باستمرار خلال الطور البيني Interphase (G1-S-G2) ضمن النواة، أما في طور الانقسام Mitosis (M)، فيظهر على سطوح الصبغيات. يختفي عند دخول الخلية الطور (G0) نتيجة تخربه السريع (Sobecki وزملاؤه، 2016). يظهر هذا البروتين في الخلايا الانقسامية سواء كانت طبيعية أو ورمية، لذلك يعتبر مشعراً دقيقاً لحالة الانقسام الخلوي (Li وزملاؤه، 2015).

البروتين الكابح للانقسام الخلوي p53

البروتين الحارس للإرث الجيني من خلال قدرته على الحفاظ على استقرار سلاسل الـ DNA ومنع تطفيرها (Kabel، 2015). يضم (390) حمض أميني، يبلغ وزنه الجزيئي (53 kD) (Bonizzi وزملاؤه، 2011). يؤدي تعرض الخلية للإجهاد إلى أذية سلاسل ال DNA، فيتفعل البروتينp53 دافعاً الخلية نحو إصلاح الخلل أو إيقاف دورة الانقسام الخلوي أو التموت المبرمج (Donehower، 2009). يمكن أن تؤدي طفرات البروتين p53 إلى انقسامات ورمية نتيجة عدم قدرته على الارتباط بفعالية إلى سلاسل الـ DNA وبالتالي يفقد قدرته على كبح الانقسام الخلوي غير المنضبط (Roger وزملاؤه، 2010).

تبيان مشكلة البحث

رغم تطور ترميمات الكمبوزيت الضوئي على مستوى التركيب والأداء الوظيفي والتجميلي، إلا أنها لاتزال موضع جدل فيما يتعلق بتقبلها الحيوي على المستوى الموضعي والجهازي وعلى المدى القريب والبعيد. لا يمكن استبعاد الآثار الحيوية الجانبية السلبية لأنظمة الارتباط العاجي والترميمات راتنجية الطبيعة في لب السن، فبينما أثبتت العديد من الدراسات السمية الخلوية لهذه المواد، لاتزال الأبحاث السريرية والنسيجية نادرة على المستوى الجزيئي. يبين هذا البحث تأثير بعض متغيرات ترميمات الكومبوزيت، في الانقسام الخلوي للب السن المرمم.

2-الهدف من البحث

يهدف البحث إلى تقييم أثر الاندخال القنيوي لوحيدات التماثر الحرة لترميمات الكمبوزيت العميقة في حالة وطبيعة الانقسام الخلوي للب السن، من خلال الوسم النسيجي المناعي الكيميائي لبروتينات دورة الانقسام الخلوي Ki-67 و p53 على المدى القصير والمتوسط.

3-مواد وطرائق البحث

مواد البحث

سنابل ماسية كروية وشاقة مناسبة القياس، سنابل إنهاء الكومبوزيت (Brasseler, Germany)، رؤوس تلميع مطاطية (Ivoclar, Vivadent). حمض الفوسفور (37%)(N-Etch,)، الراتنج الرابط (Tetric N-Bond, Total Etch)، (Tetric N-Bond, Self-Etch)، الكومبوزيت السيال، الكومبوزيت المرمم (Tetric N-Ceram) (Ivoclar, Vivadent)، جهاز تصليب ضوئي (Led) معاير من حيث الشدة الضوئية.

التقطيع النسيجي: صبغة أزرق الميتيلين (1M)، الفورمالين، الآزوت، شمع البارافين، الكحول بتراكيز مختلفة، الكزيلول، صبغة الهيماتوكسيلن، الضد الأولي وحيد النسيلة Ki-67 Rabbit Monoclonal primary antibody (BioSB)، الضد الأولي وحيد النسيلة p53 Rabbit Monoclonal primary antibody (BioSB). جهاز الإدماج، جهاز التقطيع (ميكروتوم)، شرائح (HistoBond) خاصة بالتلوين المناعي (*MA*RIENFELD) والسواتر الزجاجية. مجهر مزود بكاميرا رقمية لمراقبة وتسجيل الخلايا إيجابية التلوين المناعي.

طرائق البحث: يتكون البحث من دراسة نسيجية مناعية كيميائية، باستخدام 36 ضاحك معد للقلع لأسباب تقويمية، لدى (14) مريضاً تتراوح أعمارهم بين 18-11 سن، ويتمتعون بصحة فموية جيدة دون إصابات رعلية، ويبدون صحة جيدة دون أمراض عامة أو جهازية.

الثوابت: أبعاد الحفرة السنية الثنائية: 2x4 مم، لا تتجاوز ثخانة طبقة العاج المتبقية الواقية للب السن 0.5 مم. تم تطبيق كمبوزيت سيال كطبقة قاعدية + كمبوزيت مملوء بطريقة الطبقات المتتالية الدوارة فراغياً لإنجاز الترميم. نمط التصليب الضوئي المستخدم مستمر متصاعد.

المتغيرات المدروسة: التخريش العاجي: كامل أو ذاتي، فترة التصليب الضوئي: 20 أو 60 ثانية. بناء على هذه المتغيرات، ضم البحث 9 مجموعات دراسة كما يلي:

- مج1: تخريش كامل + فترة التصليب 20 ثانية (فترة المراقبة: 3 أسابيع) (n=4)
- مج2: تخريش كامل + فترة التصليب 60 ثانية (فترة المراقبة: 3 أسابيع) (n=4)
- مج3: تخريش ذاتي + فترة التصليب 20 ثانية (فترة المراقبة: 3 أسابيع) (n=4)
- مج4: تخريش ذاتي + فترة التصليب 60 ثانية (فترة المراقبة: 3 أسابيع) (n=4)
- مج5: تخريش كامل + فترة التصليب 20 ثانية (فترة المراقبة: 3 أشهر) (n=4)
- مج6: تخريش كامل + فترة التصليب 60 ثانية (فترة المراقبة: 3 أشهر) (n=4)
- مج7: تخريش ذاتي + فترة التصليب 20 ثانية (فترة المراقبة: 3 أشهر) (n=4)
- مج8: تخريش ذاتي + فترة التصليب 60 ثانية (فترة المراقبة: 3 أشهر) (n=4)
- مج9 (الشاهد): سن سليم بدون أية إصابات نخرية أو رعلية (n=4)

تم استبعاد ظاهرة التسرب الحفافي من خلال تمرير سنبلة صغيرة القياس في المسافة البينية ترميم-نسج سنية ثم ملؤها بالكومبوزيت السيال وتصليبها (40 ثا) لتأمين ختم مؤكد لحواف الترميم. تم الإنهاء والتلميع الجيد بعد مرور 24 ساعة. بعد القلع، تم تطبيق اختبار نفوذ الصباغ قبل البدء بإجراءات التقطيع النسيجي، لاستبعاد العينات التي تبدي نفوذ صباغ يصل إلى سطح العاج بعد إجراء التقطيع النسيجي.

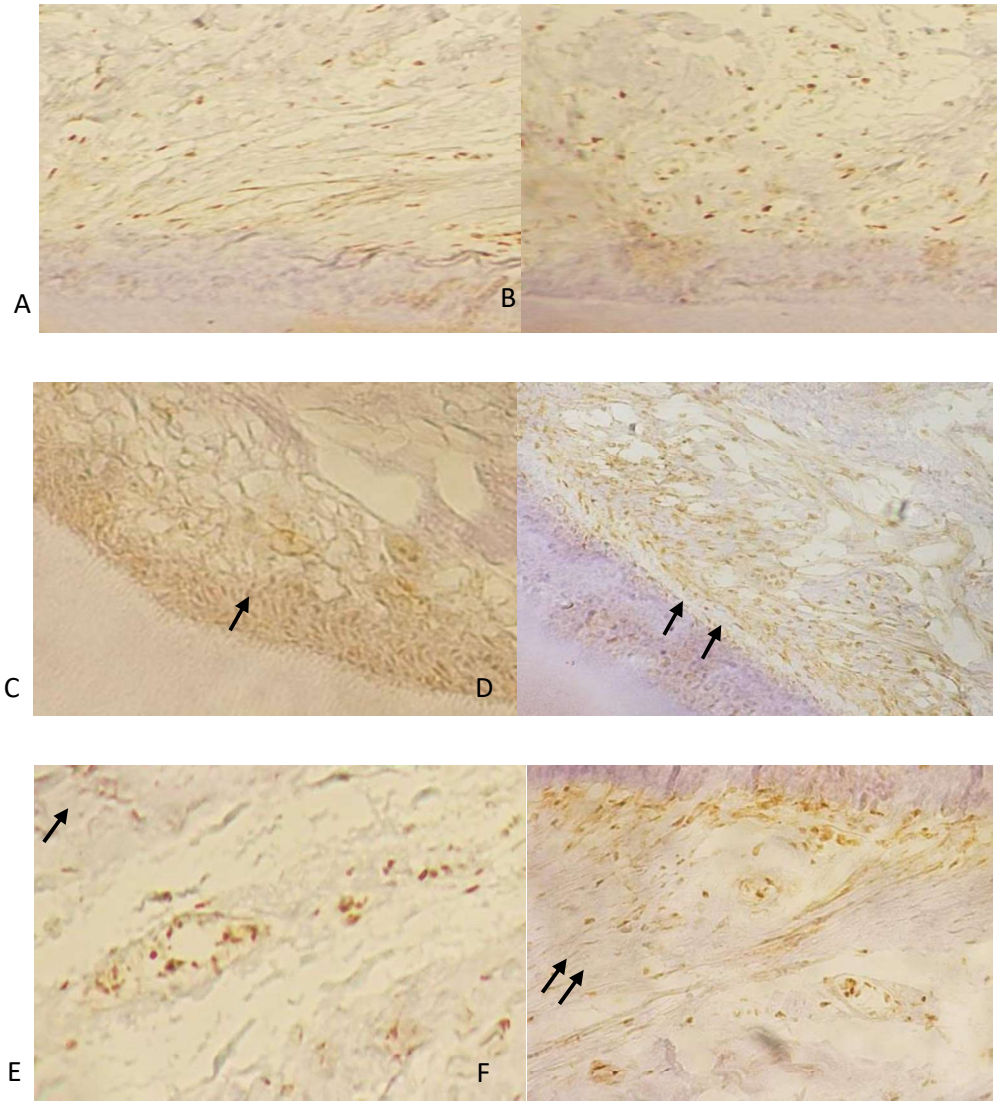
التلوين المناعي

تم الوسم النسيجي المناعي الكيميائي باستخدام الأضداد وحيدة النسيلة Ki-67 و p53، على المدى القصير بعد مرور 3 أسابيع، وعلى المدى المتوسط بعد مرور 3 أشهر من ترميم السن بالكومبوزيت.

وضعت الأسنان، بعد قلعها وتنظيفها، مباشرة في الفورمالين لتثبيت لب السن، ثم خسفت الأملاح المعدنية باستخدام حمض الآزوت لمدة 2 أسبوع. تم إتباع البروتوكول التقليدي لإجراء المقاطع النسيجية التي أجريت طولياً بالاتجاه الدهليزي اللساني بثخانة 4 ميكرون. بعد ذلك تم تسخين المقاطع إلى الدرجة 65° لمدة ساعة واحدة، ثم وضعت في الإكزيلول ثم الإيتانول ثم المحلول الدارئ (PBS). وضعت الشرائح، مغمورة بالمحلول المظهر للمستضد، في المايكروويف بدرجة حرارة 125° ثم 90°، ثم تركت لتبرد بدرجة حرارة الغرفة، ثم غسلت بالمحلول الدارئ. بعد ذلك وضعت الشرائح في البيروكسيداز لمدة 5 دقائق، ثم غسلت بالمحلول الدارئ 3 مرات.

تم تطبيق الأضداد الأولية وحيدة النسيلة لمدة 45 دقيقة، ثم غسلت الشرائح بالمحلول الدارئ 3 مرات. تم تغطية المقاطع بـ HRP لمدة 45 دقيقة ثم غسلها بالمحلول الدارئ، ثم تطبيق الكروموجين على المقاطع لمدة 10 دقائق. أخيراً غسلت الشرائح بالماء المقطر 5 مرات ثم تم التلوين بالهيماتوكسيلين وتطبيق السواتر الزجاجية.

يظهر الشكل (1) التلوين المناعي لمقاطع نسيجية تنتمي لبعض عينات المجموعات المدروسة، تظهر مستويات تعبير متفاوتة للبروتينات Ki-67 و p53.



الشكل (1): يبين مقاطع التلوين المناعي النسيجية (400× ,200×) لساحات تنتمي لعينات المجموعات المدروسة، تظهر مستويات تعبير متفاوتة للبروتينات Ki-67 و p53. (A): مستوى تعبير متوسط للبروتين Ki-67، (B):

مســـتوى تعبير متوســـط للبروتين p53، (C): مســـتوى تعبير مرتفع للبروتين Ki-67، (D): مســـتوى تعبير مرتفع للبروتين p53، (E, F): مستوى تعبير مرتفع للبروتين Ki-67 خصوصاً في الطبقة المصورة للعاج( )، وفي بطانة الأوعية الدموية ( ).

نتائج التلوين المناعي

تم تسجيل مقدار انتشار التلوين وتركيزه للواسمات النوعية المستخدمة في 3 ساحات نسيجية منفصلة لكل مقطع نسيجي للعينة، وتم عد الخلايا الإيجابية (المتلونة) في كل ساحة ثم حساب النسبة المئوية لها من مجموع خلايا الساحة المدروسة عند التكبير ×400 وفقاً للمعادلة التالية:

النسبة المئوية للخلايا الإيجابية المتلونة = عدد الخلايا الإيجابية ÷ عدد الخلايا الكلي × 100

بناء عليه كان عدد الساحات المدروسة لكل مجموعة (n=12).

تم احتساب المعيار الكمي Index لدرجة **انتشار** تعبيرية البروتينات Ki-67 أو p53 كما يلي:

- 0: لا يوجد خلايا متلونة
- 1: تلون 1- 20 % من الخلايا
- 2: تلون 21- 50 % من الخلايا
- 3: تلون أكثر من 50 % من الخلايا

تم احتساب المعيار الكمي Index لدرجة **تركيز** تعبيرية البروتينات Ki-67 أو p53 كما يلي:

- 0: لا يوجد تلوين
- 1: تلوين خفيف
- 2: تلوين متوسط
- 3: تلوين شديد

بناء على هذه المعايير تم استنتاج طبيعة التغيرات الطارئة في حالة وطبيعة الانقسام الخلوي في لب السن.

الدراسة الإحصائية

تم إجراء اختبار Kruskal-Wallis لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة تعبيرية الواسم الحيوي Ki-67 بين المجموعات المدروسة.

الجدول رقم (1): يبين نتائج اختبار Kruskal-Wallis لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة تعبيرية الواسم الحيوي Ki-67 بين المجموعات المدروسة.

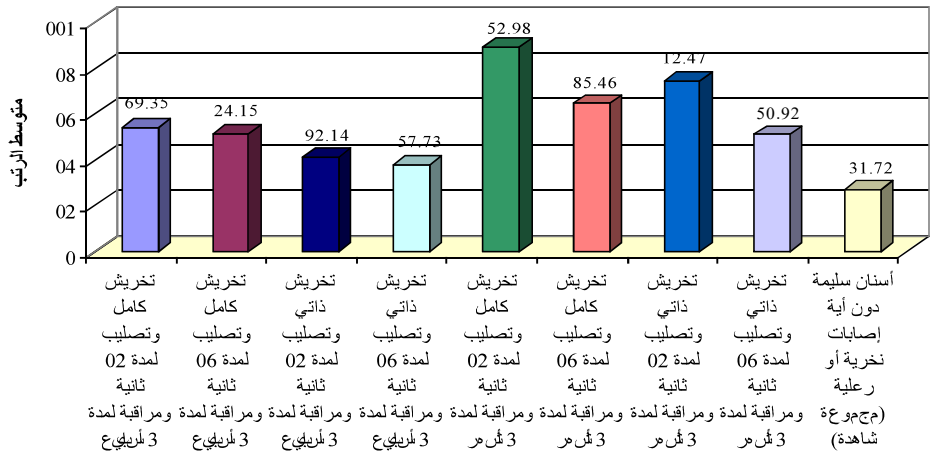
المجموعة المدروسة	عدد القياسات	متوسط الرتب	قيمة كاي مربع	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	12	53.96	42.114	0.000	**توجد فروق دالة**
تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	12	51.42			
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	12	41.29			
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	12	37.75			
تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	12	89.25			
تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	12	64.58			
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	12	74.21			
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	12	50.92			
أسنان سليمة دون أية إصابات نخرية أو رعلية (مجموعة شاهدة)	12	27.13			

يبين الجدول (1) أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق دالة إحصائياً في تكرارات درجة تعبيرية الواسم الحيوي Ki-67 بين اثنتين على الأقل من المجموعات المدروسة، ولمعرفة أي منها تم إجراء اختبار Mann-Whitney U للمقارنة الثنائية كما يبين الجدول (2).

الجدول رقم (2): يبين نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق الثنائية في تكرارات درجة تعبيرية Ki-67

المجموعة المدروسة (أ)	المجموعة المدروسة (ب)	قيمة U	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة مدة 3 أسابيع	تخريش كامل وتصليب مدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	68.5	0.823	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	55.5	0.293	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	51.0	0.183	لا توجد فروق دالة
	تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	25.5	0.005	**توجد فروق دالة**
	تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	58.5	0.389	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	46.0	0.100	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	68.0	0.803	لا توجد فروق دالة
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	37.5	0.026	**توجد فروق دالة**
تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة مدة 3 أسابيع	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	56.5	0.292	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	51.0	0.162	لا توجد فروق دالة
	تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	18.0	0.001	**توجد فروق دالة**
	تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	52.0	0.166	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	37.5	0.021	**توجد فروق دالة**
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	71.0	0.948	لا توجد فروق دالة
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	34.5	0.014	**توجد فروق دالة**
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	66.0	0.688	لا توجد فروق دالة
	تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	10.5	0.000	**توجد فروق دالة**
	تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	37.5	0.021	**توجد فروق دالة**
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	24.5	0.002	**توجد فروق دالة**
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	59.0	0.398	لا توجد فروق دالة
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	48.0	0.105	لا توجد فروق دالة
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	9.0	0.000	**توجد فروق دالة**
	تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	33.0	0.011	**توجد فروق دالة**
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	21.0	0.001	**توجد فروق دالة**
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	54.0	0.246	لا توجد فروق دالة
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	54.0	0.216	لا توجد فروق دالة
تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	30.0	0.009	**توجد فروق دالة**
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	40.5	0.046	**توجد فروق دالة**
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	21.0	0.002	**توجد فروق دالة**
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	4.5	0.000	**توجد فروق دالة**
تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	56.5	0.292	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	53.0	0.216	لا توجد فروق دالة
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	19.5	0.001	**توجد فروق دالة**
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	40.0	0.040	**توجد فروق دالة**
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	10.5	0.000	**توجد فروق دالة**
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	39.0	0.032	**توجد فروق دالة**

يبين الجدول (2) أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05 عند المقارنة في تكرارات درجة تعبيرية الواسم الحيوي Ki-67 بين عدد من المجموعات المدروسة، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ثنائية دالة إحصائياً في تكرارات درجة تعبيرية الواسم الحيوي Ki-67 بين هذه المجموعات. بينت دراسة قيم متوسطات الرتب الفروق في درجة تعبيرية الواسم الحيوي Ki-67 لكل مجموعة كما يبين المخطط (1).



المخطط رقم (1): يمثل متوسط الرتب لدرجة تعبيرية الواسم الحيوي Ki-67 في عينة البحث وفقاً للمجموعة المدروسة.

تم إجراء اختبار Kruskal-Wallis لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة تعبيرية الواسم الحيوي p53.

الجدول رقم (3): يبين نتائج اختبار Kruskal-Wallis لدراسة دلالة الفروق في تكرارات تعبيرية الواسم p53 بين المجموعات.

المجموعة المدروسة	عدد القياسات	متوسط الرتب	قيمة كاي مربع	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	12	36.46	31.310	0.000	توجد فروق دالة
تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	12	40.17			
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	12	65.96			
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	12	58.63			
تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	12	32.75			
تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	12	66.00			
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	12	51.25			
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	12	62.29			
أسنان سليمة دون أية إصابات نخرية أو رعلية (مجموعة شاهدة)	12	77.00			

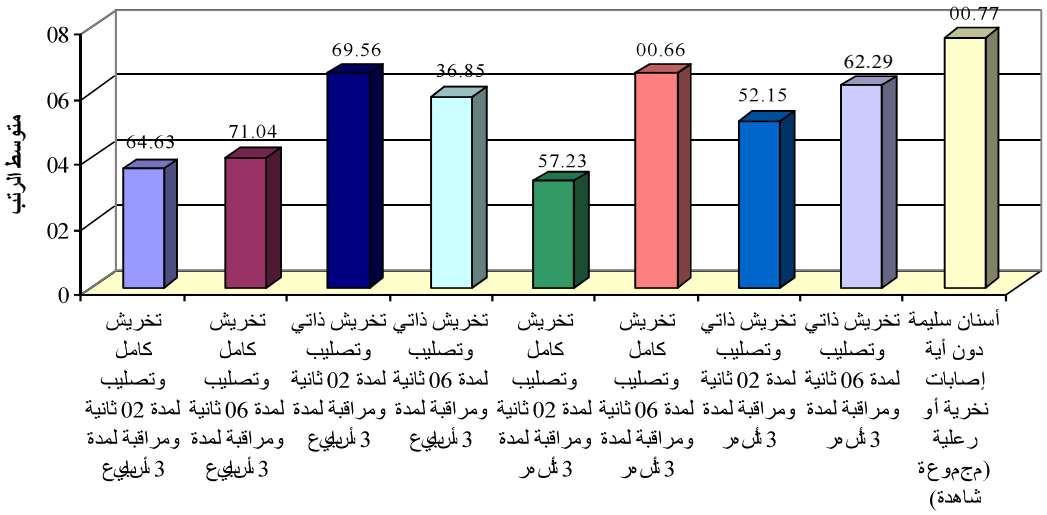
يبين الجدول (3) أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق دالة إحصائياً في تكرارات درجة تعبيرية الواسم الحيوي p53 بين اثنتين على الأقل من المجموعات المدروسة ولمعرفة أي منها، تم إجراء اختبار Mann-Whitney U للمقارنة الثنائية كما يبين الجدول (4).

الجدول رقم (4): يبين نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق الثنائية في تكرارات تعبيرية الواسم p53

المجموعة المدروسة (أ)	المجموعة المدروسة (ب)	قيمة U	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة مدة 3 أسابيع	تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة مدة 3 أسابيع	66.0	0.680	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة مدة 3 أسابيع	34.0	0.013	توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة مدة 3 أسابيع	41.0	0.031	توجد فروق دالة
	تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	66.0	0.688	لا توجد فروق دالة
	تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	31.5	0.005	توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	50.5	0.132	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	37.5	0.021	توجد فروق دالة
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	21.0	0.001	توجد فروق دالة
تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة مدة 3 أسابيع	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	38.0	0.023	توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	46.0	0.060	لا توجد فروق دالة
	تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	60.0	0.418	لا توجد فروق دالة
	تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	36.0	0.009	توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	56.0	0.244	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	42.0	0.038	توجد فروق دالة
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	24.0	0.002	توجد فروق دالة
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	61.0	0.444	لا توجد فروق دالة
	تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	30.0	0.007	توجد فروق دالة
	تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	70.5	0.916	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	51.5	0.155	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	66.5	0.710	لا توجد فروق دالة
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	57.0	0.324	لا توجد فروق دالة
	تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	36.0	0.015	توجد فروق دالة

المجموعة المدروسة (أ)	المجموعة المدروسة (ب)	قيمة U	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أسابيع	تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	61.5	0.422	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	61.5	0.424	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	66.5	0.691	لا توجد فروق دالة
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	45.0	0.066	لا توجد فروق دالة
تخريش كامل وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	27.0	0.003	توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	45.0	0.066	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	33.0	0.011	توجد فروق دالة
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	18.0	0.001	توجد فروق دالة
تخريش كامل وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	51.0	0.110	لا توجد فروق دالة
	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	67.5	0.743	لا توجد فروق دالة
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	54.0	0.216	لا توجد فروق دالة
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 20 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	56.5	0.263	لا توجد فروق دالة
	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	36.0	0.015	توجد فروق دالة
تخريش ذاتي وتصليب لمدة 60 ثانية ومراقبة لمدة 3 أشهر	مجموعة الأسنان السليمة (مجموعة شاهدة)	51.0	0.162	لا توجد فروق دالة

يبين الجدول (4) أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05 عند المقارنة في تكرارات درجة تعبيرية الواسم الحيوي p53 بين عدد من المجموعات المدروسة، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ثنائية دالة إحصائياً في تكرارات درجة تعبيرية الواسم الحيوي p53 بين هذه المجموعات. بينت دراسة قيم متوسطات الرتب الفروق في درجة تعبيرية الواسم الحيوي p53 لكل مجموعة كما يبين المخطط (2).



المخطط رقم (2): يمثل متوسط الرتب لدرجة تعبيرية الواسم الحيوي p53 في عينة البحث وفقاً للمجموعة المدروسة.

بناء على المعايير الكمية المعتمدة للواسمات Ki-67 و p53 الخاصة بحالة الانقسام الخلوي للب السن فقد تبين:

- وجود فروق جوهرية بين بعض مجموعات الدراسة التي تضمنت فترتي المراقبة (بعد 3 أسبوع، بعد 3 أشهر) من حيث مستوى تعبير البروتين Ki-67 كمشعر للانقسام الخلوي والبروتين الكابح للانقسام الخلوي p53.
- تفاوت مستوى تعبير الواسمات المستخدمة بين المجموعات المدروسة تبعاً لنوع التخريش العاجي وفترة التصليب الضوئي للكومبوزيت كما يلي:
  - روقبت أدنى حالات اضطراب اللب في حالة التخريش الذاتي وفترة التصليب الطويلة للكومبوزيت، في المجموعة الرابعة والثامنة، حيث كانت مستويات تعبير البروتينات Ki-67 و p53 منخفضة.
  - روقبت أسوأ حالات اللب اضطراباً في حالة التخريش الكامل وفترة التصليب القصيرة للكومبوزيت، في المجموعة الأولى والخامسة، حيث ارتفعت مستويات تعبير البروتينات Ki-67 و p53 بشكل متزامن، مشيرة إلى أذية محتملة لسلاسل الـ DNA في الخلايا الانقسامية للب السن.

4-المناقشة

أجريت الدراسة النسيجية المناعية الكيميائية للب السن، باستخدام 36 ضاحك معد للقلع لأسباب تقويمية. تم تحضير حفر عميقة بحيث تكون ثخانة طبقة العاج الواقية للب (0.5) مم كحد أقصى. بعد استبعاد تأثير التقلص التماثري والتسرب الحفافي، روقب تأثير النفوذية العاجية لوحيدات التماثر، المتعلقة بنمط التخريش العاجي وفترة التصليب الضوئي لطبقات الكمبوزيت، في حالة وطبيعة الانقسام الخلوي للب السن. تمت المراقبة على المدى القصير بعد مرور (3) أسابيع، وعلى المدى المتوسط بعد مرور (3) أشهر باستخدام مشعر الانقسام الخلوي البروتين Ki-67 و البروتين الكابح للانقسام الخلوي p53.

أظهرت نتائج الدراسة وجود فروق جوهرية بين بعض المجموعات تبعاً للمتغيرات المدروسة. روقبت أدنى حالات اضطراب اللب عند التخريش الذاتي وفترة التصليب الطويلة للكومبوزيت، حيث كانت مستويات تعبير البروتينات Ki-67 و p53 منخفضة. روقبت أسوأ حالات اللب اضطراباً عند التخريش الكامل وفترة التصليب القصيرة للكومبوزيت، حيث ارتفعت

مستويات تعبير البروتينات Ki-67 و p53 بشكل متزامن، مشيرة إلى أذية محتملة لسلاسل الـ DNA في الخلايا الانقسامية للب السن. يمكن أن يعزى ذلك لتآزر تقنية التخريش العاجي الكامل وفترة التصليب القصيرة، عند انخفاض ثخانة طبقة العاج المغطية للب في حالة الحفر العميقة، في زيادة خطرة للنفوذية العاجية لوحيدات التماثر الحرة، ما سبب أذية موضعية غير ردودة، ما جعل اللب يرفع نسبة الانقسام الخلوي للتعويض عن الخلايا المصورة للعاج المتأذية. هذا التغير كان ليبقى رد فعل دفاعي طبيعي تلاؤمي لو لم يترافق بارتفاع مستوى تعبير البروتين الكابح للانقسام الخلوي p53، الأمر الذي يشير إلى عملية انقسام خلوي مضطربة. يمكن أن يعود ذلك إلى تأذي سلاسل الـ DNA للخلايا الانقسامية، نتيجة التأثير التخريشي الانسمامي لنفوذ وحيدات التماثر الحرة مسببة حالة من الإجهاد التأكسدي للخلايا. تؤدي مثل هذه الحالات إلى ارتفاع مستوى تعبير البروتين p53 ليجبر الخلايا الانقسامية على إيقاف دورة الانقسام وإصلاح الأذية التي كشفتها إحدى نقاط ضبط Checkpointدورة الانقسام الخلوي، أو ستتعرض هذه الخلايا للتموت المبرمج. إن استمرار إجهاد خلايا لب السن نتيجة استمرار ارتشاح وحيدات التماثر سيحرم اللب من إمكانية التعويض عن خلايا اللب المتأذية وفي مقدمتها الخلايا المصورة للعاج، ما يؤدي إلى تفاقم التعب والأذية اللبية حتى مرحلة فقدان الحيوية.

توافقت نتائج هذه الدراسة عموماً مع دراسة Nocca وزملاؤها عام 2014 من حيث تأثير وحيدات تماثر الكمبوزيت في الفعالية الوظيفية والإجهاد التأكسدي لمزارع خلايا لب السن. توافقت نتائج هذه الدراسة عموماً مع دراسة Kim وزملاؤه عام 2015 من حيث التأثير السلبي لـ (MDP-10)، وهو أحد أنواع وحيدات التماثر المستخدمة في أنظمة الارتباط العاجي ذاتية التخريش، في اضطراب الفعالية التوالدية وقدرة التمايز والتصنيع للخلايا المصورة للعاج نتيجة الإجهاد التأكسدي.

توافقت نتائج هذه الدراسة عموماً مع دراسة Soares وزملاؤها عام 2016، التي بينت أن تطبيق الإسمنت الزجاجي الشاردي المعدل بالراتنج كطبقة مبطنة في الحفر العميقة، المترافق بتطبيق مبدئات حامضية تتضمن وحيدات التماثر HEMA، أدى إلى وارتفاع معدل تصنيع الوسائط الالتهابية واضطراب وظائف اللب متضمنة انخفاض معدل إفراز وتمعدن مكونات العاج من قبل الخلايا المصورة للعاج.

توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة Saraswati وزملاؤها عام 2017 الذين بينوا التأثير السلبي لوحيدات التماثر على المستوى المناعي للخلايا المصورة للعاج بسبب زيادة نسبة الجذور الحرة الناجم عن الإجهاد التأكسدي. توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة Kwon وزملاؤه عام 2015 الذين بينوا تأثير وحيدات التماثر (TEGDMA, HEMA) في إعاقة وكبح تمايز خلايا اللب الانقسامية بآليات مختلفة ترتبط بالآثار الانسمامية للإجهاد التأكسدي. توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة Corbo وزملاؤه عام 2017 الذين أثبتوا التأثير الانسمامي لوحيدات التماثر الحرة في خلايا اللب الانقسامية غير المتمايزة.

لم تتوافق نتائج هذه الدراسة مع دراسة Kouros وزملاؤه عام 2013 الذين وجدوا بأن تطبيق نظام الارتباط العاجي ذاتي التخريش لم يسبب ارتكاساً لبياً جوهرياً. ربما يعود السبب لاختلاف أعمار المرضى التي تراوحت لديهم بين 50-40 عاماً، بينما تراوحت أعمار مرضى دراستنا بين 18-11 عاماً، وبالتالي يمكن أن تكون نفوذية العاج التي تنخفض مع تقدم العمر هي من ساهم في تحمل اللب لتطبيق مثل هذه المواد راتنجية الطبيعة.

لم تتوافق نتائج هذه الدراسة مع دراسة Cobanoglu وزملاؤها عام 2015 الذين لم يجدوا ردود فعل التهابية لبية عند تطبيق نوعين من أنظمة الارتباط العاجي ذاتية التخريش. يمكن أن يعود السبب لثخانة لطبقة العاج المغطية للب التي تجاوزت 1 مم، حيث قامت بتحييد التأثيرات السمية لنفوذ وحيدات التماثر عبر القنيات العاجية بفعالية، إضافة إلى طبيعة الخسف العاجي السطحي لهذه الأنظمة الذي لا يتجاوز (1) ميكرون، الأمر الذي حافظ على سدادات البرادة العاجية للقنيات العاجية، ومنع الدور السلبي لسوائل القنيات العاجية في خفض نسبة تحويل وحيدات التماثر.

5-الاستنتاجات

نستنتج من هذه الدراسة أن لطبيعة التخريش وأنظمة الارتباط العاجي وفترة تصليب الكومبوزيت الضوئي تأثيراً مباشراً في اضطراب لب السن في الحفر العميقة خاصة فيما يتعلق بنسبة وطبيعة الانقسام الخلوي. إن زيادة النفوذية العاجية المرتبطة بالتخريش الكامل وانخفاض معدل تحويل وحيدات التماثر المرتبط بعملية التصليب غير الكافية، سيرفع نسبة وحيدات التماثر الحرة المرتشحة عبر القنيات العاجية نحو لب السن، مسببة اضطراب مستويات تعبير بروتينات دورة الانقسام الخلوي الطبيعي مثل Ki-67 و p53 عبر آليات جزيئية ترتبط في أغلب الحالات بارتفاع الإجهاد التأكسدي اللبي.

إن ارتفاع مستوى تعبير البروتين الكابح للانقسام الخلوي p53 سيجعل محاولات اللب للتعويض عن مصورات العاج المتأذية غير مجدية، بل ربما يطرأ تحول في طبيعة الانقسام ليصبح غير منضبط نتيجة تراكم التأثيرات الانسمامية لوحيدات التماثر، وعندها يمكن ألا تتوقف الآثار السلبية عند حدود تموت لب السن.

6- التوصيات والمقترحات

- اعتماد أنظمة الارتباط العاجي ذاتية التخريش في الحفر العميقة لخصائصها الحيوية الملائمة من حيث الخسف المعتدل لسطح العاج وتأمين نفوذية عاجية معتدلة عبر المحافظة على سدادات القنيات العاجية، وبالتالي منع التأثير السلبي لسوائل القنيات العاجية في خفض نسبة تحويل وحيدات التماثر أثناء عملية التصليب الضوئي.
- ضبط عملية التصليب الضوئي لأنظمة الارتباط العاجي وترميمات الكمبوزيت من حيث الشدة والمدة، في سبيل رفع نسب تشكل سلاسل عديدات التماثر، ما سيخفض الإجهاد التأكسدي اللبي المرافق لعملية الترميم ويحسن التقبل الحيوي.
- إجراء دراسة نسيجية مناعية كيميائية باستخدام واسمات مختلفة لمراقبة حالة الاستقلاب اللبي والإجهاد التأكسدي والوظيفة التجددية والتصنيعية عند اختبار تأثير متغيرات الترميم بالكمبوزيت.
- إجراء دراسات سريرية ونسيجية مناعية كيميائية باستخدام واسمات نوعية لمعرفة طبيعة وآلية ونتائج التأثيرات الانسمامية الجينية الناجمة عن ارتشاح وحيدات التماثر نحو لب السن المرمم.

7=المراجع

- About I, Camps J, Mitsiadis T A, Bottero M-J, Butler W, Franquin J-C, Influence of Resinous Monomers on the Differentiation in Vitro of Human Pulp Cells into Odontoblasts. J Biomed Mater Res (Appl Biomater) 2002, 63: 418–423.
- Bakopoulou A, Leyhausen G, Volk J, Koidis P, Geurtsen W, Effects of resinous monomers on the Odontogenic differentiation and mineralization potential of highly proliferative and clonogenic cultured apical papilla stem cells. dental materials 2012, 28, 327–339.
- Bakir Ş, Bakir E P, Yildirim Z S, Biocompatibility of Dental Adhesives, 2017, Vol. 4, Issue 4.
- Barelli-Corbo F, Acciavatti B, Amalfitano A, Arcovito A, Callà C, Cordaro M, Effects of Two Methacrylic Monomers on Pulp Cells Differentiation Capability: A Preliminary In Vitro Study. Mater Sci Eng J. 2017; 1(1): 1003.
- Bonizzi G, Cicalese A, Insinga A, and Pelicci P G., The emerging role of p53 in stem cells, (2011),Trends in Molecular Medicine, doi:10.1016/j.molmed.2011.08.002: 1–7.

- Castan R, Gato P, Herna N, Rodriguez EG, Silva P, Silva N, Pulpal and Periapical Response After Restoration of Deep Cavities in Dogs' Teeth With Filtek Silorane and Filtek Supreme XT Systems. Operative Dentistry, 2013, 38(1), 73-81.
- Chan K H S, Mai Y, Kim H, Tong K C T, Desmond Ng, Hsiao J C M, Review: Resin Composite Filling, *Materials* 2010, *3*, 1228-1243.
- Cobanoglu N, Ozer F, Demirci M, Ozdemir O, Imazato S, Histopathological evaluation of human pulp response to two self-etching resins". Journal of Restorative Dentistry, 2015, Vol. 3, Issue 1.
- Demirci M, Hiller K-A, Bosl C, Galler K, Schmalz G, Schweikl H, The induction of oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity by dental adhesives. dental materials 2008, 24, 362–371.
- Donehower L A., Using Mice to Examine p53 Functions in Cancer, Aging, and Longevity, (2009), Cold Spring Harb Perspect Biol doi: 10.1101/cshperspect.a001081.
- Galler K.M., Schweikl H., Hiller K.-A., Cavender A.C., Bolay C., D'Souza R.N., and Schmalz G., TEGDMA Reduces Mineralization in Dental Pulp Cells. J Dent Res 2011, 90(2):257-262.
- Goldberg M, "In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review", Clin Oral Invest 2008, 12:1–8.
- Hargreaves, Kenneth M. and Goodis, Harold E, Seltzer and Bender's Dental Pulp, Second Ed. Quintessence Publishing Co Inc. (2002).
- Hervás-García A, Martínez-Lozano MA, Cabanes-Vila J, Barjau-Escribano A, Fos-Galve P. Composite resins. A review of the materials and clinical indications. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006;11:E215-20.
- Kabel A M, Tumor Protein p53: Novel Aspects of an Old Tumor Marker, *Journal of Cancer Research and Treatment, 2015, Vol. 3, No. 2, 25-27.*
- Kim E C, Park H, Lee S-I, Kim S-Y, "Effect of the Acidic Dental Resin Monomer 10-methacryloyloxydecyl Dihydrogen Phosphate on Odontoblastic Differentiation of Human Dental Pulp Cells", Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2015, 117, 340–349.
- Kouros P, Koliniotou-Koumpia E, Koulaouzidou E, Helvatjoglu-Antoniades M, Tziafas D." Pulp response to dentine adhesives: A study on mature human pulps. Eur J Dent 2013, 7:26-32.
- Kwon J H, Park H C, Zhu T, Yang H-C," Inhibition of Odontogenic differentiation of human dental pulp cells by dental resin monomers", Biomaterials Research 2015, 19:8.
- Li, L T., Jiang, G., Chen, Q., Zheng, J N., Ki-67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer, (2015), Molecular Medicine Reports, 11(3): 1566-1572.
- Lourdes M, Accorintea R, Loguerciob A, Reisb A, Muencha A, Arau´jo V C, Adverse effects of human pulps after direct pulp capping with the different components from a total-etch, three-step adhesive system, Dental Materials 2005, 21, 599–607.

- Moharamzadeh K, Brook I M, Van Noort R, Biocompatibility of Resin-based Dental Materials, Materials 2009, 2, 514-548.
- Nocca G, Callà C, Martorana G E, Cicillini L, Rengo S, Lupi A, Cordaro M, Gozzo M L, Spagnuolo G, Effects of Dental Methacrylates on Oxygen Consumption and Redox Status of Human Pulp Cells, BioMed Research International, Volume 2014, Article ID 956579, 10 pages.
- Nowicka A, Aagocka R, Lipski M, Parafiniuk M, Grocholewicz K, Sobolewska E, Witek A, Buczkowska-RadliNska J, Clinical and Histological Evaluation of Direct Pulp Capping on Human Pulp Tissue Using a Dentin Adhesive System, BioMed Research International, Volume 2016, Article ID 2591273, 9 pages.
- Roger L., Jullien L., Gire V., Roux P., Gain of oncogenic function of p53 mutants regulates E-cadherin expression uncoupled from cell invasion in colon cancer cells, (2010), Journal of Cell Science 123, 1295-1305.
- Schweikl H., Spagnuolo G., and Schmalz G., Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers, Journal of Dental Research, 2006, Vol. 85, No. 10, pp. 870–877.
- Saraswati W, Widjiastuti I, Rukmo M, Wahjuningrum D A, The expression of HMGB1 in Dentin Pulp Complex Induced by Resin Monomer HEMA, International Medical Device and Technology Conference 2017.
- Scholzen, T & Gerdes, J. The Ki-67 protein, from the known and the unknown. Journal of cellular physiology, 2000, 182(3): 311-322.
- Silva M, Calvo A M, Sipert C R, Dionísio T J, Navarro M F de Lima, Att M T, Santos C F, Dental Pulp Fibroblasts Response after Stimulation with HEMA and Adhesive System. Brazilian Dental Journal 2018, 29(5): 419-426.
- Soares D G, Basso F G, Scheffel D L S, Giro E M A, Costa C A S, Hebling J, Biocompatibility of a restorative resin-modified glass ionomer cement applied in very deep cavities prepared in human teeth, GENERAL DENTISTRY, July/August 2016, p: 33-40.
- Sobecki, M., Mrouj, K., Camasses, A., Parisis, N., Nicolas, E., Lleres, D., Gerbe, F., Prieto, S., Krasinska, L., David, A., Eguren. M., The cell proliferation antigen Ki-67 organises heterochromatin, 2016. Elife 5, 7(5): 137.
- Tay FR, Pang KM, Gwinnett AJ, Wei SH. Scanning electron microscopic study of the extent of resin penetration into human coronal dentin following a total-etch technique *in vivo*. Cells Mater 1994;4:317-29.
- Yalcin M, Ulker M, Ulker E, Sengun A, Evaluation of cytotoxicity of six different flowable composites with the methyl tetrazolium test method, European Journal of General Dentistry 2013, Vol. 2, Issue 3.
- Yasuda Y, Inuyama H, Maeda H, Akamine A, Nor J E, Saito T, Cytotoxicity of one-step dentin-bonding agents toward dental pulp and odontoblast-like cells, Journal of Oral Rehabilitation 2008, 35; 940–946.