

اثر تابش لیزر دی اکسید کربن همراه با فلوراید تراپی موضعی بر جذب فلوراید در مینای دندان شیری

خلاصه

مقدمه: علی‌رغم کاهش چشمگیر پوسیدگی در دهه‌های گذشته، هنوز هم این بیماری یک مشکل سلامت عمومی به خصوص در کشورهای در حال توسعه است. در سال‌های اخیر، کاربرد ترکیبی لیزر و فلوراید به‌عنوان روشی نوین در پیشگیری از پوسیدگی معرفی شده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر تابش لیزر دی‌اکسید کربن همراه با فلوراید تراپی موضعی بر جذب فلوراید در مینای دندان شیری به‌روش *in vitro* بود.

روش بررسی: در این تحقیق تعداد ۲۵ دندان آسیای شیری کشیده‌شده بدون پوسیدگی انتخاب و یک‌سوم مینای دندان‌ها به چهار قسمت مساوی تقسیم شدند و به‌طور تصادفی در ۵ گروه قرار گرفتند. گروه ۱: فلوراید تراپی به‌تنهایی، گروه ۲: فلوراید تراپی و متعاقب آن لیزر تراپی، گروه ۳: لیزر تراپی و متعاقب آن فلوراید تراپی، گروه ۴: لیزر تراپی و متعاقب آن فلوراید تراپی و مجدداً لیزر تراپی و گروه ۵: کنترل (بدون اعمال هیچ‌گونه تیماری). لیزر مورد استفاده دی اکسید کربن با طول موج ۱۰۶۰۰ نانومتر، توان متوسط یک وات، عرض پالس ده میلی ثانیه و فرکانس ۲۰ هرتز بود که با انرژی هر پالس (fluence) معادل 0.0002 j/cm^2 و چگالی هر پالس 0.016 j/cm^2 استفاده گردید. در فرآیند فلوراید درمانی، ژل فلوراید سدیم ۲/۷ درصد مورد استفاده قرار گرفت. میزان فلوروآپاتیت و کریستالیزاسیون به‌ترتیب با روش‌های FTIR و XRD اندازه‌گیری شد. تغییرات مرفولوژیکی سطحی نیز توسط استریومیکروسکوپ و اسکن میکروسکوپ الکترونی ارزیابی گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA و Tukey با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: در بررسی FTIR، میزان گروه هیدروکسیل هیدروکسی آپاتیت بررسی شد که کاهش آن به‌معنی واکنش با یون فلوراید بود. نتایج حاصل از آزمون چندمقیاسه‌ای آزمایش FTIR نشان داد که گروه کنترل با تمام گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌دار داشت و در این گروه سطح گروه هیدروکسیل هیدروکسی آپاتیت ($66/68 \pm 8/3$) در بالاترین میزان نسبت به گروه‌های دیگر قرار داشت. مقدار بنیان هیدروکسیل باقیمانده در گروه فلوراید تراپی ($33/99 \pm 3/3$) به‌میزان معنی‌داری کمتر از گروه کنترل و بیشتر از گروه‌های تحت تابش لیزر بوده است. بین گروه‌های ترکیب، لیزر- فلوراید تراپی ($12/35 \pm 3/11$)، فلوراید- لیزر تراپی ($8/08 \pm 2/27$) و لیزر- فلوراید- لیزر تراپی ($5/88 \pm 2/84$) تفاوت معنی‌داری وجود نداشته است. شاخص کریستالی شدن در تست XRD در بین گروه‌های آزمایشی و کنترل فاقد اختلاف معنی‌دار بودند ($P > 0/05$). تصاویر حاصل از بررسی مرفولوژیکی استریومیکروسکوپیک و میکروسکوپ

شمس الملوک نجفی^۱
قاسم میقانی^۳
محمد جواد خرازی فر^۱
رسول مخصوصی^۶
بتول کریمی^۴
سید مصطفی فاطمی^{۵،۶}

۱. مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران ایران
۲. گروه بیماری‌های دهان، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران ایران
۳. گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران ایران
۴. گروه پژوهشی ترمیم نوری، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران ایران
۵. گروه مواد دندانی، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران ایران
۶. دندانپزشک

الکترونی (SEM) نمونه‌های آزمایشی، نتایج حاصل از ارزیابی FTIR را مورد تأیید قرار داد. نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که کاربرد فلوراید تراپی به‌تنهایی و یا کاربرد به‌همراه لیزر CO₂ تراپی باعث افزایش جذب فلوراید در دندان‌های شیری می‌شود. ولی کاربرد توأم فلوراید تراپی و لیزر تراپی باعث هم‌افزایی در جذب بیشتر فلوراید در دندان‌های شیری نسبت به کاربرد تنهایی فلوراید تراپی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: لیزر تراپی، فلوراید تراپی، جذب فلوراید، دندان‌های شیری

نویسنده مسئول: سیدمصطفی فاطمی، تلفن: ۰۲۱۶۶۴۹۰۷۶۴
پست الکترونیک: drfatemi@gmail.com

مقدمه

طول موج $10/6 \mu\text{m}$ را با قدرت ۲ W (۲ وات) بر روی مینا بلافاصله پس از کاربرد محلول آمین- فلوراید آزموده است [۴]. به‌نظر می‌رسد لیزر CO₂ کارآمدترین نوع لیزر است که دلیل آن همبستگی ضریب جذب مینا با طول موج لیزر تابانده شده است [۵]. مطالعات گوناگون از یافته‌های افزایش جذب فلوراید با درمان لیزر پشتیبانی می‌کنند. تغییر شکل آنی هیدروکسی‌آپاتیت با تابش پر قدرت لیزر CO₂ به فلورآپاتیت در حضور فلوراید آمین در آزمایشگاه نشان داده شده است. هنگامی که درمان لیزر در ترکیب با کاربری فلوراید باشد، به‌نظر می‌رسد مزایای زیادی نسبت به کاربرد فلوراید به‌تنهایی داشته باشد. البته، برخی آثار نامناسب بر روی سطح مینا مانند ترک‌های مینایی و نواحی ذوب‌شده پس از درمان با لیزر مشاهده شده است. تاکنون سازوکارهای آثار ترکیبی تابش لیزر و فلوراید به‌طور کامل معلوم نشده است. هم‌اکنون، دست‌کم دو نظریه مربوط به دو نوع شکل‌گیری فلوراید تحریک (القا) شده با درمان لیزر مطرح شده است. یکی مطالعه الکترون پویشی میکروسکوپی است و عنوان می‌کند که درمان لیزر- فلوراید سبب رسوب ذرات متعدد کروی یا گرد می‌شود که از نظر ریخت‌شناسی شبیه رسوبات فلوراید کلسیم بر روی سطح‌های ریشه ای است [۶]. این رسوبات سست پیوند فلوراید ممکن است ذخیره‌ای برای باز پر کردن فلوراید از دست‌رفته در طی روندهای معدنی‌زدایی دوره‌ای استفاده شوند. روش دیگر که با آزمایش‌های اندکی پشتیبانی می‌شود، بر نقش لیزر در افزایش جذب فلوراید در داخل ساختار بلوری دندان به شکل پیوند محکم تأکید دارد [۷]. در آزمایشی با استفاده از پودرهای مینا، افزایش چهارده برابر جذب فلوراید را پس از تابش لیزر نشان داده است [۸]. نفوذ فلوراید به عمق $20 \mu\text{m}$ در سطح ریشه با موفقیت با لیزر Nd:YAG به نتیجه رسیده است. با استفاده از هیدروکسی‌آپاتیت (HA) مصنوعی نشان داده شده است که درمان با لیزر CO₂ در حضور فلوراید حتی می‌تواند آن را به فلورآپاتیت (FA) تبدیل کند [۹].

در طی چند دهه گذشته کاهش چشمگیری در پوسیدگی دندان هم در کشورهای توسعه‌یافته و هم در کشورهای در حال توسعه مشاهده

با وجود کاهش عمده میزان بروز پوسیدگی طی چند دهه گذشته در کشورهای توسعه‌یافته هنوز پوسیدگی دندان شایع‌ترین بیماری مزمن در کودکان دبستانی است [۱]. در صورت ادامه روند پوسیدگی با درگیری پالپ و عوارض درد، عفونت و کشیدن دندان یا درمان‌های دشوار و پرهزینه روبه‌رو خواهیم شد. در مطالعات همه‌گیرشناسی، شیوع پوسیدگی در کشورهای برخوردار حدود ۹۰-۶۰ درصد گزارش شده است [۲]. پژوهشگران زیادی نشان داده‌اند که درمان با لیزرهای گوناگون مانند Nd:YAG، CO₂ و آرگون می‌تواند سبب کاهش معدنی‌زدایی لایه زیرسطحی مینا شود [۳]. در نتیجه، پژوهش‌های دائم برای بررسی هزینه‌های اثربخشی درمان‌های پیشگیرانه پوسیدگی اهمیت زیادی در سلامت کلی دهان پیدا می‌کند. تاکنون، برای درمان‌های پیشگیرانه پوسیدگی افزون بر رعایت دقیق بهداشت دهان از مکمل‌های فلوراید و شیاربند استفاده شده است. نشان داده شده است که جذب فلوراید در فرورفتگی و شیارهای دندان کمتر از سطوح صاف است. بنابراین، استفاده از شیاربندها در این نواحی پیشنهاد شده است. گاهی شیارهای باریک سطح جونده دندان‌ها را برای دسترسی موهای مسواک به پلاک میکروبی حذف می‌کنند. با این حال، ایجاد پوسیدگی ثانویه مشاهده شده است. روش جدید کاربرد لیزر همراه با فلوراید است. تحقیقات آزمایشگاهی نشان داده است که فلوراید با غلظت کم در محلول Buffer اسیدی به‌صورت کامل مانع پوسیدگی ثانویه شده است. این وضعیت در دهان بسیار پیچیده‌تر می‌شود. زیرا حملات اسیدی مکرر وجود دارد و سطوح مختلف دندان‌ی وضعیت‌های گوناگونی را نشان می‌دهند. از میان لیزرهای گوناگون، لیزر CO₂ کاهش معدنی‌زدایی لایه زیرسطحی مؤثرتر بوده است. توضیحات مختلفی برای افزایش مقاومت اسید با درمان لیزر، مانند کاهش تراوایی، تغییراتی در ترکیب شیمیایی مینا یا هر دو با هم داده شده است. تابش لیزر CO₂ با طول موج $10/6 \mu\text{m}$ و روش پیوسته منجر به کاهش آشکار میزان حلالیت اولیه مینا می‌شود. نتایج مشابهی هنگام بررسی اثر کاربرد فلوراید تکمیلی، پیش یا پس از درمان با لیزر، منجر به افزایش جذب فلوراید و کاهش تجزیه در محیط اسیدی شده است. جدیدترین مطالعه پیوستگی

و ایجاد تأخیر در پیشرفت پوسیدگی مؤثرتر است [۱۷]. نتایج مطالعه Valério و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی اثر لیزر CO₂ و فلورایدتراپی در کنترل ضایعه پوسیدگی در دندان‌های شیری دمیترالیزه شده نشان داد که لیزر CO₂ می‌تواند به‌عنوان یک منبع اضافی در کنترل و پیشرفت پوسیدگی در مینای دندان‌های شیری باشد [۱۸].

باتوجه به همه شواهد موجود، این مسئله نامشخص است که کدام فلوراید (پیوند محکم یا سست پیوند) نقش اصلی را در افزایش جذب فلوراید مینایی دارد که به آن لیزر تابانده شده است. باتوجه به نقش بسیار مهم لیزر در کاهش حلالیت مینا در اسید و توصیه بیشتر پژوهشگران در این زمینه، این مطالعه به منظور آماده‌سازی زمینه کاربرد بالینی لیزر طراحی گردیده است. هدف از اجرای این مطالعه آزمایشگاهی، ارزیابی پدیده اثر تابش لیزر پر قدرت دی‌اکسیدکربن بر پیشگیری از پوسیدگی مینا با کاربرد ژل فلوراید موضعی در دندان‌های کشیده شده شیری بود.

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی است که به روش In Vitro انجام شد. ابتدا ۲۵ عدد دندان آسیای شیری کشیده شده بدون پوسیدگی انتخاب و بعد از تمیز کردن جهت ضد عفونی در محلول ۱ درصد کلرامین تی به مدت یک هفته نگهداری شدند. پس از ضد عفونی در آب مقطر استریل نگهداری شدند. یک سوم میانی سطح گونه‌ای (باکال) و یا زبانی (لینگوال) هر دندان بعد مزویدستالی جدا نموده به گونه‌ای که فاصله تا سطح جونده یک میلی متر باشد. پس از تراشیدن عاج با هندپیس هر سطح بریده شده به چهار قسمت مساوی تقسیم شدند و به‌طور تصادفی در گروه‌های آزمون قرار داده شدند.

گروه‌های آزمایش عبارت بودند از:

- گروه اول: فلورایدتراپی به تنهایی
- گروه دوم: فلورایدتراپی و متعاقب آن لیزر تراپی
- گروه سوم: لیزر تراپی و متعاقب آن فلورایدتراپی
- گروه چهارم: لیزر تراپی و متعاقب آن فلورایدتراپی و مجدداً لیزر تراپی
- گروه پنجم: کنترل بدون اعمال هیچگونه درمانی

مشخصات پارامتری لیزر مورد استفاده در این پژوهش براساس مقالات مشابه به این شرح بود: لیزر دی‌اکسیدکربن با طول موج ۱۰۶۰۰ نانومتر، توان متوسط یک وات، عرض پالس ده میلی ثانیه و فرکانس ۲۰ هرتز مورد استفاده قرار گرفت.

بر این مینا انرژی هر پالس (fluence) معادل 0.0002 j/cm² و چگالی هر پالس 0.016 j/cm² برآورد گردید. نقطه کانونی تابش لیزر ۰/۸ میلی متر مربع و زمان پرتو دهی برای هر نقطه کانونی چهار ثانیه بود.

شده است [۱۰]. براساس گزارش WHO حدود ۷۰ درصد از کشورهای جهان به هدف WHO در زمینه سلامت دهان که رسیدن به DMFT معادل ۳ در کودکان ۱۲ ساله بوده است، دست یافته‌اند [۱۱]. با این حال پوسیدگی دندان هنوز هم یک مشکل سلامت عمومی خصوصاً در کشورهای در حال توسعه محسوب می‌شود [۱۲]. اهمیت این مشکل زمانی بیشتر می‌شود که بدانیم بعضی از افراد ریسک بالاتری برای ابتلا به این بیماری دارند. به طوری که مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که درصد اندکی از کودکان درصد بالایی از پوسیدگی را به خود اختصاص داده‌اند [۱۰]. در چنین مواردی استفاده از روش‌های جدید و مقرون به صرفه پیشگیری از پوسیدگی برای کنترل کامل بیماری بسیار اهمیت می‌یابد. تأثیر فلوراید در پیشگیری از پوسیدگی و نقش مهم آن در افزایش رمینرالیزاسیون و مهار دمیترالیزاسیون و نیز تأثیر آن در ایجاد اختلال در متابولیسم و تولید اسید توسط باکتری‌های پوسیدگی‌زا به خوبی اثبات شده است [۱۳]. کاربرد فلوراید موضعی در اشکال مختلف مانند ژل، فوم، وارنیش و محلول منجر به رسوب کریستال‌های سطحی کلسیم فلوراید (CaF₂) در سطح مینا می‌شود که منبعی برای آزادسازی فلوراید در روند دمیترالیزاسیون است. در عین حال مقادیر اندکی فلوراید در مینا به شکل فلوروآپاتیت وجود دارد. فلوروآپاتیت در مقایسه با کلسیم-فلوراید تشکیل شده حلالیت پایین تری دارد و مقاومت طولانی تری در برابر روند پوسیدگی فراهم می‌کند. به همین دلیل کاربردهای متنوع فلوراید موضعی برای دستیابی به حداکثر اثر ضد پوسیدگی آن ضروری است. همچنین کاربرد فلوراید همراه با روشی که بتواند جذب آن را افزایش دهد، روشی تضمین کننده در جهت پیشگیری از پوسیدگی خواهد بود [۱۴].

از سویی دیگر، از زمان اختراع لیزر یاقوتی، لیزرهای مختلفی برای استفاده در دندانپزشکی به‌عنوان روشی جایگزین برای تغییر سطح دندان و افزایش مقاومت آن به اسید مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. از آن زمان تاکنون مطالعات بسیاری در رابطه با کاربرد انواع مختلف لیزر مثل لیزرهای با جذب بالا در مینا (Er, Cr:YSGG, Er:YAG, CO₂) و نیز لیزرهای با جذب کم (آرگون و Nd:YAG) در زمینه دندانپزشکی پیشگیری انجام شده است و نتایج این مطالعات نشان داده‌اند که هر دو گروه این لیزرها در این زمینه موفق بوده‌اند [۱۵ و ۱۴]. در حال حاضر، تابش لیزر به تنهایی یا به‌عنوان مکمل درمان‌های کنونی پیشگیری از پوسیدگی هم در مینای سالم و هم در پوسیدگی‌های اولیه (Incipient caries) مطرح است [۱۶]. ثابت شده است که ترکیب انواع مختلف لیزر با فلوریداسیون موضعی دندان، مؤثرتر از روش‌های سنتی فلوریداسیون است و مقاومت مینا به پوسیدگی را افزایش و حلالیت آن را به اسید کاهش می‌دهد. نکته مهم این که استفاده از لیزر سبب شرکت فلوراید در ساختار مینا هم در سطح مینا به شکل کلسیم فلوراید و هم در داخل ساختار کریستالی آن به شکل فلوروآپاتیت می‌شود. ترکیب لیزر-فلوراید در مقایسه با کاربرد جداگانه هر یک از دو روش در کاهش آغاز پوسیدگی

باتوجه به نیاز به یک مرجع در سنجش میزان کاهش شدت و جذب عامل هیدروکسیل، بنیان فسفات موجود در هیدروکسی آپاتیت که در فلورواپاتیت نیز حفظ می‌شود به‌عنوان مرجع انتخاب گردیده است.

متغیر اعلام‌شده در گروه‌های مختلف تحت‌آزمون در واقع نسبت بین گروه هیدروکسیل و فسفات می‌باشد که با تبدیل هیدروکسی آپاتیت به فلورواپاتیت میزان آن کاهش می‌یابد. میانگین میزان هیدروکسیل متصل به هیدروکسی آپاتیت در گروه فلورایدترابی $33/99 \pm 3/3$ و کمینه و بیشینه آن نیز به ترتیب $22/45$ و $38/4$ به دست آمد. میانگین میزان هیدروکسیل متصل به هیدروکسی آپاتیت در گروه فلورایدترابی سپس لیزرترابی $8/08 \pm 2/27$ و کمینه و بیشینه آن نیز به ترتیب $6/2$ و $11/78$ به دست آمد. میانگین میزان هیدروکسیل متصل به هیدروکسی آپاتیت در گروه لیزرترابی سپس فلورایدترابی $12/35 \pm 3/11$ و کمینه و بیشینه آن نیز به ترتیب $7/86$ و $16/19$ به دست آمد. میانگین میزان هیدروکسیل متصل به هیدروکسی آپاتیت در گروه لیزرترابی-فلورایدترابی-لیزرترابی $5/88 \pm 2/84$ و کمینه و بیشینه آن نیز به ترتیب $2/37$ و $9/19$ به دست آمد. در گروه شاهد نیز میانگین میزان هیدروکسیل متصل به هیدروکسی آپاتیت $66/68 \pm 8/3$ و کمینه و بیشینه آن نیز به ترتیب $54/1$ و $76/47$ به دست آمد. این نتایج به همراه روش‌های آماری در جدول‌های ۱ تا ۵ منعکس گردیده است.

نتایج حاصل از آزمون چندمقیاسه‌ای نشان داد که گروه کنترل با تمام گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌دار دارد و در این گروه سطح گروه هیدروکسیل در بالاترین میزان نسبت به گروه‌های دیگر قرار دارد و نشان‌دهنده حداقل تبدیل هیدروکسی آپاتیت به فلورواپاتیت است. همچنین این نتایج نشان‌دهنده این بود که گروه فلورایدترابی (به‌تنهایی) نیز با تمام گروه‌های دیگر (از جمله گروه کنترل و گروه‌های لیزرترابی) تفاوت معنی‌دار داشته است. مقدار بنیان هیدروکسیل باقیمانده در گروه فلورایدترابی به میزان معنی‌داری کمتر از گروه کنترل و بیشتر از گروه‌های تحت‌تابش لیزر بوده است.

نتایج همچنین نشان داد که بین گروه‌های ترکیب لیزر و فلورایدترابی تفاوت معنی‌داری وجود نداشته است، اگرچه در تمام این گروه‌ها مقدار بنیان هیدروکسیل باقیمانده به میزان معنی‌داری کمتر از گروه کنترل و فلورایدترابی به‌تنهایی بوده است.

پس از انجام تست‌های XRD^۱ و بررسی صفحات کریستالی بر مبنای شاخص‌های میلر، شاخص کریستالینیتی CI به‌عنوان شاخص بررسی مقایسه‌ای گروه‌ها در نظر گرفته شد. در این شاخص که توسط پیرسون و همکاران ذکر شده است، مقدار پیک‌های پراش در صفحات کریستالی

۱. یکی از کاربردهای رایج xrd تشخیص وجود برخی مواد کریستالی معروف در ماده با انطباق دادن طیف پراش اشعه ایکس ماده با بانک‌های اطلاعاتی معتبر بین‌المللی مانند ICDD است.

خروجی دستگاه لیزر پیش از تابش کالیبره گردید.

همچنین در فرآیند فلورایددرمانی، ژل فلوراید سدیم $2/7$ درصد با روش پوشاندن سطح دندان توسط لایه به ضخامت یک میلی‌متری ژل با استفاده از میکروپراش به مدت ۵ دقیقه مورد استفاده قرار گرفت.

بعد از فلورایدترابی و لیزردرمانی، نمونه‌ها جهت حذف فلوراید سست به مدت ۲۴ ساعت در محلول ۱ مولار KOH قرار داده شدند. جهت حذف آلودگی‌ها بین تمام مراحل نمونه‌ها در دستگاه اولتراسونیک قرار داده شدند. پس از اعمال درمان‌ها، برای بررسی میزان تشکیل فلورو آپاتیت و فلورایدترابی از روش FTIR و برای بررسی تغییرات کریستالیزاسیون و صفحات کریستالی از روش XRD و جهت بررسی مورفولوژیک از استرئومیکروسکوپ و میکروسکوپ الکترونی به‌قرار زیر استفاده شد.

در این آزمون‌ها مقاطع تهیه‌شده سطحی تبدیل به پودر کرده و با XRD تغییرات کریستالی دندان بررسی گردید از هر گروه ۵ نمونه مورد آزمون قرار گرفت تا تغییرات صفحات کریستالی بررسی شوند. مقاطع تهیه‌شده سطحی را تبدیل به پودر کرده و با FTIR تغییرات پیوندهای مینای دندان بررسی گردید. از هر گروه ۵ نمونه مورد آزمون قرار گرفت. جهت بررسی مورفولوژیک، نمونه‌ها با استرئومیکروسکوپ (با بزرگ‌نمایی صبرابر) مشاهده شدند و تفاوت‌های شکلی احتمالی به‌صورت توصیفی ارزیابی گردید. همچنین از هر گروه پس از مشاهده با استرئومیکروسکوپ یک نمونه جهت تهیه نمونه میکروسکوپ الکترونی تحت پوشش طلا قرار گرفت و تصاویر تغییرات سطحی جهت توصیف تغییرات احتمالی سطوح تهیه گردید. کلیه دستگاه‌ها جهت ارزیابی متغیر مورد نظر کالیبره شده بودند.

به‌منظور ارزیابی توصیفی نتایج بررسی هر گروه آزمایشی، ابتدا کشیدگی و چولگی داده‌ها و تقارن تابع توزیع بررسی گردید و آزمون شاپیرو-ویلک و اسمیرنوف-کولموگروف نرمال بودن توزیع داده‌ها را مورد آزمون قرار داد.

از میانگین، انحراف معیار، کمینه، بیشینه و جهت بررسی معنی‌دار بودن اثر گروه‌ها بر میزان متغیرهای مورد ارزیابی از آزمون ANOVA و برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون Tukey HSD استفاده شد.

یافته‌ها

پس از انجام تست‌های FTIR و بررسی پیوندهای یونی و ملکولی، میزان هیدروکسیل متصل به هیدروکسی آپاتیت به‌عنوان شاخص اثر فلورایدترابی انتخاب گردید. در خصوص این شاخص می‌توان گفت که باتوجه به اثر شدید الکترونگاتیوی فلوراید، یون فلورین جایگزین این عامل شده و موجب کاهش سطح این عامل در طیف‌سنجی FTIR می‌شود.

جدول ۱: مقادیر توصیفی گروه‌های آزمایشی مورد بررسی در تست FTIR

گروه‌های آزمایشی	کمینه	بیشینه	میانگین	انحراف معیار	Skewness	Kurtosis
فلورایدترابی	۲۹/۴۵	۳۸/۴	۳۲/۹۹	۳/۳	۱/۲۳	۱/۱
فلورایدترابی سپس لیزرترابی	۶/۲	۱۱/۸۷	۸/۰۸	۲/۲۷	۱/۵۶	۱/۹
لیزرترابی سپس فلورایدترابی	۷/۸۶	۱۶/۱۹	۱۲/۳۵	۳/۱۱	-۰/۴۴	-۰/۳۵۷
لیزرترابی - فلورایدترابی - لیزرترابی	۲/۳۷	۹/۱۹	۵/۸۸	۲/۸۴	-۰/۰۴	-۱/۹۶
شاهد	۵۴/۱	۷۶/۴۷	۶۶/۶۸	۸/۳	-۰/۷۲	۱/۱

جدول ۲: آزمون شاپیرو-ویلک و اسمیرنوف-کولموگروف توزیع نرمال داده‌ها در تست FTIR

گروه‌های آزمایشی	Shapiro-Wilk			Kolmogorov-Smirnov		
	آماره	df	Sig.	آماره	df	Sig.
فلورایدترابی	۰/۹۰۷	۵	۰/۴۵۱	۰/۲۴۷	۵	۰/۲
فلورایدترابی سپس لیزرترابی	۰/۸۵۱	۵	۰/۱۹۷	۰/۲۵۳	۵	۰/۲
لیزرترابی سپس فلورایدترابی	۰/۹۸۹	۵	۰/۹۷۶	۰/۱۵۱	۵	۰/۲
لیزرترابی - فلورایدترابی - لیزرترابی	۰/۹۵۶	۵	۰/۷۸۲	۰/۱۸۹	۵	۰/۲
شاهد	۰/۹۵۶	۵	۰/۸۶۶	۰/۲۱۱	۵	۰/۲

جدول ۳: آزمون One Way ANOVA جهت تعیین اختلاف معنی‌داری گروه‌ها در تست FTIR

منبع تغییر	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
بین گروه‌ها	۱۳۰۶۳/۴	۴	۳۲۶۵/۸۵	۱۵۸/۵	۰/۰۰۰۱
درون گروه‌ها (خطا)	۴۱۲/۱	۲۰	۲۰/۶		
کل	۱۳۴۷۶/۵	۲۴			

جدول ۴: مقایسه میانگین مقادیر هیدروکسیل گروه‌ها به روش آزمون توکی در تست FTIR

گروه‌های آزمایشی	میانگین	اختلاف معنی‌داری*
فلورایدترابی	۳۲/۹۹	b
فلورایدترابی سپس لیزرترابی	۸/۰۸	c
لیزرترابی سپس فلورایدترابی	۱۲/۳۵	c
لیزرترابی - فلورایدترابی - لیزرترابی	۵/۸۸	c
شاهد	۶۶/۶۸	a

*وجود حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌داری میانگین‌ها است.

ذیل محاسبه می‌شود:

صفحه (۲۱۱): h: صفحه (۱۱۲): a: صفحه (۳۰۰): b: صفحه (۲۰۲): c:

سپس شاخص کریستالینیتی یا Crystallinity Index با فرمول ذیل محاسبه می‌شود:

$$CI = \frac{a+b+c}{h}$$

کاهش این شاخص می‌تواند بیانگر کاهش کریستالینیتی و به بیان دیگر افزایش آمورف شدن ماده (در اینجا ترکیب آپاتیت) است. نتایج توصیفی داده‌های CI در این پژوهش در جدول ۶ منعکس گردیده است. میانگین میزان CI در گروه فلورایدترابی 12 ± 177 و کمینه و بیشینه آن نیز به ترتیب $1/6$ و $1/9$ به دست آمد. میانگین میزان CI در گروه فلوراید ترابی سپس لیزرترابی 15 ± 177 و کمینه و بیشینه آن نیز به ترتیب $1/54$ و $1/89$ به دست آمد. میانگین میزان CI در گروه لیزرترابی سپس فلورایدترابی 13 ± 175 و کمینه و بیشینه آن نیز به ترتیب $1/5$ و $1/8$ به دست آمد. در گروه شاهد نیز میانگین CI 12 ± 184 و کمینه و بیشینه آن نیز به ترتیب $1/72$ و 2 به دست آمد. این نتایج به همراه روش‌های آماری در جدول‌های ۶ تا ۸ منعکس گردیده است.

نتایج ارزیابی مرفولوژیکی: تصاویر حاصل از بررسی مرفولوژیکی استریومیکروسکوپی و میکروسکوپی الکترونی (SEM) نمونه‌های

پوسیدگی به‌جای درمان باید به‌عنوان یک هدف ضروری برای سلامت دندان در نظر گرفته شود. ثابت شده است که درمان فلوراید یکی از روش‌های مؤثرترین در افزایش مقاومت مینای دندان در برابر دمنیرالیزاسیون است [۱۹]. فلوراید موضعی قادر به جلوگیری از توسعه و یا کاهش پیشرفت پوسیدگی دندان‌های شیری است [۲۰]. به‌تازگی، استفاده لیزر به‌عنوان یک روش جدید پیشگیری از پوسیدگی فراهم گردیده است و لیزر درمانی به‌عنوان یک روش جایگزین و یا مکمل برای اصلاح سطح دندان و افزایش مقاومت آن در برابر اسیدهای عامل پوسیدگی دندان است [۲۱].

هدف نهایی در این تحقیق این بود که اثر تابش لیزر دی‌اکسیدکربن همراه با فلورایدتراپی موضعی بر جذب فلوراید در مینای دندان‌های شیری مورد بررسی قرار گیرد. همچنین در این تحقیق تأثیر ترتیب کاربرد هریک از روش‌های لیزر تراپی و فلورایدتراپی نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

در مطالعه حاضر نتایج حاصل از آزمون چند مقایسه‌ای آزمایش FTIR نشان داد که گروه کنترل با تمام گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌دار دارد و در این گروه سطح گروه هیدروکسیل ($66/68 \pm 8/3$) در بالاترین میزان نسبت به گروه‌های دیگر قرار دارد و نشان‌دهنده حداقل تبدیل هیدروکسی‌آپاتیت به فلوروآپاتیت است. همچنین این نتایج نشان‌دهنده این بود که گروه فلورایدتراپی (به‌تنهایی) نیز با تمام گروه‌های دیگر (از جمله گروه کنترل و گروه‌های لیزر تراپی) تفاوت معنی‌دار داشته است. مقدار بنیان هیدروکسیل باقیمانده در گروه فلورایدتراپی ($33/99 \pm 3/3$) به میزان معنی‌داری کمتر از گروه کنترل و بیشتر از گروه‌های تحت تابش لیزر بوده است. نتایج همچنین نشان داد که بین گروه‌های ترکیب، لیزر- فلورایدتراپی ($12/35 \pm 3/11$)، فلوراید-لیزر تراپی ($8/08 \pm 2/27$) و لیزر- فلوراید-لیزر تراپی ($5/88 \pm 2/84$)، تفاوت معنی‌داری وجود نداشته است، اگرچه در تمام این گروه‌ها مقدار بنیان هیدروکسیل باقیمانده به میزان معنی‌داری کمتر از گروه کنترل و فلورایدتراپی به‌تنهایی بوده است. این تحقیق نشان داد که میزان کاهش بنیان هیدروکسیل و یا افزایش جذب فلوراید در روش‌های درمان ترکیبی فلورایدتراپی و لیزر تراپی نسبت به کاربرد تنهایی فلورایدتراپی و شاهد به مراتب بیشتر می‌باشد که این مورد نشان‌دهنده تأثیر هم‌افزایی لیزر تراپی CO₂ و فلورایدتراپی در جذب فلوراید است. همچنین هرچند که کاربرد توأم لیزر تراپی CO₂ و فلوراید تراپی در جذب فلوراید فاقد اختلاف معنی‌دار بود ولی با این وجود میزان جذب فلوراید در کاربرد ابتدا فلوراید تراپی و متعاقب آن لیزر تراپی CO₂ نسبت به کاربرد ابتدا لیزر تراپی CO₂ و متعاقب آن فلوراید تراپی بیشتر بود. از مطالعات با نتایج همسو با تحقیق حاضر می‌توان به نتیجه مطالعه Gao و همکاران [۲۲] در بررسی اثر ترکیبی لیزر CO₂ و فلوراید در دمنیرالیزاسیون ریشه دندان اشاره نمود. آن‌ها نشان دادند که میزان کاهش دمنیرالیزاسیون ریشه در گروه لیزر و گروه ترکیب لیزر و فلوراید درمانی نسبت به سایر گروه‌های معنی‌دار بود. بیشترین کاهش دمنیرالیزاسیون ریشه در گروه ترکیب لیزر تراپی و فلوراید درمانی بود. نتیجه مطالعه Tagliaferro و همکاران [۲۳] در بررسی اثر لیزر دی‌اکسیدکربن و فسفات فلوراید بر دمنیرالیزاسیون مینای دندان‌های شیری نیز همسو با نتیجه تحقیق حاضر بود. آن‌ها گزارش نمودند که میزان دمنیرالیزاسیون

جدول ۵: مقادیر سطح معنی‌داری اختلاف میانگین گروه‌ها در آزمون توکی در تست FTIR

گروه (I)	گروه (J)	اختلاف میانگین (I-J)	P. Value
شاهد	فلورایدتراپی	۳۳/۶۸	۰/۰۰۱
	لیزر تراپی سپس فلورایدتراپی	۵۴/۳۲	۰/۰۰۱
	فلورایدتراپی سپس لیزر تراپی	۵۸/۶	۰/۰۰۱
	لیزر تراپی - فلورایدتراپی - لیزر تراپی	۶۰/۸	۰/۰۰۱
فلورایدتراپی	شاهد	-۳۳/۶۸	۰/۰۰۱
	لیزر تراپی سپس فلورایدتراپی	۲۰/۶۴	۰/۰۰۱
	فلورایدتراپی سپس لیزر تراپی	۲۴/۹	۰/۰۰۱
	لیزر تراپی - فلورایدتراپی - لیزر تراپی	۲۷/۱	۰/۰۰۱
لیزر تراپی سپس فلورایدتراپی	شاهد	-۵۴/۳	۰/۰۰۱
	فلورایدتراپی	-۲۰/۶۴	۰/۰۰۱
فلورایدتراپی	فلورایدتراپی سپس لیزر تراپی	۴/۳۷	۰/۵۸۲
	لیزر تراپی - فلورایدتراپی - لیزر تراپی	۶/۴۷	۰/۲۰۱
فلورایدتراپی سپس لیزر تراپی	شاهد	-۵۸/۶	۰/۰۰۱
	فلورایدتراپی	-۲۴/۹	۰/۰۰۱
لیزر تراپی	لیزر تراپی سپس فلورایدتراپی	-۴/۳۷	۰/۵۸۲
	لیزر تراپی - فلورایدتراپی - لیزر تراپی	۲/۲	۰/۹۳۷
لیزر تراپی - فلورایدتراپی	شاهد	-۶۰/۸	۰/۰۰۱
	فلورایدتراپی	-۲۷/۱	۰/۰۰۱
لیزر تراپی	لیزر تراپی سپس فلورایدتراپی	-۶/۴۷	۰/۲۰۱
	فلورایدتراپی سپس لیزر تراپی	-۲/۲	۰/۹۳۷

آزمایشی، نتایج حاصل از ارزیابی FTIR را مورد تأیید قرار داد. میزان فلوراید در سطح نمونه‌های شاهد در حداقل بود که این مورد در تصاویر استریومیکروسکوپی قابل مشاهده نبوده و در تصاویر SEM نیز سطح عادی کریستال‌های کلسیم مینا قابل مشاهده است. با کاربرد ژل فلوراید، جذب سطحی فلوراید در نمونه‌ها افزایش یافته که نقاط سفید در تصاویر استریومیکروسکوپی و کریستال‌های درشت توده‌ای در تصاویر SEM نشان‌دهنده جذب فلوراید است. با کاربرد لیزر تراپی همراه با فلوراید تراپی، میزان جذب فلوراید افزایش فاحشی داشته که نقاط سفید جزیره‌ای در نمونه‌ها در تصاویر استریومیکروسکوپی و توده‌ها درشت سفید در تصاویر SEM حاکی از جذب بالای فلوراید در این نمونه‌ها است (جدول ۹).

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس بررسی منابع علمی موجود و در دسترس اگرچه شیوع پوسیدگی دندان در بسیاری از کشورها کاهش یافته است، ولی این بیماری هنوز شایع‌ترین بیماری دندان در میان کودکان به‌شمار می‌رود. بنابراین، پیشگیری از

جدول ۶: مقادیر توصیفی گروه‌های آزمایشی مورد بررسی در تست XRD

گروه‌های آزمایشی	کمینه	بیشینه	میانگین	انحراف معیار	Skewness	Kurtosis
فلورایدترابی	۱/۶	۱/۹	۱/۷۷	۰/۱۲	۰/۵۹	-۰/۰۷
فلورایدترابی سپس لیزرترابی	۱/۵۴	۱/۸۹	۱/۷	۰/۱۵	-۰/۲۳	-۱/۸
لیزرترابی سپس فلورایدترابی	۱/۶۸	۱/۸۷	۱/۷۵	۰/۰۷۷	۱	-۰/۰۵
لیزرترابی - فلورایدترابی - لیزرترابی	۱/۵	۱/۸	۱/۶۸	۰/۱۳	-۰/۶۸	-۰/۷۸
شاهد	۱/۷۲	۲	۱/۸۴	۰/۱۲	-۰/۰۲۵	-۱/۹۴

جدول ۷: آزمون شاپیرو-ویلک و اسمیرنوف-کولموگروف توزیع نرمال داده‌ها در تست XRD

گروه‌های آزمایشی	Shapiro-Wilk			Kolmogorov-Smirnov		
	آماره	df	Sig.	آماره	df	Sig.
فلورایدترابی	۰/۹۴۹	۵	۰/۷۲۹	۰/۲۰۵	۵	۰/۲
فلورایدترابی سپس لیزرترابی	۰/۸۸۴	۵	۰/۳۲۷	۰/۲۸۷	۵	۰/۲
لیزرترابی سپس فلورایدترابی	۰/۹۳۷	۵	۰/۶۴۴	۰/۲۴	۵	۰/۲
لیزرترابی - فلورایدترابی - لیزرترابی	۰/۹۲۲	۵	۰/۵۴۴	۰/۲۰۶	۵	۰/۲
شاهد	۰/۸۹۶	۵	۰/۹۲۲	۰/۲۳۷	۵	۰/۲

جدول ۸: آزمون One Way ANOVA جهت تعیین اختلاف معنی‌داری گروه‌ها در تست XRD

منبع تغییر	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
بین گروه‌ها	۰/۰۷۷	۴	۰/۰۱۹	۱/۳۱۹	۰/۲۹۷
درون گروه‌ها (خطا)	۰/۲۹۲	۲۰	۰/۰۱۵		
کل	۰/۳۶۹	۲۴			

مینا در گروه تیمار شده با لیزر دی‌اکسیدکربن و APF نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشت و لیزر دی‌اکسیدکربن به همراه APF باعث کاهش پوسیدگی در مینای دندان‌های شیری شد. همچنین Leylak و Akyuz [۲۴] در بررسی پیشگیری از تحلیل و پوسیدگی مینا و جذب فلوراید در هر دو نوع دندان‌های شیری و دائمی با استفاده از لیزر Er:YAG، لیزر Nd:YAG و لیزر CO₂ به همراه فلورایدترابی (APF) نشان دادند کاربرد توأم لیزرترابی و فلورایددرمانی در یک دوره زمانی چندروزه از تحلیل کلیسم دندان‌های پیشگیری می‌نمود. همچنین آن‌ها نشان دادند که این امر در دندان‌های شیری که تحلیل کلیسم سریع‌تر از دندان‌های دائمی است، دارای اهمیت بالایی در پیشگیری از پوسیدگی دندان‌های شیری است. Mathew و همکاران [۲۵] نیز در بررسی و مقایسه اثر لیزر Er:YAG و لیزر CO₂ همراه با فسفات‌فلوراید بر مقاومت مینای دندان‌های انسانی در مقابل اسید نشان دادند که فلورایدترابی همراه با لیزر Er:YAG و با لیزر CO₂ اثر هم‌افزایی بالایی در کاهش دمیترالیزاسیون مینای دندان نسبت به کاربرد تنهایی درمان با فلوراید و یا لیزر درمانی داشت. دهقان خلیلی و فکرازاد [۲۶] در تعیین و مقایسه تأثیر استفاده از لیزر CO₂.

ژل فسفات‌فلوراید (APF) و درمان ترکیبی این موارد بر افزایش مقاومت مینا در مقابل حلالیت اسیدی و شروع روند پوسیدگی نشان دادند کاربرد فلورایدترابی و لیزرترابی به صورت جداگانه و یا به صورت ترکیبی نسبت به شاهد باعث افزایش قابل توجه مقاومت مینای دندان گردید که از این نظر با نتایج تحقیق حاضر همسو بود ولی از این نظر که میزان انحلال اسیدی مینای دندان در کاربرد تنهایی ژل فلوراید بسیار پایین‌تر کاربرد لیزرترابی به تنهایی و با توأم لیزرترابی و فلورایدترابی بود با نتایج تحقیق حاضر همسو نبود. در مطالعه آن‌ها کاربرد فلورایدترابی و لیزرترابی فاقد اثر هم‌افزایی بود. علت این اختلاف نتایج را می‌توان در روش کار و صفت مورد بررسی، جستجو کرد. در تحقیق آن‌ها میزان مقاومت در برابر انحلال اسیدی اندازه‌گیری شده بود در حالی که در تحقیق حاضر میزان جذب فلوراید از طریق میزان بنیان هیدروکسیل باقیمانده اندازه‌گیری شد. همچنین نکته مهم دیگر اینکه نتایج تحقیق حاضر بر روی دندان‌های شیری بود در حالی که نتایج تحقیق دهقان خلیلی و فکرازاد بر روی دندان‌های دائمی بوده است. به همین دلیل نتایج مختلف دور از انتظار نیست. در مطالعه Monteiro و همکاران [۲۷] در بررسی پتانسیل لیزر CO₂ همراه با فلوراید در مهار پوسیدگی

اثر لیزر در این تحقیق به میزان واضحی بعد از فلوراید مؤثر بوده اما باتوجه به دوز کم و زمان تابش کوتاه لیزر، تغییرات قابل توجهی در ساختار کریستالی مینا به وجود نیآورده است.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که کاربرد فلورایدتراپی به‌تنهایی و یا کاربرد به‌همراه لیزر CO₂ تراپی باعث افزایش جذب فلوراید در دندان‌های شیری می‌شود. ولی کاربرد توأم فلورایدتراپی و لیزر تراپی باعث هم‌افزایی در جذب بیشتر فلوراید در دندان‌های شیری نسبت به کاربرد تنهایی فلورایدتراپی می‌گردد. همچنین نوع ترتیب کاربرد توأم فلورایدتراپی و لیزر تراپی تأثیر چندانی در میزان جذب فلوراید دندان‌های شیری ندارد. اما، مطالعات بیشتر آزمایشگاهی و کلینیکی بر روی دندان‌های شیری برای نتیجه‌گیری قطعی لازم است.

محدودیت‌های تحقیق: این تحقیق به‌صورت آزمایشگاهی و با نمونه‌های در دسترس انجام شده‌است که یافتن نمونه‌های مناسب از دشواری‌های انجام اینگونه پژوهش‌ها می‌باشد.

پیشنهاد: باتوجه به اینکه مطالعات کاربرد لیزر درمانی و فلوراید تراپی در زمینه دندان‌های شیری بسیار اندک بود. لذا، پیشنهاد می‌شود اثر کاربرد سایر انواع لیزر درمانی و فلوراید تراپی در جلوگیری از پوسیدگی دندان‌های شیری مورد ارزیابی قرار گیرد.

جدول ۹: نتایج حاصل از بررسی مرفولوژیکی استریومیکروسکوپیک و میکروسکوپ الکترونی

گروه‌های آزمایشی	ارزیابی استریومیکروسکوپیک	ارزیابی میکروسکوپ الکترونی
شاهد		
فلوراید تراپی		
فلوراید تراپی - لیزر تراپی		
لیزر تراپی - فلوراید تراپی		
لیزر تراپی - فلوراید تراپی - لیزر تراپی		

مینای دندان مشاهده گردید که با وجود اینکه کاربرد لیزر CO₂ و فلوراید تراپی باعث کاهش پوسیدگی نمونه مینای دندان انسان می‌گردد، ولی تابش لیزر CO₂ در ۰/۴۵ J/cm² نتوانست اثر هم‌افزایی بر فلوراید تراپی داشته‌باشد. این نتیجه نیز از دیدگاه عدم هم‌افزایی لیزر CO₂ بر فلوراید تراپی با نتیجه تحقیق حاضر همسو نبود که در آزمایش آن‌ها نیز نه‌تنها بر روی دندان‌های دائمی مطالعه صورت گرفته بود، بلکه صفت مورد بررسی در این تحقیق میزان حلالیت کلسیم مینای دندانی در محیط اسیدی اندازه‌گیری شده بود.

در تحقیق حاضر تصاویر حاصل از بررسی مرفولوژیکی استریومیکروسکوپیک و میکروسکوپ الکترونی (SEM) نمونه‌های آزمایشی، نتایج حاصل از ارزیابی FTIR را مورد تأیید قرار داد به‌طوری‌که میزان جذب سطحی فلوراید در گروه‌های آزمایشی توأم فلوراید درمانی و لیزر تراپی بیشتر از شاهد و کاربرد تنهایی ژل فلوراید بود که نقاط سفید جزیره‌ای در نمونه‌ها در تصاویر استریومیکروسکوپیک و توده‌ها درشت سفید در تصاویر SEM حاکی از جذب بالای فلوراید در این نمونه‌ها است. Tagliaferro و همکاران [۲۸] در ارزیابی تغییرات فیزیکی و ترکیبی دیمینرالیزاسیون مینای دندان‌های شیری القاشده با لیزر دی‌اکسید کربن گزارش نمودند که در تصاویر Fourier transform Raman spectroscopy کاهش معنی‌دار محتوی مواد معدنی در گروه پوسیده و لیزر نسبت به گروه شاهد نشان داد. به‌علاوه محتوی کربنات در نمونه‌های تابش‌شده با لیزر در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری نشان داد. آن‌ها هیچگونه تغییرات فیزیکی معنی‌داری در نمونه‌ها در ارزیابی با SEM مشاهده نکردند.

در تحقیق حاضر میانگین شاخص کریستالی شدن تست XRD در گروه فلوراید تراپی ۰/۱۲±۰/۷۷، در گروه فلوراید تراپی سپس لیزر تراپی ۰/۱۵±۰/۷۷، در گروه لیزر تراپی سپس فلوراید تراپی ۰/۱۷±۰/۷۵، در گروه لیزر تراپی - فلوراید تراپی - لیزر تراپی ۰/۱۳±۰/۶۸ و در گروه شاهد نیز میانگین CI ۰/۱۲±۰/۸۴ به‌دست آمد. با این وجود اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی و شاهد مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). این نتیجه با نتیجه تحقیق Liu و همکاران همسو نبود. آن‌ها در بررسی تأثیر کاربرد تنهایی و ترکیبی فلوراید تراپی و لیزر تراپی در میزان کریستالی‌شدن دندان‌های دائمی و اندازه‌گیری شاخص CI به‌روش Micro-XRD نشان دادند که میزان CI در گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. در حالی‌که در نتایج حاصل از FTIR، تصاویر استریومیکروسکوپ و میکروسکوپ الکترونی اختلاف قابل توجهی بین شاهد و گروه‌های آزمایشی در تحقیق حاضر مشاهده گردید. این امر می‌تواند نشان‌دهنده تفاوت ناشی از دوز لیزر به‌همراه تفاوت در روش اندازه‌گیری XRD باشد. همچنین نوع دندان‌های مورد آزمایش (شیری یا دائمی) نیز می‌تواند در نتیجه آزمایش مؤثر باشد.

باتوجه به لیزر تراپی و انجام فلوراید تراپی در دو سطح خارج مینا و CEJ، به نظر می‌رسد میزان مینای تحت تیمار به نسبت کل مینا در حد کافی باشد که بتوان نتایج به‌دست‌آمده را به اثر لیزر و فلوراید تراپی در مینا تعمیم داد اگرچه

References:

1. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ* 2005; 83: 661-9.
2. Zhang C, Kimura Y, Matsumoto K. The effects of pulsed Nd:YAG laser irradiation with fluoride on root surface. *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery*, 1996; 14(6): 399-403.
3. Westerman GH, Hicks MJ, Flaitz C, Powell GL. In vitro enamel caries formation: argon laser ,light-emitting diode and APF treatment effect. *Am J Dent* 2004; 17: 383-7.
4. Hsu J, Fox JL, Wang Z, Powell GL, Otsuka M, Higuchi WI. Combined effects of laser irradiation/solution fluoride ion on enamel demineralization. *J Clin Laser Med Surg*. 1998; 16(2): 93-105. Erratum in: *J Clin Laser Med Surg* 1998; 16(5): 294-5.
5. Cowan J, Wilson NH, Wilson MA, Watts DC. The application of ESEM in dental materials research. *Journal of Dentistry* 1996; 24(5): 375-7.
6. Stephen W. Caries in young populations-worldwid. In: W.H. Bowen and L.A. Tabak, Editors, *Cariology for the nineties*, University of Rochester Press, Rochester, New York, USA 1993: 37-50.
7. Meurman JH, Hemmerle J, Voegel JC, Rauhamaa-Makinen R, Luomanen M. Transformation of hydroxyapatite to fluorapatite by irradiation with high-energy CO2 laser. *Caries Research* 1997; 31(5): 397-400.
8. Goodman BD, Kaufman HW. Effects of an argon laser on the crystalline properties and rate of dissolution in acid of tooth enamel in the presence of sodium fluoride. *Journal of Dental Research* 1977; 56(10): 1201-7.
9. Stephen Hsu Chin-Ying. Effects of CO2 laser on fluoride uptake in enamel. *Journal of Dentistry* 2004; 32(2): 161-7.
10. Azevedo Rodrigues LK, Nobre dos Santos M, Pereira D, Assaf AV, Pardi V. Carbon dioxide laser in dental caries prevention. *J Dent*. 2004; 32(7): 531-40.
11. Rezaei Y, Bagheri H, Esmaeilzadeh M. Effects of laser irradiation on caries prevention. *J Lasers Med Sci*. 2011; 2(4): 159-64.
12. Chin-Ying SH, Xiaoli G, Jisheng P, Wefel JS. Effects of CO2 laser on fluoride uptake in enamel. *J Dent*. 2004; 32(2): 161-7.
13. Souza-Gabriel AE, Colucci V, Turssi CP, Serra MC, Corona SA. Microhardness and SEM after CO2 laser irradiation or fluoride treatment in human and bovine enamel. *Microscop Res Tech*. 2010; 73(11): 1030-5.
14. Bevilacqua FM, Zezell DM, Magnani R, da Ana PA, Eduardo Cde P. Fluoride uptake and acid resistance of enamel irradiated with Er:YAG laser. *Lasers Med Sci*. 2008; 23(2): 141-7.
15. Vlacic J, Meyers IA, Walsh LJ. Laser-activated fluoride treatment of enamel as prevention against erosion. *Aust Dent J*. 2007; 52(3): 175-80.
16. Azevedo DT, Faraoni-Romano JJ, Derceli JDR, Palma-Dibb RG. Effect of Nd:YAG laser combined with fluoride on the prevention of primary tooth enamel demineralization. *Braz Dent J*. 2012; 23(2): 104-9.
17. Villalba-Moreno J, González-Rodríguez A, de Dios LópezGonzález J, Bolaños-Carmona MV, Pedraza-Muriel V. Increased fluoride uptake in human dental specimens treated with diode laser. *Lasers Med Sci*. 2007; 22(3): 137-42.
18. Valério RA, Rocha CT, Galo R, Borsatto MC, Saraiva MCP, Corona SAM. CO2 Laser and Topical Fluoride Therapy in the Control of Caries Lesions on Demineralized Primary Enamel. *The Scientific World Journal*, 2015; Article ID 547569, 6 pages.
19. Clarkson JJ. International collaborative re-search on fluoride. *J Dent Res*. 2000; 79(4): 893-904.
20. Marinelli CB, Donly KJ, Wefel JS, Jakob-sen JR,

Denehy GE. An in vitro comparison of three fluoride regimens on enamel remineralization. *Caries Res.* 1997; 31(6): 418-22.

21. Oliveira M, Zezell DM, Meister J, Franzen R, Stanzel S, Lampert F. CO2 laser (10.6 μm) parameters for caries prevention in dental enamel. *Caries Res.* 2009; 43(4): 261-8.

22. Gao XL, Pan JS, Hsu CY. Laser-Fluoride Effect on Root Demineralization. *Dent Res.* 2006; 85(10): 919-23.

23. Tagliaferro EPS, Rodrigues LKA, Soares LES, Martin AA, Santos MND. Physical and Compositional Changes on Demineralized Primary Enamel Induced by CO2 Laser. *Photomedicine and Laser Surgery.* 2009; 27(4): 585-90.

24. Leylak B, Akyuz S. In Vitro Evaluation of Prevention of Enamel Erosion and Fluoride Uptake by Laser and Fluoride Application. *MUSBED 2013*; 3(Suppl.2): S36.

25. Mathew A, Reddy NV, Sugumaran DK, Peter J, Shameer M, Dauravu LM. Acquired acid resistance of human enamel treated with laser (Er:YAG laser and CO2 laser) and acidulated phosphate fluoride treatment: An in vitro atomic emission spectrometry analysis. *Contemp Clin Dent.* 2013; 4(2): 170-5.

26. Dehqan Khalili S, Fekrazad R. Increase the resistance of tooth enamel against decay using lasers, carbon dioxide, fluoride gel, and the combination of the two. *Quarterly Journal of Medicine, the police, the Armed Forces Special Abstract Dental Congress.* 2013: 50-51.

27. Monteiro T, Oliveira R, Ramos TM, Oliveira ME, Christian APEL, Fischer H, Eduardo CP, Steagall W, Freitas PM. Potential of CO2 lasers (10.6 μm) associated with fluorides in inhibiting human enamel erosion. *Braz Oral Res.*, (São Paulo) 2014; 28(1): 1-6.

28. Tagliaferro EP, Rodrigues LK, Nobre Dos Santos M, Soares LE, Martin AA. Combined effects of carbon dioxide laser and fluoride on demineralized primary enamel: an in vitro study. *Caries Res.* 2007; 41(1): 74-6.