

أثر تطبيق الليزر الطري في الغشاء المخاطي الفموي الطبيعي عند الأحياء (الهامستر السوري)

رويدة صايمة*

نبيل قوشجي**

الملخص

خلفية البحث وهدفه: دلت البحوث على حيوانات التجربة وفي المختبر أن الليزر الطري وبجرعات تطبيقية مختلفة يحرض حركة الخلايا والأنسجة وشفاء الجروح.

دراسة التغيرات النسيجية الطارئة على البشرة الفموية غير المتقرنة بعد تطبيق الليزر الطري بجرعات متعدد وطاقت مختلفة والتغيرات الحاصلة في التقرن، واحتمالية تطور آفات ورمية نتيجة لاستخدام الليزر الطري.

مواد البحث وطرائقه: استخدمنا في هذا البحث الليزر الطري diobeam (Laser-Light Canada) المستخدم في طب الأسنان وطبقناه بجرعات مختلفة على الهامستر السوري مدة أسبوعين وأخذت الخزعات النسيجية بعد 1 و2 و3 و4 و6 و12 أسبوعاً، ودرست بالملون التقليدي (الهيما توكسلين والايوزين) في قسم الأنسجة والتشريح المرضي في كلية طب الأسنان بجامعة دمشق.

النتائج: أدّى تطبيق الحزمة الليزرية على مخاطية الجيب الخدي عند الهامستر إلى حدوث تقرن طفيف ظهر منذ الأسبوع الثاني عشر للمراقبة عند العرض مدة 3 ثوانٍ للحزمة الليزرية، ومنذ الأسبوع السادس عند التعرض لحزمة ليزرية مدة 1.5 ثانية.

الاستنتاج: أظهرت دراستنا بدء ظهور التقرن عند حيوانات التجربة بعد 6 أسابيع من تطبيق الليزر الطري؛ مما يستدعي التوسع بدراسات على المستوى الكيميائي النسيجي لمعرفة التغيرات البنيوية داخل الخلوية إن وجدت. الكلمات المفتاحية: الليزر الطري، الهامستر، المخاطية الفموية، دراسة نسيجية.

* أستاذ مساعد - قسم اللثة والنسج حول السنينة - كلية طب الأسنان - جامعة دمشق.

** مدرس - قسم النسج والتشريح المرضي - كلية طب الأسنان - جامعة دمشق.

Effect of Soft Laser on the Oral Mucosa in Vivo (Syrian Hamstar)

Rwayda Sayma*

Nabil Koshaji**

Abstract

Background & Objective: several articles on animal model and laboratory investigations Indicate that soft laser induce cellular and tissue motivation and heals wounds.

Ami of the study: to investigate histological modification in oral squamous non-keratinized epithelium upon applying soft laser in several doses and studding the alteration in keratinization and the possibility to have neoplastic transformation.

Material and Methods: we used low laser device (Diobeam Laser-Light Canada) , on the Syrian hamsters, for two weeks, histological samples were harvested on week 1,2,3,4,6,and 12, they were stained by H&E and examined in oral histology and pathology department in dental school , Damascus university.

Results: applying Soft Laser on Hamsters mucosa induced slight keratinization starting from the third month with the laser group of 1.5 seconds, and earlier starting from the sixth week in the group of 3 seconds.

Conclusion: our study showed the appearance of keratinization strating from week 6 which recommends to expand the histological study into immunohistochemistry investigations to reveal the exact impact on the ultra-cellular structure if existed.

Key words:Soft Laser, Syrian Hamster, Oral Mucosa, Histological Study.

* Ass. prof. Faculty of Dental Surgery, Damascus University.

** Ass. prof. Faculty of Dental Surgery, Damascus University.

مقدمة:

البعيد، كما أنه لا يعرف هل من جملة تأثيرات الليزر تحريض أية عوامل مناعية أو تغيير في نوعية تفرغ البشرة الفموية.

هدف البحث: إن الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التغيرات النسيجية الطارئة على البشرة الفموية غير المتقرنة عند الأحياء (الهامستر السوري)، بعد تطبيق الليزر الطري بجرعات متعدد وطاقت مختلفة ودراسة التغييرات في التقرن الحاصلة واحتمالية تطور آفات ورمية نتيجة لاستخدام الليزر الطري؛ وذلك باستخدام جهاز ليزر مخفض الطاقة كندي الصنع ماركة diobeam، ذي طول الموجه 830 NM والوسيط الليزري gaalas

طاقته القصوى 150 mw

المواد والطرائق:

عينة البحث: استخدم 72 هامستراً سورياً ذكراً من سلالة البيضاء ذات العيون الحمراء في هذه التجربة، قسمت إلى مجموعات كالاتي:

المجموعة الشاهدة: وهي المجموعة التي ستحضر فقط دون تطبيق أي حزمة ليزر عليها وبلغت 18 هامستراً

مجموعة الدراسة: وهي المجموعة التي طبقت عليها الحزم الليزرية باستخدام جهاز الليزر diobeam (Laser-Light Canada) على عدة جرعات (وفق ما هو مبين أدناه)، بمعدل ثلاث مرات أسبوعياً، وفي كل مرة عرض الجيب الخدي للهامستر في الطرفين يوماً لحزمة ضوئية من أشعة الليزر ومدة زمنية معينة كما هو موضح أدناه، و قسمت مجموعة الدراسة إلى مجموعات متساوية (18 في كل مجموعة) على النحو الآتي:

مجموعة تطبيق الليزر مدة 1.5 ثانية/كل يوم/مدة أسبوعين ما يعادل 3.2J

مجموعة تطبيق الليزر مدة 2 ثانية/كل يوم/مدة أسبوعين ما يعادل 4J

مجموعة تطبيق الليزر مدة 3 ثانية/كل يوم/مدة أسبوعين ما يعادل 5J

أجري العمل في قسم الأنسجة والتشريح المرضي للفم والفكين بكلية طب الأسنان في جامعة دمشق حيث طبق الليزر الطري على هامستر، وفق ما هو مذكور أعلاه.

استحصال العينة النسيجية:

تمت التضحية باستخدام الكلوروفوم حتى حدوث الوفاة بمعدل ثلاثة حيوانات لكل مجموعة في كل من الأسبوع

إن استعمال الليزر في المعالجات السنية في ازدياد مطرد منذ أكثر من ثلاثين عاماً، وقد استخدمت أنواع كثيرة من الليزر - مثل ليزر ثنائي أكسيد الكربون، و الإندي ياغ والإيربييوم ياغ - في المعالجات ما حول السنية سواءً على الأنسجة اللثوية أو على العظم أو حتى في تطهير سطح الجذر والجراحات اللثوية المختلفة¹. ومع شيوع استخدام الليزر عالية الطاقة (الليزر القاسية) في الجراحات بقيت الليزر المنخفضة الطاقة (الليزر الطرية Soft Lasers) أقل شهرة رغم ما تحمله من إمكانيات.

تعمل هذه الليزر بأطوال موجية ضمن طيف الأشعة الحمراء أو قرب طيف تحت الحمراء (400-900 نانومتر)². ويعتمد مبدأ عمل الليزر الطري على التحريض الحيوي أو التعديل الحيوي^{3,4}، الذي يقوم على فكرة أن هناك أطوالاً موجية معينة يمكن أن تعدل السلوك الخلوي^{5,6} وقد لاحظ Silveria ومساعدوه أن هذا الأثر يكون بالتأثير في تفاعلات الأكسجة في مقدرات الخلية⁷ في حين وجد Alexandratu ومساعدوه⁸ أثراً لهذه الليزر في أفنية الكالسيوم في جدار الخلية، وهذه الأفعال بدورها تقود إلى تنشيط التكاثر وتحسين الاستقلاب الخلوي⁹.

وقد دلت البحوث على حيوانات التجربة وفي المختبر أن الليزر الطري وبجرعات تطبيقية مختلفة يحرض حركة الخلايا المولدة للليف والخلايا بشروية^{10,11,12} واصطناع الكولاجين¹³ واستحداث الأوعية وتحرير عوامل النمو¹⁴، مما يسرع في شفاء الجروح.

وقد تحدث Tuby عن زيادة تعبيرية مستقبلات عوامل النمو على سطح الخلايا المصورة للليف وزيادة عوامل النمو الخاصة بها أيضاً بعد استخدام الليزر الطري¹⁴، كما أكد Donos ومساعدوه أثره في تحسين إعادة التروية وزيادة معدل تشكل الأوعية¹⁵؛ وتحدث Demir ومساعدوه¹⁶ باقتضاب عن تحسين الليزر الطري لتجدد الظهارة عند الأرانب.

لم تذكر البحوث طبيعة تحسين الليزر لتكاثر الخلايا البشرية، وهل هذا التحسين يحمل أي خطورة على مورثات الخلية أو أنه يقدر آلية تكاثرية ورمية قد تؤدي إلى نمو ورمي سليم أو خبيث في المستقبل القريب أو

الأول والثاني والثالث والرابع والسادس والثاني عشر. ثم تم استئصال كامل الحبيبين الخديين الأيمن والأيسر للحيوانات المدروسة جميعها تباعاً، وذلك لدراسة التغيرات والتطورات التدريجية الحاصلة في الجيب الخدي للهامستر.

وضعت هذه الجيوب الخدية المستأصلة مباشرة في الفورمول ذي التركيز 10% مدة 24 ساعة لتثبيتها من أجل الدراسة النسيجية، وذلك بعد وضعها على سطح اسطوانات بلاستيكية لها تقريبا حجم الجيب الخدي نفسه للهامستر؛ وذلك من أجل المحافظة على شكل الجيوب الخدية للحيوانات المدروسة بعد تثبيتها.

النتائج:

أظهرت الدراسة النسيجية لبشرة الجيب الخدي عند الهامستر وجود بشرة فموية غير متقرنة من بضع طبقات (3-5 طبقات) في الحالة الطبيعية تبطن نسيجا ضاماً (الصورة المجهرية 1).

وضعت هذه الجيوب الخدية المستأصلة مباشرة في الفورمول ذي التركيز 10% مدة 24 ساعة لتثبيتها من أجل الدراسة النسيجية، وذلك بعد وضعها على سطح اسطوانات بلاستيكية لها تقريبا حجم الجيب الخدي نفسه للهامستر؛ وذلك من أجل المحافظة على شكل الجيوب الخدية للحيوانات المدروسة بعد تثبيتها.

الدراسة النسيجية:

درست المشعرات التالية نسيجياً: وجود / غياب التقرن على سطح البشرة و وجود / غياب علائم الكشم الخلوي (Neoplastic activity) وانتظام الخلايا القاعدية ووجود / غياب علائم التهاب في النسيج الضام ووجود / غياب ارتكاس وعائي في النسيج الضام.

عوملت العينات السريرية أو المخبرية المستأصلة بهدف إجراء الدراسة النسيجية وفق المراحل الآتية:

لم تظهر العينات النسيجية المدروسة المأخوذة من المجموعات كلها بالجرعات ومدد التعريض الزمنية المختلفة وجود تغيرات نسيجية واضحة فيما بينها عندما تمت مقارنة المدد المختلفة لتطبيق الليزر بالعينات الشاهدة، ولا عندما تمت مقارنة المدد الزمنية المختلفة للمراقبة. وكان الاختلاف الوحيد هو عند دراسة وجود / غياب التقرن على سطح البشرة (الصورة النسيجية 2 و 3) وكانت النتائج كما في الجدول 1:

مرحلة التثبيت: بعد استئصال العينة جراحياً توضع مباشرة في الفورمول الممدد 10% مدة 24 ساعة، وذلك بهدف تثبيت العينة ومنع التحلل الذاتي للأنسجة بالإنزيمات ثم مرحلة الإدماج: نقوم بإدماج البارافين إلى العينة حتى تصبح هذه العينة صلبة قابلة للقطع، ثم يثبت قالب البارافيني على الحامل المعدني التابع للمبشرة النسيجية Microtome الذي يعطي شرائح رقيقة ذات سماكة واحدة، بحركة آلية وحددت سماكة القطع عند 5 ميكرون. بعد فرش المقاطع النسيجية على الشرائح الزجاجية لونت المحضرات بالهيماتوكسيلين والايوزين Hematoxyline

الجدول 1 يبين نتائج الدراسة النسيجية خلال فترات المراقبة

العينة الشاهدة	أسبوع واحد	أسبوعان	ثلاثة أسابيع	أربعة أسابيع	سنة أسابيع	اثنا عشر شهراً
مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية
مجموعة 1.5 ثانية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	زيادة تقرن طفيفة
مجموعة 2 ثانية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	زيادة تقرن طفيفة
مجموعة 3 ثانية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	مخاطية طبيعية	زيادة تقرن طفيفة

المناقشة:

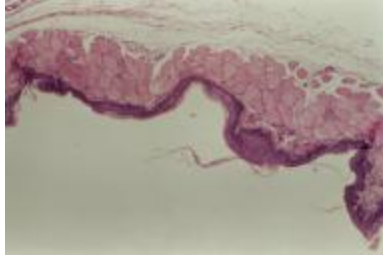
يتطور إلى سرطان بشروي شائك الخلايا غاز للأنسجة المجاورة²⁴⁻²¹.

يبدو أن التأثير الأخطر لتطبيق أي مادة غريبة في المخاطية الفموية هو حدوث آفة فرط تصنعية¹⁷ أو خلل على المستوى البنيوي¹⁸ وقدح آلية ورمية¹⁹ ضمن خلايا النسيج، وقد ذكر الباحثون²⁰ أن المواد المسرطنة الخطيرة على المخاطية الطبيعية تؤدي إلى حدوث آفات مرضية بالتسلسل التالي بعيد تطبيقها وهو وبالتالي: حدوث فرط تصنع المخاطية الفموية مع حدوث فرط تقرن، ثم سوء تصنع يتلوه سرطان بشروي شائك الخلايا موضع الذي

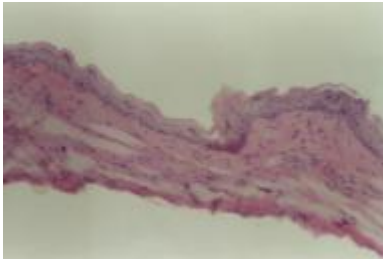
لوحظ في دراستنا بقاء البشرة المخاطية غير المتقرنة سليمة من عوامل الكشم الخلوي بعد ثلاثة أشهر من التعرض لليزر الطري، مما يتوافق مع أن الأدب الطبي لم يذكر أي مخاطر أو أعراض جانبية سريرية لتطبيق الليزر الفموي على المخاطية الطبيعية^{26,25}. اقترحت الدراسات السابقة المعتمدة على المعايير السريرية فقط سلامة استخدام الليزر الفموي الطري على المخاطية الفموية عند البشر^{11,4}.

لكن ومع أننا لم نلاحظ في بحثنا وجود أي علائم نسيجية مهددة للبنية النسيجية عامة ولا أي مؤشر ورمي إلا أن نتائج هذا البحث أظهرت حدوث تقرن لاحق في البشرة الطبيعية غير المتقرنة المعرضة للحزمة الليزرية ، أي إن الحزمة الليزرية قد تسبب تعديلاً في طبيعة البشرة غير المتقرنة مؤهبة إياها لتكون بشرة متقرنة، تحتاج هذه الملاحظات النسيجية إلى دراسات معمقة على المستوى الكيميائي المناعي النسيجي داخل الخلوي لمعرفة الخلل الذي أدى إلى حدوث هذا التقرن اللاحق عقب التعرض للحزمة الليزرية ومحاولة معرفة مدى ديمومته وتأثيراته اللاحقة في بنية النسيج.

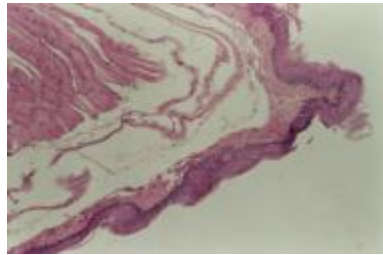
إلا أن دراستنا أظهرت بدء ظهور تقرن خفيف في العينات المأخوذة من حيوانات التجربة التي تعرضت لحزمة ليزرية مدتها 1.5 ثانية، بعد مدة مراقبة قدرها ثلاثة أشهر، وظهرت نتائج مشابهة عند مجموعتي المدة الزمنية 2 و 3 ثوانٍ مع اختلاف بسيط أنه في هاتين المجموعتين كان ظهور التقرن بشكل أبكر حيث ظهر من الأسبوع السادس من بدء تطبيق الحزمة الليزرية مما يقترح أن زيادة الجرعة وزمن التعرض لليزر الطري واستمراره قد أدخل بعض التغيرات النسيجية على خلايا البشرة.



الشكل 1: المخاطية الطبيعية للجيب الخدي عند الهامستر: يظهر النسيج البشري غير المتقرن



الشكل 2: المخاطية في الجيب الخدي عند الهامستر بدء ظهور تقرن طفيف (مجموعة 1.5 ثانية مراقبة ثلاثة أشهر)



الشكل 3: المخاطية في الجيب الخدي عند الهامستر بدء ظهور تقرن طفيف (مجموعة 2 ثانية مراقبة ستة أسابيع)

References

- 1- Cobb, C. M. , Lasers in periodontics: a review of the literature. Journal of Periodontology (2006)77, 545–564.
- 2- Qadri, T., Miranda, L., Tuner, J. & Gustafsson, A. The short-term effects of low-level lasers as adjunct therapy in the treatment of periodontal inflammation. Journal of Clinical Periodontology (2005) 32, 714–719.
- 3- Walsh, L. J. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. Australian Dental Journal (1997) 42, 247–254.
- 4- Damante, A. C., Gregghi, S. L., Santana, A. C. & Passanezi, E, Clinical evaluation of the effects of low

- intensity laser (Gaalas) on wound healing after gingivoplasty in humans. *Journal of Applied Oral Science*. (2004) 12, 133–136.
- 5- Hopkins, J. T., McLoda, T. A., Seegmiller, J. G. & David Baxter, G. (2004) Low-level laser therapy facilitates superficial wound healing in humans: a triple-blind, sham-controlled study. *Journal of Athletic Training* 39, 223–229.
- 6- Posten, W., Wrone, D. A., Dover, J. S., Arndt, K. A., Silapunt, S. & Alam, M., Lowlevel laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. *Dermatologic Surgery* (2005) 31, 334–340.
- 7- Silveria, P. C., Streck, E. L. & Pinho R, A. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in wound healing by low-level laser therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology: B, Biology* (2007) 86, 279–282.
- 8- Alexandratou, E., Yova, D., Handris, P., Kletsas, D. & Loukas, S. Human fibroblast alterations induced by low power laser irradiation at the single cell level using confocal microscopy. *Photochemical and Photobiological Sciences* (2002) 1, 547–552.
- 9- Khadra, M., Kasem, N., Lyngstadaas, S. P., Haanaes, H. R. & Mustafa, K. Laser therapy accelerates initial attachment and subsequent behavior of human oral fibroblasts cultured on titanium implant material. A scanning electron microscope and histomorphometric analysis. *Clinical Oral Implants Research* (2005) 16, 168–175.
- 10- Yu, H. S., Chang, K. L., Yu, C. L., Chen, J. W. & Chen, G. S. Low-energy helium– neon laser irradiation stimulates interleukin-1 alpha and interleukin-8 release from cultured human keratinocytes. *Journal of Investigative Dermatology* (1996) 107, 593–596.
- 11- Walsh, L. J. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. *Australian Dental Journal* (1997) 42, 247–254.
- 12- Kreisler, M., Christoffers, A. B., Willerstaussen, B. & d’Hoedt, B. Effect of low-level GaAIAS laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: an in vitro study. *Journal of Clinical Periodontology* (2003) 30, 353–358.
- 13- Pinheiro, A. L., Pozza, D. H., Oliviera, M. G., Weissmann, R. & Ramalho, L. M. Polarized light (400–2000 nm) and nonablative laser (685 nm): a description of the wound healing process using immunohistochemical analysis. *Photomedicine and Laser Surgery* (2005) 23, 485–492.
- 14- Tuby, H., Maltz, L. & Oron, U. Modulations of VEGF and iNOS in the rat heart by low level laser therapy are associated with cardioprotection and enhanced angiogenesis. *Lasers in Surgery and Medicine* (2006) 38, 682–688.
- 15- Donos, N., D’Aiuto, F., Retzepi, M. & Tonetti, M. Evaluation of gingival blood flow by the use of laser Doppler flowmetry following periodontal surgery. A pilot study. *Journal of Periodontal Research* (2005) 40, 129–137.
- 16- Turgut Demir, Cankat Kara, Elvan Özbek, Yıldıray Kalkan. *Photomedicine and Laser Surgery*. February 2010, 28(1): 31-37.
- 17- Kim TW, Chen Q, Shen X, et al. Oral mucosal carcinogenesis in SENCAR mice. *Anticancer Res* 2002 Sep-Oct;22(5): 2733-40.
- 18- Odukoya O, Schwartz J, Weichselbaum R, et al. An epidermoid carcinoma cell line derived from hamster 7,12-dimethylbenz [a] anthracene-induced buccal pouch tumors. *JNCI*, 1983 Dec; 71(6):1253-64 .
- 19- Santis .H , Shklar .G , Chauncey .H .H.H . Histochemistry of experimentally induced leukoplakia and carcinoma of the hamster buccal pouch . *Oral Surg* . 1964. , 17:307.
- 20- Schwartz J, Odukoya O, Stoufi E, et al. Alpha tocopherol alters the distribution of Langerhans cells in DMBA-treated hamster cheek pouch epithelium. *J Dent Res* 1985 Feb;64(2):117-21
- 21- Tan DJ, Chang J, Chen WL, Agress LJ, et al. Novel heteroplasmic frameshift and missense somatic mitochondrial DNA mutations in oral cancer of betel quid chewers. *Genes Chromosomes Cancer* 2003 Jun;37(2):186-94 .
- 22- Wu X, Lippman SM, Lee JJ,et al. Chromosome instability in lymphocytes: a potential indicator of predisposition to oral premalignant lesions. *Cancer Res*. 2002 May 15;62(10):2813-8
- 23- Chen CT, Chiang HK, Chow SN, et al. Autofluorescence in normal and malignant human oral tissues and in DMBA-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *J Oral Pathol Med* 1998 Nov ;27(10):470-4.
- 24- Niukian K, Schwartz J, Shklar G. Effects of onion extract on the development of hamster buccal pouch carcinomas as expressed in tumor burden. *Nutr Cancer* 1987;9(2-3):171-6
- 25- Wong, Siu-Fun و Wilder-Smith, Petra. Pilot Study of Laser Effects on Oral Mucositis in Patients Receiving Chemotherapy. *Cancer: May/June 2002 - Volume 8 - Issue 3 - p 247-254*
- 26- Didier Cowen, Corrine Tardieu , Mark Schubert et al. Low energy Helium-Neon laser in the prevention of oral mucositis in patients undergoing bone marrow transplant: Results of a double blind randomized trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. Volume 38, Issue 4, 1 July 1997, Pages 697-703.

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق 2010/3/2.

تاريخ قبوله للنشر 2011/1/27.