مقایسه غلظت فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی در مایع شیار لثه‌ای افراد سالم و بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن و پریودنتیت مهاجم

سیدعلی بنی هاشم راد*#، شادی ثقفی، محمد سوختانلو***، نازنین شاهسوند****

* دانشیار گروه پریودانتیکس، مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

** دانشیار آسیب شناسی دهان، فک و صورت، مرکز تحقیقات بیماری های دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

*** استادیار بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

**** دستیار تخصصی گروه اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، ایران

تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۴/۳ – تاریخ پذیرش : ۹۵/۱/۲۵

Comparison of Vascular Endothelial Growth Factor Concentration in Gingival Crevicular Fluids among Patients with Aggressive and Chronic Periodontitis and Healthy Individuals

SayedAli Banihashemrad*#, Shadi Saghafi, Mohammad Sookhtanloo***, Nazanin Shahsavand******

** Associate Professor, Dept of Periodontics, School of Dentistry, Dental Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*

*** Associate Professor of Oral Pathology, Oral & Maxillofacial Diseases Research Center, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*

**** Assistant Professor of Clinical Biochemistry, Dept of Medical Biochemistry, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

***** Postgraduate Student of Endodontics, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.*

Received: 24 June 2015 ; Accepted: 13 April 2016

Introduction: Periodontitis is an inflammatory disease which affects vascular supporting tissues of teeth. Angiogenesis is an integral component in the pathogenesis of vascular diseases and chronic inflammations, such as periodontitis. On the other hand, one of the major regulators of new vessels formation is vascular endothelial growth factor (VEGF). The aim of this study was to determine and compare VEGF levels in gingival crevicular fluids (GCF) among patients with aggressive and chronic periodontitis and healthy individuals.

Materials & Methods: In this cross-sectional clinical study, forty-five volunteers were divided into three equal groups consisting of healthy individuals, chronic periodontitis and aggressive periodontitis. In order to perform sampling, GCF was absorbed by putting number 40 endodontic paper cones in the the gingival sulci with highest degrees of clinical attachment loss and inflammation signs. Similarly, mesiobuccal sulci of left maxillary first molars were sampled in healthy individuals. After collecting all samples, VEGF levels were determined using ELISA method.

Results: The present study showed that VEGF concentration means in healthy individuals, chronic periodontitis and aggressive periodontitis were respectively 192.63±170.07, 1409.38±244.12 and 1734.33±317.13 nanograms per liter. VEGF levels in patients with aggressive periodontitis were significantly higher than chronic periodontitis (P=0.003) and VEGF levels in patients with both types of periodontitis were significantly higher than healthy individuals (P<0.001). However, there was no significant correlation between VEGF levels and age or sex of patients (P>0.05).

Conclusion: VEGF levels were significantly higher in both types of periodontitis than healthy individuals and were significantly higher in aggressive periodontitis than chronic periodontitis.

Key words: Aggressive periodontitis, chronic periodontitis, healthy gingiva, vascular endothelial growth factor, gingival crevicular fluid.

 # Corresponding Author: banihashema@mums.ac.ir

J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 123-32 .

مولف مسؤول، نشانی: مشهد، دانشکده دندانپزشکی، گروه پریودانتیکس، تلفن: ۱۵-۳۸۸۲۹۵۰۱-۰۵۱

E-mail: banihashema@mums.ac.ir

چکیده

مقدمه: پریودنتیت یک بیماری التهابی است که بافت‌های حمایت کننده دارای عروق دندان را درگیر می‌کند. آنژیوژنز یک جزء جدایی ناپذیر در پاتوژنز بیماری‌های عروقی و التهاب‌های مزمن نظیر پریودنتیت است و یکی از تنظیم کننده‌های اصلی ایجاد عروق جدید، فاکتور رشد اندوتلیالی عروق (VEGF) محسوب می شود. هدف از این مطالعه، تعیین و مقایسه سطح VEGF مایع شیار لثه‌ای (GCF) در بیماران مبتلا به پریودنتیت مهاجم و مزمن و افراد سالم بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه بالینی مقطعی، ٤٥ نفر از افراد داوطلب در سه گروه مساوی از افراد سالم، مبتلا به پریودنتیت مزمن و مبتلا به پریودنتیت مهاجم قرار گرفتند. جهت نمونه گیری از افراد، با استفاده از Paper cone شماره ٤٠ در افراد مبتلا به پریودنتیت، از سالکوس دندان با بیشترین میزان از دست رفتن چسبندگی لثه و نشانه‌های التهاب، GCF جمع گردید. به طور مشابه در افراد سالم از سالکوس مزیوباکال دندان مولر اول سمت چپ بالا نمونه گیری انجام شد. پس از جمع آوری تمام نمونه‌ها، با استفاده از تست ELISA، سطح VEGF نمونه‌ها تعیین گردید و داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS با ویرایش ١٦ و تست آماری ANOVA آنالیز شدند.

یافته‌ها: مطالعه حاضر نشان داد که میانگین غلظت VEGF در GCF افراد سالم، مبتلا به پریودنتیت مزمن و مبتلا به پریودنتیت مهاجم به ترتیب ١٩٢/٦٣، ١٤٠٩/٣٨ و ١٧٣٤/٣٣ نانوگرم بر لیتر بود. به طور معنی‌داری سطح VEGF در بیماران مبتلا به پریودنتیت مهاجم بیشتر از مزمن (P=٠/٠٠٣) و سطح VEGF در هر دو گروه پریودنتیت، بیشتر از افراد سالم بود (P<٠/٠٠١). اگرچه میان غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای با سن و جنس افراد، رابطه معنی‌داری مشاهده نگردید (P>٠/٠٥).

نتیجه گیری: سطح VEGF در بیماران مبتلا به هر دو نوع پریودنتیت نسبت به افراد سالم و در پریودنتیت مهاجم نسبت به مزمن افزایش معنی‌داری داشت.

کلمات کلیدی: پریودنتیت مهاجم، پریودنتیت مزمن، فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی، مایع شیار لثه‌ای، لثه سالم.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ١٣٩٥ دوره ٤٠ / شماره ٢ : ٣٢-١٢٣ .

مقدمه

فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی[1] (VEGF) یک گلیکوپروتئین همودیمریک با وزن مولکولی تقریباً ٤٥ کیلودالتون و به عنوان یک سیتوکاین مولتی فانکشنال اصلی در فرآیند التهاب و ترمیم زخم‌ها می‌باشد که به گیرنده VEGF در سطح سلول‌های اندوتلیال متصل می‌شود و یک القا کننده بالقوه آنژیوژنز می‌باشد. این فاکتور در بافت‌های پریودنتال در سلول‌های اندوتلیال، پلاسماسل‌ها، ماکروفاژها و نیز در اپی‌تلیوم جانکشنال، سالکولار و لثه‌ای یافت می‌شود. اعتقاد بر این است که VEGF نقش کلیدی را در بیماری پریودنتیت ایفا می‌کند.[١و٢] Ferrara و Henzel[٣] گزارش نمودند که یک میتوژن مختص به سلول اندوتلیال را خالص سازی نمودند و آن را فاکتور رشد اندوتلیالی عروق (VEGF) نامیدند. دست یافتن به این موضوع که VEGF یک مولکول پرقدرت، با قابلیت نفوذ و مختص به سلول‌های اندوتلیال است، این فرضیه را تولید نمود که ممکن است این مولکول نقشی منحصر به فرد در تنظیم رشد فیزیولوژیک و پاتولوژیک عروق خونی ایفا نماید.[٣] آنژیوژنز یک جزء جدایی ناپذیر در پاتوژنز بیماری‌های عروقی و التهاب‌های مزمن نظیر پریودنتیت است.[٤] VEGF به طور اولیه باعث افزایش تکثیر سلول‌های اندوتلیال، ترشح آنزیم‌های پروتئولیتیک، کموتاکسی و مهاجرت سلول‌های ایمنی می‌شود.[٥]

مطالعاتی که نقش VEGF را در پاتوژنز بیماری‌های پریودنتال مورد بررسی قرار دادند به نتایج متناقضی رسیده‌اند که در برخی از آن‌ها بیان VEGF افزایش یافته[٦-٨]، در برخی کاهش یافته[٩] و یا در طول بیماری تغییری نکرده است.

1. Vascular Endothelial Growth Factor

Suthin و همکارانش[۱۰] میزان ترشح VEGF را در محیط کشت در فیبروبلاست‌های لثه‌ای انسان سنجیدند و به این نتیجه رسیدند که وزیکول و پروتئین غشای خارجی پاتوژن‌های پریودنتال مثل Aggrigatobacter Actinomycetemcomitans و Porphyromonas Gingivalis عواملی هستند که موجب افزایش بیان VEGF در محیط کشت می‌شوند و این عوامل نسبت به حرارت و پروتئازها حساسند. همچنین، نتیجه دیگر این مطالعه این بود که VEGF می‌تواند با اتیولوژی پریودنتیت در مراحل اولیه آن مرتبط باشد، زیرا پاتوژن‌های پریودنتال محرک نئوواسکولاریزاسیون هستند که موجب تورم و ادم می‌شود. Prapulla و همکارانش[۱] در مطالعه‌ای، سطح VEGF را در GCF در سه حالت سلامت، ژنژیویت و پریودنتیت مزمن سنجیدند و دریافتند که بیشترین میزان VEGF مربوط به گروه سوم و کمترین میزان آن در گروه اول بود.

Kasprazak و همکارانش[۱۱] میزان بروز فاکتورهای محرک آنژیوژنز (VEGF, CD31 & CD105) و اندکس آنژیوژنتیک را در لثه بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که بروز بیش از حد فاکتورهای مرتبط با آنژیوژنز در پریودنتیت مزمن، نشانگر اهمیت آن در طولانی کردن پروسه التهاب یا وخیم‌تر شدن دوره‌ای تخریب پریودنشیوم است. افزایش نسبت‌های CD105/CD31 و VEGF/CD301 در لثه، موید افزایش تکثیر سلول‌های اندوتلیالی در لثه افراد مبتلا به پریودنتیت مزمن بود.

در مطالعه‌ای که توسط Bassiouny و همکاران[۱۲] به چاپ رسید، یک بررسی مقایسه‌ای بین افراد سالم و دیابتی مبتلا به بیماری‌های پریودنتال به لحاظ بیان VEGF انجام شد. در این مطالعه ۲۴ نفر شرکت داشتند که در سه گروه شاهد (بدون دیابت، بدون پریودنتیت)، P (بدون دیابت، مبتلا به پریودنتیت) و DP (مبتلا به دیابت و پریودنتیت) قرار داشتند. نتایج این مطالعه مشخص کرد که پارامترهای بالینی بیماری پریودنتال بین گروه‌های P و DP در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری داشته که از لحاظ بافت شناسی، بیان VEGF در گروه‌های DP و P نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر مشاهده شد. همچنین بیان VEGF در گروه DP نسبت به گروه P بیشتر گزارش گردید ولی این تفاوت به لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). پژوهشگران این مطالعه از به کارگیری درمان آنتی آنژیوژنیک برای درمان پریودنتیت مزمن حمایت می‌کنند.

تحقیق حاضر با این هدف طراحی و به اجرا گذاشته شد تا سطح VEGF مایع شیار لثه‌ای را در بیماران مبتلا به پریودنتیت مهاجم و مزمن و همچنین افراد سالم بررسی و مقایسه نماید.

مواد و روش‌ها

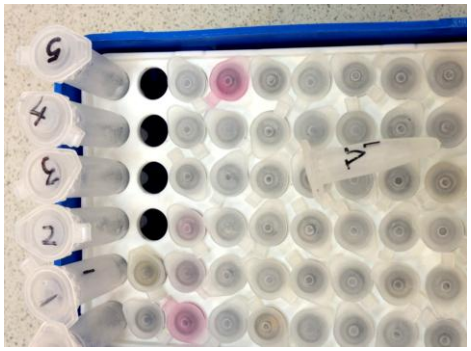
در این پژوهش، جمعیت مورد مطالعه از بین افراد مراجعه‌کننده به بخش پریو دانشکده دندانپزشکی مشهد انتخاب شدند به طوری که گروه مطالعه از میان افراد مراجعه‌کننده برای درمان پریودنتیت مزمن و مهاجم و گروه کنترل از میان مراجعه‌کنندگان با پریودنشیوم سالم جهت انجام جراحی افزایش طول تاج و نیز دانشجویان دندانپزشکی دانشکده دندانپزشکی مشهد انتخاب شدند. این افراد ایرانی و اختصاصاً خراسانی بودند. در این مطالعه نمونه‌ها در سه گروه (۱۵ نفر سالم، ۱۵ نفر مبتلا به پریودنتیت مزمن و ۱۵ نفر مبتلا به پریودنتیت مهاجم) تقسیم شدند و تلاش شد که گروه‌های مطالعه از نظر سن و جنس همگن انتخاب شوند (ولی افراد در گروه سالم در ۲ دسته سالم جوان و سالم بالغ انتخاب شدند تا گروه‌های

بیمار هر کدام از لحاظ سنی با گروه کنترل مناسب خود مقایسه گردند). جهت نمونه گیری از افراد مورد مطالعه، پیش از هرگونه تحریک در دهان و پس از حذف پلاک سوپرا ژنژیوال با استفاده از پنبه استریل و ایزولاسیون با رول پنبه و پوار ملایم هوا از Paper cone شماره ٤٠ استفاده شد، به این صورت که Paper درون شیار لثه تا جایی فرو برده می‌شد که یک فشار ملایم احساس شود؛ سپس به مدت ۱ دقیقه Paper در محل نگه داشته می‌شد تا مایع شیار لثه جذب آن گردد. در افراد مبتلا به پریودنتیت مزمن یا مهاجم از سالکوس دندان با بیشترین میزان از دست رفتن چسبندگی لثه و نشانه‌های التهاب نمونه‌گیری انجام شد و در افراد سالم از سالکوس مزیوباکال دندان مولر اول سمت چپ بالا (و در صورت عدم وجود آن از دندان مشابه در سمت راست) نمونه‌گیری انجام شد و نمونه‌های حاوی خون یا بزاق کنار گذاشته شدند.

تصویر ۱ : نمونه گیری مایع شیار لثه (GCF)

پس از اخذ نمونه‌ها، هر Paper در یک میکروتیوب استریل درب‌دار کدگذاری شده قرار داده شد که با کد روی فرم مشخصات بیمار که قبل از نمونه‌برداری تکمیل شده بود، مطابقت داشت. سپس تیوب‌ها سریع به آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده پزشکی منتقل گردیدند و در آنجا درون هر تیوب، میزان ۱۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه توسط Sampler ریخته شد و توسط پنس، Paper کاملاً درون آب فرو برده شد. سپس تیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه روی یخ نگهداری شدند و در طی این مدت ٣،٤ ضربه ملایم به هر یک وارد می شد تا ماده جذب شده توسط Paper به آب دیونیزه منتقل گردد. آنگاه Paperها از تیوب خارج شده، درب تیوب‌ها بسته و در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا روز آزمایش نگاه داشته شدند.

پس از جمع آوری تمام نمونه‌ها، داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS با ویرایش ١٦ و تست آماری ANOVA آنالیز شدند.



تصویر ۲ : میکروتیوب‌های حاوی محلول‌های استاندارد (چپ) و مایع شیار لثه حل شده در آب دیونیزه (راست) که کدگذاری شده‌اند

جهت اندازه گیری VEGF در نمونه ها از روش ELISA استفاده شد. این روش بر اساس دستورالعمل کیت الایزای شرکت کریستال دی (Human Vascular Endothelial cell Growth Factor, ELISA Kit - E0080Hu - Crystal Day Biotech) انجام شد. برای انجام طرح ابتدا با استفاده از غلظت‌های مختلف استاندارد شامل ۱۰۰، ۲۰۰، ٤٠٠، ۸۰۰، ١٦٠٠ و ۳۲۰۰ نانو گرم بر لیتر نمودار استاندارد تهیه شد. برای انجام تست الایزای

اندازه‌گیری VEGF ، ابتدا ٤٠ میکرولیتر از نمونه‌های مایع شیار لثه کف چاهک های الایزا Load شد؛ سپس ۱۰ میکرولیتر آنتی بادی VEGF که با بیوتین Lable شده و سپس ۵۰ میکرولیتر استرپتواویدین HRP اضافه گردید؛ آنگاه Plate را Shake نموده و به مدت ٦٠ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد انکوبه نمودیم. پس از انکوباسیون و پس از تخلیه محتویات چاهک‌ها، مرحله شستشو با استفاده از محلول شستشوی موجود در داخل کیت الایزا انجام گرفت؛ به این صورت که هر بار ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو به مدت ۰/۵ الی ۱ دقیقه درون چاهک‌ها ریخته می شد و سپس با شدت (Tapping) تخلیه می‌گردید. این عمل ۵ بار انجام شد. در مرحله بعد برای انجام پروسه ظهور رنگ (Color development) از ۵۰ میکرولیتر از هریک از محلول های A و B اضافه گردید و پس از Shake به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی، ۵۰ میکرولیتر Stop solution به منظور متوقف کردن واکنش افزوده شد (که در این مرحله تغییر رنگ از آبی به زرد صورت می گرفت) و نهایتاً جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ٤٥٠ نانومتر با استفاده از دستگاه Perkin Elmer (Victor X5) قرائت شد. پس از کاهش مقادیر جذب Blank از مقادیر جذب استانداد و نمونه‌ها، نمودار استاندارد تهیه شد؛ به این صورت که غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ٤٠٠، ۸۰۰، ١٦٠٠ و ۳۲۰۰ در محور x ها و جذب استاندارد ها در محور y ها قرار داده شد و با استفاده از معادله خط حاصل از نمودار استاندارد غلظت VEGF در نمونه ها محاسبه گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه بالینی، تعداد ٤٥ نفر در قالب سه گروه ۱۵ نفری (سالم، دارای پریودنتیت مزمن و پریودنتیت مهاجم) از نظر غلظت فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی (VEGF) در مایع شیار لثه‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا وضعیت نرمال بودن داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید داده‌ها دارای توزیع نرمال هستند.

همگنی واریانس‌ها با استفاده از آماره لون بررسی شد و مشخص گردید واریانس‌ها نیز همگن هستند (P=۰/۲۰۳). همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد توزیع جنسیت در گروه‌ها همگن هستند.

در جدول ۲ با مقایسه میانگین غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای بین سه گروه مورد مطالعه، مشاهده گردید که میانگین در گروه کنترل کمتر از گروه مزمن و در گروه مزمن کمتر از گروه مهاجم بود. همچنین آزمون آنالیزواریانس یک عاملی نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری بین سه گروه مذکور وجود داشت (P<۰/۰۰۱).

براساس جدول ۳ مشاهده گردید که میانگین VEGF در گروه سالم به طور معنی‌داری از دو گروه دیگر کمتر بود (P<۰/۰۰۱). هم چنین در گروه مهاجم نیز میانگین VEGF به طور معنی‌داری بیشتر از گروه مزمن بود (P<۰/۰۰۱)، اما میزان اختلاف بین این دو گروه به اندازه اختلاف بین هر یک از این دو گروه با گروه سالم نبود.

میانگین سنی دو گروه سالم جوان و پریودنتیت مهاجم و همچنین دو گروه سالم بالغ و پریودنتیت مزمن مشابه یکدیگر بود (جدول ٤). سپس همگنی واریانس‌ها با استفاده از آماره لون بررسی شد که مشخص گردید واریانس‌ها نیز همگن هستند (P=۰/۵۸۰).

جدول ۱ : توزیع فراوانی افراد مورد مطالعه بر حسب سن و جنسیت در گروه‌ها

	سالم	پریودنت مزمن	پریودنت مهاجم	نتیجه آزمون
مذکر (درصد)تعداد	۷ (٤٦/۷)	۸ (٥٣/۳)	٦ (٤٠/۰)	X^2=۰/٥۳٦ و P=۰/۷٦٥
مونث (درصد)تعداد	۸ (٥۳/۳)	۷ (٤٦/۷)	۹ (٦۰/۰)	
سن (انحراف معیار±میانگین)	۲٦/۹۳±۱۰/۲۰	۳۷/۲۰±٦/٦۷	۱۷/۸±۳/۱۷	F=۲٦/۷۳ و P<۰/۰۰۱

جدول ۲ : میانگین، انحراف معیار میزان VEGF مایع شیار لثه‌ای به تفکیک جنسیت و کل افراد مورد مطالعه با نتیجه آزمون در گروه‌های موردمطالعه

	سالم	پریودنت مزمن	پریودنت مهاجم	نتیجه آزمون
	انحراف معیار±میانگین	انحراف معیار±میانگین	انحراف معیار±میانگین	
مرد	۲۰٤/۸۳±۱۹۰/٤۲	۱۷۸۲/۳۳±۳۳۲/۰٤	۱۳۹٤/۳۹±۲٦۸/۱۷	P<۰/۰۰۱
زن	۱۹٤/٥٦±۱٤۷/۹۱	۱۷۰۲/۳۳±۳۲۲/۸۲	۱٤۲٦/٥۱±۲۳۳/٤۸	P<۰/۰۰۱
کل	۱۹۲/٦۳±۱۷۰/۰۷	۱٤۰۹/۳۸±۲٤٤/۱۲	۱۷۳٤/۳۳±۳۱۷/۱۳	P<۰/۰۰۱

جدول ۳ : رگرسیون چند گانه خطی برای تاثیر متغیرهای جنسیت، سن و گروه‌های مورد مطالعه بر مقدار VEGF

متغیر		برآورد ضریب رگرسیون	خطای استاندارد ضریب رگرسیون	آماره تی	مقدار P-
جنسیت	مرد	۱۸/۰۱٤	٦۳/۲۷۳	۰/۲۳٦	۰/۸۱٥
	زن (مرجع)	-	-	-	
سن		٥/۸۷۹	٥/۳۸٦	۱/۰۹۲	۰/۲۸۱
گروه	پریودنتیت حاد	۱٥۹٦/٦۰۳	۱۰٥/۰۳٦	۱٥/۲۰۰	P<۰/۰۰۱
	پریودنتیت مزمن	۱۱٥٥/۱۸۸	۱۰۸/۰٤٤	۱۰/٦۹۲	P<۰/۰۰۱
	سالم (مرجع)	-	-	-	

جدول ٤ : میانگین، انحراف معیار، کمینه و بیشینه سن در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	تعداد	میانگین (سال)	انحراف معیار	کمینه (سال)	بیشینه (سال)
سالم جوان	۸	۱۸/٦۳	۳/۱۲	۱٤	۲۳
سالم بالغ	۷	۳٦/٤۳	٥/۸٦	۲۹	٤٤
پریودنتیت مهاجم	۱٥	۱۷/۸	۳/۱۷	۱۳	۲٥
پریودنتیت مزمن	۱٥	۳۷/۲	٦/٦۷	۲۸	٥۱
مجموع	٤٥	۲۷/۳۱	۱۰/۷۱	۱۳	٥۱

جدول ۵ : میانگین، انحراف معیار، کمینه و بیشینه غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای و نتیجه آزمون در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	تعداد	میانگین غلظت VEGF (ng/l)	انحراف معیار	کمینه (ng/l)	بیشینه (ng/l)	نتیجه آزمون آنالیز واریانس یک عاملی
سالم جوان	۸	۱۹۱/۹۲	۱۶۱/۵۶	۲۴/۵۶	۴۹۳/۴۴	F=۱۰۲/۲۹۵ P<۰/۰۰۱
سالم بالغ	۷	۱۹۳/۴۴	۱۹۲/۴۵	۴۷/۸۹	۶۱۱/۲۲	
پریودنتیت مهاجم	۱۵	۱۷۳۴/۳۴	۳۱۷/۱۳	۱۰۹۱/۲۲	۲۲۶۰/۱۱	
پریودنتیت مزمن	۱۵	۱۴۰۹/۳۸	۲۴۴/۱۲	۹۶۲/۳۳	۱۷۵۳/۴۴	
کل	۴۵	۱۱۱۲/۱۱	۷۱۴/۴۹	۲۴/۵۶	۲۲۶۰/۱۱	

در جدول ۵ مشاهده گردید که کمترین دامنه تغییرات در گروه سالم و بیشترین در گروه پریودنتیت مهاجم بود. همچنین آزمون آنالیز واریانس یک عاملی نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری بین چهار گروه مورد بررسی وجود داشت ($P<۰/۰۰۱$).

در گروه سالم، میزان همبستگی سن و فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی برابر ۰/۱۲۸ بود که همبستگی مثبت اما ضعیف با یکدیگر داشتند. در گروه پریودنتیت مزمن، میزان همبستگی سن و فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی برابر ۰/۳۷۷ بود که همبستگی مثبت اما نسبتاً ضعیف با یکدیگر داشتند. در گروه پریودنتیت مهاجم، میزان همبستگی سن و فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی برابر ۰/۰۸۷ بود که همبستگی مثبت اما خیلی ضعیف با یکدیگر داشتند. مشاهده می‌گردد که ضریب همبستگی در گروه پریودنتیت مزمن از سایر گروه‌ها بیشتر است. هیچ یک از همبستگی‌های ذکر شده معنی‌دار نبودند.

بحث

فرآیندهای التهابی موجب تغییرات ساختاری و عملکردی در عروق خونی پریودنشیوم می‌گردد و تشکیل عروق جدید و تغییرات عروقی چه برای مکانیسم‌های بیماری‌زا و چه برای از بین رفتن التهاب و تنظیم بهبودی امری ضروری است. یکی از وظایف اساسی سلول‌های اندوتلیال، تنظیم انتقال مایع، محلول‌ها، ماکرومولکول‌ها و سلول‌های ایمنی از عروق به بافت‌های اطراف آن است که توسط سیستم‌های بین سلولی اختصاص یافته‌ای از وزیکول‌های انتقال‌دهنده و همچنین توسط تماس‌های سلول به سلول پایدارکننده/ ناپایدارکننده تنظیم شده انجام می‌شود که در طول التهاب، سلول‌های مونوسیت/ ماکروفاژ بارزتر می‌شوند. این سلول‌ها در کنار سلول‌های اندوتلیال می‌توانند موادی را تولید کنند که آنژیوژنز را شروع نماید.[۱۳]

در مطالعه حاضر به منظور جمع آوری مایع شیار لثه از Paper cone استفاده گردید زیرا در برخی از مطالعات بر برتری و اولویت این روش نسبت به سایر روش‌های جمع‌آوری همچون استفاده از میکروپیپت تاکید شده است. استفاده از میکروپیپت تنها زمانی کاربرد دارد که جمع‌آوری با روش‌های مبتنی بر Paper cone با شکست مواجه شوند.[۱۴]

در مطالعه حاضر میانگین غلظت VEGF در مایع شیار لثه‌ای افراد سالم، مبتلا به پریودنتیت مزمن و مبتلا به پریودنتیت مهاجم به ترتیب ۱۹۲/۶۳، ۱۴۰۹/۳۸ و ۱۷۳۴/۳۳ نانوگرم بر لیتر بود. آزمون‌های آماری بیان گر افزایش معنی‌دار VEGF در بیماران مبتلا به هر دو نوع پریودنتیت نسبت به افراد سالم بودند ($P<۰/۰۰۱$). همچنین به طور کلی میانگین غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای به طور معنی‌داری در پریودنتیت مهاجم بیشتر از مزمن گزارش گردید ($P=۰/۰۰۳$). در سایر مطالعات مشخص شده است که غلظت VEGF در بیماران مبتلا به پریودنتیت بیشتر از افراد سالم است.[۱۵و۱۲و۱۱]

به طور مثال در مطالعه Booth و همکاران[۲] نیز، در همخوانی با مطالعه حاضر، مشاهده شد که غلظت VEGF به طور قابل توجهی در بیماران مبتلا به بیماری‌های پریودنتال بیش از افراد سالم بود. در مطالعه Suthin و همکاران[۱۰] که به بررسی میزان ترشح VEGF در محیط کشت فیبروبلاست‌های لثه‌ای انسان پرداخته شده است، بیان شده است که از آن جا که پاتوژن‌های پریودنتال محرک نئوواسکولاریزاسیون هستند، احتمالاً VEGF با اتیولوژی پریودنتیت در مراحل اولیه که موجب تورم و ادم می‌شود، در ارتباط است. این مطالعه در هم خوانی با مطالعه حاضر می‌باشد. چرا که نه تنها در بیماران پریودنتیت نسبت به افراد سالم غلظت بیشتری از VEGF مشاهده شده است، بلکه در پریودنتیت مهاجم که فرآیندهای التهابی بیشتری نسبت به پریودنتیت مزمن رخ می‌دهد، به طور معنی‌داری غلظت VEGF بیشتر است. هم چنین در برخی مطالعات[۱۶] بیان شده است که غلظت VEGF در محل‌های دچار پریودنتیت بیشتر از محل‌های سالم در بیماران مبتلا به پریودنتیت است. این یافته بیانگر این مطلب است که تولید VEGF بیش از آن که یک فرآیند عمومی در بدن باشد، ناشی از یک فرآیند موضعی است و بیشترین غلظت آن در محل تولید و ترشح آن و در محل التهاب است. در مورد نقش VEGF در بیماری‌های پریودنتال بیان شده است که VEGF می‌تواند با سه مکانیسم زیر در تنظیم التهاب پریودنتال به ایفای نقش بپردازد.[۱۰] افزایش شبکه عروقی؛ افزایش وسعت فرآیند التهابی؛ القای آنژیوژنز در فضاهای ایجاد شده به علت تخریب بافت‌های پریودنتال.

در مطالعه Lucarini و همکاران[۱۶] مشابه سایر مطالعات مشاهده شد که غلظت VEGF و همچنین CD133 و CD44 در بیماران مبتلا به پریودنتیت به طور معنی‌داری بیشتر از گروه سالم بود. در این مطالعه بیان شده است که احتمالاً بالاتر بودن غلظت VEGF در بیماری پریودنتیت نشان گر بالاتر بودن قابلیت رژنراسیون بافت لثه‌ای می‌باشد.

در مطالعه Sert و همکاران[۱۷] مشخص شد سطح سرمی VEGF، sVEGFR-2 و IL-1β در مادرانی که کودکان پره ترم با وزن کم به دنیا می‌آوردند، به طور معنی‌داری بیشتر است. همچنین همین گروه از مادران هنگامی که مبتلا به پریودنتیت نیز بودند، سطح سرمی بیشتری از VEGF، sVEGFR-2 و IL-1β داشتند. در مطالعات دیگر توجه چندانی به بررسی نقش سن و جنس در غلظت VEGF در بیماران مبتلا به پریودنتیت نشده است. معمولاً میان بیماران پریودنتیت مزمن و مهاجم تفاوت سنی دیده می‌شود به این صورت که پریودنتیت مهاجم غالباً در افراد جوان‌تر و پریودنتیت مزمن معمولاً در افراد مسن‌تر رخ می‌دهد. در مطالعه ما نیز مشخص شد که میانگین سنی در پریودنتیت مهاجم ۱۷/۸ سال و در پریودنتیت مزمن ۳۷/۲ سال بود. هرچند میان سن و غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای در هیچکدام از گروه‌های مورد

مطالعه رابطه معنی‌داری مشاهده نگردید. هم چنین در مورد ارتباط جنسیت با غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای در مطالعه ما مشخص شد که بین غلظت VEGF و یک جنس خاص در هیچ یک از گروه‌ها ارتباط معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵).

هم چنین، در این مطالعه تمامی گروه‌ها غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای به تفکیک جنس نیز مورد مقایسه قرار گرفت و تمامی نتایج حاصل از گروه مردان و گروه زنان مشابه یکدیگر و مشابه با نتایج حاصل از مقایسه گروه‌ها بدون تفکیک جنسیتی بود. تنها نقطه تفاوت میان مردان و زنان شرکت‌کننده در این بود که غلظت VEGF در بیماران زن مبتلا به پریودنتیت مهاجم به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن نداشت (P=۰/۰۹۷)، هرچند که غلظت آن در گروه پریودنتیت مهاجم بیش از پریودنتیت مزمن بود.

نتیجه گیری

در بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن و مهاجم نسبت به افراد سالم افزایش معنی‌داری در VEGF مشاهده شد. همچنین میانگین غلظت VEGF شیار لثه‌ای به طور معنی‌داری در پریودنتیت مهاجم بیشتر از نوع مزمن گزارش گردید. سن و جنس شرکت کنندگان در این مطالعه بر غلظت VEGF شیار لثه‌ای مؤثر نبود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از پایان نامه دانشجویی به شماره ۲۶۸۱ می‌باشد که از معاونت محترم پژوهشی دانشکده دندانپزشکی و دانشگاه علوم پزشکی مشهد برای مراحل تصویب و پرداخت هزینه‌های آن تشکر می‌گردد.

منابع

1. Prapulla DV, Sujatha PB, Pradeep AR. Gingival crevicular fluid VEGF levels in periodontal health and disease. J Periodontol 2007; 78(12): 2395.
2. Booth V, Young S, Cruchley A, Taichman NS, Paleolog E. Vascular Endothelial Growth Factor in human periodontal disease. J Periodont Res 1998; 35(8): 491-9.
3. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 1989; 161(2): 3801-8.
4. Risau W, Flamme I. Vasculugenesis. Ann Rev Cell Dev Biol 1995; 11: 73-91.
5. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. Nature 1997; 386(6626): 671-4.
6. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. J Biol Chem 1992; 267(16): 10931-4.
7. Banihashem A, Saghafi S. Saliva and Oral Health. 1st ed. Mashhad (IRI): Ferdowsi University of Mashhad Publications; 2008. P. 170.
8. Hamilton WJ, Boyd JD, Mossmann HW. Human Embryology. 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1962. P. 1-42.
9. Sanz M, Newman MG, Quirynen M. Advanced diagnostic techniques. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2006. P. 579.
10. Suthin K, Matsushita K, Machigashira M, Tatsuyama S, Imamura T, Torii M, et al. Enhanced expression of vascular endothelial growth factor by periodontal pathogens in gingival fibroblasts. J Periodontal Res 2003; 38(1): 90-6.

11. Kasprzak A, Surdacka A, Tomczak M. Expression of angiogenesis-stimulating factors (VEGF, CD31, CD105) and angiogenetic index in gingivae of patients with chronic periodontitis. Folia Histochemica et Cytobiologica 2012; 50(4): 554-64.
12. Bassiouny G, Alayed H, Alsalman T. Vascular endothelial growth factor in gingival tissues of diabetic and healthy periodontal patients. J Am Sci 2014; 10(8): 130-5.
13. Dejana E, Orsenigo F, Lampugnani MG. The role of adherens junctions and VE-cadherin in the control of vascular permeability. J Cell Sci 2008: 121; 2115-22.
14. Guentsch A, Kramesberger M, Sroka A, Pfister W, Potempa J, Eick S. Comparison of gingival crevicular fluid sampling methods in patients with severe chronic periodontitis. J Periodontol 2011; 82(7): 1051-60
15. Unlü F, Güneri PG, Hekimgil M, Yesilbek B, Boyacioglu H. Expression of vascular endothelial growth factor in human periodontal tissues: Comparison of healthy and diabetic patients. J Periodontol 2003; 74: 181-7.
16. Lucarini G, Zizzi A, Aspriello SD, Ferrante L, et al. Involvement of vascular endothelial growth factor, CD44 and CD133 in periodontal disease and diabetes: An immunohistochemical study. J Clin Periodontol 2009; 36(1): 3-10.
17. Sert T, Kırzıoğlu FY, Fentoğlu O, Aylak F, Mungan T. Serum placental growth factor, vascular endothelial growth factor, soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 and -2 levels in periodontal disease, and adverse pregnancy outcomes. J Periodontol 2011; 82(12): 1735-48.