

اثر ترکیبی پلاسمای غنی شده از پلاکت (PRP) و بیو-اس (Bio-oss) بر بازسازی استخوان سگ در آسیب فورکای درجه دو؛ بررسی بافت‌شناسی و هیستومورفومتریک

محمد شاه ابویی^{*}، اسماعیل دباغ^{**}، مهدی ادیب‌راد^{***}، شهرام وزیری^{**}، بهنام اسلامی^{****}، سانعلی کریمی افشار^{*****}

^{*} استادیار گروه پرودنتیکس، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان
^{**} پرودنتیست

^{***} پرودنتیست، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان

^{****} استادیار گروه پاتولوژی دهان، فک و صورت، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی

^{*****} استادیار گروه پرودنتیکس، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

چکیده

بیان مساله: رژئراسیون پرودنتیسم در آسیب‌های فورکای یکی از چالش‌زاترین جنبه‌های درمان‌های پرودنتال به شمار می‌رود. در میان درمان‌های موجود GTR (Guided Tissue Regeneration) بهترین نتایج را از لحاظ بافت‌شناختی و بهبود معیارهای بالینی به دنبال داشته است. شواهدی وجود دارد که کاربرد پلاسمای غنی شده از پلاکت (PRP) می‌تواند نتایج درمان‌های رژئراتیو پرودنتال را بهبود بخشد. **هدف:** هدف از این پژوهش، بررسی استفاده از ترکیب پلاسمای غنی شده از پلاکت به همراه بیو-اس (Bio-oss) بر بازسازی استخوان در آسیب‌های فورکای درجه دو سگ می‌باشد.

مواد و روش: در این بررسی تجربی، 48 آسیب استخوانی با عمق و پهنای 5 میلی‌متر در ناحیه‌ی فورکای دندان‌های پره مولر چهار سگ ایجاد شدند. آسیب‌ها به صورت اتفاقی به سه گروه بخش شدند. آسیب‌ها در گروه آزمون با ترکیب PRP + Bio-oss و در گروه شاهد با بیو-اس به تنهایی پر شده و در گروه شاهد منفی ماده‌ی پیوندی (گرفت) در آسیب‌ها قرار داده نشد. یک غشای کلاژنه قابل جذب بر روی آسیب‌ها قرار داده و فلپ‌ها بخیه شد. پس از سه ماه حیوان‌ها قربانی شدند و از آسیب‌های نمونه‌های بیوپسی برای بررسی بافت‌شناسی و هیستومورفومتریک فراهم شد. در هر نمونه میزان پر شدن آسیب توسط استخوان تازه، ذرات ماده‌ی پیوندی و بافت همبند به گونه‌ی درصد ارزیابی گردید. یافته‌های پژوهش با استفاده از نرم افزار SPSS (ورژن 13.0) و با آزمون تی دانشجویی (Student's t test) واکاوی شدند.

یافته‌ها: میزان پر شدن آسیب توسط استخوان در گروه آزمون 61 درصد، در گروه شاهد 58 درصد و در گروه شاهد منفی 39 درصد بود. گرچه تفاوت معنادار آماری میان گروه آزمون و شاهد دیده نشد اما این تفاوت میان هر دو گروه آزمون و شاهد با گروه شاهد منفی معنادار بود ($p < 0/05$). در نمونه‌های گروه آزمون، تشکیل استخوان لاملار بیشتر و میزان سلول‌های التهابی مزمن پایین‌تر بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به محدودیت‌های این پژوهش آشکار شد، که استفاده از ترکیب PRP و بیو-اس در درمان آسیب‌های درجه دو فورکای باعث افزایش معنادار در میزان استخوان تازه تشکیل شده نسبت به کاربرد بیو-اس به تنهایی نمی‌شود. به نظر می‌رسد، که وجود PRP موجب بهبود کیفیت استخوان تازه و کاهش میزان التهاب بافتی می‌گردد.

واژگان کلیدی: پلاسمای غنی شده از پلاکت، رژئراسیون استخوان، آسیب فورکای، عوامل رشدی، بیو-اس

درآمد

نواحی فورکا غالباً دسترسی مناسبی برای دبریدمان کافی ندارند. به علاوه بیشتر دهانه‌ی ورودی آنها برای ورود اینسترومنت‌های پرپودنتال خیلی کوچک است و از سوی دیگر وجود ریح‌ها، تحذب‌ها و تعقیرها در این بخش پاکسازی کامل را بسیار دشوار می‌سازد⁽¹⁾. رژنراسیون پرپودنشیوم در آسیب‌های بخش فورکا یکی از چالش‌زاترین جنبه‌های درمان‌های پرپودنتال به شمار می‌رود⁽²⁾. با وجود محدودیت‌های آناتومیکی، گزارش‌های موجود در این زمینه نشان داده‌اند، که کاهش عمق پروبینگ و حصول چسبندگی بالینی در موارد درگیری فورکیشن درجه دو به ویژه در فک پایین با بهره‌گیری از فلپ‌ها با جابه‌جایی کرونالی⁽³⁾، پیوند بافت سخت⁽⁴⁾ و سرانجام کاربرد بازسازی هدایت شده‌ی بافت (GTR)^(5 و 6) شدنی است. همچنین، در این رابطه بررسی‌های اخیر استفاده از امدوگین (مشتقات ماتریکس مینایی) همراه یا بدون پیوند را پیشنهاد کرده‌اند^(7 و 8). در این میان چه در بررسی‌های حیوانی و چه انسانی، GTR بهترین نتایج را از لحاظ بافت‌شناختی و بهبود معیارهای بالینی در درمان آسیب‌های درجه دو فورکیشن فک‌ها به دنبال داشته است⁽⁹⁾.

از زمان معرفی پلاسمای غنی شده از پلاکت (PRP) توسط وایتمن (Whitman) و همکاران، استفاده از آن به عنوان یک مکمل برای پیوندها در جراحی‌های پرپودنتال به شدت مورد توجه قرار گرفته است⁽¹⁰⁾. دلیل استفاده از PRP بر مبنای این تصور استوار است، که دگرانوله شدن پلاکت‌ها می‌تواند با افزایش غلظت عوامل رشدی در ناحیه، فرایند بهبودی زخم را سرعت بخشد⁽¹¹⁾. از مهم‌ترین عوامل رشدی می‌توان به عامل رشدی برگرفته از پلاکت (PDGF)، عامل رشدی ترانسفورمینگ بتا ($TGF-\beta$) و عامل رشدی شبه انسولینی (IGF-1) اشاره کرد، که دارای توانایی تنظیم و القای پرولیفراسیون، کموتاکسی و تمایز سلولی هستند⁽⁵⁾. PDGF دارای اثرات میتوژنیک بوده و تقسیم سلولی را آغاز می‌کند. نشان داده شده، که ترکیب PDGF نو ترکیب به همراه اثرات رضایت‌بخشی را بر روی رژنراسیون پرپودنشیوم داشته و باعث افزایش سطح اتصالات بالینی (CAL) و پر شدن نسبی آسیب‌های استخوانی در انسان می‌گردد⁽¹²⁾. $TGF-\beta$ بهبود زخم را در شرایط التهابی آسان می‌کند⁽¹³⁾. عوامل رشدی پلی‌پپتیدی همچون PDGF و $TGF-\beta$ در گرانول‌های آلفای پلاکت‌ها به اندازه‌ی زیاد یافت می‌شوند⁽⁵⁾. اثبات شده که کاربرد PRP در

زخم‌های در حال بهبودی باعث افزایش غلظت پلاکت‌ها و از نظر نظریه‌ی افزایش میزان PDGF و $TGF-\beta$ تا بیشتر از 33/8 درصد می‌شود⁽¹⁴⁾.

مارکس (Marx) و همکاران نشان دادند، که کاربرد PRP موجب بلوغ و تکامل سریعتر پیوندهای استخوانی اتوژن می‌شود⁽¹⁴⁾. بر پایه‌ی بررسی بالینی آنها ترکیب PRP و پیوند استخوانی اتوژن نسبت به کاربرد پیوند به تنهایی، می‌تواند در نمای پرتونگاری تسریع تکامل و افزایش دانسیته استخوان را موجب شود. لکوویچ (Lekovic) و همکاران نشان دادند، که طی درمان آسیب‌های کلاس دو فورکای مندیبل کاربرد استخوان معدنی گاوی (BPM) به عنوان ماده‌ی پیوندی در ترکیب با PRP باعث بهبود نمایه‌های بالینی می‌شود⁽⁵⁾. با این وجود، یافته‌های برخی دیگر از بررسی‌ها بیان‌کننده‌ی آن است، که برتری کاربرد PRP در جراحی‌های رژنراتیو چندان چشمگیر نیست⁽¹⁵⁻¹⁸⁾.

با توجه به ناهمخوانی‌ها و اختلافات موجود در زمینه‌ی کاربرد PRP به عنوان یک مکمل در جراحی‌های رژنراتیو پرپودنتال از یک سو و همچنین کمبود بررسی‌های بافت‌شناختی و هیستومتریکی در این زمینه از سوی دیگر، بررسی کنونی طراحی شد تا کارایی PRP در ترکیب با بیو-اس (به عنوان یکی از رایج‌ترین مواد پیوندی) در درمان آسیب‌های فورکای درجه دو سگ‌ها از لحاظ بافت‌شناختی و هیستومورفومتریکی مورد ارزیابی گردد.

مواد و روش

این بررسی تجربی (Experimental)، بر روی چهار سگ نر سالم از لحاظ سیستمیک در مرکز تحقیقات دکتر ترابی نژاد در دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. دندان‌های پره مولر این حیوانات باید سالم بوده و شکستگی نداشته باشند. میانگین وزن حیوانات مورد آزمایش، بیست کیلوگرم و حجم خون هر حیوان تقریباً دو لیتر بود. سگ‌ها در قفس‌های ویژه و در دمای 20 تا 24 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. در طول بررسی، غذای پروتئینه‌ی نسبتاً نرمی برای آنها در نظر گرفته شد.

برای آماده‌سازی PRP، خون مورد نیاز بی‌درنگ پیش از جراحی و در حالت هوشیاری کامل از حیوان فراهم شد. حجم خون مورد نیاز برای هر حیوان 150 سی‌سی بود، که به همراه

بتادین انجام شد. آمادگی کافی برای به حداقل رسانیدن درد و ناراحتی حیوانات به کار برده شد. روش بیهوش کردن به این شکل بود، که در آغاز رامپان (2 درصد) به میزان 1/5 میلی‌گرم/کیلوگرم به عنوان بیهوش کننده و سپس 5 میلی لیتر کتامین با سرعت 10 میلی‌گرم/میلی‌لیتر و به گونه‌ی درون ماهیچه‌ای (IM) تزریق گردید. ترکیب این داروها بیشتر از یک ساعت بیهوشی فراهم می‌کنند. در صورت بازگشت رفلکس‌های حیوان دوباره دو میلی‌لیتر کتامین تزریق می‌شد.

از تزریق انفیلتراسیون کارپول لیدوکائین 2 درصد و اپی نفرین 1/80000 برای بی حسی موضعی و مهار خونریزی در نواحی جراحی استفاده شد. پس از آن با تیغ شماره‌ی 15 یک برش سالکولار از مزایال دندان پره مولر نخست تا دیستال پره مولر سوم داده شده و فلپ به وسیله‌ی الواتور پریوست به گونه‌ی موکوپریوستال از استخوان جدا گردید. در ادامه، با کمک سیستم چرخشی با دور کم و با استفاده از فرز روند و فیشور، و شست و شو با نرمال سالین در ناحیه‌ی فورکیشن دندان‌های پره مولر دوم تا چهارم آسیبی به عمق 5 میلی‌متر و ارتفاع آپیکو کرونالی 5 میلی‌متر از جای پیوند سمان و مینا (CEJ) ایجاد گردید (نگاره‌ی 1). سگ‌های مورد استفاده در بررسی همگی سگ‌هایی جوان و به نسبت تنومند بودند، به گونه‌ای که پهنای باکولینگوالی در همه‌ی دندان‌های مورد بررسی به اندازه‌ای بود، که امکان ایجاد درگیری فورکای کلاس 2 وجود داشت.



نگاره‌ی 1 قرار دادن ترکیب PRP و بیو-اس در آسیب‌های فورکای کلاس دو در دندان‌های پره مولر فک پایین سگ

روی هم رفته، در هر سگ 12 دیفکت در بخش فورکای دندان‌های پره مولر فک‌ها ایجاد گردید و در مجموع 48 دیفکت بررسی شد. در هر کودران، هر یک از سه دندان پره مولر به گونه‌ی تصادفی در یکی از گروه‌های آزمون، شاهد یا شاهد منفی

30 سی سی سیترات فسفات دکستروز در کیسه نگهداری شد. سیترات فسفات دکستروز یک آنتی‌کواگولان است، که به کلسیم باند می‌شود. پس از تهیه‌ی حجم خون مورد نیاز از هر حیوان کیسه‌ی خون در درجه‌ی حرارت 4 درجه‌ی سانتی‌گراد به بانک خون منتقل شد. سپس، خون در درجه‌ی حرارت 22 درجه‌ی سانتی‌گراد در دستگاه سانتریفوژ ژوئن (Jouan KR4ZZ) ساخت کشور فرانسه قرار داده شده و با سرعت 3150 دور در دقیقه به مدت 15 دقیقه زیر چرخش قرار گرفت. همچنان که خون سانتریفوژ می‌گردد اجزای اصلی در سه غلظت طبقه‌بندی می‌شوند، که از کمترین غلظت به بیشترین غلظت و از بالا به پایین شامل: پلاسمای با پلاکت کم (Platelet poor plasma)، پلاسمای با پلاکت غنی (Platelet rich plasma) و سرانجام لایه با غلظت بیشتر که عمدتاً حاوی سلول‌های گلبول قرمز خون (RBC) است. پس از آن که کیسه‌ی خون از سانتریفوژ بیرون آورده و گلبول‌های قرمز ته نشین شد، بخش بالایی کیسه‌ی خون که شامل پلاسماست، توسط دستگاه جدا کننده‌ی پلاسمای وارد کیسه‌های جانبی گردید. در این هنگام کیسه‌ی اصلی با گلبول قرمز از کیسه‌های جانبی جدا شده، کیسه‌های جانبی دوباره با سرعت 3620 دور در دقیقه به مدت 7 دقیقه سانتریفوژ گردید.

پس از آن، به وسیله‌ی دستگاه جدا کننده پلاسمای بخش بالایی وارد کیسه‌ی جانبی دوم شده و بقیه که دارای PRP بودند در کیسه باقی ماند. سپس، محتویات کیسه‌ی خون از طریق مجرای بیرونی وارد لوله‌ی آزمایش پلاستیکی درب دار شده و در دستگاه سانتریفوژ به مدت 10 دقیقه با سرعت 2400 دور در دقیقه قرار گرفت. در این هنگام پلاسمای بالایی بیرون آورده و پلاکت ته نشین شده باقی ماند. با استفاده از سرنگ 10 میلی لیتری، 6 میلی لیتر PRP و یک میلی لیتر ترومبین و یک میلی لیتر هوا مخلوط شده و حرکت داده شد تا حباب ایجاد گردد. سرانجام محتویات سرنگ به درون ظرف بیو-اس (Bio-oss, Geistlich Biomaterials, Wolhusen, Switzerland) تخلیه گردید. ترکیب کنونی در حرارت 37 درجه‌ی سانتی‌گراد در بن ماری نگهداری شد تا دیفکت‌ها آماده شوند.

مراحل جراحی

همه‌ی جراحی‌ها توسط یک پرودنتیست انجام گرفت. پیش از انجام جراحی، گندزدایی درون دهانی با استفاده از کلرهگزیدین 0/12 درصد و گندزدایی بیرون دهانی با بهره‌گیری از محلول

انتهای هر نمونه دست کم 15 برش 5 میکرونی به فاصله‌های حدود 200 تا 300 میکرون فراهم گردید. پس از آن نمونه‌ها توسط رنگ‌های همتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی شدند. ارزیابی‌های بافت‌شناسی و هیستومورفومتریک نمونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus, Melville, NY) و همچنین نرم افزار واکاوی تصویر (Leica Imaging Systems Ltd, QWIN Cambridge, UK) انجام گردید. همه‌ی این ارزیابی‌ها توسط یک پژوهشگر ورزیده و در بزرگنمایی 20، 100 و 150 برابر بر پایه‌ی معیارهایی که در بررسی‌های پیشین یاد شده بود⁽¹⁹⁾ انجام پذیرفت. در هر نمونه میزان پر شدن آسیب استخوانی توسط استخوان تازه، ذرات پیوندی و بافت همبند به گونه‌ی درصدی ارزیابی شد. افزون بر این، در هر نمونه، گونه استخوان تشکیل شده و میزان التهاب موجود مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای واکاوی آماری از مجموعه‌ی نرم افزار آماری SPSS/PC+ (Version 13.0; SPSS Inc, Chicago, IL) استفاده شد. برای هر معیار میانگین هر گروه و انحراف معیار آن ارزیابی گردید. معنادار بودن تفاوت میان گروه‌ها با استفاده از آزمون تی دانشجویی تعیین شد. سطح معنادار بودن نیز کمتر از $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

همه‌ی حیوانات به خوبی جراحی را تحمل کردند و در همه‌ی دوره‌ی بررسی سالم بودند. افزون بر این، ترمیم زخم در هر سه گروه آزمون و شاهد و شاهد منفی بی‌مشکل انجام گردید و در هیچ یک از حیوانات عفونت حاد پس از جراحی دیده نشد.

ارزیابی بافت‌شناسی کیفی

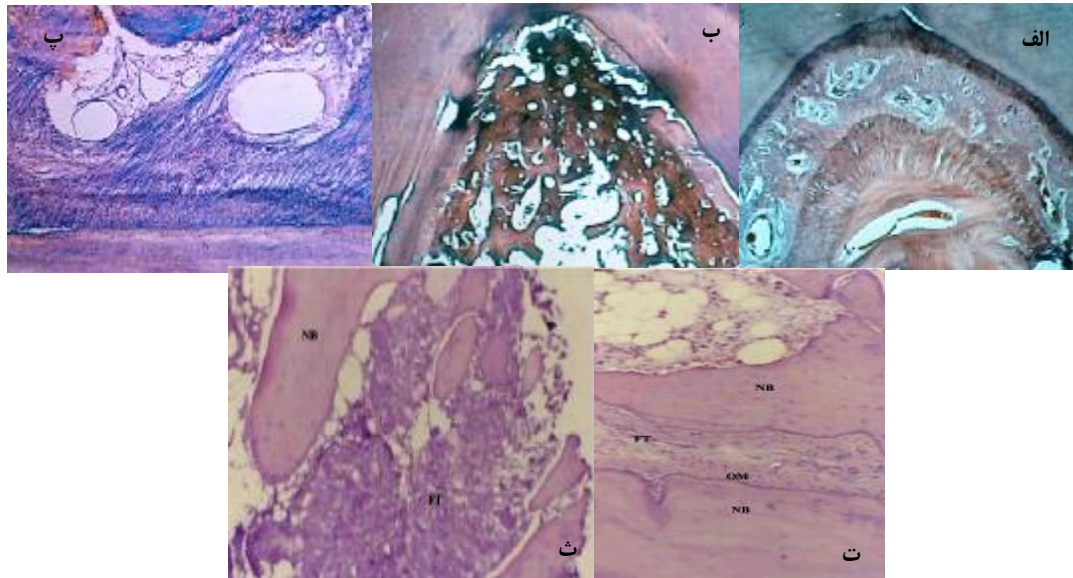
بررسی سکشن‌های دکلسیفیه زیر میکروسکوپ نوری، در مقطع سه ماهه بیان‌کننده‌ی شکل‌گیری استخوان در هر سه گروه بود، که در گروه آزمون و شاهد بخش بزرگ آسیب استخوانی را در بر گرفته بود. استخوان تشکیل شده بیشتر در پیرامون ذرات ماده‌ی پیوندی و همچنین در لبه‌های آسیب استخوانی آشکار بود. افزون بر این، نواحی شکل‌گیری استئوید به ویژه در بخش‌های محیطی آسیب‌گویای فعالیت بالای استخوان‌سازی به ویژه در گروه آزمون بود. در نمونه‌های گروه آزمون، بافت همبندی کمتری در آسیب‌ها نسبت به گروه شاهد و شاهد منفی

قرار گرفتند. به این شیوه که در آسیب‌های استخوانی گروه آزمون بیو-اس و PRP و در گروه شاهد تنها بیو-اس قرار داده شده و سرانجام در 16 آسیب ناحیه‌ی شاهد منفی هیچ ماده‌ای قرار داده نشد. یک ممبران کلاژنه (Bio-Guide, Geistlich Biomaterials, Wolhusen, Switzerland) به گونه‌ای که به صورت کامل بتواند آسیب‌های استخوانی را بپوشاند تریم و بر روی آن‌ها قرار داده شد. میزان گسترش ممبران، 2 تا 3 میلی‌متر فراتر از لبه‌های دیفکت ایجاد شده بود. سپس فلپ‌ها برگردانده و توسط نخ بخیه‌ی سیلک صفر 4 (Supra 4-0, Iran) بخیه شدند. روش بخیه زدن ترکیبی از مجزا و کراس ماترس بود. در پایان عمل جراحی یک آمپول پنی‌سلین (3.6) درون ماهیچه‌ای تزریق گردید و تزریق آنتی بیوتیک ماهیانه تکرار شد. در طول مدت نگهداری، حیوانات از لحاظ سلامت و فعالیت‌های بدنی توسط دامپزشک زیر نظر بودند.

بررسی بافت‌شناسی و هیستومتریک

از آنجا که بخش عمده‌ی تشکیل استخوان طی سه ماه نخست پس از ایجاد دیفکت ایجاد می‌شود و در ادامه طی ماه‌های سه تا شش بر دانسیته و نظم تراکول‌های استخوانی افزوده می‌گردد و با توجه به بررسی‌های انجام گرفته در این زمینه^(32,31,16) مدت زمان بررسی سه ماه در نظر گرفته شد. در انتهای سه ماه سگ‌ها با تزریق دوز بالای درون سیاهرگی پنتوباریتول سدیم (به میزان 65 میلی‌گرم/کیلوگرم) قربانی شدند. دندان‌های مورد بررسی به همراه لثه و استخوان پیرامون آنها به گونه‌ی تک بلوک (Enblock) بیرون آورده شد. نمونه‌ها به مدت یک هفته در فرمالین 10 درصد قرار داده شد و سپس، در درون اسید فرمیک 10 درصد فرآیند دکلسیفیکاسیون به مدت تقریبی دو تا سه هفته انجام گرفت. در مرحله‌ی بعدی نمونه‌ها در آب جاری به مدت یک ساعت شسته شده و سپس با درصدهای صعودی الکل آبگیری گردید. پس از شفاف شدن نمونه‌ها در متیل سالیسیلات، بلوک‌های پارافینی فراهم شد.

شیوه‌ی قرارگیری نمونه‌ها در کپسول، کاملاً به گونه‌ی عمودی بود. برش مزبودیستالی در نمونه‌ها به شیوه‌ای که بخش فورکیشن کاملاً در برش قابل دیدن باشد زیر برش‌های مزبودیستالی قرار گرفتند. این برش‌ها بی‌درنگ از سطح ریشه آغاز شده و تا عمق 5 میلی‌متری ادامه یافت، به گونه‌ای که از آغاز تا



نگاره‌ی 2 الف نمای بافت‌شناختی از بخش فورکا در گروه آزمون با بزرگنمایی 20 برابر و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین. از بیرون به سمت مرکز به ترتیب عاج دندان، سمتموم، بافت لیگامان پریودنتال و استخوان قابل دیدن است. **ب** نمای بافت‌شناختی از بخش فورکا در گروه شاهد با بزرگنمایی 20 برابر و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین. بخش‌های رنگ نشده و سفید در مرکز تصویر نشان‌دهنده‌ی ذرات بیو-اس است. **پ** نمای بافت‌شناختی از بخش فورکا در گروه آزمون با بزرگنمایی 100 برابر با نور پلاریزه و فیلتر لامبدا. به ترتیب از پایین به بالا عاج دندان، سمتموم، لیگامان پریودنتال و در نهایت استخوان تازه قابل دیدن است. **ت** نمای بافت‌شناختی از بخش فورکا در گروه آزمون با بزرگنمایی 150 برابر و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین. شکل‌گیری استخوان تازه (NB)، بافت فیبروزه (FT)، یک ماتریکس استئوئید (OM) که همگی بیان‌کننده‌ی تشکیل استخوان بیشتر و با کیفیت بالاتر می‌باشد. **ث** نمای بافت‌شناسی از بخش فورکا در گروه شاهد منفی با بزرگنمایی 150 برابر و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین. بخش عمده‌ی آسیب با بافت نرم فیبروزه (FT) پر شده است. همچنین تشکیل استخوان تازه (NB) به میزان اندک قابل دیدن است.

در گروه آزمون و به دنبال آن گروه شاهد منفی گزارش گردید.

ارزیابی هیستومتریک و آماری

میزان پر شدن آسیب توسط استخوان در گروه آزمون ($61 \pm 5/95$ درصد) بیشتر از گروه شاهد ($58 \pm 4/27$ درصد) و به مراتب بالاتر از گروه شاهد منفی ($38/9 \pm 2/34$ درصد) بود. تفاوت بین گروه آزمون و شاهد از نظر آماری معنادار نبود ($p=0/42$) اما تفاوت میان گروه آزمون با شاهد منفی ($p=0/001$) و گروه شاهد با شاهد منفی معنادار بودند ($p=0/001$) (جدول 1).

جدول 1 متوسط میزان پر شدن آسیب‌ها توسط استخوان، ذرات پیوند و بافت نرم پس از سه ماه دوره‌ی بهبودی

گروه	استخوان (درصد)	ذرات گرفت (درصد)	بافت نرم (درصد)
گروه آزمون	$61 \pm 5/95$	$30 \pm 0/93$	$8 \pm 2/11$
گروه شاهد	$58 \pm 4/27$	$32 \pm 2/32$	$9 \pm 1/34$
گروه شاهد منفی	$38/9 \pm 2/34$		$58 \pm 2/60$

دیده شد در حالی که در گروه شاهد منفی بخش عمده‌ی آسیب با بافت همبندی پر شده بود (نگاره‌های 2 الف، ب، پ، ت، ث).

از لحاظ مورفولوژی استخوان، در گروه آزمون، آسیب عمدتاً با استخوان لاملار و اندکی استخوان وون (Woven) پر شده بود. در استخوان لاملار، فضاهای مغز استخوان اندکی قابل دیدن و بافت‌های کلاژن عمدتاً به گونه‌ی منظم و موازی قرار گرفته بود. در نمونه‌های گروه شاهد و شاهد منفی بیشتر استخوان تشکیل شده از گونه‌ی وون بود که در آن بافت‌های کلاژن بی‌نظم خاصی در ماتریکس استخوانی قرار داشتند. در همه‌ی مقاطع شمار فراوانی سلول استئوبلاست و عروق خونی قابل دیدن بود. در برخی بخش‌ها سلول‌های استئوبلاست در حال رسوب استخوان بر روی ذرات گرفت قابل دیدن بودند.

از نظر میزان سلول‌های التهابی و گونه‌ی این سلول‌ها در هیچ یک از گروه‌ها التهاب حاد دیده نشد. با این وجود در هر سه گروه میزان اندکی سلول‌های التهابی مزمن با اکثریت لنفوسیت و ماکروفاژ دیده شد و از این لحاظ کمترین میزان سلول‌های التهابی

همکاران، در بررسی خود بر روی اثر کاربرد PRP به تنهایی در درمان آسیب‌های کلاس دو فورکای مندیبل انسان نتیجه گرفتند، که با وجود بهبودی معنادار نتایج، ناتوانی PRP در بستن کامل آسیب‌های فورکا بیان‌کننده‌ی نقش محدود این ماده به عنوان یک عامل رژنراتیو در درمان آسیب‌های فورکیشن انسان است⁽²⁷⁾. با توجه به نظرات گوناگون موجود در این زمینه می‌توان نتیجه گرفت، که هنوز امکان اظهار نظر قطعی در مورد اثرات بالینی و زیستی کاربرد PRP به تنهایی وجود ندارد.

انتظار می‌رود، که ترکیب PRP و یک ماده‌ی پیوندی بتواند نتایج متفاوتی را از لحاظ بازسازی بافت پرپودنشیموم در مقایسه با کاربرد PRP به تنهایی داشته باشد. یافته‌های پژوهش کنونی نشان داد، که قرار دادن ترکیب PRP+ Bio-oss در آسیب‌های فورکا موجب آسانی تشکیل استخوان می‌گردد. به شیوه‌ای که در مقطع سه ماهه میزان پر شدن آسیب استخوانی برابر 61 درصد گزارش گردید. هر چند که میزان پر شدن استخوان در آسیب‌های گروه شاهد (بیو-اس به تنهایی) کمتر بود با این وجود تفاوت یاد شده از لحاظ آماری معنادار نبود. در گروه شاهد منفی، که هیچ گونه ماده‌ای در آسیب‌های بخش فورکا قرار داده نشده بود میزان تشکیل استخوان به گونه‌ی چشمگیر پایین‌تر از دو گروه دیگر بود. این تفاوت در تشکیل استخوان می‌تواند تا حدودی به عوامل رشدی موجود در PRP و همچنین وجود بیو-اس به عنوان یک ماده‌ی پیوندی استئوکاندکتیو نسبت داده شود. از آنجا که تفاوت معناداری میان میزان استخوان تازه و ذرات پیوند برجامانده میان دو گروه آزمون و شاهد دیده نشد می‌توان انگاشت، که نقش اصلی در بازسازی استخوان بر دوش ماده‌ی پیوندی استئوکاندکتیو است که با ایجاد یک داربست در ناحیه روند مهاجرت و اتصال سلول‌ها را آسان می‌نماید.

گویانیل (Goianobile) و همکاران، در بررسی خود میزان تشکیل استخوان در آسیب‌های استخوانی سگ را به دنبال کاربرد PRP و مواد پیوندی استئوکاندکتیو برابر 65 درصد گزارش کردند⁽²⁸⁾، که تقریباً همانند یافته‌های کنونی بود. میزان پر شدن آسیب‌های فورکا با استخوان تازه در بررسی یونگ (Yong) و همکاران، بیشتر از بررسی کنونی و برابر 80 درصد بود⁽²⁹⁾. این تفاوت احتمالاً به دلیل مدت زمان طولانی‌تر تهیه‌ی مقاطع (پنج ماه) و همچنین کاربرد تری کلسیم فسفات (TCP) به عنوان ماده‌ی پیوندی است. در بررسی دیگری شلگ (Schlege) و

میزان ذرات پیوند برجامانده در گروه شاهد بیشتر از گروه آزمون بود، با این وجود این تفاوت از لحاظ آماری معنادار نبود ($p=0/11$). همچنین، میزان بافت همبندی موجود در نمونه‌های گروه شاهد منفی به گونه‌ی معناداری بیشتر از دیگر گروه‌ها بود ($p=0/0001$) در حالی که میان دو گروه شاهد و آزمون تفاوت معناداری از این نظر دیده نشد ($p=0/14$).

بحث

بررسی کنونی با هدف تعیین اثر کاربرد PRP به همراه یک ماده‌ی استئوکاندکتیو (Bio-oss) در ترمیم آسیب‌های فورکا انجام شد. در این بررسی از سگ به عنوان الگوی حیوانی استفاده گردید زیرا از نظر شمارش پلاکتی، معیارهای تشکیل لخته، ساختار استخوان و فرآیند ترمیم و رژنراسیون بافتی به انسان نزدیک است.

بررسی‌های پیشین نشان داده‌اند، که PRP موجب آسان شدن پرولیفراسیون سلول‌های لیگامان پرپودنتال و استئوبلاست‌ها شده و جلوی تکثیر سلول‌های اپیتلیالی را می‌گیرد⁽²⁰⁾. افزون بر این تصور می‌شود، که PRP به دلیل دارا بودن فیبرینوز می‌تواند با ترومبین وارد واکنش شده و تشکیل لخته‌ی فیبرینی را القا کند، که این مساله به نوبه‌ی خود باعث آسان شدن سنتز کلاژن در ماتریکس بیرون سلولی و در نتیجه ایجاد داربستی برای مهاجرت و اتصال سلول‌ها می‌گردد⁽²¹⁾. بخش فیبرینی موجود در ژل PRP نه تنها به عنوان یک عامل هموستاتیک به ثبات مواد پیوندی و لخته‌ی خون کمک می‌کند بلکه با چسبیدن به سطح ریشه، مانع مهاجرت اپیکالی سلول‌های اپیتلیالی و بافت همبند می‌گردد⁽²²⁾. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت، که PRP به فرایند GTR کمک می‌کند به این شیوه که به عنوان یک سد محافظ، سطح ریشه و لیگامان پرپودنتال و استخوان را پوشانده و آنها را از اپیتلیوم لته‌ای جدا می‌کند.

تا به امروز بررسی‌های گوناگون در زمینه‌ی اثرات PRP به تنهایی بر روی ترمیم استخوان انجام گرفته است. نتایج به دست آمده از شماری بررسی‌ها چندان رضایت‌بخش نبود^(16, 17, 23). در مقابل، بررسی‌های دیگری توسط آنیتوا (Anitua)⁽²⁴⁾، سامارتینو (Sammartino) و همکاران⁽²⁵⁾ و سیمون (Simon) و همکاران⁽²⁶⁾ بیان‌کننده‌ی بهبودی بهتر استخوان در حفره‌های ناشی از کشیدن دندان به دنبال کاربرد PRP بود. به تازگی پارادیپ (Pradeep) و

تسریع روند رژنراسیون بافتی گردد⁽³³⁾. از این دیدگاه PRP با مهار پاسخ التهاب موضعی بهبودی بافت را آسان می‌نماید. باید در نظر داشت که کارایی عوامل رشدی در افزایش رژنراسیون استخوان بستگی به دوز، شیوه‌ی انتشار و آزاد شدن موقت آنها دارد. دسترسی زیستی (Bioavailability) عوامل رشدی می‌تواند متاثر از کاربرد بیومتریال‌های ترکیب شده با PRP و همچنین گونه‌ی فعال کننده‌ی به کار رفته برای آغاز تشکیل لخته‌ی PRP قرار گیرد⁽³⁴⁾. از آنجا که در بررسی کنونی، PRP در ترکیب با ماده‌ی استوکاندکتیو بیو-اس در آسیب‌ها قرار داده شد، بنابراین میزان عوامل رشدی آزاد شده از PRP می‌تواند تاثیر پذیر از این ماده‌ی پیوندی باشد. بنابراین، در صورت کاربرد یک ماده‌ی پیوندی متفاوت می‌توان انتظار نتایج متفاوتی را از لحاظ میزان و کیفیت تشکیل استخوان داشت. بر همین پایه پیشنهاد می‌شود، که در بررسی‌های آینده اثرات PRP در ترکیب با مواد پیوندی گوناگون بر روی رژنراسیون اجزای پرپودنشیوم با هم مقایسه گردد. افزون بر این، از آنجا که بازسازی استخوان تنها بخشی از درمان GTR به شمار می‌رود بهتر است در پژوهش‌های بعدی اثر PRP بر روی بازسازی و رژنراسیون PDL و همچنین سمتموم ارزیابی گردد.

نتیجه‌گیری

با توجه به محدودیت‌های این پژوهش آشکار شد، که استفاده از ترکیب پلاسمای غنی شده از پلاکت (PRP) و بیو-اس (Bio-oss) در درمان آسیب‌های فورکای درجه دو باعث افزایش معنادار در میزان استخوان تازه تشکیل شده نسبت به کاربرد بیو-اس به تنهایی نمی‌شود. به نظر می‌رسد، که وجود PRP موجب بهبود کیفیت استخوان تازه و کاهش میزان التهاب بافتی می‌گردد.

قابل توجه

این پژوهش نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره 83010 و با همکاری سازمان انتقال خون ایران انجام شده است.

همکاران نشان دادند، که PRP در ترکیب با مواد پیوندی اتوژن حتی در دوره‌ی زمانی کوتاه (2 تا 4 هفته) می‌تواند رژنراسیون استخوان را سرعت بخشد⁽³⁰⁾. شاید این یافته متفاوت به دلیل تفاوت در حیوانات مورد بررسی و همچنین بررسی زودتر نمونه‌ها (دو هفته در مقایسه با سه ماه در بررسی کنونی) باشد. در همین رابطه پژوهشی تازه توسط پلاچوکوا (Plachokova) و همکاران، بر روی اثرات زود هنگام PRP به همراه مواد پیوندی آلژینیک بر روی ترمیم آسیب‌های استخوانی در موش‌ها هیچ اثر معنادار را بر روی تسریع تشکیل استخوان نشان نداد⁽³¹⁾.

بررسی کنونی نشان داد، که کاربرد ترکیب PRP و بیو-اس افزون بر افزایش کمی تشکیل استخوان، موجب بهبود کیفیت استخوان تشکیل شده و افزایش میزان استخوان لاملار می‌گردد. این نتایج با بررسی‌های پیشین هماهنگی دارد. به تازگی پیری (Pieri) و همکاران، در بررسی خود بر روی خوک‌ها نشان دادند، که کاربرد مخلوط PRP و هیدروکسی آپاتیت به عنوان ماده‌ی پیوندی در آسیب‌های استخوانی می‌تواند باعث افزایش نسبت استخوان لاملار به استخوان وون گردد⁽³²⁾. آنها همچنین بیان داشتند، که ترکیب PRP و سلول‌های پایه‌ای (Stem cells) مزانشیمی می‌تواند باعث بهبود رژنراسیون استخوانی در مقایسه با کاربرد PRP به تنهایی یا ترکیب PRP و مواد گرفته‌ی آلژینیک شود⁽³²⁾.

یافته‌های بافت‌شناسی این پژوهش نشان داد، که به کارگیری PRP می‌تواند باعث کاهش میزان التهاب در طی روند بازسازی پرپودنشیوم در آسیب‌های فورکا شود. نکته‌ی جالب این بود، که در گروه شاهد (بیو-اس به تنهایی) میزان التهاب دیده شده اندکی بیشتر از دو گروه دیگر بود، که احتمالاً ناشی از وجود ماده‌ی پیوندی آلژینیک در بافت به عنوان یک جسم بیرونی است. PRP با وجود این که غلظت عوامل رشدی گوناگون را در ناحیه بالا می‌برد موجب تحریک کموتاکسی منوسیت‌ها هم می‌شود⁽³³⁾. آشکار شده، که لیپوکسین A4 از غلظت بالای PRP برخوردار است، که این مساله احتمالاً باعث می‌شود که PRP آزادسازی سیتوکاین‌ها و به دنبال آن میزان التهاب را کاهش داده و موجب

References

1. DeSanctis M, Murphy KG. The role of resective periodontal surgery in the treatment of furcation defects. *Periodontol* 2000; 22: 154-168.
2. Newell DH. The diagnosis and treatment of molar furcation invasions. *Dent Clin North Am* 1998; 42: 301-337.
3. Fuentes P, Garrett S, Nilvéus R, Egelberg J. Treatment of periodontal furcation defects. Coronally positioned flap with or without citric acid root conditioning in class II defects. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 425-430.
4. Brunsvold MA, Mellonig JT. Bone grafts and periodontal regeneration. *Periodontol* 2000; 1: 80-91.
5. Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Aleksic Z, Kenney EB. Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II molar furcations in humans. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 746-751.
6. De Leonardi D, Garg AK, Pedrazzoli V, Pecora GE. Clinical evaluation of the treatment of class II furcation involvements with bioabsorbable barriers alone or associated with demineralized freeze-dried bone allografts. *J Periodontol* 1999; 70: 8-12.
7. Chitsazi MT, Mostofi Zadeh Farahani R, Pourabbas M, Bahaeddin N. Efficacy of open flap debridement with and without enamel matrix derivatives in the treatment of mandibular degree II furcation involvement. *Clin Oral Investig* 2007; 11: 385-389.
8. Aimetti M, Romano F, Pigella E, Piemontese M. Clinical evaluation of the effectiveness of enamel matrix proteins and autologous bone graft in the treatment of mandibular Class II furcation defects: a series of 11 patients. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2007; 27: 441-447.
9. Caffesse RG, Dominguez LE, Nasjleti CE, Castelli WA, Morrison EC, Smith BA. Furcation defects in dogs treated by guided tissue regeneration (GTR). *J Periodontol* 1990; 61: 45-50.
10. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1997; 55: 1294-1299.
11. Messori MR, Nagata MJ, Dornelles RC, Bomfim SR, Furlaneto FA, de Melo LG, et al. Bone healing in critical-size defects treated with platelet-rich plasma activated by two different methods. A histologic and histometric study in rat calvaria. *J Periodontal Res* 2008; 43: 723-729.
12. Howell TH, Fiorellini JP, Paquette DW, Offenbacher S, Giannobile WV, Lynch SE. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J Periodontol* 1997; 68: 1186-1193.
13. Fréchette JP, Martineau I, Gagnon G. Platelet-rich plasmas: growth factor content and roles in wound healing. *J Dent Res* 2005; 84: 434-439.
14. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85: 638-646.
15. Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60: 1176-1181.
16. Jakse N, Tangl S, Gilli R, Berghold A, Lorenzoni M, Eskici A, Haas R, Pertl C. Influence of PRP on autogenous sinus grafts. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res* 2003; 14: 578-583.

17. Choi BH, Im CJ, Huh JY, Suh JJ, Lee SH. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in autogenous bone graft. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; 33: 56-59.
18. Raghoobar GM, Schortinghuis J, Liem RS, Ruben JL, van der Wal JE, Vissink A. Does platelet-rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor? *Clin Oral Implants Res* 2005; 16: 349-356.
19. Melo LG, Nagata MJ, Bosco AF, Ribeiro LL, Leite CM. Bone healing in surgically created defects treated with either bioactive glass particles, a calcium sulfate barrier, or a combination of both materials. A histological and histometric study in rat tibias. *Clin Oral Implants Res* 2005; 16: 683-691.
20. Okuda K, Kawase T, Momose M, Murata M, Saito Y, Suzuki H, et al. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. *J Periodontol* 2003; 74: 849-857.
21. Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Madzarevic M, Kenney EB. A reentry study on the use of bovine porous bone mineral, GTR, and platelet-rich plasma in the regenerative treatment of intrabony defects in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2005; 25: 49-59.
22. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62: 489-496.
23. Gerard D, Carlson ER, Gotcher JE, Jacobs M. Effects of platelet-rich plasma on the healing of autologous bone grafted mandibular defects in dogs. *J Oral Maxillofac Surg* 2006; 64: 443-451.
24. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999; 14: 529-235.
25. Sammartino G, Tia M, Marenzi G, di Lauro AE, D'Agostino E, Claudio PP. Use of autologous platelet-rich plasma (PRP) in periodontal defect treatment after extraction of impacted mandibular third molars. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63: 766-770.
26. Simon D, Manuel S, Geetha V, Naik BR. Potential for osseous regeneration of platelet-rich plasma--a comparative study in mandibular third molar sockets. *Indian J Dent Res* 2004; 15: 133-136.
27. Pradeep AR, Pai S, Garg G, Devi P, Shetty SK. A randomized clinical trial of autologous platelet-rich plasma in the treatment of mandibular degree II furcation defects. *J Clin Periodontol* 2009; 36: 581-588.
28. Giannobile WV, Finkelman RD, Lynch SE. Comparison of canine and non-human primate animal models for periodontal regenerative therapy: results following a single administration of PDGF/IGF-I. *J Periodontol* 1994; 65: 1158-1168.
29. Lee YM, Park YJ, Lee SJ, Ku Y, Han SB, Klokkevold PR, Chung CP. The bone regenerative effect of platelet-derived growth factor-BB delivered with a chitosan/tricalcium phosphate sponge carrier. *J Periodontol* 2000; 71: 418-424.
30. Schlegel KA, Donath K, Rupprecht S, Falk S, Zimmermann R, Felszeghy E, et al. De novo bone formation using bovine collagen and platelet-rich plasma. *Biomaterials* 2004; 25: 5387-5393.
31. Plachokova AS, van den Dolder J, van den Beucken JJ, Jansen JA. Bone regenerative properties of rat, goat and human platelet-rich plasma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2009; 38: 861-869.

32. Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Fini M, Aldini NN, Giardino R, et al. Effect of mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on the healing of standardized bone defects in the alveolar ridge: a comparative histomorphometric study in minipigs. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67: 265-272.
33. El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, et al. Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *J Periodontol* 2007; 78: 661-669.
34. Tsay RC, Vo J, Burke A, Eisig SB, Lu HH, Landesberg R. Differential growth factor retention by platelet-rich plasma composites. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63: 521-528.