

بررسی تأثیرات کلینیکی و هیستولوژیک استفاده از لیزر کم توان بر پروسه حفظ ابعاد ریح پس از کشیدن دندان

خلاصه

مقدمه: هدف از این مطالعه بررسی تأثیرات کلینیکی و هیستولوژی استفاده از لیزر کم توان بر پروسه Ridge Preservation در کنار استفاده از Platelet Rich Plasma و Demineralized Bone Matrix و غشاء کلاژنی است.

روش بررسی: در این مطالعه کارآزمایی بالینی آینده نگر ۲۹ دندان غیرقابل نگهداری که نیاز به جایگزینی توسط ایمپلنت داشتند، انتخاب شدند و به صورت تصادفی در دو گروه قرار گرفتند و در گروه کنترل (۱۵ ساکت) پس از خارج کردن دندان ساکت‌ها به وسیله DBM+PRP پر شد و با غشای کلاژنی پوشانده شد و در گروه تست (شامل ۱۴ نفر) علاوه بر درمان فوق LLLT نیز دریافت کردند و در تمام نمونه‌ها در Base Line (قبل از کشیدن دندان) و ۳ ماه بعد (قبل از جای گذاری ایمپلنت) تغییرات ابعادی عمودی و افقی ریح و عرض لثه کراتینیزه اندازه گیری شد. و قبل از جای گذاری ایمپلنت Bone Core Sample (بیوپسی استخوانی) از مرکز ساکت ترمیم شده جهت بررسی هیستومورفولوژیک برداشته شد.

یافته‌ها: با استفاده از لیزر کم توان در گروه تست تحلیل افقی کمتری در مقطع با کولینگوالی ریح رخ داد. کاهش در عرض ریح (ΔBL) در نقطه ۲ میلی متر و ۵ میلی متر از رأس کرست در گروه تست $0/47 \pm 0/75$ میلی متر و $0/47 \pm 0/58$ میلی متر و در گروه کنترل $0/32 \pm 1/93$ میلی متر و $0/46 \pm 1/88$ میلی متر بود که از لحاظ آماری معنی دار بود ($Pv < 0/001$). اما با اینکه تحلیل عمودی ریح در گروه تست در میدباکال $0/38 \pm 0/56$ میلی متر و میدلینگوال $0/37 \pm 0/5$ میلی متر کمتر از گروه کنترل در میدباکال ($0/37$) $0/39 \pm 1/12$ میلی متر و میدلینگوال $0/39 \pm 0/86$ میلی متر بود. اما این تفاوت از لحاظ آماری معنی دار نبود ($Pv < 0/001$). با استفاده از LLLT در گروه تست لثه کراتینیزه بیشتری حفظ شد. کاهش عرض لثه کراتینیزه در گروه تست $0/21 \pm 0/84$ میلی متر و در گروه کنترل $0/45 \pm 1/78$ میلی متر بود. این تفاوت از لحاظ آماری معنی دار بود ($Pv < 0/001$). درصد Vital Bone در گروه تست $52/6$ درصد و در گروه کنترل $47/4$ درصد به دست آمد که تفاوت از لحاظ آماری معنی دار نبود ($Pv > 0/05$). همچنین تفاوت درجه التهاب بین دو گروه وجود نداشت. ارتباط معنی داری بین درصد Vital Bone و مقدار عروق خونی صرف نظر از استفاده از لیزر وجود داشت بدین ترتیب که در هر دو گروه با افزایش مقدار عروق خونی Vital Bone بیشتری وجود داشت ($Pv < 0/05$).

واژه‌های کلیدی: حفظ ابعاد ریح، درمان لیزر کم توان، پلاسمای غنی از فاکتور رشدی، ماتریکس غیرمعدنی استخوان، لثه کراتینیزه

نادر ابوالفضلی^۱

فاطمه کاووسی^۲

مهرنوش صدیقی شمایی^۳

فریبا صالح صابر^۱

مهدی عابدینی^۴

۱. دانشیار، دانشکده دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز ایران
۲. رزیدنت، دانشکده دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز ایران
۳. استادیار، دانشکده دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز ایران
۴. دانشجو، دانشکده دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز ایران

مقدمه

ارتفاع و پهنای کافی استخوان آلوپلار ریج جهت قرار دادن ایدئال ایمپلنت و دستیابی به زیبایی، ثبات و فانکشن مناسب ضروری می باشد. اما پس از کشیدن دندان، در نتیجه ریمودلینگ طبیعی استخوان پهنای آلوپلار ریج کاهش می یابد و تحلیل شدید استخوان اتفاق می افتد. این فرآیندهای ترمیمی منجر به عوارض مختلفی از جمله فقدان استخوان آلوپلار برای جاگذاری ایمپلنت، نسبت تاج به ایمپلنت نامطلوب و مشکلات زیبایی در ناحیه قدامی می شود [۱]. از دست رفتن استخوان بعد از کشیدن دندان در ۶ ماه اول تسریع می شود که با رمدالینگ آهسته استخوان باقی مانده همراه است و حداکثر ۴۰ درصد از ارتفاع و ۶۰ درصد از عرض استخوان باقی مانده از دست می رود [۲]. سطح این تغییرات نه تنها به صورت کاهش در حجم استخوان منعکس می شود، بلکه پروسه Bone Modeling درون ساکت را نیز تحت تأثیر قرار می دهد. مطالعات هیستولوژیک انسانی و حیوانی کاهش در فعالیت استئوژنیک و تشکیل بافت نابالغ را به صورت غالب ۸ هفته پس از خارج کردن دندان نشان داده اند [۳].

Alveolar Ridge Preservation فرآیندی است که در آن ماده پیوندی یا داربستی در ساکت دندان کشیده می شود و در زمان کشیدن دندان برای حفظ ریج آلوپلار مورد استفاده قرار می گیرد [۴]. اگرچه مقدار تحلیل استخوان در موارد مختلف قابل پیش بینی نمی باشد اما، توافق عمومی حاکی از تأثیر مثبت استفاده از پروسه Ridge Preservation بر روی حفظ ابعاد ریج در زمان خارج کردن دندان می باشد [۵]. در نتیجه می توان گفت که Ridge Preservation در محدود کردن کاهش فیزیولوژیک عرض و ارتفاع استخوان و بافت نرم اطراف دندان در مقایسه با Extraction Tooth که به تنهایی و بدون استفاده از مواد پیوندی انجام می گیرد، مؤثر است [۶ و ۷].

مواد مختلفی جهت جانمایی و نوسازی استخوان استفاده می شود و تمام مواد استئوپلاستیک طبق منشأ به ۴ گروه تقسیم می شوند: استخوان اتوزن، استخوان آلوگرافت، مواد زونوگرافت و مواد آلوپلاست (سنتتیک: بر پایه نمک های کلسیم) [۸]. نکته قابل توجه اینکه در مقایسه های هیستولوژیک که بر روی ترمیم به دنبال خارج کردن دندان و Ridge Preservation با استفاده از Freeze Dried Bone Allograft انجام شده مقدار Vital Bone بیشتری، زمانی که مواد دکلسیفیه به کار می رود، مشاهده شده است [۹]. از طرف دیگر نشان داده شده است که فاکتورهای رشدی در پیشبرد ترمیم زخم و ریجنریشن بسیار مؤثر هستند و یکی از راه های افزایش میزان فاکتورهای رشدی در محل، ارائه آن ها به محل زخم از طریق کاربرد PRP (Platelet Rich Plasma) که ترکیب تغلیظ شده ای از پلاکت ها است، می باشد [۱۰]. فاکتورهای رشدی مشتق از پلاکت ها دارای اثرات مثبت متعددی در ترمیم بافتی هستند که موجب تحریک آنژیوژنز

شده و به شروع عمل سایر فاکتورهای رشدی کمک می کنند [۱۱]. از آنجاکه PRP یک محصول اتولوگ است، نگرانی ها در مورد واکنش های ایمنولوژیک و انتقال عفونت بین افراد را مرتفع می سازد [۱۲]. در طی دهه های اخیر، تأکید بیشتری روی مطالعه در مورد فاکتورهای رشدی و PRP همراه با گرفت های استخوانی با هدف دستیابی به کیفیت استخوانی بهتر و ترمیم سریع تر شده است [۱۲]. مطالعات کلینیکی بهبود ترمیم استخوانی را از لحاظ کیفیت و کمیت با کاربرد PRP نشان داده اند.

نکته جالب توجهی که در پزشکی نوین و مدرن توجه بسیاری از کلینیسیست ها را به خود جلب کرده است. استفاده از (LLLT) یا درمان با لیزرهای کم توان همچنین تحت عنوان (Biostimulation, Soft Laser Therapy) نیز شناخته می شود که در حوزه سلامت در مقالات بیش از ۳ و ۴ دهه هست که به آن اشاره شده است و برخی مطالعات هم تأثیرات آن را برای برخی کاربردهای خاص دندان پزشکی نشان داده اند [۱۳]. LLLT نور قرمز و نزدیک به مادون قرمز تولید شده در سیستم ها می باشند که می توانند بر روی نفوذپذیری غشاهای سلولی اثر گذارده و به تولید ATP (انرژی سلولی) کمک نمایند و بدین ترتیب انرژی بیشتری برای سلول در روند ترمیم خود فراهم آورد. فلسفه کاربرد لیزرهای کم توان کاربرد مستقیم انرژی نور با توانایی تحریک بیولوژیک روی سلول های بدن است [۱۴].

مطالعات زیادی تأثیرات فوتوتراپی را بر روی مکانیسم ترمیم در نمونه های سلولی کشت شده در In-vitro شرح داده اند و مطالعات In-vivo نشان داده اند که فوتوتراپی دارای تأثیر مثبت بر روی ترمیم زخم در محیط کلینیکی است اگرچه مکانیسم دقیق تاکنون شناخته نشده است. مطالعات ادعا می کنند که LLLT باعث افزایش پرولیفراسیون فیبروبلاست و افزایش در تمایز استئوبلاست ها شد [۱۵]. از آنجاکه تاکنون مقاله ای در دسترس نیست که تأثیر همزمان این دو مدالیته درمانی را بر روی ساکت های در حال ترمیم ارزیابی کرده باشد، در این مطالعه سعی بر آن است که با کاربرد همزمان PRP, LLLT در ساکت در حال ترمیم تأثیرشان بر حفظ ابعاد ریج (پهنا و ارتفاع) و New Bone Formation (Vital Bone) بررسی گردد.

روش بررسی

این مطالعه کارآزمایی بالینی دوسویه کور (Double Blind) پس از تأیید کمیته اخلاق و ثبت در سایت IRCT.ir (IRCT2015042410501N4) در دانشکده دندان پزشکی تبریز انجام گردید. بیمارانی که دارای دندان های غیرمولری که غیرقابل نگهداری در نظر گرفته شده بود و نیاز به Extraction و جایگزینی توسط

یافت اما در افراد گروه تست علاوه بر درمان فوق جهت Ridge Preservation بیماران LLLT هم دریافت کردند. به این صورت که بلافاصله پس از تکمیل جراحی، ناحیه با فاصله ۱ سانتی متری از بافت نرم تحت تابش با اشعه لیزر Doid با طول موج ۸۳۰ نانومتر قرار گرفت. اشعه لیزر با قدرت ۴۰ میلی‌ولت به مدت ۵ ثانیه و با انرژی ۰/۱۷ ژول در ناحیه مورد نظر تابانده شد و در روزهای ۳، ۵ و ۷ پس از جراحی نیز درمان لیزری با انرژی معادل ۴۰ ژول به مدت ۶۰ ثانیه تکرار گردید.

مراقبت‌های پس از جراحی عبارت بود از: آنتی‌بیوتیک (۱ گرم آموکسی سیلین یا ۳۰۰ میلی‌گرم کلیندامایسین) ۲ بار در روز به مدت ۴ روز و همچنین داروی ضدالتهابی غیراستروئیدی ژلوفن ۴۰۰ میلی‌گرم هر ۶ ساعت تا پایان درد و التهاب که برای بیمار تجویز شد.

متغیرهای مورد ارزیابی

پارامترهای کلینیکی و آناتومیک که مورد بررسی قرار گرفتند شامل: (۱) پهنای استخوان (که به صورت عرض باکولینگوالی) (۲) ارتفاع عمودی استخوان (۳) عرض لثه کراتینیزه بود. تمامی پارامترها ۲ بار جداگانه با فاصله زمانی مشخصی توسط یک شخص (Same Examiner) که از روش ارزیابی بی‌اطلاع بود (Calibrate Person) اندازه‌گیری گردید و میانگین آن‌ها ثبت شد. پارامترهای هیستولوژیک (آزمایشگاهی) که مورد بررسی قرار گرفتند شامل: ۱- Vital Bone (وجود یا عدم وجود استئوسیت در لاکوناها) ۲- درجه التهاب (grade 0) عدم وجود سلول التهابی) و (grade I) وجود سلول التهابی اندک و پراکنده (۱۰-۵۰ کانون) (grade II) وجود سلول التهابی متوسط (۱۰-۵۰) و (grade III) وجود سلول التهابی زیاد- شدید (بیش از ۵۰) ۳- وجود یا عدم وجود واکنش جسم خارجی ۴- نحوه تماس استخوان بیومتریال (وجود یا عدم وجود بافت همبندی بین قطعات استخوانی) ۳- تعداد عروق خونی (Angiogenesis) که (عدد 0 کمتر از ۳ رگ خونی، عدد ۱ بین ۳ تا ۵ رگ خونی، عدد ۲ بیش از ۵ رگ خونی)

ارزیابی کلینیکی

♦ عرض لثه کراتینیزه در ناحیه میدفاشیال از مارجین لثه تا ناحیه اتصال موکوجینیوال دندان مورد نظر در شرایط پایه (که دندان حضور دارد) و یا از بالای (Top) کرسست استخوان بدون دندان تا محل اتصال موکوجینیوال ۳ ماه بعد اندازه‌گیری شد. و تفاوت بین این دو اندازه‌گیری به صورت کاهش عرض لثه کراتینیزه بیان گردید.

♦ همچنین عرض (پهنای باکولینگوالی) استخوان در ۲ نقطه مجزا که یک‌بار از فاصله ۲ میلی‌متر از رأس کرسست ریج آلونول و یک‌بار هم از فاصله ۵ میلی‌متر از کرسست ریج آلونول با استفاده از (Stoma Ivanson) Measuring Calliper) Bone Calliper که به گونه‌ای طراحی شده‌است که توانایی نفوذ به بافت نرم و ارزیابی استخوان را داشته باشد،

ایمپلنت دندانی داشتند، انتخاب شدند که جمعاً ۳۰ دندان انتخاب شدند که با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری به صورت تصادفی به دو گروه مساوی تقسیم شدند که یکی از دندان‌ها به دلیل شکستگی دیواره باکال از مطالعه خارج گردید. در نتیجه گروه تست (شامل ۱۴ دندان) و گروه کنترل (شامل ۱۵ دندان) گردید. شرایط مطالعه به بیماران توضیح داده شد و رضایت‌نامه آگاهانه مربوط به شرکت در مطالعه توسط آن‌ها امضا گردید. پرونده جراحی و همچنین اندازه‌گیری‌ها توسط بررسی‌کننده تحقیق (investigator) که اطلاعی از افراد گروه تست و کنترل نداشتند، انجام شد.

معیارهای ورود به مطالعه عبارت بودند از: (۱) سن ۱۸ سال و بیشتر (۲) تکمیل و امضاء فرم رضایت‌نامه کتبی جهت ورود به مطالعه (۳) تمایل به استفاده از رستوریشن ایمپلنت (۴) فاقد بیماری سیستمیک (۵) توانایی شرکت در معاینات و پیگیری.

معیارهای خروج از مطالعه: (۱) مصرف مداوم آنتی‌بیوتیک سیستمیک یا موضعی تا ۳ ماه قبل از مطالعه (۲) استفاده منظم از داروهای ضد التهاب در ۳ ماه اخیر (۳) عفونت دندانی و آبسه مرتبط با استخوان (۴) بهداشت دهانی ضعیف (پلاک قابل رؤیت) (۵) مصرف سیگار- الکل (۶) حاملگی و شیردهی (۷) حضور بیماری پرودنتال شدید (۸) دیابت کنترل نشده (۹) دندان دارای Fenestration Surgical Protocol و Dehiscence تمامی بیماران قبل از کشیدن دندان، تحت حداقل یک جلسه ارتقاء بهداشت (جرم‌گیری و آموزش بهداشت) بر حسب نیاز بیمار به منظور ایجاد محیطی مناسب برای ترمیم زخم قرار گرفتند (پلاک ایندکس بالاتر از ۱۰ درصد).

جراحی در هر دو گروه به شیوه یکسان انجام گردید. به این صورت که ابتدا اینسیژن کرسستال و اینتراسالکولار تا میدباکال دندان مجاور و بدون اینسیژن عمودی جهت کنار زدن فلپ‌های باکال ولینگوال / پالاتال (تا حداقل ۳ میلی‌متر جهت قرار دادن غشاء کلاژنی) و مشاهده استخوان انجام شد و سپس دندان با استفاده از پریوتوم و فورسپس مناسب با حداقل تروما خارج گردید. کورتاژ و شست‌وشوی ساکت به وسیله نرمال‌سالین استریل انجام گردید و دیواره‌های استخوانی ساکت با پروب پرودنتال چک شد. پس از آن، ساکت ایجاد شده با استفاده از DBM ((ITB) Iranian Tissue Bank Research & Predationcenter (PRP) تهیه شده از بیمار پر شده و فلپ کروئالی شد و با استفاده از غشاء کلاژنی (REGEN- Tehran University) (of Medical Science) پوشش کامل ساکت انجام گردید و در نهایت توسط نخ بخیه قابل جذب ویکریل (۳-۰) (vicryl, SUPA 3-0) (Medical Devices, Tehran, Iran) با ترکیب ماترس افقی و لوپ ساده ساکت بسته شد.

طبق پروتکل مطالعه درمان در گروه کنترل در همین مرحله خاتمه

نتایج و یافته‌ها

در این مطالعه ۳۰ بیمار از سنین ۲۰ تا ۵۸ سال با میانگین سنی ۳۸ سال شرکت کردند که شامل ۱۷ خانم و ۱۳ آقا می‌شد.

یکی از بیماران خانم در گروه تست به دلیل فقدان استخوان باکال هنگام کشیدن دندان از مطالعه خارج شد. در نتیجه ۱۴ نفر در گروه تست در دریافت کنندگان LLLT و ۱۵ نفر در گروه کنترل قرار گرفتند. همه افراد شرکت کننده بدون هیچ علامتی از التهاب و بدون Symptom آشکار دوره بهبود خود را پشت سر گذاشتند و کمیت و کیفیت استخوان در ناحیه مورد نظر جهت جایگذاری صحیح ایمپلنت مناسب بود.

Dimensional Changes

در گروه تست که علاوه بر درمان معمول Ridge Preservative LLLT - نیز دریافت کرده بودند، تحلیل افقی (کاهش عرض باکولینگوالی) کمتری را شاهد بودیم. میانگین تغییرات در هر دو سطح ۲ میلی‌متر و ۵ میلی‌متر از کرسر ریح در گروه تست به ترتیب $(0/47) \pm 0/75$ میلی‌متر و $(0/47) \pm 0/58$ میلی‌متر و در گروه کنترل $(0/32) \pm 1/93$ میلی‌متر و $(0/46) \pm 1/88$ میلی‌متر بود. با $0/01 < P$ از لحاظ آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). در گروه تست تغییرات ارتفاع عمودی (تفاوت بین T_0 ، T_1) در میدباکال و میدلینگوال به ترتیب $(0/38) \pm 0/56$ میلی‌متر و $(0/37) \pm 0/50$ میلی‌متر و در گروه کنترل تفاوت تغییرات (Δ) میدباکال و تفاوت میدلینگوال (Δ) به ترتیب $(0/37) \pm 1/12$ میلی‌متر و $(0/39) \pm 0/86$ میلی‌متر بود و به طور کلی در هر دو گروه تغییرات ارتفاع عمودی در میدباکال بیشتر از میدلینگوال بود. ($P < 0/001$) اگرچه در گروه کنترل نسبت به گروه تست شاهد تحلیل عمودی بیشتری بودیم اما، از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P < 0/001$). در هر دو گروه تست و کنترل کاهش عرض لثه کراتینیزه وجود داشت و اما این کاهش در گروه تست کمتر مشاهده شد. میانگین کاهش عرض لثه کراتینیزه در گروه تست $(0/21) \pm 0/84$ میلی‌متر و در گروه کنترل $(0/45) \pm 1/78$ میلی‌متر بود (جدول ۱). ($P < 0/001$)

ارزیابی بافت‌شناسی

در هیچ‌یک از نمونه‌ها واکنش جسم خارجی مشاهده نشد و همه نمونه‌ها دارای بافت همبندی در تماس بین استخوان‌ها و گرفت بودند و در زیر میکروسکوپ تمامی نمونه‌ها دارای تراکول‌های استخوانی واضح بودند و تعداد عروق خونی در همه نمونه‌ها کد ۱ و ۲ و دارای عروق خونی کافی بودند که تفاوتی بین دو گروه مشاهده نشد. در بررسی میکروسکوپی درصد Vital Bone در گروه تست ۵۲/۶ درصد و در گروه کنترل ۴۷/۴، ۰ درصد گزارش شد که تفاوت معنی‌دار نبود ($P > 0/05$) و همچنین درجه التهاب که به ۴ درجه (از ۰ تا ۳) تقسیم

اندازه‌گیری شد که کاهش (ΔBLW) عرض استخوان (تحلیل) به صورت اختلاف میان اندازه‌گیری Baseline (T_0) و ۳ ماه بعد (T_1) بیان شد.

♦ ارتفاع عمودی استخوان در سطح میدباکال و میدلینگوال با استفاده از Probe (UNC-15) به این صورت که فاصله از رأس کرسر تا خطی که CEJ دو دندان مجاور را بهم متصل می‌کرد، به عنوان یک نقطه رفرنس ثابت اندازه‌گیری شد. جهت اطمینان از استاندارد و قابل تکرار بودن مقادیر به دست آمده فاصله مزیدیستالی دو دندان مجاور (خط واصل CEJ) نیز ثبت گردید که کاهش ارتفاع (Δ) عمودی استخوان (تحلیل استخوان) به صورت اختلاف بین مقادیر Baseline (T_0) و ۳ ماه بعد (T_1) گزارش گردید.

ارزیابی بافت‌شناسی

نمونه‌های بافتی جهت بررسی هیستولوژیک، ۳ ماه بعد همزمان با قرار دادن ایمپلنت با استفاده از Trephine Drill (قطر 3m و طول 6m) از مرکز کرسر برداشته شد و به مرکز مطالعات هیستولوژیک (آزمایشگاه دانش) فرستاده شد. بررسی‌ها توسط پاتولوژیست که هیچ اطلاعی از افراد گروه‌ها نداشتند (محتویات لام) جهت جلوگیری از bias انجام گردید.

- بیوپسی‌های تهیه‌شده به محلول نرمالین ۱۰ درصد انتقال داده شده جهت فیکساسیون کامل به مدت ۱۰ روز در این محلول نگهداری شدند سپس نمونه‌ها جهت دکلسیفیکاسیون به محلول اسیدفورمیک ۱۰ درصد منتقل شدند و به مدت ۱ هفته در این محلول باقی‌ماندند، بعد از آن، نمونه‌ها از محلول خارج شدند و به مدت ۵ دقیقه جهت خنثی شدن اسید به داخل محلول بیکربنات لیتیم ۲۰ درصد انتقال یافتند. هر نمونه با یک شماره علامت‌گذاری گردید و در نهایت، نمونه‌های استخوانی به صورت عمودی و در جهت قدیمی خلفی به دو قسمت تقسیم شدند. داخل بلوک‌های پارافین قرار گرفتند و از بلوک پارافین متعلق به هر یک از نمونه‌های استخوانی ۷ برش به ضخامت ۵ میکرون تهیه و با روش هماتوکسین-اوزونوفیلین (H&E) رنگ‌آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری BX41 Olympus با بزرگ‌نمایی ($40 \times 100 \times$) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری

برای تمامی پارامترهای به دست آمده از این مطالعه میانگین و انحراف معیار ذکر شده با استفاده از آزمون تحلیل واریانس طرح اندازه‌گیری‌های مکرر جهت مقایسه تغییرات در زمان قبل و ۱۲ هفته پس از درمان با آنالیز Wilcoxon انجام شد. ($P < 0/05$) از Mann - Whitney U-test برای آنالیز دیتاهای پارامترهای کلینیکی (ارتفاع عمودی - پهنای ریح و عرض لثه کراتینیزه) بین دو گروه تست و کنترل استفاده گردید ($P < 0/001$). و با استفاده از آزمون chi-square برای متغیرهای هیستولوژیک Non-parametric که فقط یکبار اندازه‌گیری شده بودند، انجام گردید که ($P > 0/05$)

مطالعه افزودن LLLT بر Ridge Preservation تأثیری بر پیشگیری از کاهش ارتفاع ریح نداشت، ولی در پیشگیری از تحلیل افقی ریح تأثیر داشت. همچنین باعث حفظ لثه کراتینیزه شد. کاهش ارتفاع در میدباکال و میدلینگوال در گروه تست به ترتیب $(0/38) \pm 0/56$ میلی متر و $(0/37) \pm 0/50$ میلی متر و در گروه کنترل به ترتیب $(0/37) \pm 1/12$ میلی متر و $(0/39) \pm 0/86$ میلی متر گزارش شد. همچنین کاهش ابعاد افقی استخوان در نقطه ۲ میلی متر و ۵ میلی متر از کرسٹ ریح در گروه تست به ترتیب $(0/47) \pm 0/75$ میلی متر و $(0/47) \pm 0/58$ میلی متر و در گروه کنترل $(0/32) \pm 1/93$ میلی متر و $(0/46) \pm 1/88$ میلی متر بود.

در مطالعه Pange et al (۲۰۱۴) که Ridge Preservation را در گروه تست با استفاده از DBBM (Bio-oss) و غشاء قابل جذب کلاژن انجام داده بود و در گروه کنترل هیچ گونه درمانی (استفاده از ماده پیوندی) صورت نگرفته بود [۱۸]. میانگین کاهش ارتفاع در گروه تست پس از ۳ و ۶ ماه به ترتیب $(0/24) \pm 1/05$ میلی متر و $(0/25) \pm 1/54$ میلی متر و میانگین کاهش عرض در گروه تست پس از ۳ و ۶ ماه به ترتیب $(0/13) \pm 1/11$ میلی متر و $(0/35) \pm 1/84$ میلی متر بود که در مقایسه با گروه کنترل که میانگین کاهش ارتفاع پس از ۳ و ۶ ماه به ترتیب $(0/15) \pm 2/12$ میلی متر و $(0/29) \pm 3/26$ میلی متر و میانگین کاهش عرض پس از ۳ و ۶ ماه به ترتیب $(0/19) \pm 2/72$ میلی متر و $(0/28) \pm 3/56$ میلی متر بود، کمتر گزارش

بندی شده بود، در همه گروه ها ۱ و ۲ گزارش شد. اگرچه در گروه تست دارای التهاب خفیف تری بودیم یعنی درصد بیشتری $(56/2)$ درصد دارای التهاب درجه I بودند و در مقابل $(43/8)$ درصد التهاب درجه I در گروه کنترل، اما با استفاده از آنالیز تفاوت معنی دار نبود $(P>0/05)$ اما، در مقایسه بین افزایش درصد Vital Bone و افزایش درجه عروق خونی با استفاده از آنالیز کای اسکوار ارتباط معنی دار وجود داشت به این صورت که با افزایش عروق خونی مقدار Vital Bone نیز افزایش یافت $(P>0/05)$. (جدول ۴)

بحث

هدف از این پژوهش بررسی تأثیرات کلینیکی و هیستولوژیک افزودن LLLT بر پروسه حفظ ابعاد ریح با استفاده از مواد پیوندی DBM و PRP پس از ۳ ماه می باشد. با اینکه با استفاده از پروسه Alveolar Ridge Preservation تحلیل ریح در هر دو بعد افقی و عمودی کاهش یافت اما، همانند اکثر مطالعات که فقط محدود کردن این پروسه Remodeling را گزارش کرده اند [۱۶] نتایج این مطالعه نشان دهنده بروز تحلیل به طور معنی داری در هر دو گروه تست و کنترل بود. توقف کامل کاهش ابعادی ریح پس از کشیدن دندان اتفاق نیفتاد اگرچه مطالعات محدود و اندکی نیز دست یافتن به ابعاد عمودی را گزارش کرده اند [۱۷]. طبق نتایج حاصل از این

جدول ۱

Group	Bucolingual width(mm)		Ridge height(mm) (Distance from cej line)		Keratinized Gingiva(m m)	
	2mm from crest	5mm from crest	Mid-Bucal	Mid-lingual		
test	Base line	9.08 +- 0.78	7.85 +- 0.77	3.05 +- 0.49	2.93 +- 0.54	5.94 +- 0.81
	3months e after	8.33 +- 0.82	7.26 +- 0.78	3.62 +- 0.49	3.43 +- 0.50	5.10 +- 0.70
	change	0.75+- 0.47	0.58 0.47	0.56+- 0.38	0.50+- 0.37	0.84+-0.31
Control	Base line	8.60 +- 0.32	8.24 +- 0.27	2.79+- 0.61	2.95 +- 0.63	6.30 +- 1.00
	3months e after	6.67 +-0.54	6.36 0.52	0.76 +- 3.92 +-	3.82 +- 0.70	4.52+- 0.82
	change	1.93 +- 0.32	1.88 0.46	1.12+- 0.37	0.86+- 0.39	1.78+-0.35

است [۲۵] که می‌توان از محدودیت‌های این مطالعه به عدم اندازه‌گیری ضخامت پلیت باکالی اشاره کرد. فاکتور تأثیرگذار دیگر نحوه کنارزدن فلپ می‌باشد. در مطالعات میانگین $0/6$ میلی‌متر تحلیل بیشتر استخوان در Full- Mucoperistal Flap گزارش شده [۲۹]. اگرچه در این تحقیق سعی بر حداقل کنارزدن فلپ و حفظ پرپوست شده است، اما نظارت دقیق بر نحوه جراحی نیاز به مطالعات کنترل شده در این زمینه دارد.

در این مطالعه استفاده از LLLT باعث حفظ لثه کراتینه‌شده شد. مقدار کاهش KG در گروه تست و کنترل به ترتیب $(0/21) \pm 0/63$ میلی‌متر و $(0/45) \pm 1/78$ میلی‌متر بود. ($P < 0/001$) با اینکه با استفاده از غشاء کلاژن جهت پوشاندن دهانه ساکت سعی بر حداقل کرونالی کردن فلپ شد، اما در گروه کنترل بازهم KG به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. اگرچه بعداز کشیدن دندان یک متد قابل اعتماد جهت کاهش تحلیل ریبج می‌باشد، اما در مورد بافت نرم این مسئله همچنان جای سؤال است و تنها در برخی مطالعات بررسی بافت نرم به‌عنوان هدف ثانویه آورده شده است [۳۰]. بنابراین اثر لیزر در این زمینه جهت اجتناب از جراحی‌های پیوند بافت نرم که تهاجمی‌تر هستند، می‌تواند بسیار مفید باشد. می‌توان تأثیر لیزر را در این مطالعه بر واسکولاریزاسیون فیبروبلاست لثه‌ای به دلیل فاصله نزدیک تر لثه باکال به اشعه نسبت به پرپوست و استخوان زیرین دانست. اثرهای مشابهی توسط برخی مطالعات آمده است مثلاً در مطالعه Ganluigi.c et al دندان‌هایی که در Vestibular Mucosa و بدون هیچ لثه چسبنده‌ای بودند، به‌وسیله Orthodontic Tooth Movement و لیزر Diod حرکت داده شدند که لیزر باعث بهبود تمایز Stem Cell in Fibroblast Periodontal Ligament شد [۲۷] و یا در مطالعه Chen- Ying چسبنده اطراف دندان تشکیل شد [۲۷] و یا در مطالعه Wang (۲۰۱۵) با استفاده از اشعه لیزر Diod (660nm) باعث تسریع Wound Palatal Healing شد، جالب توجه است که در همین مطالعه دوزهای بالاتر (High Dose) لیزر باعث افزایش TNF- α و بروز نتایج متفاوت شد [۲۸].

در این مطالعه LLLT باعث افزایش Vital Bone پس از ۳ ماه نشد، درصد Vital Bone بین دو گروه تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. طبق مطالعات مختلف هم بیشترین تأثیرات لیزر بر مینرالیزاسیون در فاز اولیه دوره ترمیم مشاهده می‌شود [۲۹] به‌طور مثال در مطالعه Ramao (۲۰۱۵) که (LPT) را روی Molar Etraction Site به‌کار برد. ترمیم استخوان آلوئول ۴۰ روز بعد به‌طور چشمگیری بهبود یافت [۳۰] یا در مطالعه Hermes P et al [۳۱] تأثیر لیزر بر روی ترمیم استخوان در موش صحرايي را در سه بازه زمانی ۱۵، ۴۵، و ۶۰ روز بررسی کرده‌است و نشان داد که در تشکیل استخوان با افزودن لیزر نسبت به گروه کنترل در بازه زمانی ۴۵-۵۱ روز اختلاف چشمگیر وجود داشت. خواص Biostimulation لیزر در این بازه زمانی نتایج بسیار بهتری را با استفاده از لیزر نشان داد. اما، در روز ۶۰ تفاوتی وجود نداشت. بنابراین در این مطالعه هم کوتاه‌شدن

شد که از لحاظ آماری نیز معنی‌دار بود. از آنجاکه در این مطالعه گروه کنترل (Passive) بود و هیچ‌گونه درمانی صورت نگرفته است، پس انتظار اختلاف چشمگیر چندان دور از ذهن نمی‌باشد. در این مطالعه برخلاف مطالعه ما در بازه زمانی مختلف ۳ و ۶ ماه بررسی شد. در مطالعات مختلف زمان‌های متفاوتی جهت قراردعی ایمپلنت پس از خارج کردن دندان گزارش شده است و از آنجاکه تغییرات ایجادشده در بازه زمانی ۳ تا ۶ ماه بسیار اندک و قابل چشم‌پوشی است، برای اکثر تحقیقات زمان مناسب ۳ ماه در نظر گرفته می‌شود.

در مطالعه Tyler D et al (۲۰۱۴) درمقایسه انجام Ridge Preservation با استفاده از 100% Mineralized FDBA و (Active Control) و 70/30 Mineralized & Demineraled FDBA (Test Group) تغییرات عرض و تغییر ارتفاع در لینگوال و باکال در گروه تست به ترتیب $(1/36) \pm 1/19$ میلی‌متر و $(2/08) \pm 0/26$ میلی‌متر و $(1/27) \pm 0/8$ میلی‌متر و در گروه کنترل $(1/18) \pm 1/63$ میلی‌متر و $(1/85) \pm 0/25$ میلی‌متر و $(1/78) \pm 0/62$ میلی‌متر بود [۱۹] که تفاوتی بین دو گروه وجود نداشت. به اعداد گزارش شده در مطالعه ما بسیار نزدیک می‌باشد اما، تغییرات افقی را فقط در یک نقطه بررسی کرده است که از دقت مطالعه کاسته می‌شود. در مطالعه Ahmad Kutkut با افزودن PRP به مواد پیوندی در Ridge Preservation تفاوت آماری چشمگیری در Vertical & Horizontal Bone Loss پس از ۳ ماه مشاهده نشد ($P > 0/05$) [۱۷].

اما، از بخش‌های نوآورانه در این مطالعه افزودن LLLT در Ridge Preservation می‌باشد. تاکنون، مطالعه‌ای در این زمینه وجود ندارد. در مطالعه Koray (۲۰۱۲) با استفاده از لیزر Diod افزایش مینرالیزاسیون در ساکت مشاهده شد. اما، در برخی مطالعات دیگر چنین تأثیری مشاهده نشد [۲۱ و ۲۰]. در این مطالعه نیز با استفاده از لیزر Diod شاهد تحلیل افقی کمتر ریبج آلوئول بودیم که شاید بتوان افزایش سریع آنژیوژنزیس - Periosteal Capillary را که منشأ سلول استوژنیک هست، در مراحل اولیه ترمیم با استفاده از LLLT کلید حفظ ابعاد افقی استخوان دانست [۲۲-۲۴].

اما، در کاهش تحلیل عمودی ریبج با استفاده از LLLT چنین تأثیری مشاهده نشد که این موضوع می‌تواند به دلیل وجود فاکتورهای مهم تأثیرگذار دیگر باشد. همان‌طور که در مطالعات قبلی نشان داده شده‌است، تحلیل عمودی ریبج در پلیت باکالی بیشتر از سمت لینگوالی است و به طور کلی تحلیل در مندیبل بیش از ماگزایلا و در نواحی پره ماگزایلا نسبت به سایر نواحی دهان بیشتر می‌باشد [۲۵] که باید در طراحی مطالعات و انتخاب نمونه‌ها مورد توجه قرار گیرد. یکی دیگر از فاکتورهای مهم مؤثر بر تحلیل عمودی ریبج ضخامت اولیه پلیت باکال می‌باشد که هرچه پلیت باکال نازک‌تر باشد، انتظار تحلیل پس از خارج کردن دندان بیشتر

ها دارای تماس مستقیم بافت همبند بین گرفت و استخوان بودند و هیچ گونه واکنش جسم خارجی مشاهده نشد، اما به علت عدم استفاده از مواد منیرالیزه که یک ماده استئوکانداکتیو است و می توانست به عنوان یک Scaffold طی دوره ترمیم عمل کند و همچنین استفاده از یک لایه غشاء کلاژن قابل جذب جهت GBR به جای استفاده از ۲ لایه کلاژن و یا یک ماده غیر قابل جذب که خاصیت Space Making بهتری داشته باشد، با تاباندن LLLT و انجام GBR باز هم شاهد تحلیل عمودی ریح بودیم که از محدودیت های این مطالعه به شمار می رود. درجه التهاب و عروق خونی در دو گروه با هم تفاوتی نداشتند اما یافته جالب توجه دیگر در این مطالعه وجود ارتباط مستقیم و معنی دار بین افزایش عروق خونی و درصد Vital Bone در هر دو گروه بود به طور یکسان PRP به کار برده شده بود می دانیم که فاکتورهای رشد بسیاری را می توان با توجه به غلظت و مقدار PRP به محل ترمیم زخم انتقال داد و از آنجا که تغذیه خونی نقش مهمی در تشکیل استخوان دارد و علاوه بر فاکتورهای رشدی مانند (EGF, TGF-B, IGF-1) که مستقیماً در رژنراسیون استخوان دخیل هستند، فاکتورهایی که باعث القاء آنژیوژنزیس می شوند مانند (PDGF) را می توان در PRP یافت [۳۹ و ۴۰] بنابراین، نتایج این تحقیق نیز تأییدکننده این مطلب است که آنژیوژنزیس کلید رژنراسیون موفق استخوان می باشد.

در آخر، اگرچه به دلیل بدون درد و کمتر تهاجمی بودن درمان با لیزر توسط اکثر بیماران مطلوب و پذیرفتنی است اما، معایبی همچون قیمت دستگاه (تجهیزات) و نیاز به جلسات ملاقات متعدد بیشتر وجود دارند. مطالعات مختلفی وجود دارند که بروز نتایج نامطلوب و ناخواسته را با استفاده از لیزر گزارش کرده اند. در نتیجه، باید در انتخاب انرژی کلی و فاصله اشعه تا بافت مورد نظر دقت شود زیرا دوزهای بالاتر دارای تأثیرات منفی می باشند. همچنین در تفسیر نتایج باید احتیاط کرد زیرا توان خروجی دستگاه - طول موج - انرژی کلی و تعداد و دفعات (Frequency) کاربرد اشعه و فاصله از بافت در مطالعات بسیار متغیر می باشد. همچنین ارزیابی ثبات نتایج کلینیکی به صورت طولانی مدت مدنظر قرار بگیرد.

نتیجه گیری

نتایج پژوهش نشان داد که افزودن LLLT بر مواد پیوندی باعث حفظ ریح آلوئول با محدودکردن تحلیل افقی ۳ ماه پس از خارج کردن دندان می گردد. طبق نتایج حاصل از مطالعات قبلی، لیزر می تواند در مراحل اولیه ترمیم تأثیرگذار باشد و باعث تسریع پروسه Remodeling و ترمیم بشود. مطالعات بیشتر جهت ارزیابی الگوی ترمیم استخوان و همچنین بافت نرم و کیفیت رژنراسیون با افزودن LLLT بر مواد پیوندی DBM و PRP با زمان ترمیم کوتاه تر و تعداد نمونه های بیشتر نیاز می باشد. ممکن است با استفاده از LLLT بتوان در زمان بسیار کوتاهی پس از کشیدن دندان و بدون نیاز به پروسه آگمنتاسیون بعدی ایمپلنت را در موقعیت مطلوبی از

زمان مورد نیاز جهت مینرالیزاسیون و بلوغ استخوان دور از انتظار نیست اما از آنجا که بیوپسی استخوانی پس از گذشت زمان ۱۲ هفته تهیه شده است، تفاوت چشمگیری در درصد Vital Bone و کیفیت و آرایش تراکول استخوانی با استفاده از لیزر دیده نمی شود که جهت جلوگیری از نادیده گرفته شدن اثرهای لیزر بر کیفیت استخوان، نیاز به مطالعات هیستولوژیک در بازه زمانی مختلف و کوتاه تر می باشد. اگرچه درصد Vital Bone در دو گروه تفاوتی با هم نداشت، اما نسبت به مطالعات پیشین اعداد نسبتاً بالاتری به دست آورد که می توان آن را به استفاده همزمان PRP و DBM نسبت داد. در مطالعه (۲۰۱۵) Shon Huey پتانسیل استئوژنیک Growth Factor Rich Demineralized Bone material را بررسی کرد. در مراحل اولیه ترمیم بیان ژن استئوپنتین که تنظیم و آغازکننده استئوژنزیس می باشد، در مقایسه با مواد مینرالیزه افزایش یافت [۳۲].

از بین مواد پیوندی گوناگون با استفاده از DBM به علت حضور BMP یک ماده Osteoinductive به شمار می رود. نسبت به مواد مینرالیزه درصد Vital Bone بیشتری حاصل می شود [۳۳ و ۴۳]. البته خاصیت استئوینداکتیو بودن DBM به سن فرد دهنده و پروتکل آماده سازی آن که جهت حذف خاصیت آنتی ژنتیک به کار می رود بستگی دارد [۳۳]. در مطالعه Tyler D et al (۲۰۱۴) که Combination Mineralized & Demineralized با نسبت (۷۰/۳۰) در گروه تست و (۱۰۰ درصد) Mineralized FDDBA در گروه کنترل برای پر کردن ساکت به کار برده بود، درصد Vital Bone به ترتیب ۲۴/۶۹ درصد و ۱۶/۳۶ درصد گزارش کرد [۱۹].

در بسیاری از مطالعات مزایای زیادی برای استفاده از PRP جهت Bone Regeneration عنوان شده است. بسیاری محققان استفاده از آن را طی دوره ترمیم مفید می دانند اما، برخی نیز مزایایی در افزایش کمیت و کیفیت استخوان تازه تشکیل شده عنوان نکردند [۳۵ و ۳۶]. تفاوت های بسیار زیادی که در طراحی مطالعات از جمله روش های گوناگون آماده سازی PRP و غلظت و حجم PRP تهیه شده و همچنین سایز دفتک می تواند تأثیر چشمگیری در مؤثر بودن آن داشته باشد و از آنجا که روش استاندارد و یکسانی جهت تهیه PRP وجود ندارد، باعث عدم همخوانی نتایج می شود که از محدودیت های بررسی است [۳۵]. PRP را همراه با مواد پیوندی مختلف به کار برده اند. نشان داده شده است که استفاده از ترکیب DBM و PRP باعث افزایش پرولیفراسیون (Human Bone Marrow Stromal Cell) و تمایز استئوبلاست و تشکیل استخوان در مقایسه با استفاده از DBM به تنهایی و PRP به تنهایی می شود [۳۷]. در یک مطالعه که PRGF را همراه با DFDBA به کار برده بود درصد Vital Bone تا ۶۲/۵ درصد افزایش یافت [۳۸].

در مطالعه ما استفاده از ترکیب DBM, PRP, اگرچه بسیار Biocompatible گزارش شده است و همان طور که دیدیم تمام نمونه

نتایج کلینیکی دارد.

نظر کمیت و کیفیت استخوان قرار داد. بررسی این مطلب نیاز به مطالعات در سطح سلول های انسانی و Cell-Line های مشخص برای فهم بیشتر

References:

1. Pietrokovski J, Massler M. Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *The Journal of prosthetic dentistry*. 1967; 17(1): 21-7.
2. Araújo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Journal of clinical periodontology*. 2005; 32(28): 212.
3. Araújo MG, Lindhe J. Ridge alterations following tooth extraction with and without flap elevation: an experimental study in the dog. *Clinical oral implants research*. 2009; 20(6): 545-9.
4. Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*. 2003; 23(4): 313-24.
5. Dimova C. Socket Preservation Procedure after Tooth Extraction. *Key Engineering Materials*. 2014; 587: 325-30.
6. Kutkut A, Andreana S, Kim H-I, Monaco Jr E. Extraction socket preservation graft before implant placement with calcium sulfate hemihydrate and platelet-rich plasma: a clinical and histomorphometric study in humans. *Journal of periodontology*. 2012; 83(4): 401-9.
7. Horowitz R, Holtzclaw D, Rosen PS. A review on alveolar ridge preservation following tooth extraction. *Journal of Evidence Based Dental Practice*. 2012; 12(3): 149-60.
8. Kauschke E, Rumpel E, Fanghänel J, Bayerlein T, Gedrange T, Proff P. The in vitro viability and growth of fibroblasts cultured in the presence of different bone grafting materials (NanoBone® and Straumann Bone Ceramic®). *Folia morphologica*. 2006; 65(1): 37-42.
9. Froum S, Cho S-C, Rosenberg E, Rohrer M, Tarnow D. Histological comparison of healing extraction sockets implanted with bioactive glass or demineralized freeze-dried bone allograft: a pilot study. *Journal of Periodontology*. 2002; 73(1): 94-102.
10. Freymiller EG, Aghaloo TL. Platelet-rich plasma: ready or not? *Journal of oral and maxillofacial surgery*. 2004; 62(4): 484-8.
11. Pretel H, Lizarelli RF, Ramalho LT. Effect of low-level laser therapy on bone repair: Histological study in rats. *Lasers in surgery and medicine*. 2007; 39(10): 788-96.
12. Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Kenney EB. Comparison of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral, and guided tissue regeneration versus platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: a reentry study. *Journal of periodontology*. 2002; 73(2): 198-205.
13. Harris DM, Nicholson DM, McCarthy D, Yukna RA, Reynolds MA, Greenwell H. editor^editors. Change in clinical indices following laser or scalpel treatment for periodontitis: A split-mouth, randomized, multi-center trial. *SPIE BiOS; 2014: International Society for Optics and Photonics 2014*.
14. Romanos G, Ko H-H, Froum S, Tarnow D. The use of CO2 laser in the treatment of peri-implantitis. *Photomedicine and laser surgery*. 2009; 27(3): 381-6.
15. Merli LADS, Santos MTBRD, Genovese WJ, Faloppa F. Effect of low-intensity laser irradiation on the process of bone repair. *Photomedicine and Laser Therapy*. 2005; 23(2): 212-5.
16. Horowitz, R.D.Holtzclaw, and P.S. Rosen, A review on alveolar ridge preservation following tooth extraction. *Journal of Evidence Based Dental practice*. 2012; (3)12: 149-60.
17. Kutkut, A. Extraction socket preservation graft before implant placement with calcium sulfate hemihydrate and platelet- rich plasma: a clinical and histomorphometric study in humans- *Journal of Periodontology*, 2012; 83(4): 401-9.
18. Pang C. Alveolar ridge preservation with deproteinized

bovine bone graft and collagen membrane and delayed implants. *Journal craniofac surg*, 2014.

19. Tyler, D. Borg and Brian L. Histologic Healing Following Tooth Extraction with Ridge Preservation using Mineralized versus combined Mineralized – Demineralized Freeze- Dried Bone Allograft: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Periodontol*, 2015; 86(3): 348-55.

20. Kucerva H, Dostalova T, Himmlova L, Bartova J, Mazanek J. Low level Laser therapy after molar extraction. *J clin Laser Med Surg* 2000; 18(6): 309-15.

21. Takeda Y. Irradiation effect of low – energy laser on alveolar bone after tooth extraction. Experimental study in rats. *Int J oral Maxillofac surg* 1988; 17(6): 388-91.

22. Trelles MA, Mayayo E. Bone Fracture consolidates faster with low- power laser. *Lasers Surg Med*. 1987; 7(1): 36-45.

23. Lozano AJ, Cestero HJ, Jr. Salyer KE. The early vascularization of onlay bone graft. *Plast Reconstr Surg*. 1976; 58(3): 302-5.

24. Freitas, IGF, Baranauskas V, Cruz- Hofling M.A. Laser effects on osteogenesis. *Appl. Surf.Sci.* 2000; 154/155; 548-54.

25. Leblebicioglu B, Salas M, ort Y, Johnson A, Yildiz V.O, kim D.G, Agarwal S, Tatakis D.N. Determination of alveolar ridge preservation differ by anatomic location. *J. clin. Periodontol*. 2013; 40: 387-95.

26. Maria L. Geisinger, Carolin M.H, Nicolaas C.G, Micheal S.R. Does Ridge preservation at the time of Tooth Extraction Improve soft tissue volume and/or Implant Esthetics? A Review of current Evidence. *Clin Adv periodontics* 2015; (5): 208-14.

27. Gialuigi C. Periodontal effects with self ligation appliances and laser biostimulation, *Dental Res J. (Isfahan)*. 2012; 9(2): 186-91.

28. Chen – Ying Wang. Light – Emitting Diode Irradiation Promotes Donor site Wound Healing of the free Gingival Graft. *J Periodontology*, 2015; 86: 674-81.

29. Karu TI. Photobiology of low – power laser effects. *Health phys* 1989; 56: 691-704.

30. Ozawa, Y., Shimizu, N., kariya, G. Low – energy laser irradiation stimulates bone nodules at early stages of cell culture in rat calvarian cells, *Bone* 1998; 22; 347-54.

31. Hermes, P, Rosane F.Z. Lizarelli, lizeti T:O. Ramalho. Effect of low – level laser Therapy on Bone Repair: Histological study in Rats. *Lasers surg. Med*. 2007; 39: 769-88.

32. Romao MM, Marques MM, cortes AR, Horliana AC, Moreira MS, Lascala CA., Micro. Computed tomography and Histomorphometric Analysis of Human alveolar bone repair induced by laser phototherapy: a pilot study. *International Journal of Oral and Maxillofacial surgery*. 2015; 44(12): 1521-8.

33. Al Ghamdi A.S, Shibly O, Ciancio S.G. osseous grafting part I: Autograft and allografts for periodontal regeneration- A literature review. *J. Int. Acad. Periodontal*. 2010; 12: 34-8.

34. Sanchez A. Is Platelet- rich Plasma the Perfect Enhancement Factor? A Current Review. *Int J oral Maxillofac Implants*. 2003; 18: 93-103.

35. Arora NS, Ramanayake T, Ren YF, Romanos GE. Platelet- rich plasma in sinus augmentation procedures: a systematic literature review: part II. *Implant Dent*, 2010; 19: 145-57.

36. Hossein B, Ahad K, Mehrnaz Z, Fatemeh MA, Hassan B, Arash k. Histological Evaluation of Regeneration in Rabbit calvarial Bone defects Using Demineralized Bone Materix, Mesenchymal Stem cell and Platelet Rich in Growth Factors. *Journal Dental School* 2012; 30(3): 143-54.

37. Niloofar J, Aisenpouri, Maryam S, Ali B. The clinical, Histomorphometrical Evaluation of Decalcified Freeze- Dried Bone Allogenic Graft (DFDBA) with Plasma Rich Growth Factor (PRGF) for Alveolar Ridge Preservation. *Advanced in Environmental Biology*. 2014; 8(22): 664-72.

38. Shan- Huey Yu, Hsun- Liang, C, Li – Yen, C, Yi – Han J, and Po- chun, C. Evaluation of the Osteogenic Potential of Growth Factor – Rich Demineralized Bone Matrix In Vivo. *J Periodontol*. 2015; 86: 36-43.

39. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone. *Biology and clinical application. J Bone Joint Surg Am*, 2002; 84-A: 1032-44.