

مقایسه تأثیر دبریدمان سطح ریشه دندان‌های مبتلا به پریودنتیت با وسایل دستی، اولتراسونیک و لیزر Er:YAG بر نرخ بقای فیروبلاست‌های لثه انسانی

خلاصه

مقدمه: بیمای‌های پریودنتال یکی از شایع‌ترین علل ازدست‌دادن دندان‌ها است. بازسازی اتصال ازدست‌رفته و برقراری چسبندگی مجدد بافت به سطح عریان‌شده دندان‌ها مهم‌ترین هدف در درمان‌های پریودنتال است. با توجه به معایب روش‌های معمول آماده‌سازی سطح ریشه امروزه استفاده از لیزرها به‌ویژه لیزر Er:YAG برای انجام درمان‌های پریودنتال مناسب می‌باشند. و نیز با توجه به خلأ اطلاعات آماری از چگونگی عملکرد لیزر در بهبود درمان‌های پریودنتال در تحقیق حاضر اثرات جرم‌گیری دستی، اولتراسونیک و لیزر Er:YAG بر نرخ بقای سلولی فیروبلاست‌های لثه انسانی بررسی شد.

روش بررسی: این تحقیق به‌صورت مطالعه Experimental و با استفاده از تست MTT انجام شد. در این مطالعه ۳۵ دندان تک‌ریشه مبتلا به پریودنتیت و ۷ دندان سالم که به دلایل ارتودنسی کشیده شدند (گروه کنترل) مورد بررسی قرار گرفت. مجموع برش‌ها در ۵ گروه قرار داده شد: (۱) گروه سالم بدن درمان (کنترل +) (۲) گروه درمان‌نشده مبتلا به پریودنتیت (کنترل -) (۳) گروه جرم‌گیری دستی (Scaled Gracey) (۴) تابش لیزر Er:YAG (10 Hz و 100 mJ) با $230\text{ Pulse duration}$ very short همراه با روش دستی (۵) گروه اولتراسونیک. برش‌ها در محیط کشت سلولی قرار داده شد نرخ بقای سلول‌های فیروبلاست لثه انسانی در گروه‌های فوق با استفاده از تست MTT بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر با استفاده از آنالیز کوواریانس (Ancova) نشان داد که از نظر میزان بقای سلول‌های فیروبلاست لثه‌ای بین ۵ گروه اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P > 0.001$). هر چند اختلاف معنی‌داری بین تعداد سلول‌های فیروبلاست بر روی دیواره دندان‌ها بین ۴ گروه یافت نشد، ولی هر ۴ گروه مورد بررسی تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مثبت داشتند (کنترل مثبت $20.8/65 \pm 36$ ، اولتراسونیک $18/82 \pm 133/65$ ، دستی $26/41 \pm 28/29$ ، دستی Er-YAG $14/1 \pm 13$ ، کنترل منفی $57/10 \pm 43/13$).

نتیجه‌گیری: تحقیق نشان داد که استفاده از لیزر Er:YAG (100 mJ) و 10 Hz نمی‌تواند سبب افزایش نرخ بقای فیروبلاست لثه‌ای گردد.

واژه‌های کلیدی: لیزر Er:YAG، سلول فیروبلاست لثه انسانی، اولتراسونیک، جرم‌گیری دستی

طاهره فروتن^۱
رضا عمید^۲
شادی توتونچی^۳

۱. استادیار گروه علوم جانوری دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۲. دانشیار دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۳. کارشناس رشد، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد تهران، تهران، ایران

نویسنده مسئول: طاهره فروتن، تلفن: ۰۹۱۲۰۷۱۹۸۷۴
پست الکترونیک: comfourtan@khu.ac.ir

مقدمه

زیادی به کاربرد روش‌های غیر جراحی داشته‌اند و در صورت افزایش درصد موفقیت این درمان‌ها می‌توان تعداد بیشتری از بیماران را تحت پوشش درمانی قرار داد و از عوارض توسعه بی‌دندانی بر اثر پریودنتیت جلوگیری نمود. در این تحقیق، اثرهای جرم‌گیری با وسایل دستی، دستگاه اولتراسونیک و لیزر Er:YAG روی اتصال سلول‌های بافت همبندی لثه انسانی بر سطح ریشه دندان‌های مبتلا به پریودنتیت شدید مقایسه خواهد شد.

روش بررسی

روش تحقیق به صورت مطالعه تجربی و تکنیک آن به صورت مشاهده‌ای با استفاده از روش MTT و در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

دندان‌های کشیده شده تک‌ریشه مبتلا به پریودنتیت شدید که کشیدن آن‌ها در طرح درمان کلی بیمار مد نظر قرار دارد، انتخاب شدند. شاخص‌های مد نظر برای انتخاب دندان شامل موارد زیر بود:

عمق پروب بالینی در حد ۵ میلی‌متر یا بیشتر در دو سطح دیستال و مزیال، از دست دادن سطح اتصال بالینی در حد ۸ میلی‌متر یا بیشتر در دو سطح مزیال و دیستال، لقی درجه دوم یا سوم در حال پیشرفت، عدم وجود پوسیدگی یا تغییرات ساختاری مشخص در سطح ریشه دندان، عدم دریافت درمان‌های پریودنتال قبلی روی ریشه دندان در طول ۱۲ ماه گذشته و عدم وجود شکستگی یا ناهنجاری‌های آناتومیکی مشهود همچون شیارهای سطح ریشه‌ای.

دندان‌ها در چهار گروه بدون درمان، درمان با وسایل دستی، دستگاه اولتراسونیک و لیزر Er:YAG به همراه روش دستی قرار داده می‌شود. همچنین یک گروه از دندان‌های سالم کشیده شده به دلایل ارتودنسی به منظور بالا بردن ضریب اطمینان قرار داده شد.



شکل ۱

روش درمان

پلیت‌های دندانی با برداشتن تاج و اپکس هر دندان آماده شدند. یک سوم میانی ریشه به صورت طولی در یک سطح Bucco-Lingual بریده شد و بلوک‌های مستطیلی تقریباً به اندازه ۵×۶×۲ میلی‌متر تهیه شد.

یکی از شایع‌ترین علل ازدست‌دادن دندان‌ها، بیماری‌های پریودنتال می‌باشند که در اثر تجمع پلاک میکروبی و دیگر رسوبات بروی سطوح دندانی به وجود می‌آیند. تازمانی که چنین رسوباتی توأم با سمان آلوده شده بروی سطح ریشه باقی بماند درمان موفقیت‌آمیز بیماری‌های پریودنتال امکان‌پذیر نخواهد بود [۱]. از طرف دیگر، مهم‌ترین هدف در درمان‌های پریودنتال هم بازسازی اتصال ازدست‌رفته و برقراری چسبندگی مجدد بافت به سطح عریان شده دندان‌ها است. برای این منظور، باید سطح ریشه آلوده شده بیمار را به شکلی درآورد که آماده پذیرش اتصال جدید باشند. این مرحله به صورت مکانیکی یا شیمیایی صورت می‌گیرد. آماده سازی مکانیکی شامل برداشت جرم و رسوبات میکروبی از سطح ریشه (Scaling) و تسطیح آن (planing) است که با استفاده از وسایل جرم‌گیری دستی یا دستگاه‌های اولتراسونیک صورت می‌گیرد و آماده سازی شیمیایی به کاربرد موادی مانند اسید سیتریک، تتراسایلیکین یا EDTA برمی‌گردد. وسایل اولتراسونیک سال‌ها است که به عنوان یک مکمل ارزشمند در کنار وسایل دستی برای پاکسازی سطوح دندانی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. مشخص شده است که وسایل اولتراسونیک سطحی زبرتر و آسیب سطحی بیشتری نسبت به وسایل دستی برجای می‌گذارند. علاوه بر این کاربرد وسایل در برخی بیماران منع استعمال داشته و با مشکلات و عوارضی همراه بوده است [۲ و ۳]. براین اساس به نظر می‌رسد در صورت تداوم این وضعیت، مشکلات متعددی برای بیماران متقاضی درمان‌های پریودنتال ایجاد می‌شود و از دست دادن دندان‌ها در آنان افزایش خواهد یافت. سرآغاز لیزرهای اختصاصی برای دندانپزشکی، ساخت لیزر Nd:YAG تناوبی برای جراحی بافت نرم داخل دهان توسط MYERS بود [۴].

با توجه به معایب روش‌های معمول، تحقیقات بروی انواعی از اشعه لیزر مانند Nd:YAG و Er:YAG برای انجام جرم‌گیری و هموارسازی سطوح ریشه پیشینه‌ای چنددهه‌ساله دارد. از میان این لیزرها، جذب بالای طول موج لیزر Er:YAG توسط مولکول‌های آب، این لیزر را برای انجام درمان‌های پریودنتال و به ویژه جرم‌گیری و هموارسازی سطوح ریشه‌ای مناسب می‌سازد [۵]. البته اطلاعات آماری از چگونگی عملکرد این لیزر در بهبود درمان‌های پریودنتال وجود نداشته است و تحقیقات قبلی هم به طور عمده در ارائه یک نتیجه‌گیری کلی ناتوان بوده‌اند و نتایج محققان مختلف در رابطه با کارایی لیزر در پاکسازی سطح ریشه با توجه به گستردگی انواع لیزر یکسان نمی‌باشد [۶].

افزایش کارایی روش‌های متداول دبریدمان مکانیکی و امکان برقراری سطح انتقال جدید با وسایل نوین می‌تواند در کاهش شدت و گستردگی بیماری پریودنتیت مؤثر باشد و نیاز به درمان‌های پرهزینه، پیچیده و تخصصی بازسازی سیستم جوته را کاهش دهد. اکثر بیماران تمایل

شستشو داده شدند و مجموع برش‌ها در محلول بافری فسفات (FBS) قرار داده شدند تا آماده مرحله کشت سلولی شوند.



شکل ۵

رده سلولی gingival fibroblast موجود در بانک سلولی انستیتو پاستور ایران به عنوان نمونه‌ای از سلول‌های بافت همبندی لثه انسانی در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در اتمسفر مرطوب (۹۵ درصد هوا و ۵ درصد CO_2) انکوبه شدند که محیط کشت شامل: Dulbeccos Modified Eagle Medium (DMEM)*, 100 u/ml penicillin, 100 mg/ml streptomycin, 100 streptomycin, 2 mm I-Glutamine 10% FBS بود. این سلول‌ها پس از تکثیر سلولی در پاساژ ۳ از سلول‌های کشت‌شده توسط محلول استریل-Trypsin EDTA از محیط کشت جدا و در داخل محیط MCcoys5A حاوی streptomycin ۱ درصد و penicillin ۱ درصد و FBS ۱۰ درصد معلق شدند و جهت کشت سلولی قرار گرفتند. برش‌ها را در محیط‌های کشت سلولی قرار دادند و فیبروبلاست‌های لثه‌ای را در چگالی سلولی ۸۰,۰۰۰ بر روی برش‌های ریشه قرار دادند.



شکل ۶

تعیین تکثیر سلولی و نرخ بقا

برای این سنجش از تست (Method of transcriptional and translational) استفاده شد. تست MTT برای سنجش میزان یا نسبت تکثیر سلولی کاربرد دارد و براساس روش رنگ‌سنجی بر پایه احیا و شکسته شدن کریستال‌های آبی رنگ فورمازان انجام می‌شود که حساسیت این روش بالای ۹۸ درصد می‌باشد پس از اتمام انکوباسیون در روز سوم تست MTT به شرح زیر انجام شد:

ابتدا، محیط کشت رویی دور ریخته شد و هر کدام از well ها به‌طور کامل با PBS شستشو داده شدند. سپس ۱۰۰ لاندا محیط حاوی MTT* (۱۰ لاندا) (۱۰۰ mg MTT/ml (PBS) + ۵ Deme ۹۰ لاندا)



شکل ۲

نمونه‌ها با فورسپس بافتی نگاه‌داشته شده جرم‌گیری با استفاده از وسایل دستی کورت‌های سبک و توخالی شماره ۷ و ۸ شرکت Nordent ایالات متحده و جرم‌گیری با دستگاه اولتراسوند توسط Vector ساخت شرکت Bietigheim-Bissingen آلمان صورت گرفت. هر دوی این روش‌های درمان تا زمان رسیدن به سطحی صاف که در زیر دست درمانگر احساس شوند، ادامه یافت. تمامی این درمان‌ها روی تمامی نمونه‌ها توسط یک فرد صورت گرفت.



شکل ۳

برای گروه درمان‌شده با لیزر پس از حذف رسوب‌های بزرگ با وسایل دستی از تابش نور لیزر Er:YAG دستگاه Photona با مشخصات زیر استفاده می‌شود: طول موج: $2940 \mu m$ انرژی هر پالس: ۱۰۰ mJ، فرکانس: ۱۰ پالس در ثانیه، فیبر نوری با سطح مقطع $0.5 \times 1/65$ میلی متر، زاویه نوک فیبر با سطح ریشه: ۲۰-۱۵ درجه با شیوه غیر تماسی، ۱/۵ میلی‌متر دورتر از سطح ریشه و pulse duration 230 very short پرتوافکنی شد.



شکل ۴

آماده‌سازی نمونه‌ها

پس از مراحل فوق، تمامی بلوک‌ها دوبار با آب مقطر به مدت ۳۰ ثانیه

بین تعداد سلول‌های فیبروبلاست بر روی دیواره دندان‌ها بین ۴ گروه یافت نشد ولی هر ۴ گروه درمان شده تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مثبت داشتند ($P < 0/001$).

بحث

نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر مشخص می‌کند که از نظر میزان بقای سلول‌های فیبروبلاست لثه‌ای بین ۵ گروه تفاوت معنی‌داری دیده شد. هر چند اختلاف معنی‌داری بین تعداد سلول‌های فیبروبلاست بر روی دیواره دندان‌ها بین ۴ گروه یافت نشد ولی هر ۴ گروه مورد بررسی تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مثبت داشتند.

تحقیق نشان داد که گرچه روش‌های مختلف پاکسازی سطوح دندانی ممکن است در سایر جهات با هم تفاوت داشته باشند ولی در مورد نرخ بقا فیبروبلاست‌ها یکسان می‌باشند.

Bela و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثرات تابش لیزر Er: YAG به‌همراه فاکتور رشد انسانی (-human platelet-derived growth factor BB recom binant) را در سازگاری زیستی ریشه‌های مبتلا به بیماری‌های پریودنتال از طریق اتصال فیبروبلاست PDL ارزیابی کردند. در این مطالعه اثر لیزر Er:YAG به‌همراه فاکتور رشد در ۵ دندان سالم و ۱۵ دندان مبتلا به بیماری‌های پریودنتال در چهار گروه توسط میکروسکوپ الکترونی آزمون شد. در گروه تابش لیزر Er:YAG به‌تنهایی با انرژی $10 \frac{mj}{pulse}$ و 60 هرتز در ۳ جهت افقی ($87/4s$) و عمودی ($47/5s$) و مایل ($43/2s$) صورت گرفت و در گروه ترکیبی تابش لیزر با انرژی $10 \frac{mj}{pulse}$ و 60 هرتز به‌همراه کاربرد rhPDGF-BB به میزان $50 \frac{ng}{ml}$ به‌مدت

به هر well اضافه شد و به‌مدت ۴ ساعت در انکوباتور حاوی CO_2 در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مدت انکوباسیون MTT توسط سیستم سوکسینات دهیدروناز احیا شد. احیا و شکسته‌شدن این حلقه آنزیمی موجب تولید کریستال‌های آبی‌رنگ و غیرمحلول فورمازان در داخل سیتوپلاسم سلولی می‌شود. بعد از ۴ ساعت مایع روی هر well دوباره برداشته شده و با PBS استریل شستشو داده شدند و سپس ۱۰۰ لاندا ایزوپروپانول اسیدیک ۰/۴ درصد با هیدروکلریک اسید (HCL) به هر well اضافه شد. انکوباسیون در حرارت اتاق و دور از نور به‌مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. الکل باعث لیز سیتوپلاسم سلولی و باعث خروج فورمازان غیر محلول از سیتوپلاسم سلول می‌شود و اقدام به محلول نمودن رنگ تشکیل‌شده می‌نمایند که باعث رنگی شدن محیط می‌شود. در نهایت جذب نوری محلول به‌دست‌آمده را در طول موج ۵۷۰ نانومتر به‌عنوان طول موج ۴۹۲ reference نانومتر به‌عنوان طول موج measurement در دستگاه Elisa Reader به ثبت رساندیم.



شکل ۷

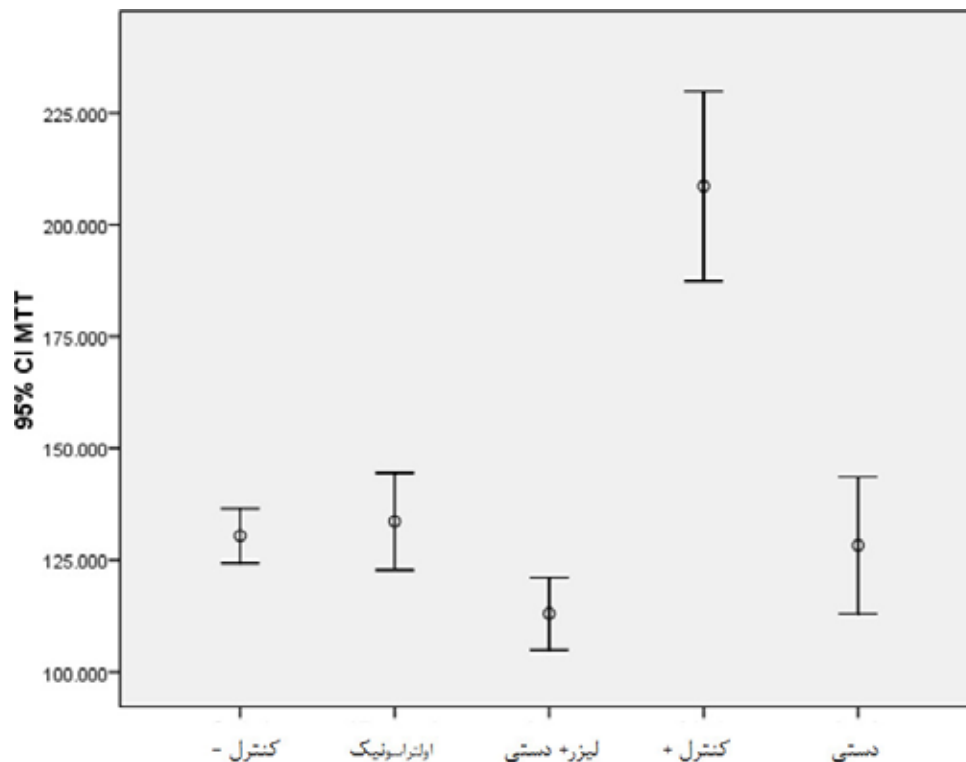
یافته‌ها

میانگین تعداد نمونه‌ها براساس آزمون MTT در گروه‌های درمانی در جدول ۱ آمده است. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که بین ۳ گروه درمانی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0/001$). اختلاف معنی‌داری

جدول ۱: تعداد سلول‌های فیبروبلاست متصل بر روی هریک از نمونه‌ها با روش MTT در گروه‌های مختلف با استفاده از آنالیز کوواریانس (ANCOVA) با در نظر گرفتن تعداد فیبروبلاست‌های سطح شاهد به‌عنوان Covariate استفاده می‌شود.

نام گروه درمانی	N	انحراف معیار $\pm$ میانگین نرخ بقای سلولی	حداقل تعداد سلول	حداکثر تعداد سلول
(۱) کنترل +	14	$208/65 \pm 36/77$	۱۶۰	۳۲۳
(۲) اولتراسونیک اولتراسونیک	14	$133/65 \pm 18/82$	۱۰۱	۱۶۷
(۳) دستی	14	$128/29 \pm 26/41$	۸۶	۱۶۷
(۴) لیزر Er-YAG + دستی	14	$113 \pm 14/1$	۸۸	۱۳۲
(۵) کنترل -	14	$130/43 \pm 10/57$	۱۰۳	۱۴۱
جمع	70	$142/8 \pm 40/77$	۸۶	۳۲۳

نمودار ۱: نمودار error bar میانگین و حدود اطمینان ۹۵ درصد میانگین میزان تعداد سلول‌های فیبروبلاست متصل بر روی هریک از نمونه‌ها



۵ دقیقه صورت گرفت. آن‌ها دریافتند که تابش لیزر Er:YAG به‌تنهایی یا در ترکیب با (rhPDGF-BB) ممکن است به‌عنوان یک درمان پریودنتال مناسب برای آماده‌سازی سطوح ریشه مطرح باشد، هر چند درمان‌های ترکیبی در این زمینه اثرهای نسبتاً بهتری داشتند. استفاده از تعداد نمونه‌های کافی در گروه‌ها اتخاذ معیارهای متعدد ورود به تحقیق برای یکسان‌سازی، استفاده از روش‌های کشت استاندارد همگی جزء مواردی بودند که مشابه تحقیق حاضر بود در هردو تحقیق از لیزرهای مشابه استفاده شد ولی از نظر ویژگی‌های لیزر و مدت‌زمان انکوباسیون متفاوت بودند. همچنین از آنجاکه در روند ترمیم حاصل از دبریدمان ریشه در روش‌های درمان غیرجراحی پریودنتال نقش اصلی با سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای است که منجر به اتصال جدید بافت همبند می‌شود، استفاده از فیبروبلاست‌های PDL که ماهیتاً با فیبروبلاست لته‌ای متفاوت است چندان منطقی نمی‌باشد. مطالعه Marugama و همکاران در سال ۲۰۰۸ می‌تواند با یافته‌های حاصل از پژوهش حاضر هماهنگ باشد و این نتایج را تأیید کند. آن‌ها اثرهای آماده‌سازی مکانیکی و شیمیایی روی سمنتوم ریشه ۱۰۴ دندان پرمولر و مولر را پس از تابش با لیزر Er:YAG بررسی کردند. ۱۶ پلیت سالم سمنتوم در گروه درمان‌نشده (کنترل) و ۸۸ پلیت سمنتوم در گروه‌های تابش (لیزر (Er:YAG) (L) تابش (لیزر + تتراسایکلین (L+Tp)، (لیزر + برینش با تتراسایکلین (L+TB)، تابش (لیزر با ژل EDTA (L+EP)، تابش (لیزر همراه بار برینش با ژل

EDTA (L+MP)، تابش (لیزر به همراه محلول سالین نرمال (L+MP)) قرار گرفتند. تابش لیزر با انرژی $30 \frac{mj}{pulse}$ و 30 Hz با زاویه تماسی 30° به مدت ۴۵ ثانیه انجام گرفت. سپس نمونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی ارزیابی‌شده و مشاهده‌های هیستولوژیکی و ارزیابی چسبندگی با استفاده از فیبروبلاست لیگامان پریودنتال صورت گرفت. تابش با لیزر منجر به ایجاد لایه باریکی به (ضخامت $5/7$ میکرون) به همراه یک ساختار میکرونی سطحی (Micro structure) روی سطح سمنتوم شده بود که این ساختار ناشی از تابش با لیزر به‌صورت شکننده و قابل برداشت از طریق درمان‌های شیمیایی و مکانیکی بود. آن‌ها دریافتند در ارزیابی چسبندگی سلولی گروه L+TB ($17/4 \pm 3/5$ سلول) تعداد سلول‌های چسبنده بیشتری در تمامی گروه‌ها نشان داده شد نمونه‌های تحت تابش لیزر به‌تنهایی کمترین مقادیر سلولی ($4/7 \pm 1/2$ سلول) را نشان داد که به تمایل خصوصیات ساختاری میکرونی سطوح سمنتوم بعد از تابش لیزر Er:YAG در جلوگیری از چسبندگی اولیه سلول‌های PDL نسبت داده می‌شود، با این حال، آماده‌سازی مکانیکی و شیمیایی ریشه از طریق برداشت ساختارهای ریز در سطوح و عریان شدن بیشتر فیبرهای کلاژن، منجر به بهبود و افزایش سازگاری زیستی سمنتوم ریشه تابش‌یافته با لیزر می‌گردد. در این تحقیق نیز لیزر Er:YAG فقط در یک انرژی خاص اعمال می‌شود و اثرهای انرژی‌های مختلف در نتایج معلوم نمی‌باشد. در تحقیق حاضر نیز پاک‌سازی سطح دندان دچار بیماری پریودنتال با لیزر

جدول ۲: بررسی اختلاف گروه‌ها با هم برحسب مقایسه تک‌تک گروه‌ها با گروه‌های دیگر و میزان معنی‌داری آن‌ها

نام گروه	نام گروه‌ها	میانگین اختلاف	انحراف معیار	میزان معنی‌داری	95% Confidence Interval	
					Upper bound	Lower Bound
کنترل -	اولتراسونیک لیزر کنترل +Er:YAG+ دستی	-۳,۲۱	۸,۸۰	۹۹۶.	۲۱,۴۹	-۲۷,۹
		۱۷,۴۲	۸,۸۰	۲۸۸.	۴۲,۱۳	-۷,۲
		-۷۸,۲۱	۸,۸۰	۰۰۰.	-۵۳,۵۰	-۱۰۲,۹۱
		۲,۱۴	۸,۸۰	۰۹۹۹	۲۶,۸۴	-۲۲,۵۶
اولتراسونیک	کنترل - لیزر کنترل +Er:YAG+ دستی	۳,۲۱	۸,۸۰	۹۹۶.	۲۷,۹۱	-۲۱,۴۹
		۲۰,۶۴	۸,۸۰	۱۴۴.	۴۵,۳۴	-۴,۰۶
		-۷۵,۰	۸,۸۰	۰۰۰.	-۵۰,۲۹	-۹۹,۷۰
		۵,۳۵	۸,۸۰	۰۹۷۳	۳۰,۰۶	-۱۹,۳۴
دستی +Er:YAG	کنترل - اولتراسونیک کنترل + دستی	-۱۷,۴۲	۸,۸۰	۲۸۸.	۷,۲۷	-۴۲/۱۳
		-۲۰,۶۴	۸,۸۰	۱۴۴.	۴,۰۶	-۴۵,۳۴
		-۹۵,۶۴	۸,۸۰	۰۰۰.	-۷۰,۹۳	-۱۲۰,۳۴
		-۱۵,۲۸	۸,۸۰	۰۴۲۰	۹,۴۱	-۳۹,۹۹
کنترل +	کنترل - اولتراسونیک لیزر دستی +Er:YAG+ دستی	۷۸,۲۱	۸,۸۰	۰۰۰.	۱۰۲,۹۱	۵۳,۵۰
		۷۵,۰	۸,۸۰	۰۰۰.	۹۹,۷۰	۵۰,۲۹
		۹۵,۶۴	۸,۸۰	۰۰۰.	۱۲۰,۳۴	۷۰,۹۳
		۸۰,۳۵	۸,۸۰	۰۰۰.	۱۰۵,۰۶	۵۵,۶۵
دستی	کنترل - اولتراسونیک لیزر کنترل +Er:YAG+ دستی	-۲,۱۴	۸,۸۰۴	۹۹۹.	۲۲,۵۶	-۲۶,۸۴
		-۵,۳۵	۸,۸۰۴	۹۷۳.	۱۹,۳۴	-۳۰,۰۶
		۱۵,۲۸	۸,۸۰۴	۴۲۰.	۳۹,۹۹	-۹,۴۱
		-۸۰,۳۵	۸,۸۰۴	۰۰۰.	-۵۵,۶۵	-۱۰۵,۰۶

سلول‌های چسبیده به آن به‌همراه دارد. استفاده از روش‌های استاندارد برای بررسی نتایج به‌همراه مقایسه یافته‌ها با گروه کنترل می‌تواند اعتبار مطالعه را افزایش دهد که از این نظر مشابه تحقیق حاضر می‌باشد ولی نمونه‌های مورد بررسی تفاوت داشتند به‌عنوان مثال در تحقیقی دیگر که در سال ۲۰۰۹ توسط همین محقق انجام شد، لیزر را در نمونه‌هایی مؤثر می‌دانند که عمق پاکت آن‌ها ۴-۱ میلی‌متر باشد و در اندازه‌های دیگر بین لیزر و سایر روش‌ها تفاوت معنی‌داری یافت نشد.

تفاوت در میزان بقای سلول و نوع روش آماده‌سازی سطح ریشه می‌تواند در نتایج بالینی و متغیرهایی همچون PD و CAL در روش‌های غیرجراحی و حتی جراحی کارساز باشد. Mizutani و همکاران در سال ۲۰۰۶ نتایج ترمیم بافت‌های پریودنتال بعد از جراحی فلپ به‌دنبال تابش لیزر Er:YAG و روش معمول را

نتوانست مزیت خاصی را از نظر چسبندگی فیبروبلاست‌ها نسبت به سایر روش‌های درمانی ایجاد نماید.

Schwarz و همکاران در سال ۲۰۰۳ در تحقیقی تعداد سلول‌های فیبروبلاست PDL روی سطح ریشه دندان‌های درگیر با پریودنتیت شدید در ۴ گروه بررسی کردند. ۴۰ دندان تک‌ریشه در ۴ گروه تحت تابش لیزر Er:YAG با انرژی $(160 \frac{mj}{pulse})$ و (10 Hz) ، تحت درمان با دستگاه اولتراسوند vector، جرم‌گیری با وسایل دستی و بدون درمان قرار گرفتند. براساس نتایج تحقیق، مقادیر سلول‌های فیبروبلاست در گروه‌های فوق به‌ترتیب برابر 111 ± 27 و 75 ± 25 و 41 ± 17 و 25 ± 1 عدد در هر میلی‌متر مربع برآورد گردید. در این تحقیق مشخص گردید درمان سطح ریشه با لیزر اربیوم و دستگاه vector نسبت به جرم‌گیری با وسایل دستی و یا بدون درمان، افزایش چشمگیرتری را در تعداد

مقایسه کردند. برای این منظور، بیماری پریودنتیت در نواحی پرمولر به صورت دوطرفه در ۶ سگ ایجاد و با استفاده از روش جراحی فلپ پریودنتال درمان شدند. فرآیند *degranulation* و دبریدمان ریشه در ناحیه فورکشین دندان با تابش لیزر Er:YAG یا کورت انجام شد سپس بررسی‌های هیستولوژیکی و هیستومتریک انجام شد. نتایج مطالعه نشان داد *degranulation* و دبریدمان ریشه به صورت مؤثری بعد از تابش لیزر Er:YAG انجام شد و علاوه بر عدم مشاهده هرگونه آسیب گرمایی، سرعت آن نیز درمقایسه با روش کورت بیشتر برآورد گردید. همچنین از نظر هیستولوژیکی میزان استخوان تازه تشکیل شده به صورت معنی‌داری در گروه لیزر درمقایسه با روش کورت بیشتر بود، با این حال، هر دو گروه مقادیر یکسانی از تشکیل سمنتوم و چسبندگی بافت همبند را نشان دادند. در این مطالعه نتیجه‌گیری شد تابش لیزر Er:YAG در جراحی فلپ پریودنتال از اثربخشی و ایمنی لازم برخوردار است و قابلیت استفاده در درمان‌های با اهداف تشکیل استخوان جدید را دارد. این تحقیق بر روی حیوانات انجام شد و نواحی بررسی دندان‌ها (فورکشین دندان) با تحقیق ما تفاوت داشتند و می‌دانیم که در بررسی دندان‌ها هر کدام از سایت‌های دندان‌دانی دارای اهمیت ویژه‌ای است. در این تحقیق نیز به بررسی کوتاه مدت تابش لیزر پرداخته شده و اثرهای بلندمدت آن ارزیابی نشده است. نکته مهم آن است که اثر آماده‌سازی سطح ریشه و یا حتی حفرات استخوانی با لیزر نه تنها بر روی فیبروبلاست و چسبندگی و ترمیم بافت نرم که حتی در سلول‌های سازنده بافت سخت نیز تأثیر دارد.

Romanos و همکاران در سال ۲۰۰۶ چسبندگی استئوبلاست‌ها را بعد از تابش لیزر با استفاده از روش اسکن میکروسکوپ الکترونی بررسی نمودند. برای این منظور ۴ نوع دیسک تیتانیومی مختلف با ابعاد ۱/۵ سانتی‌متر و قطر ۲ میلی‌متر تهیه گردید و با استفاده از هیدروکسی‌آپاتیت پوشش داده شد. دیسک براساس الگوی سطحی خود و نوع لیزر تابش یافته به ۳ گروه تحت تابش لیزر CO_2 (انرژی ۱۱/۶۰۰ نانومتر)، تحت تابش لیزر Er,Cr:YSGG (انرژی ۲/۷۸۰ نانومتر) و نمونه‌های گروه سه به عنوان گروه شاهد هیچ تابشی دریافت نکردند. دستگاه لیزر CO_2 با قطر نوک ۱/۵ نانومتر، خروجی انرژی ۶-۴ وات و فرکانس ۲۰ هرتز و لیزر Er,Cr:YSGG با انرژی ۱/۲۵ وات و نسبت هوا و آب برابر ۴۲ به ۴۱ به کار رفت. از یک رده سلولی با فنوتیپ استئوبلاستیک (استئوسارکوما انسانی (Saos-۲)) نیز برای آزمایش‌های چسبندگی سلولی استفاده شد. نتایج تحقیق نشان داد نمونه‌های کنترل بدون تابش لیزر دارای غلظت سلولی پایین بوده و مورفولوژی سلولی در سطوح این دیسک‌ها غالباً پهن بوده است. با این حال، سطوح دیسک‌های تابش یافته با لیزر CO_2 یا Er,Cr:YSGG در مقایسه با گروه کنترل تراکم سلولی بیشتری داشتند که این موضوع می‌تواند نتیجه اثرهای تمیزکنندگی لیزر در لایه‌های سطحی دیسک‌ها باشد.

در تحقیق Sema و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثرات تابش لیزر (Er,

Gr: YSGG) و وسایل دستی بر چسبندگی فیبروبلاست‌های لیگامان پریودنتال PDL به سطح ریشه دندان را بررسی کردند در این مطالعه ۲۴ دندان تک‌ریشه مبتلا به پریودنتیت و شش دندان مولر سالم که به دلایل ارتودنسی کشیده شدند (گروه کنترل) مورد بررسی قرار گرفت. مجموع ۴۵ برش در ۵ گروه قرار داده شد: ۱- گروه سالم درمان نشده (کنترل +) ۲- گروه درمان نشده مبتلا به پریودنتیت (کنترل -) ۳- گروه جرم‌گیری دستی (Scaled Gracey) ۴- تابش لیزر (۱۵۰ mj) (۱.۵w) و ۱۰ Hz و ۶۵ درصد هوا و ۵۵ درصد آب به کار رفت با پالس کوتاه ۱۴۰ ms ۵- تابش لیزر Er, Cr YSGG (۱۰ Hz و ۵.۱w) با پالس بلند ۴۰۰ ms. برش‌ها در محیط کشت سلولی قرار داده شد و چسبندگی فیبروبلاست‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی در روز سوم مشاهده شد و میزان برمید تترازولیوم نیز براساس تست MTT روز پنجم برای تعیین میزان نرخ بقای سلولی فیبروبلاست‌ها انجام شد. آن‌ها دریافتند براساس تست MTT گروه درمان شده با لیزر غلظت سلولی قابل توجهی را نشان داد. اما در گروه دستی (Gracey) غلظت سلولی پایینی در مقایسه با گروه کنترل دیده شد. ($P < 0/05$) همچنین گروه درمانی لیزر با پالس کوتاه چسبندگی سلولی فیبروبلاست PDL بیشتری نسبت به گروه دستی و لیزر II و حتی گروه سالم داشت. در این تحقیق نیز برای بررسی نرخ بقای سلولی از تست MTT استفاده شد که مشابه تحقیق حاضر می‌باشد ولی تفاوت در نوع لیزر را می‌توان عامل اختلاف در نتایج دانست. همچنین برش‌های دندان قبل از کشت سلولی اتوکلاو شدند که این می‌تواند باعث تغییرات سطحی دندان شود و نتایج را تغییر دهد بر همین اساس در تحقیق حاضر از روش شستشوی نمونه‌ها با آب مقطر و نگهداری در FBS استفاده شد.

Stubinger و همکاران در سال ۲۰۱۰ به منظور بررسی تأثیرهای کلینیکی مختلف پارامترهای لیزر Er: YAG و Carbon dioxide (CO_2) و diode بر سطوح تیتانیومی که پالیش یا سند بلاست و یا اسید اچ شده بودند مطالعه‌ای انجام دادند. در این تحقیق هر دیسک در ۶ منطقه دایره‌ای با قطر ۵ میلی‌متر توسط یک لیزر مشابه مدت ۱۰s مورد تابش قرار گرفت.

آن‌ها دریافتند که این استفاده از لیزر Er; YAG تنها زمانی Safe است که تابش آن بر سطح ایمپلنت بالاتر از ۳۰۰ mj یا ۵۰۰ mj نباشد که این تحقیق در رابطه با توان کاربردی لیزر Er; YAG قابل استناد می‌باشد. در این تحقیق توان بالای لیزر Er:YAG به همراه زمان ۱۰s استفاده شده حال آنکه در تحقیق حاضر توان ۱۰۰ mj با زمان ۴۰s صورت گرفت. می‌توان اینگونه بیان کرد که علاوه بر توان، مدت زمان تابش لیزر نیز می‌تواند در نتایج درمان مؤثر باشد.

References:

1. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 11th ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 2011.
2. Drisko CL. Scaling and root planning without overinstrumentation: hand versus power-driven scalers. *Curr Opin Periodontol* 1993; 3: 78-88.
3. Ashimoto A, Chen C, Bakker J, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbial Immunol* 1996; 11(4): 266-73.
4. Amid R, Movahedi M. Clinical application of laser in Dental. Shayan Nemoodar publication. 1385.
5. Frentzen M, Koort HJ. Lasers in dentistry: new possibilities with advancing laser technology. *Int Dent J* 1990; 40(6): 323-32.
6. Maruyama H, Aoki A, Sasaki KM, Takasaki AA, Iwasaki K, Ichinose SH, Oda SH, Ishikawa I, Izumi Y. The effect of chemical and/or mechanical conditioning on the Er:YAG laser-treated root cementum: analysis of surface morphology and periodontal ligament fibroblast attachment. *Laser Surg Med* 2008; 40(3): 211-22.
7. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. clinical periodontology 2002; 41: 567-78.
8. Usumez A, Aykent F. Bond strength of porcelain veneers to tooth surface prepared with acid and Er,Cr:YSGG laser etching. *J Prosthet Dent* 2003; 90(1): 24-30.
9. Kelsey WP. Application of the Argon laser to dentistry. *J Clin Laser Med Sur* 1991; 11(6): 450-95.
10. Pick RM, Pecaro BC, Silberman CJ. The laser gingivectomy. The use of the CO2 laser for the removal of phenytoin hyperplasia. *J Periodontol* 1985; 56(8): 492-6.
11. Frentzen M. Excimer laser in dentistry. *Quintessence International* 1992; 23(2): 117-20.
12. Belal MH, Watanabe H, Ichinose S, Ishikawa I. Effect of Er:YAG laser combined with rhPDGF-BB on attachment of cultured fibroblasts to periodontally involved root surfaces. *J Periodontol* 2007; 78: 1329-41.
13. Mizutani K, Aoki A, Takasaki AA, Kinshita A, Hayashi C, Oda SH, Ishikawa I. Periodontal tissue healing following flap surgery using an Er:YAG laser in dogs. *Lasers Surg Med* 2006; 38(4): 314-24.
14. Romanos G, Crespi R, Barone A, Covani U. Osteoblast attachment on titanium disks after laser irradiation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006; 21(3): 232-6.
15. Schwarz F, Aoki A, Sculean A, George T, Scherbaum W, Becker J. In vivo effects of an Er:YAG laser, an ultrasonic system and scaling and root planning on the biocompatibility of periodontally diseased and surfaces in cultures of human PDL fibroblasts. *Lasers Surg Med* 2003; 33(2): 140-7.
16. Sema S, Hakki, petek Korkusuz, Gizem Berk, Niyazi Dunder, Mehmet Saglam, Buket Bozkurt, and Nuhan Purali. Comparison of Er,Cr: YGG Laser and Hand Instrumentation on the Attachment of Periodontal Ligament Fibroblasts to Periodontally Diseased Root Surfaces: An In Vitro Study. *Jop* 2010; 81: 1216-25.