الملخص العربى

الملخص:

اجريت هذه الدراسة لتقييم تأثير جرعة واحدة من الليزر المنخفض المستوى على شبيهة الخلايا المكونة للعاج المشتقة من الخلايا الجذعية النخاعية العظمية الوسيطة. استخدم فى هذا البحث ١٠ عينات من بقايا الخلايا الجذعية النخاعية العظمية الوسيطة التى تم جمعها من وحدة زراعة النخاع بمستشفى الشيخ زايد التخصصى بعد الحصول على موافقة المريض والقبول من لجنة الأخلاقيات بكلية طب الأسنان جامعة-عين شمس.

تم عزل كل عينة و زرعها لإنتاج ٤ قوارير من الخلايا الجذعية النخاعية العظمية الوسيطة ثم تخليقها بعد ٢١ أيام إلى ٤ قوارير من شبيهة الخلايا المكونة للعاج. تم إجراء التحقق من تخليق الخلايا الشبيهة للخلايا المكونة للعاج من خلال النتائج الإيجابية في التعبير الجيني للسالينو بروتين الفسفوري؛فوسفوبروتين للعاج ، بروتين العاج المصفوف١ و الفوسفاتيز القلوي بواسطة فى الوقت الحقيقى التفاعل الإنزيمى للبلمرة. تم فحص العينات بعد تخليق الخلايا الشبيهة للخلايا المكونة للعاج بعد ٣ و ١٤ يوما.

تم الحصول على ٤٠ قارورة من شبيهة الخلايا المكونة للعاج من ١٠ عينات و تم تقسيمهم إلى مجموعتين ؛ المجموعة الضابطة (A) و المجموعة البحثية (B) التى تم تعريضها إلى جرعة واحدة من الليزر المنخفض المستوى. تم تقسيم كل مجموعة الى مجموعتين فرعيتين (A1، A2 و B1، B2) ، حيث تم فحص A1، B1 بعد ٣ أيام من تخليق الخلايا الشبيهة للخلايا المكونة للعاج و تم فحص A2، B2 بعد ١٤ يوما من تخليق الخلايا الشبيهة للخلايا المكونة للعاج. تم تعريض المجموعة B لجرعة واحدة من الليزر المنخفض المستوى (الديود)، بالمعلمات الأتية (طول الموجة: ٩٤٠ نانوميتر ؛ الطاقة الكهربائية: ٩،٠ وات ، موجة مستمرة، وضع عدم الاتصال لمدة ١٥ ثانية و مجموع الطاقة ١٣،٥جول.

تم فحص كل مجموعة بالمجهر الضوئي المتباين المقلوب لمعرفة عدد الخلايا و حيويتها بعد صبغها بالتريبان الأزرق داخل عدادة الكريات،مع العلم بأن الخلايا التى لم تصبغ تشير إلى الخلايا الحية. كما تعطى عدادة الكريات عدد الخلايا في قارورة. تم إجراء فى الوقت الحقيقى التفاعل الإنزيمى للبلمرة لكل مجموعة للكشف عن كمية التعبير الجيني لكلا من البروتين العاج المصفوف١ (الذى يلعب دورا حيويا في التمعدن ولديه القدرة على الربط مع الكالسيوم وألياف الكولاجين) و الفوسفاتيز القلوي (الذى يوجد داخل المصفوفة العضوية، إما ارتباطا مع مصفوفة الحويصلات أويوجد وحده حر داخل المصفوفة). وقد تم تحليل بيانات عدد

خلايا و فى الوقت الحقيقى التفاعل الإنزيمى للبلمرة إحصائيا، ثم تم فحص مصفوفة تمعدن بالمجهر الضوئي المتباين المقلوب بعد صبغها بصبغة الاليزرين الحمراء لمزيد من التأكد من تمعدن المصفوفة، حيث الاماكن التى تصبغ بالأحمر تمثل اماكن ترسيب الكالسيوم.

اظهرت نتائج فى الوقت الحقيقى التفاعل الإنزيمى للبلمرة نتائج ايجابية بمعدل عالى للجينات الأتية؛ التعبير الجيني للسالينو بروتين الفسفوري، فوسفوبروتين للعاج ، بروتين العاج المصفوف١ و الفوسفاتيز القلوي بواسطة مما يؤكد تخليق شبيهة الخلايا المكونة للعاج المشتقة من الخلايا الجذعية النخاعية العظمية الوسيطة .

اظهرت النتائج الإحصائية لعدد الخلايا و حيويتها ان المجموعة الضابطة الفرعية A1(بعد ٣ ايام من تخليق الخلايا)انها ذات دلالة إحصائية أعلى من المجموعة الضابطة الفرعية A2 (بعد ١٤ يوما من تخليق الخلايا). و أن المجموعة البحثية الفرعية التى تعرضت لليزر B1 (بعد ٣ ايام من تخليق الخلايا) انها أعلى نسبيا لكن بدون دلالة إحصائية من المجموعة البحثية الفرعية التى تعرضت لليزر B2 (بعد ١٤ يوما من تخليق الخلايا). وأظهرت المجموعات الفرعية البحثية التى تم اشعاعها (B1 و B2) قياسات عدد خلايا أعلى من المجموعات الفرعية الضابطة (A1 و A2) على التوالى لكن بدون اهمية احصائية. الضابطة و قد كان أعلى معدل في المجموعة الفرعية البحثية (B1) .

أظهرت نتائج فى الوقت الحقيقى التفاعل الإنزيمى للبلمرة زيادة ذات دلالة احصائية فى التعبير الجيني لبروتين العاج المصفوف١ في المجموعة الفرعية الضابطة A2 بعد ١٤ يوما مقارنة من المجموعة الفرعية الضابطة بعد ٣ أيام (A1). و من حيث التعرض لليزر المنخفض المستوى، اظهرت نتائج المجموعات الفرعية البحثية زيادة ذات دلالة إحصائية فى التعبير الجيني بعد ١٤ يوما(B2) مقارنة ب٣ أيام (B1) حيث أن أعلى تعبير جيني كان بعد ١٤ يوما من تخليق الخلايا الشبيهة للخلايا المكونة للعاج (B2)، وأن المجموعات الفرعية البحثية التى تم إشعاعها أظهرت زيادة ذات دلالة إحصائية فى التعبير الجينى لبروتين العاج المصفوف١بالمقارنة مع المجموعات الفرعية الضابطة و قد كان أعلى معدل في المجموعة الفرعية البحثية (B2) .

أظهرت نتائج فى الوقت الحقيقى التفاعل الإنزيمى للبلمرة انخفاض ذات دلالة احصائية فى التعبير الجيني الفوسفاتيز القلوي في المجموعات الفرعية الضابطة بعد ١٤ يوما(A2) مقارنة ب(A1) بعد ٣ أيام. و من حيث التعرض لليزر المنخفض المستوى، اظهرت نتائج المجموعات الفرعية البحثية بعد ١٤ يوما (B2) زيادة ذات دلالة إحصائية فى التعبير الجيني مقارنة ب (B1) بعد ٣ أيام. وأن المجموعات الفرعية البحثية التى تم إشعاعها أظهرت زيادة ذات دلالة إحصائية فى التعبير الجينى الفوسفاتيز القلوي بالمقارنة مع المجموعات الفرعية الضابطة و قد كان أعلى معدل في المجموعة الفرعية البحثية (B2) .

اظهرت نتائج صبغة الأليزارين الحمراء ترسبات من الكالسيوم على حواف القارورة فى المجموعة الضابطة (A1) التى تم تخليقها بعد ٣ أيام ترسبات قليلة من الكالسيوم على شكل شبكة،بينما فى المجموعة الضابطة (A2) التى تم تخليقها بعد ١٤ تم زيادة الترسبات الكلسية فى شكل كريات كبيرة. و اظهرت نتائج المجموعات البحثية الفرعية التى تم إشعاعها بعد ٣ أيام (B1) ترسبات أكثر من الكالسيوم على شكل شبكة مع بعض الكريات ،بينما فى المجموعة (B2) التى تم إشعاعها بعد ١٤، زيادة الترسبات الكلسية من حيث التحام الكريات الكبيرة من ترسيبات الكالسيوم بشكل متجانس.

اظهرت نتائج صبغة الأليزارين الحمراء ترسبات من الكالسيوم فى وسط القارورة فى المجموعة الضابطة (A1) التى تم تخليقها بعد ٣ أيام نتائج سلبية من ترسبات الكالسيوم ،بينما فى المجموعة الضابطة (A2) التى تم تخليقها بعد ١٤ اظهرت نتائج ايجابية. و اظهرت نتائج المجموعات البحثية الفرعية التى تم إشعاعها بعد ٣ أيام (B1) نتائج سلبية من ترسبات الكالسيوم ،بينما فى المجموعة (B2) التى تم إشعاعها بعد ١٤، نتائج ايجابية من زيادة ترسبات الكالسيوم.

الاستنتاجات:

- في هذه الدراسة، لأول مرة تم الحصول على شبيهة الخلايا المكونة للعاج من الخلايا الجذعية النخاعية العظمية الوسيطة كمصدر باستخدام البروتوكول المقترح.
- من حيث تعريض الخلايا شبيهة الخلايا المكونة للعاج لليزر أو لا، فإن عدد الخلايا في المراحل المبكرة(بعد ٣ أيام) من المراحل الأخيرة (بعد ١٤ يوما). كما ارتفعت نتائج التعبير الجيني للبروتين العاج المصفوف١ وتشكيل مصفوفة المعادن في المراحل الأخيرة من تخليق شبيهة الخلايا المكونة للعاج.

- فى المجموعة الضابطة تم زيادة التعبير الجينى للفوسفاتيز القلوي في المراحل المبكرة من تخليق الخلايا الشبيهة للخلايا المكونة للعاج ثم انخفضت تدريجيا، بينما فى المجموعة التى تم تعريضها لليزر المنحفض المستوى زاد التعبير الجينى للفوسفاتيز القلوي فى المراحل الأخيرة من تخليق الخلايا الشبيهة للخلايا المكونة للعاج.
- العلاج بالليزر المنخفض المستوى يعزز بقاء الخلية، يساعد على زيادة التعبير الجينى لكلا من بروتين العاج المصفوف١ و الفوسفاتيز القلوي، كما أنه يساعد على زيادة التمعدن

التوصيات:

- هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات للكشف عن أفضل معلمة لليزر المنخفض المستوى على شبيهة الخلايا المكونة العاج للحصول على نتائج تحفيزية حيوية أفضل لصناعة العاج.
- إجراء المزيد من الدراسات شبيهة الخلايا المكونة للعاج التى تم عريضها لليزر المنخفض المستوى ليتم حقنه في الجسم الحي لتقييم فعالية هذا النمط من العلاج.
- هناك حاجة لمزيد من الدراسات على مدى فترة أطول من تعريض شبيهة الخلايا المكونة للعاج لليزر و التطبيقات المتكررة لتقييم استقرار النتائج الإيجابية على المدى الطويل.

تأثير العلاج بالليزر منخفض المستوى على شبيهة الخلايا المكونة للعاج المشتقة من الخلايا الجذعية النخاعية العظمية الوسيطة

(تقييم بالمجهر الضوئي المتباين المقلوب وتفاعل إنزيم البلمرة التسلسلي)

رسالة مقدمة إلى

كلية طب الأسنان

جامعة عين شمس
كجزء من مقومات الحصول على درجة الدكتوراه فى بيولوجيا الفم

مقدم من

الطبيبة/ دينا محمد محمد السعيد محمد حسونة

بكالوريوس طب وجراحة الفم والأسنان
٢٠٠٦
ماجستير بيولوجيا الفم
٢٠١٣
كلية طب الفم والأسنان - جامعة القاهرة

تحت إشراف

أ.م.د/ رانيا مسعد حسن

استاذ مساعد بقسم بيولوجيا الفم
كلية طب الأسنان - جامعة عين شمس

الدكتورة/ داليا غازى محمد راتب

مدرس بقسم بيولوجيا الفم
كلية طب الأسنان - جامعة عين شمس

أ.د/ مصطفى عصام غيث

استاذ بقسم تطبيقات الليزر فى جراحة الفم
المعهد القومى لعلوم الليزر - جامعة القاهرة

كلية طب الأسنان
جامعة عين شمس
٢٠١٦